

Wykrywanie DNA B19V u dawców krwi w Polsce

Dane prezentowane podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5–6 października 2015 r.)

Detection of DNA B19V in Polish blood donors. Data presented at the seminar “Advances in blood donor screening” (Warsaw, 5–6 October 2015)

Jolanta Korzeniowska

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Lublinie

J. Transf. Med. 2016; 9: 16–17

Wstęp

Ludzki parwovirus B19 (B19V) jest małym (20–25 nm średnicy), bezotczkowym wirusem, którego materiał genetyczny stanowi jednoniciowe DNA (*deoxyribonucleic acid*) [1, 2]. Należy do rodziny *Parvoviridae* rodzaju *Erythrovirus* [3]. Przenosi się on głównie przez drogi oddechowe, wertykalnie z matki na dziecko oraz przez produkty krwiopochodne [4]. Ze względu na to, że wirus jest odporny na działanie ciepła, zimna i rozpuszczalników/detergentów, od 2002 roku, wytwórcy produktów osoczopochodnych wykonują badania dla parwovirusa B19.

Badania w kierunku zakażenia parwovirusem B19 prowadzi się w Polsce u dawców krwi od 2004 roku, metodami biologii molekularnej wykrywającymi DNA B19V. Badanie DNA B19V wykonywane jest obowiązkowo w osoczu do produkcji immunoglobuliny anti-D i anti-HBs oraz u dawców krwinek czerwonych używanych do immunizacji oraz fakultatywnie w osoczu do produkcji innych produktów osoczopochodnych. Wyniki prowadzonych badań są ważnym źródłem danych do analizy epidemiologicznej.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie podstaw prawnych, metodyki badań oraz postępowania po wykryciu DNA B19V u dawców krwi.

Materiał i metody

Podstawy prawne badania parwovirusa B19 w pulach osocza do produkcji preparatów osoczopochodnych zawarte są w *European Pharmacopoeia Monographs*: „Human anti-D immunoglobulin” & „Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration” (styczeń 2004) [5], „Human plasma (pooled and treated for virus inactivation)” (lipiec 2004). Zgodnie z tymi zapisami pula produkcyjna osocza nie powinna zawierać więcej niż 10^4 IU DNA B19V/ml. Zgodnie z zapisami zawartymi w „Medycznych zasadach pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania” (Warszawa 2014) [6], badania DNA B19V wykonuje się u dawców, których krwinki służą do immunizacji (badania w pojedynczych próbkach) oraz w osoczu od dawców zimmunizowanych przeznaczonym do produkcji immunoglobuliny anti-D i anti-HBs (badania wykonuje się w pulach).

W latach 2004–2013 przebadano 246 702 donacje w kierunku zakażenia B19V. Badania wykonywano w pojedynczych donacjach oraz w pulach po 24 donacje, a następnie w pulach po 96 donacji. Do badania przekazywano próbki osocza wcześniej przechowywane w stanie zamrożenia. W latach 2004–2010 badania wykonywano w pojedynczych donacjach oraz w pulach po 24 donacje dla osocza

immunizowanego (anty-D i anty-HBs), a następnie w latach 2011–2013 badania przeprowadzano w pulach po 96 donacji dla osocza przeznaczonego do frakcjonowania.

Do badań stosowano metody biologii molekularnej. W latach 2004–2007 badania wykonywano w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii (IHiT), metodą *real-time* PCR (*polymerase chain reaction*) typu *home-made*, od roku 2007 DNA B19V wykrywano metodą *RealArt Parvo B19 TM PCR Kit* (Artus GmbH, Hamburg, Niemcy) na aparacie ABI Prism 7700 (Applied Biosystem, Singapur). Od 2007 do maja 2011 roku badania wykonywano w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) w Lublinie przy użyciu testu *Artus Parvo B19 RG PCR Kit – f. QIAGEN* i aparatu *Rotor-Gene* dla osocza immunizowanego. Od czerwca 2011 roku do dziś badania DNA B19V wykonywane są z wykorzystaniem systemu *cobas s201* i testu *cobas TaqScreen DPX* (Roche Molecular Systems, Branchburg, Stany Zjednoczone) dla osocza do frakcjonowania. Od 2014 roku do badań używany jest także *System Procleix TIGRIS* i test *Procleix Parvo/HAV* (Grifols, Hiszpania).

Wyniki

W latach 2004–2010 przebadano łącznie 17 625 donacji. W latach 2004–2007 w IHiT przebadano 8539 donacji osocza od dawców zimmunizowanych oraz grupy dawców losowo wybranych. Wykryto DNA B19V na poziomie $< 10^4$ w 3 donacjach, pochodzących od jednego dawcy — częstość 70/100 000 donacji. W latach 2007–2010 w RCKiK w Lublinie przebadano 9090 donacji osocza od dawców immunizowanych. Wykryto DNA B19V w 12 donacjach, pochodzących od dwóch dawców — częstość 102/100 000 donacji.

W latach 2011–2013 przebadano łącznie 239 077 donacji. Wykryto DNA B19V w 46 donacjach, pochodzących od 40 dawców — częstość 19/100 000 donacji.

U dawców z wykrytym DNA B19V wykonywano badania kontrolne. Uzyskane wyniki pokazały,

że u większości dawców w krótkim czasie dochodzi do spadku poziomu DNA B19V i jego eliminacji, ale u części dawców obserwuje się długotrwałe (miesiące i lata) wykrywanie DNA B19V na poziomie od kilkudziesięciu do kilkuset IU/ml.

Wnioski

W Polsce badania w kierunku wykrycia DNA B19V wykonuje się dla osocza do frakcjonowania przy użyciu czułych testów, wykrywających genotypy 1, 2 i 3. W latach 2004–2013 łącznie przebadano 246 702 donacje. Częstość wykrywania DNA B19V wśród dawców krwi w badaniach w puli z 96 donacji wynosi około 19–20/100 000 donacji. W badaniach kontrolnych dawców z wykrytym DNA B19V obserwuje się zarówno krótkotrwałe infekcje (w krótkim czasie dochodzi do spadku poziomu DNA B19V i jego eliminacji), jak i przewlekłe infekcje z długotrwałym wykrywaniem DNA B19V na niskich poziomach.

Konflikt interesów

Praca powstała na podstawie wykładu wygłoszonego podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5–6 października 2015 r.), organizowanego przez Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. pod nadzorem merytorycznym Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie.

Piśmiennictwo

1. Clewley J.P. Biochemical characterization of a human parvovirus. *J. Gen. Virol.* 1984; 65: 241–245.
2. Cotmore S.F., Tattersall P. Characterization and molecular cloning of a human parvovirus genome. *Science* 1984; 226: 1161–1165.
3. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U. Ball L.A. *Virus Taxonomy: 7th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* 2005; Elsevier Academic Press.
4. Parsyan A., Candotti D. Human erythrovirus B19 and blood transfusion — an update. *Transfus. Med.* 2007; 17: 263–278.
5. *European Pharmacopoeia Monographs*, 2004.
6. M. Łętowska (red.). *Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi.* Wyd. 3. Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa 2014.