

## HEPATITIS C U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI

### HEPATITIS C IN TRANSFUSION MEDICINE

Anka Doric<sup>1</sup>, Blaženka Grahovac<sup>2</sup>

#### SAŽETAK

Najnovije procjene upućuju na to da se svjetska prevalencija anti-HCV reaktivnosti kreće u široku rasponu, i to od 0,1% u razvijenim zemljama do 13,6% u sjevernoj Africi. U Europi prevalencija se kreće od 0,1% do najviše 4,9% u pojedinim zemljama istočne Europe. Epidemiološka istraživanja predviđaju da je približno 170 milijuna ljudi u svijetu kronično inficirano hepatitis C virusom (HCV). Na osnovi preliminarnih testiranja opće populacije i prema procjenama, Hrvatska je svrstana u zemlje s nižom HCV prevalencijom (1% – 2%), te incidencijom od 0,005%. Kronična infekcija HCV-om sve je važniji javnozdravstveni problem, poglavito kada se radi o dobrovoljnim davateljima krvi kao mogućim izvorima zaraze. Zadaća je suvremene transfuziologije liječiti bolesnika sigurnim i kvalitetnim krvnim pripravcima, a postojeći ostatni rizik za infekciju krvlju prenosivim bolestima, svesti na najmanju mjeru. U Hrvatskoj sva se darivanja krvi obvezno testiraju na HIV, HCV, HBV i sifilis. Poslijetransfuzijski hepatitis C (PTHC) jest krvlju prenosiva bolest, te je unatoč obveznu anti-HCV testiranju krvi, još uvijek moguća komplikacija transfuzijskoga liječenja u nas i u svijetu. U zemljama zapadne Europe rizik za prijenos HCV-a krvlju i krvnim pripravcima kreće se u prosjeku od 1:400.000 do 1:800.000. Razloga je tomu više: od nepostojanja simptoma i kliničkih znakova hepatitisa C u davatelja koji se nalazi u fazi inkubacije, nepostojanja idealnoga testa kojim bi se otkrili mnogobrojni podtipovi HCV virusa, te – iako u malomu postotku, posto-

janje seronegativnih trajnih nositelja virusa koji su doživotni kliconoše.

*Ključne riječi:* dobrovoljni davatelji krvi, markeri hepatitisa C, virusni hepatitis C, poslijetransfuzijski hepatitis C

#### SUMMARY

Latest estimates indicate that world prevalence of anti-HCV reactivity spans widely from 0.1% in developed country to 13,6% in north Africa, while in Europe prevalence ranges from 0.1% to 4.9% in some eastern European countries. Epidemiological studies show, around 170 million people in world to be chronically infected with hepatitis C virus (HCV). Preliminary testing of general population and according to the estimates, Croatia has classified within countries with HCV prevalence of 1%–2%, and incidence rate of 0.005%. Chronic HCV infection represents increasingly significant public health problem, especially when we take in consideration blood donors as a possible source of infection. Modern transfusion medicine has an assignment to treat patients with safe and quality blood preparations while minimizing risk of infection with blood transmitted diseases. In Croatia all blood donations are mandatory tested for HIV, HCV, HBV and syphilis. Although posttransfusion hepatitis C (PTHC) is only one of the possible infections transmitted by blood, there is no reason to be more concern than in other countries of Western Europe, where risk of HCV transmission through blood and blood preparations averages from 1:400.000 to 1:800.000. Despite blood testing PTHC is still possible complication of transfusion treatments in Croatia and worldwide. Reasons for that are absence of symptoms and clinical signs of hepatitis C in incubation period of infected blood donors, absence of ideal test who would detect all cases of infected blood

<sup>1</sup>Odsjek za dijagnostiku krvlju prenosivih bolesti Imunološkoga zavoda, Zagreb

<sup>2</sup>Laboratorij za molekularnu dijagnostiku Zavoda za patologiju Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Rijeci

Primljeno: 30. kolovoza 2007.

Prihvaćeno: 10. rujna 2007.

Adresa za dopisivanje: Imunološki zavod, Rockefellerova 2, 10000 Zagreb

donors, numerous HCV subtypes due to virus hyper-variability and existence (although in small percentage) of seronegative lifelong virus carriers.

*Key words:* blood donors, hepatitis C markers, hepatitis C virus posttransfusion hepatitis C

## UVOD

Transfuzijska medicina jest medicinska struka koja se bavi liječenjem bolesnika pripravcima dobivenim iz ljudske krvi. Krvni pripravci, plazma i derivati plazme jesu biološki preparati, njihova je primjena slična transplantaciji, s tom razlikom što transfundirane krvne stanice i proteini u bolesnikovu krvotoku imaju ograničen život. Budući da se krvni pripravci još uvijek ne mogu zamijeniti preparatima drugoga podrijetla, darivana ljudska krv jedinstveni je lijek, te je za svaku zemlju nacionalno bogatstvo<sup>1</sup>. Stoga je razumljiva pozornost koja se posvećuje davateljima krvi, sakupljanju i racionalnoj preradi krvi, te primjeni u liječenju bolesnika.

Liječenje pripravcima dobivenim iz ljudske krvi, nije bez rizika<sup>2</sup>. Glavni je rizik prijenos zaraznih bolesti, i premda je broj mogućih uzročnika bolesti velik, tek mali broj patogena izaziva težu bolest koja može ugroziti primatelja krvi. Kliničku važnost imaju infekcije virusima koji izazivaju poslijetransfuzijski hepatitis (PTH): virusi hepatitisa B i C, infekcije retrovirusima HIV 1 i HIV 2, HTLV I i II, infekcija citomegalovirusom, te prijenos sifilisa i malarije<sup>3,4</sup>.

Poslijetransfuzijski hepatitis C (PTHC) prenosi se zaraženom krvi i krvnim pripravcima<sup>5,6</sup>. Početkom godine 1993. u Hrvatskoj je uvedeno obvezno testiranje krvi na hepatitis C virus protutijela (anti-HCV)<sup>4</sup>. Procjenjuje se da je do tada neprepoznata infekcija hepatitisom C iz krvi inficiranih dobrovoljnih davatelja krvi, uzrokovala gotovo 90% svih poslijetransfuzijskih hepatitisa. Od uvođenja testiranja na anti-HCV, rizik za PTHC nakon transfuzije bitno je smanjen i kreće se u granicama rizika 1:200.000<sup>7</sup>.

HCV ima sljedeća, za transfuzijsku medicinu bitna obilježja:

- trajno ili povremeno nalazi se u krvi doživotnih kliconoša
- ima dugo razdoblje inkubacije
- infekcija ima asimptomatski tijek
- ne inaktivira se u krvnome pripravku
- infektivna masa virusa od 450 ml prisutna u dozi krvi, dovoljna je da uzrokuje bolest

Osobita je važnost tog virusa kao uzročnika poslijetransfuzijskoga hepatitisa u tomu, što gotovo uvijek uzrokuje kroničnu, za život opasnu bolest jetre koja se u manjem postotku razvija u cirozu i karcinom jetre. Upravo zbog tih razloga, PTHC pripada najtežim krvlju prenosivim bolestima<sup>6,7</sup>.

U preparatima proizvedenim iz ljudske krvi i plazme, nije moguće sa 100%-tnom sigurnosti isključiti infekciju HCV-om. Da bi se smanjio rizik za prijenos infekcije, provode se stroge kontrole u odabiru davatelja krvi (anketni upitnik, razgovor i pregled u liječnika), testiranje krvi i plazme na biljege hepatitis C virusa (anti-HCV i Core antigen), te testiranje plazme na prisutnost virusne RNA<sup>8,9,10</sup>.

Iako Hrvatska pripada zemljama s nižom HCV prevalencijom (procjenjuje se 1% – 2%), te incidencijom od 0,005% u općoj populaciji, HCV infekcija i kliconoštvo važan su javnozdravstveni problem, jer unatoč testiranju krvi, poslijetransfuzijski hepatitis još je uvijek moguća komplikacija transfuzijskoga liječenja<sup>8</sup>. PTHC ubraja se u takozvane odgođene komplikacije transfuzijskoga liječenja. Naime, bolest se ne mora pojaviti neposredno nakon primanja zaraženoga krvnoga pripravka, već nakon nekoliko tjedana, mjeseci pa i godina nakon transfuzije<sup>11</sup>. Obveza je zdravstvenih djelatnika koji rade u ustanovama u kojima se prikuplja i prerađuje krv, te proizvode krvni pripravci i derivati plazme, da svaki uzorak davatelja i svaku darovanu dozu krvi, nakon prvoga davanja, te nakon svakoga ponovljenoga davanja, ispituju na prisutnost uzročnika krvlju prenosivih bolesti, pa tako i na HCV. Davatelj s pozitivnim anti-HCV nalazom upućuje se na daljnju dijagnostičku obradu i prema potrebi na liječenje, isključen je iz daljnjega davanja krvi, te je upisan u Registar zaraženih davatelja Republike Hrvatske, koji se vodi u Odjelu za serološku dijagnostiku Hrvatskoga zavoda za transfuzijsku medicinu<sup>12</sup>.

## TESTIRANJE NA BILJEGE HEPATITIS C VIRUSA

Temelj HCV dijagnostike jest imunoenzimski probirni test za dokazivanje protutijela (engl. Enzyme immunoassay), EIA. Testiranje krvi dobrovoljnih davatelja krvi na prisustvo HCV protutijela, počelo se provoditi u Hrvatskoj početkom godine 1993<sup>4,12</sup>. Otada, mijenjale su se vrste testova s obzirom na njihovo usavršavanje, te prema preporukama europskih i svjetskih transfuzioloških ustanova<sup>13</sup>. Od godine 2003. u nas se, kao i u drugim europskim

zemljama, koristi EIA test 3. generacije, s trima rekombinantnim antigenima (c22, c200 i NS5). Taj test obilježuje visoka osjetljivost i specifičnost, te se uz anti-HCV određuje i HCV antigen nukleokapside (engl. core antigen)<sup>14</sup>.

Pozitivan nalaz serološkoga testa, odnosno dokaz prisustva HCV protutijela, ukazuje na kontakt s virusom. Početno reaktivni rezultati ponavljaju se drugim testom. Ako je i ponovljeni test reaktivan, uzorak se smatra ponovljeno reaktivnim, te se podvrgava takozvanu potvrdnome testiranju pomoću rekombinantnih imunoblot-testova<sup>4,14</sup>. Primjer je takvoga testa CHIRON RIBA HCV 3.0, s dvama rekombinantnim antigenima (C33c i NS5), dvama sintetskim proteinima (c100 i 5-1-1), te jednim proteinom nukleokapside (c22). U slučaju potvrđenoga pozitivnog anti-HCV nalaza, davatelj krvi upućuje se u savjetovanište, i tada se uzima još jedan uzorak krvi za potvrdu rezultata<sup>12</sup>.

U ranoj fazi infekcije hepatitis C virusom, tijekom inkubacijskoga takozvanog window razdoblja ili dijagnostičkoga prozora, pregledni serološki testovi za dokazivanje anti-HCV-a, unatoč visokoj osjetljivosti i specifičnosti, mogu dati lažno negativan rezultat<sup>15</sup>. Uzrok je tomu činjenica da se anti-HCV protutijela pojavljuju relativno kasno, od tri mjeseca do šest mjeseci nakon početne infekcije, pa se HCV infekcija može prenijeti transfuzijom pripravka koji je prošao laboratorijska testiranja u toj fazi kao serološki negativan.

Takve su situacije danas rijetkost, budući da suvremene laboratorijske testove koji se koriste u krvnim bankama, obilježuje velika osjetljivost i visoka specifičnost. Takva obilježja ima i zadnja generacija EIA testova kojima je moguće dokazati sklop HCV antigen – HCV protutijelo. Antigen se pojavljuje u krvi dva do četiri tjedna nakon infekcije, jednako kao i HCV-RNA, a perzistira do 2,5 mjeseca. Primjenom HCV antigena u testiranju, skraćuje se serološka nereaktivnost u razdoblju takozvanog dijagnostičkoga prozora, te ga se dovodi na razinu blisku molekularnim postupcima za dokazivanje virusnoga genoma u krvi<sup>16</sup>.

## NAT TESTIRANJE

U transfuzijskoj medicini, za molekularno-biološke testove koristi se pojam NAT testiranje (engl. nucleic acid amplification testing). Dokazivanje HCV-RNA u plazmi molekularnim postupcima, uveli su godine 1997. proizvođači derivata dobivenih iz ljudske plazme, kako bi smanjili rizik prenošenja HCV-a preko proizvoda iz pulova

plazme koji su možda mogli sadržavati pojedine HCV infektivne doze u razdoblju dijagnostičkoga prozora, kada su uzorci bili anti-HCV negativni, te tako prenijeti virus primateljima derivata plazme<sup>16,17</sup>. Prema propisima Europskoga povjerenstva za patentiranje medicinskih proizvoda, svi se pulovi plazme za proizvodnju derivata moraju testirati na HCV-RNA, NAT testovima čija je osjetljivost najmanje 100 IJ/mL. U NAT-u koristi se koncept testiranja minipulova. Primjerice, uzorci seruma ili plazme od 96 pojedinačnih davanja krvi do najviše 500, sakupe se i zajedno ispituju na HCV-RNA, testovima čija je osjetljivost 500 IJ/mL (prema standardima Svjetske zdravstvene organizacije)<sup>18</sup>. Vjerojatnost otkrivanja pripravka krvi pozitivnoga na HCV-RNA pomoću NAT-a, koji nije bio otkriven testiranjem na anti-HCV, u prosjeku je od 1:500.000 do 1:2.000.000 davanja krvi. Uvođenjem NAT-a, trajanje dijagnostičkoga prozora skratilo se u prosjeku s 90 na 15 do 20 dana<sup>19</sup>. Prije uvođenja HCV-RNA testiranja, ostatni rizik prenošenja HCV-a u zapadnoj Europi bio je gotovo deset puta veći – od 1:60.000 do 1:100.000.

U razdoblju između godine 1999. i 2001., nekoliko je zemalja Europske zajednice (Francuska, Njemačka, Italija, Španjolska, Velika Britanija i Švicarska) u transfuzijskim ustanovama uvelo obvezno HCV-RNA testiranje. Budući da svaka prikupljena doza krvi mora biti testirana molekularnim postupcima, ostatni rizik prenošenja HCV-a smanjio se u Francuskoj s 1:100.000 na 1:6.650.000, a u Velikoj Britaniji s 1:520.000 na 1:3.000.000.

U Australiji, ostatni rizik procjenjuje se na 1:911.000, a u SAD-u na 1: 1.935.000<sup>17,19</sup>.

Na osnovi procjena u Hrvatskoj, rizik za poslijetransfuzijsku HCV infekciju iznosi 1:200.000, i veći je negoli u razvijenim zemljama Europe i SAD-a, budući da ne postoji zakonska obveza testiranja HCV-RNA u prikupljenim dozama krvi<sup>4,12</sup>.

U zadnjih desetak godina, rizik za poslijetransfuzijski hepatitis C u svijetu i u nas, u velikom je opadanju. Prema izvješću Hrvatskoga zavoda za transfuzijsku medicinu (HZTM) za godinu 2006., u Hrvatskoj 21 transfuzijska jedinica prikuplja krv i obavlja testiranje na HCV, testovima jednako kvalitetnim kao i u zemljama zapadne Europe<sup>20</sup>. Svake godine HZTM provodi multicentrična ispitivanja kvalitete testiranja seroloških biljega na krvlju prenosive infekcije. Podaci o usporednim vrijednostima testiranja na anti-HCV u godini 2002. i 2006., prikazani su u tablici 1.

Podaci o prevalenciji HCV-a u novih davatelja, odnosno u davatelja koji su prvi put darovali krv

Tablica 1. Rezultati testiranja anti-HCV-a u dobrovoljnih davatelja krvi u Hrvatskoj u godini 2002. i 2006., prema izvješću Hrvatskoga zavoda za transfuzijsku medicinu

Table 1 Results of anti-HCV testing of voluntary blood donors in Croatia in 2002. and 2006., according to Report of Croatian Institute for Transfusion Medicine

	Anti –HCV 2002.	Anti –HCV 2006.
Broj davanja / <i>Number of donations</i>	155.088	155.359
Ponovljeno reaktivni / <i>Repeatedly reactive</i>	250 (0,161%)	315 (0,201%)
Potvrđno testirani / <i>Tested confirmatory</i>	132 (52%)	315 (100%)
Potvrđeno pozitivni / <i>Confirmed positive</i>	36 36/132 (27,2%)	16/315 (5,07%)
Potvrđeno pozitivni /ukupan broj prikupljenih doza <i>Confirmed positive total number of collected units</i>	36/155.088 0,023%	16/155.359 0,0103%

Tablica 2. Prevalencija HCV-a u novih davatelja /100.000 doza i ostatni rizik / milijun doza

Table 2 HCV prevalence in new blood donors/100.000 units and remainder risk/million units

Godina <i>Year</i>	Prevalencija HCV-a u novih davatelja (100.000 doza) <i>Prevalence in new blood donors (100.000 units)</i>	Ostatni rizik prenošenja HCV-a (milijun doza) <i>Remainder risk of HCV transmission (million units)</i>
1995.	381( 0,38%)	23,83
2004.	41 (0,041%)	6,4

na 100.000 prikupljenih doza krvi, te ostatni rizik / milijun prikupljenih doza za godinu 1995. i 2004.<sup>20</sup>, navedeni su u tablici 2.

## VAŽNOST ZDRAVSTVENE EDUKACIJE DAVATELJA

Prva i najvažnija karika u transfuziološkom lancu, jesu dobrovoljni davatelji krvi. Uz humanu motiviranost, davatelji imaju i moralnu obvezu poštenja i iskrenosti. Naime, ne bi smjeli darivati krv, ako sumnjaju ili znaju da njihova krv može ugroziti mogućega primatelja.

Na osnovi preporuka Europskoga vijeća o pripremi, korištenju i osiguranju kvalitete krvnih pripravaka, davatelje krvi potrebno je upoznati s najnovijim podacima o rizičnim aktivnostima koje mogu biti povezane s prijenosom hepatitisa C, kako bi im se omogućilo samoisključivanje iz davalštva<sup>13</sup>. U skladu s tim, sve se osobe čija krv pokazuje pozitivnu reakciju na prisustvo anti-HCV-a, isključuju iz registra davatelja krvi.

Većina asimptomatskih davatelja krvi reaktivnih na anti-HCV, ne pripada visokorizičnim skupina-

ma. Način na koji su oni bili inficirani, još je uvijek nepoznat. Osobe koje žive u zajednici, koje imaju ili su imale seksualni odnos s oboljelima od hepatitisa C, ili osobe koje su primile krv ili derivate plazme, isključuju se iz davanja krvi tijekom godine dana, a nakon tog razdoblja ponovno bivaju testirane na anti-HCV. To vrijedi i za osobe koje su bile na akupunkturi (koju nije izvela zakonski ovlaštena osoba za tu djelatnost), tetoviranju i piercingu<sup>21</sup>.

Članovi bolničkoga osoblja koji su u izravnu dodiru s oboljelima od hepatitisa C, mogu biti dobrovoljni davatelji krvi na osnovi odluke odgovornoga liječnika transfuziologa, uz uvjet da nisu imali inokulacijsku ozljedu niti izloženost sluznica. U suprotnome, isključuju se iz davalštva na godinu dana<sup>20,21</sup>.

## ZAKLJUČAK

Za sigurnost krvi i krvnih pripravaka, osim naprednih i pouzdanih postupaka testiranja krvi i plazme, važno je poznavati zakone, propise, preporuke, te algoritme koji reguliraju primjenu krvnih priprava-

ka u liječenju. To je prijeko potrebno kako bi pripravci proizvedeni za transfuzijsko liječenje bili čim sigurniji, a mogući rizik za obolijevanje od krvlju prenosivih bolesti, poglavito HIV-a i virusa hepatitisa C, bio sveden na najmanju mjeru. Uz razumnu financijsku potporu sustava, te uz trajnu edukaciju zdravstvenih djelatnika, najvažniji su ljudi – u prvomu redu zdravi, dobro educirani, moralno i etički motivirani davatelji krvi.

#### LITERATURA

- Grgičević D. Transfuzijska medicina. Zagreb, Medicinska naklada 1995.
- Grgičević D, Vuk T. A perception of transfusion safety and risks. *Acta Med Croat* 1998;52(3):165-70.
- Bianco C, Rios M. HIV and Blood Transfusion. In: Linden JV, Bianco C, editors. *Blood Safety and Surveillance*. New York. Basel: Marcel Dekker Inc. 2001:252-78.
- Grgičević D, Balija M, Pirc-Tiljak D, Mihaljević I, Gjenero-Margan I, Zupančić-Šalek S, Macek P. Decreasing Risk of Viral Transfusion-transmitted Diseases in Croatia. *Croat Med J* 2000;41(2): 191-6.
- Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-62.
- Alter MJ. The epidemiology of acute and chronic hepatitis C. *Clinics in Liver Disease* 1997;1:559-68.
- Grgičević D. Current risks of transfusion treatment. *Neurol Croat* 2002;51(Suppl 3):73-80.
- Regan F, Tayler C. Blood transfusion medicine. *BMJ* 2002;325:143-7.
- Samardžija M, Miškulin I. Infekcije hepatitisa virusima i HIV-om. Sigurnost transfuzijskog liječenja u Hrvatskoj. *Infektol GI* 2004;24(2):103-5.
- Grahovac B. The Ninety – A decade of discovery of hepatitis viruses. *Period Biol* 2000;102(1):17-24.
- Grgičević D. Laboratorijsko testiranje na biljege ili uzročnike krvlju prenosivih bolesti u transfuzijskoj djelatnosti. U: *Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi*, Medicinska naklada, Zagreb 2006: 268-77.
- Lovrić M, Mihaljević I, Strahija-Tomić K, Balija M, Jukić I. Učestalost biljega krvlju prenosivih bolesti i ostatni rizik u dobrovoljnih davatelja krvi Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu od 1995.-2005. U: *Priručnik stalnog medicinskog usavršavanja: Što bi liječnik primarne zdravstvene zaštite trebao znati o transfuzijskoj medicini*. Urednici Mesarić J, Tiljak H. Medicinska naklada, Zagreb 2006:11-3.
- Preporuke za pripremu, uporabu i osiguranje kvalitete krvnih pripravaka Europskog vijeća; Preporuka br. 15(95) – Pregledno testiranje na biljege uzročnika krvlju prenosivih bolesti. Ur. Grgičević D, Skodlar J, Dorić A. *Ministarstvo zdravstva Republike Hrvatske* 2001(7):191-7.
- CDC. 2003. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. *MMWR* 52 (No. RR-03):1-12.
- Dodd RY, Notari EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 2002;42:975-9.
- Leary TP, Gutierrez RA, Muerhoff AS, Birkenmeyer LG, Desai SM, Dawson GJ. A chemiluminescent, magnetic particle-based immunoassay for the detection of hepatitis C virus core antigen in human serum or plasma. *J Med Virol* 2006;78:1436-40.
- Pillonel J, Laperche S. Trends in residual risk of transfusion-transmitted viral infections (HIV, HCV, HBV) in France between 1992 and 2002 and impact of viral genome screening (Nucleic Acid Testing). *Transfus Clin Biol* 2004;11(2):81-6.
- Soldan K, Barbara JA, Ramsay ME, Hall AJ. Estimation of the risk of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus infectious donations entering the blood supply in England, 1993-2001. *Vox Sang* 2003;84:274.
- Seed CR, Cheng A, Ismay SL, Bolton WV, Kiely P, Cobain TJ, Keller AJ. Assessing the accuracy of three viral risk models in predicting the outcome of implementing HIV and HCV NAT donor screening in Australia and the implications for future HBV NAT. *Transfusion* 2002;42:1365-72.
- Jukić I, Balija M, Očić T, Vuk T. Izvješće o rezultatima rada transfuzijske djelatnosti u Hrvatskoj u 2006. godini. *Transfuziološki vjesnik* 43/2007 ([www.hztn.hr/vjesnik](http://www.hztn.hr/vjesnik)).
- CDC 2005. Guidelines for viral hepatitis surveillance and case management. Atlanta, GA 2005:9-39.