

Analiza molekularnych i serologicznych markerów zakażenia HIV u polskich krwiodawców

Molecular and serological markers of HIV infection in Polish blood donors

Ewa Sulowska¹, Maria Mikulska¹, Piotr Grabarczyk¹, Grzegorz Liszewski¹, Ewa Brojer², Magdalena Łętowska³; Polska Grupa Badawcza ds. Badań Wirusologicznych u Dawców Krwi w Regionalnych Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa

¹Zakład Wirusologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

²Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

³Zakład Transfuzjologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

Streszczenie

Wstęp: Zakażenia HIV są diagnozowane na podstawie wykrywania anty-HIV techniką EIA (enzyme immunoassay) i potwierdzane testami WB (Western Blot). W Polsce w 2003 roku rozpoczęto badania dawców metodami biologii molekularnej, wykrywającymi zakażenie przed pojawieniem się przeciwciał. Celem pracy była ocena wprowadzenia badań molekularnych na bezpieczeństwo przetoczeń i sprawność weryfikacji wyników testów EIA, wykrywających anty-HIV i antygen p24.

Materiał i metody: Badania metodami EIA (Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab, Bio-Merieux; HIVAg/Ab Combo Architekt, Abbott) i NAT przeprowadzano w RCKiK. Oznaczenia wykonywano w pojedynczych donacjach metodą TMA (Procleix Ultrio, Chiron) lub w pulach po 24 donacje do 2006 r (Cobas Ampliscreen, Roche Diagn); a od roku 2006 w pulach po 6 donacji metodą PCR (Cobas Taqscreen MPX Test). Próbki powtarzalnie reaktywne w EIA weryfikowano w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii (IHIT) testami WB (New Lav Blot I, Bio Rad; HIV1 Blot 1.3, MP Diagnostics) oraz techniką NAT (Procleix Ultrio Assy, Chiron).

Wyniki: W latach 2003–2008 przeprowadzono badania przeglądowe u 2 987 066 dawców. U 3 (0,0001%) osób wykryto zakażenie w okienku serologicznym, a u 4682 (0,16%) powtarzalnie reaktywne wyniki anty-HIV. W badaniach weryfikacyjnych u 154/4682 (3,3%) dawców z anty-HIV wykryto RNA HIV. U 7/4682 (0,15%) wynik testu WB w pierwszej próbce był wątpliwy; u 1/4682 (0,02%) ujemny. W następnym badaniu, przeprowadzonym po 3–4 tygodniach test WB był dodatni. U pozostałych 146/4682 (3,1%) osób obecność przeciwciał potwierdzono testem WB w pierwszej próbce.

Wnioski: Wprowadzenie badań molekularnych krwiodawców w kierunku zakażenia HIV1/2 podniosło bezpieczeństwo przetoczeń, gdyż: 1) umożliwiło wykrycie zakażenia u 3 krwiodawców, będących w momencie oddania krwi w okresie okienka serologicznego; 2) usprawniło weryfikację reaktywnych wyników badań przeglądowych poprzez przyspieszenie diagnozy zakażenia HIV (wątpliwy wynik WB).

Słowa kluczowe: zakażenie HIV, testy EIA, okienko serologiczne, testy WB, badania metodami biologii molekularnej, przeciwciała anty-HIV, RNA HIV, krwiodawcy

J. Transf. Med. 2013; 6: 1–7

Summary

Background: *Diagnosis of HIV infection in blood donors is based on detection of anti-HIV with EIA and on subsequent confirmation of reactive results in Western Blot. In 2003, HIV RNA (NAT) was implemented to identify donors in the early phase of infection. The aim of our study was to analyze the impact of NAT implementation on blood safety and the confirmation efficiency for EIA anti-HIV and p24 detection.*

Material and methods: *Screening for anti-HIV (Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab, BioMerieux; HIVAg/Ab Combo Architect, Abbott) and for HIV RNA (in single donations TMA (Procleix Ultrio, Chiron or in pools of 24 donations (Cobas Ampliscreen; Roche Diagn until 2006 and then in pools of 6 donations with PCR (Taqscreen MPX). Western Blot (New Lav Blot I, Bio Rad; HIV1 Blot 1.3, MP Diagnostics) and NAT (Procleix Ultrio Assay, Chiron) were performed in all EIA positive samples.*

Results: *2,987,066 donors (5,858,667 donations) were tested in the 2003–2008 period. Three donors (0,001%) were found HIV RNA positive/anti-HIV negative while 4682 (0.16%) donors were found anti-HIV repeat reactive with EIA. Of the 4682 donors, 154 (3.3%) were found HIV RNA positive. For 146/4682 (3.1%) the specificity of anti-HIV was confirmed in WB, in 7/4682 (0.15%) the WB results were indeterminate and in 1/4682 (0.02%) the results were negative in the first sample. They became WB positive 3–4 weeks later. **Conclusions.** *The implementation of HIV NAT contributed to the improvement of blood safety as: 1) three donors were indentified in the window period and 2) the HIV diagnosis was accelerated for donors with repeat reactive results in screening and indeterminate WB results.**

Key words: HIV infection, EIA tests, WB tests, serological window, molecular biology methods, anti-HIV, RNA HIV, blood donors

J. Transf. Med. 2013; 6: 1–7

Wstęp

Współczesna diagnostyka zakażenia wirusem HIV wykorzystuje metody pozwalające na wykrycie zarówno przeciwciał anti-HIV1/2, jak też białka rdzeniowego p24 oraz RNA HIV. Jednak historycznie pierwszym markerem oznaczanym u osób zakażonych były przeciwciała anti-HIV1. Testy takie zarejestrowano i wdrożono do użytku w USA w 1985 roku. Nieco później zaczęto też stosować metody oparte na technikach biologii molekularnej [1]. W polskim krwiodawstwie testy EIA (*enzyme immunoassay*) wprowadzono na niewielką skalę już w 1986 roku, a od 1987 roku wszyscy krwiodawcy byli obowiązkowo badani w kierunku nosicielstwa wirusa HIV [2]. W wyniku badań zmierzających do skrócenia okienka serologicznego używanych testów i wcześniejszego wykrywania zakażenia pojawiły się na rynku odczynniki, które umożliwiały jednoczesne wykrywanie zarówno przeciwciał, jak i antygeny p24 [3]. W Polsce zaczęto je stosować w 2000 roku. Ta wersja testów była w stanie wykryć zakażenie o 7 dni wcześniej w porównaniu z testami używanymi dotychczas, wykrywającymi tylko przeciwciała [4]. W efekcie okienko serolo-

giczne zostało skrócone do 2–4 tygodni [5, 6]. Tego typu testy wykorzystywano również w polskim krwiodawstwie w latach 2007–2009, po zastąpieniu techniki EIA techniką CMIA (*chemiluminescent microparticle immunoassay*).

Badania molekularne wirusa HIV rozpoczęto w połowie lat 80. XX wieku. Pierwsze testy charakteryzowały się niską czułością, gdyż opierały się na technice hybrydyzacji [7] wykorzystywanej do wykrywania wirusowego RNA lub jego DNA zintegrowanego z genomem gospodarza. Podniesienie czułości badania uzyskano w wyniku wprowadzenia metody amplifikacji DNA za pomocą reakcji PCR (*polymerase chain reaction*) [8]. Badania DNA wirusa HIV zintegrowanego z genomem gospodarza wprowadzono w Polsce na początku lat 90. XX wieku u dawców z wątpliwymi wynikami WB i u osób, które miały kontakt z materiałem pochodzącym od osób anti-HIV dodatnich. W żadnym jednak przypadku nie wykryto materiału genetycznego wirusa HIV [9]. Badania zintegrowanego DNA ani badania techniką hybrydyzacji nigdzie na świecie nie zostały wprowadzone do rutynowej diagnostyki, ze względu na znaczne trudności techniczne.

Wprowadzenie przeglądowych badań molekularnych opartych na technice odwrotnej transkryp-

cji i reakcji PCR (RT-PCR, *reverse transcription PCR*), które w przeciwieństwie do wyżej omówionych technik cechuje wysoka czułość, poprzedziła szeroka dyskusja w środowisku transfuzjologów. Badania te pozwalają wykryć zakażenie przed pojawieniem się przeciwciał i antygeny p24 [10]. Wskazywano jednak na duże trudności techniczne związane z jego wykonaniem i bardzo wysokie koszty, które, biorąc pod uwagę stosunkowo małą częstość zakażenia HIV występującego w populacji krwiodawców, powodowały ich niską *cost effectiveness*. Pierwszą pracą, w której wykazano, że takie badania są technicznie możliwe i uzasadnione, gdyż zwiększają bezpieczeństwo przetoczeń, opublikowali w 1998 roku Cardoso i wsp. [11].

Rozwój technologiczny badań molekularnych i opracowanie testów typu multipleks wykrywających jednocześnie materiał genetyczny kilku wirusów, spowodowały wprowadzenie badań RNA HIV w kolejnych krajach.

W Polsce badania krwiodawców za pomocą metod molekularnych, pozwalających wykryć zakażenie wirusem HIV przed pojawieniem się serologicznych markerów zakażenia, rozpoczęto w 2003 roku. Początkowo wykonywano je tylko w niektórych donacjach, natomiast od 2005 roku RNA HIV oznaczane jest obowiązkowo w każdej donacji. Ponadto od 2003 roku badania te służą jako dodatkowy, obok WB (*Western Blot*), test potwierdzający lub wykluczający zakażenie u dawców z powtarzalnie reaktywnymi wynikami anty-HIV w teście przeglądowym.

Celem pracy było podsumowanie polskich doświadczeń w stosowaniu metod molekularnych w przeglądowych badaniach dawców i wykazanie, jaki był wpływ wprowadzenia tych badań na bezpieczeństwo przetwarzanej krwi oraz na sprawność weryfikacji wyników serologicznych testów przeglądowych, wykrywających przeciwciała do wirusa i jego antygen p24. W szczególności określono:

1. częstość wykrywania zakażenia w okienku serologicznym u polskich dawców krwi;
2. jak często i w jakim stopniu badanie RNA HIV przyspiesza postawienie diagnozy w zakażeniu HIV.

Material i metody

W latach 2003–2008 przebadano w kierunku zakażenia wirusem HIV 5 858 667 donacji pochodzących od 2 987 066 dawców. Badania przeglądowe metodami serologicznymi (EIA oraz CMIA) oraz technikami biologii molekularnej wykonano w Regionalnych Centrach Krwiodawstwa i Krwio-

lecznictwa (RCKiK). W metodach serologicznych używano testów Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab, BioMerieux (lata 2003–2006) oraz HIV Ag/Ab Combo Architekt, Abbott (lata 2007–2008).

Badania przeglądowe technikami biologii molekularnej przeprowadzano: metodą TMA Procleix Ultrio, Chiron w pojedynczych donacjach lub metodą PCR Cobas Ampliscreen, Roche w pulach po 24 donacje do roku 2006; w następnych latach metodą *real-time* PCR (Cobas Taqscreen MPX Test), w pulach po 6 donacji.

Badania weryfikacyjne próbek osocza dawców z powtarzalnie reaktywnymi wynikami testów przeglądowych wykonywano w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii. Łącznie przebadano 9086 próbek pochodzących od 4682 dawców (niektórzy dawcy weryfikowani byli kilkakrotnie). Badania weryfikacyjne polegały na potwierdzeniu swoistości przeciwciał testami typu WB oraz na badaniu materiału genetycznego wirusa HIV. Do badań wykorzystano testy WB: New Lav Blot I firmy BioRad (lata 2003–2005) i HIV 1 Blot 1.3 firmy MP Diagnostics (lata 2006–2008) oraz test wykrywający RNA HIV: Procleix ULTRIO Assay (Chiron).

Wyniki testów WB interpretowano następująco: wynik dodatni — obecne przynajmniej jedno przeciwciało do pojedynczego białka z każdego regionu wirusa, wynik ujemny — brak jakichkolwiek przeciwciał; wynik nieokreślony — obecne są przeciwciała do pewnych białek, ale nie są spełnione kryteria dla wyniku dodatniego ani ujemnego (interpretacja wyniku według Amerykańskiego Czerwonego Krzyża) [4].

Wyniki

W latach 2003–2008 zakażenie wirusem HIV wykryto i potwierdzono u 3 dawców przed pojawieniem się przeciwciał (okienko serologiczne), odpowiednio raz na 1 952 889 donacji i 995 689 dawców (tab. 1).

U wszystkich 3 dawców następnie prześlędzono pojawianie się serologicznych markerów zakażenia HIV w kolejnych próbkach pobieranych w okresie od 1 do 9 tygodni po wykryciu RNA HIV (tab. 2).

We wszystkich przypadkach przy następnym pobraniu krwi, które nastąpiło po 1–3 tygodni wynik testu przeglądowego anty-HIV był reaktywny. Badanie potwierdzające swoistość przeciwciał (test WB) dawało jednak jeszcze w tym okresie wynik ujemny lub nieokreślony (reakcja tylko z białkiem p24 i gp 160 lub gp41). U jednego z dawców w próbce RNA HIV dodatniej bez przeciwciał

Tabela 1. Wykrywanie zakażenia HIV w okienku serologicznym u dawców bez przeciwciał anti-HIV (RNA HIV dodatni, anti-HIV negatywny)**Table 1.** The frequency of detection of HIV infection in blood donors in serological windows (RNA HIV positive; anti-HIV negative)

Liczba dawców, u których wykryto RNA HIV w próbce bez przeciwciał anti-HIV	Liczba zbadanych (% zakażonych)	
	Donacje	Dawcy
3	5 858 667 (1/1 952 889)	2 987 066 (1/995 689)

Tabela 2. Analiza pojawiania się serologicznych markerów zakażenia HIV w kolejnych próbkach pobranych od dawców, u których zakażenie wykryto tylko metodami molekularnymi (okienko serologiczne)**Table 2.** Follow up study of HIV infection serological markers in RNA HIV positive/anti-HIV negative blood donors (serological window)

Dawca	Czas od momentu wykrycia zakażenia (dni, tygodnie)	Data badania	Test przeglądowy	Testy potwierdzenia		
				EIA/CMIA S/Co (wynik)	Western Blot Wynik (reakcja z białkiem)	RNA HIV
1.	0	19.01.2006	0,5 (-)	Nieokreślony (p 24)		Dodatni
	2 tyg.	02.02.2006	1,9 (+)	Nieokreślony(p24, gp 160)		Dodatni
	9 tyg.	23.03.2006	9,08 (+)	Dodatni (p17, p24, p34, gp41, p52, p55, p66, gp120, gp160)		Dodatni
2.	0	12.04.2008	< 1 (-)	Ujemny		Dodatni
	3 tyg.	08.05.2008	75,8 (+)	Ujemny		Dodatni
3.	0	06.06.2008	< 1 (-)	Ujemny		Dodatni
	1 tyg.	12.06.2008	1,7 (+)	Nieokreślony (gp41)		Dodatni

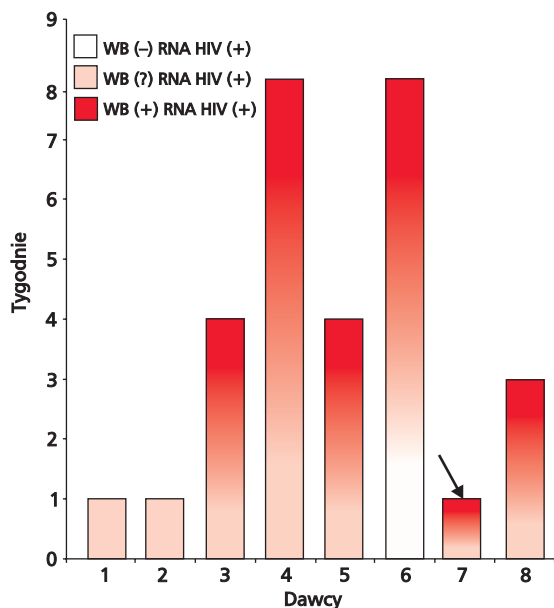
Tabela 3. Częstość zakażeń HIV wśród dawców z reaktywnymi wynikami testów EIA w latach 2003–2008**Table 3.** The frequency of HIV infection in blood donors with reactive EIA tests in 2003–2008

	Liczba dawców potwierdzonych/Liczba dawców EIA (+)
EIA (+); WB (+); RNA HIV (+)	146/4682
EIA (+); WB (?); RNA HIV (+)	7/4682
EIA (+); WB (-); RNA HIV (+)	1/4682
Razem	154/4682

w teście przeglądowym, w teście typu WB wykryto reaktywność z białkiem p 24 (dawca nr 1).

Spośród 2 987 066 dawców przebadanych w analizowanym okresie, u 4682 (0,16%) uzyskano powtarzalnie reaktywne wyniki serologicznego testu przeglądowego. Zakażenie HIV potwierdzono u 154/4682 (3,3%) z nich, w tym u 146/4682 (3,1%)

wykryto RNA HIV i uzyskano dodatni wynik testu WB, a u 8/4682 (0,17%) wykryto wyłącznie RNA HIV (ryc. 1). W grupie dawców, u których wykryto wyłącznie RNA HIV, u 7/4682 (0,15%) osób wynik testu WB w pierwszej próbce był nieokreślony; a u 1/4682(0,02%) ujemny (tab. 3). Ostatecznie tylko 3,3% (154/4682) wyników powtarzalnie



Rycina 1. Wyniki badań kolejnych próbek od dawców z reaktywnymi wynikami testu przeglądowego i wykrytym RNA HIV, lecz nieokreślonym lub ujemnym wynikiem testu typu WB w pierwszej próbce

Figure 1. HIV serological markers in follow up samples from RNA HIV positive/EIA repeat reactive blood donors with indeterminate or negative results of WB in the first sample

reaktywnych w teście przeglądowym zostało potwierdzonych.

W próbkach, w których wynik testu WB był nieokreślony, najczęściej pojawiały się przeciwciała do: białka rdzeniowego p24 (u 7/7 dawców); i otoczkowego — glikoproteiny gp 160 (u 6/7 dawców) (tab. 4).

Dyskusja

Według szacunków *World Health Organization* 5–10% zakażeń HIV na świecie spowodowanych zostało przetaczaniem krwi lub produktów krwiopochodnych [12]. Zakażenie przez transfuzję było związane z faktem, że po wybuchu epidemii zakażeń HIV jeszcze w końcu lat 90. XX wieku, 13 milionów donacji rocznie nie było badanych (np. z powodu braku testów) w kierunku zakażenia wirusami HIV, HCV, HBV. Dotyczy to przede wszystkim krajów rozwijających się [13, 14]. W krajach wysoko rozwiniętych dzięki używaniu najnowocześniejszych testów serologicznych, a także wprowadzaniu technik opartych na biologii molekularnej (lata 1996–2003), ryzyko przetoczenia krwi zakażonej wirusem HIV jest bardzo małe

[15, 16]. Ze względów medycznych, ale również i społecznych, ważne jest, aby zakażenie wykryte zostało jak najprędzej i u jak największej liczby osób zakażonych. Jak wspomniano we wstępie, techniki biologii molekularnej pozwalają na bardzo szybkie wykrycie zakażenia, bo już nawet po około 5 dniach od momentu ekspozycji [4]. Wprowadzenie tych badań w Polsce zapobiegło w latach 2003–2008 przetoczeniu składników krwi przygotowanych z 3 jednostek zakażonej krwi, która pochodziła od krwiodawców będących we wczesnym okresie zakażenia, jeszcze przed pojawieniem się przeciwciał (tab. 1). W jednym z omawianych przypadków (tab. 2 — dawca 2.) powtarzalnie reaktywny wynik testu przeglądowego przy ujemnym wyniku testu WB, wynika z reaktywności antygenu p24 w teście IV generacji, który używano w badaniach przeglądowych. Ryzyko przeniesienia HIV poprzez zakażoną krew jest szczególnie wysokie po przetoczeniu krwi od dawcy będącego w okresie okienka serologicznego. Obserwuje się wtedy najwyższy poziom wirerii, a nie ma jeszcze przeciwciał, które mają działanie obniżające infekcyjność. Wczesne wykrycie ma także duże znaczenie dla ograniczania rozprzestrzeniania się zakażenia poprzez kontakty seksualne. Dawca, u którego stwierdzono zakażenie, jest bowiem informowany o wynikach badań i może zaniechać zachowań prowadzących do dalszego przenoszenia infekcji.

Istotne znaczenia dla ograniczenia zakażenia innych osób przez nosicieli HIV ma też wprowadzenie badań molekularnych dla potwierdzania powtarzalnie reaktywnych wyników badań przeglądowych. Należy pamiętać, że większość takich wyników w populacjach małego ryzyka zakażeń wirusowych, a do takich należy populacja dawców krwi, ma charakter wyników biologicznie fałszywie reaktywnych. Odsetek zakażeń HIV wśród krwiodawców jest niski, ponieważ jest to grupa wyselekcjonowana, w której są osoby ogólnie zdrowe. Takich wyników jest około 97% (tab. 3). Za tym, że były to fałszywie reaktywne reakcje, przemawiają wyniki oznaczeń przeprowadzone ponownie u tych dawców po 6-miesięcznym okresie, gdzie w żadnym przypadku nie stwierdzono zakażenia (dane niewykazane). Najczęściej spotykane przyczyny fałszywie reaktywnych wyników testów przeglądowych omówione zostały w pracy Lipniacki i Piasek [4]. Dotychczasowy sposób potwierdzania, odbywający się tylko poprzez wykonanie badania testem WB, był bardzo niedoskonały. U wielu dawców uzyskuje się bowiem tak zwane wyniki nieokreślone — nie można więc ustalić statusu dawcy (zakażony HIV, czy niezakażony). Wykonanie badania RNA HIV

Tabela 4. Analiza pojawiania się serologicznych markerów zakażenia HIV w kolejnych próbkach od dawców, których zakażenie potwierdzono tylko metodami molekularnymi (EIA powtarzalnie reaktywny, WB nieokreślony/ujemny)

Table 4. Follow up study of HIV infection serological markers in RNA HIV positive/anti-HIV repeat reactive blood donors with different results of WB (WB negative or indeterminate) in the first sample

Dawca	Czas/ /nr próbki	Data badania	Wynik badania		
			Test przeglądowy	Testy potwierdzenia	
			EIA/CMIA	Western Blot Wynik (reakcja z białkiem)	RNA HIV
1	0/1	12.07.2005	4,48	Nieokreślony (p24; gp160)	Dodatni
2	0/1	28.01.2006	1,9	Nieokreślony (p24; gp120, gp160)	Dodatni
3	0/1	28.08.2006	5,9	Nieokreślony (p17, p24, gp160)	Dodatni
	4 tyg./2	29.09.2006	14,3	Dodatni (p17, p24, p34, gp41, p52, p55, p66, gp120, gp160)	Dodatni
4	0/1	26.08.2006	12,9	Nieokreślony (p 24, gp120, gp160)	Dodatni
	8 tyg./2	18.10.2006	14,77	Dodatni (p17, p24, p34, gp41, p52, p55, p66, gp120, gp160)	Dodatni
5	0/1	12.09.2006	9,9	Nieokreślony (p 24.gp160)	Dodatni
	4 tyg./2	14.10.2006	nb	Dodatni (p17, p24, p34, gp41, p52, p55, p66, gp120, gp160)	Dodatni
6	0/1	18.06.2007	1,51	Ujemny	Dodatni
	8 tyg./2	10.08.2007	134,94	Dodatni (p17, p24, p34, gp41, p52, p55, p66, gp120, gp160)	Dodatni
7	0/1	30.01.2008	37,63	Nieokreślony (p 24, gp120, gp160)	Dodatni
	1 tyg./2	07.02.2008	nb	Dodatni (p17,p24,p66,gp120,gp160)	Dodatni
8	0/1	20.01.2009	53,54	Nieokreślony (p24, gp120)	Dodatni
	4 tyg./2	27.02.2009	36,02	Dodatni (p17, p24, p34, gp41, p52, p55, p66, gp120, gp160)	Dodatni

nb — nie badano

pozwala na ustalenie tego statusu u wszystkich dawców z powtarzalnie reaktywnymi wynikami testów przeglądowych i znacznie przyspiesza diagnozę zakażenia HIV. Mimo zwiększenia kosztów coraz więcej krajów decyduje się na równoległe badania dawców krwi metodami serologicznymi oraz opartymi na technikach biologii molekularnej. W świetle najnowszych badań takie postępowanie

wydaje się najbardziej efektywne jeśli chodzi o zwiększenie bezpieczeństwa przetaczanej krwi, chociaż w pewnych przypadkach z powodu bardzo niskiej wiremii nie stwierdza się obecności RNA HIV, a zakażenie u takich osób (*elite controllers*) potwierdzone jest innymi metodami, w tym serologicznymi [17, 18]. W czasie prowadzonych w Polsce badań RNA HIV u dawców krwi z potwierdzonym

zakażeniem HIV w żadnym przypadku nie stwierdzono braku obecności RNA HIV przy wykrytych swoistych przeciwciałach do białek wirusa (*elite controllers*). Wynika to prawdopodobnie z faktu, że badania te wykonywano zawsze w pojedynczych donacjach (nie w donacjach zlanych w pule), co sprawiło, że czułość badania była wysoka i odpowiadała czułości używanego testu.

Podsumowanie

Wprowadzenie badań molekularnych krwiodawców w kierunku zakażenia HIV1/2 podniosło bezpieczeństwo przetoczeń krwi, gdyż w latach 2003–2008 umożliwiło wykrycie zakażenia u 3 krwiodawców, którzy w momencie oddania krwi byli w okresie okienka serologicznego. Ponadto badania NAT usprawniły weryfikację powtarzalnie reaktywnych wyników badań przeglądowych poprzez przyspieszenie diagnozy zakażenia HIV (przy wątpliwym wyniku WB).

Piśmiennictwo

- Juszcyk, A., Gładysz. AIDS. Epidemiologia, patogenez, klinika, leczenie, zapobieganie, poradnictwo. Wrocław 1992: 11–15.
- Ministerstwo Zdrowia i Opieki Społecznej. Postępowanie zapobiegawcze, diagnostyczne i lecznicze w przypadku zakażenia HIV lub zachorowania na AIDS. PZWL, Warszawa 1989.
- Weber B., Thorstenson R., Tanprasert S., Scmitt U., Melchior W. Reduction of the diagnostic windows in three cases of human immunodeficiency-1 subtype E primary infection with fourth-generation HIV screening assays. *Vox Sang.* 2003; 85: 73–79.
- Lipniacki A., Piasek A. Diagnostyka laboratoryjna zakażeń HIV. *Przegląd lekarski* 2003; 60: 478–484.
- Kurnica L.M., Sarathy H., Govindan P. i wsp. Risk of window period HIV infection in high infections risk donors: systematic review and meta-analysis. *Am. J. Transpl.* 2011; 6: 1176–1187.
- Weber B., Fall E.H., Berger A., Doerr H.W. Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 2235–2239.
- Shaw G.M., Hahn B.H., Arya S.K., Groopman J.E., Gallo R.C., Wong-Staal F. Molecular characterization of human T-cell leukemia (lymphotropic) virus type III in the acquired immune deficiency syndrome. *Science* 1984; 226: 1165–1171.
- Kwok S., Marck D.H., Mullis K.B. i wsp. Identification of human immunodeficiency virus sequences by using in vitro enzymatic amplification and oligomer cleavage detection. *J. Virol.* 1987; 61: 1690–1694.
- Brojer E., Głowska-Moraczewska Z., Sankowska M. i wsp. Badanie obecności materiału genetycznego wirusa HIV w mononuklearach dawców krwi z wątpliwymi wynikami testu Western Blot. *Problemy HIV i AIDS* 1995; 1: 9–11.
- AuBuchon J.P., Birkmeyer J.D., Busch M.P. Cost-effectiveness of expanded human immunodeficiency virus-testing protocols for donated blood. *Transfusion* 1997; 37: 45–51.
- Cardoso M.S., Koerner K., Kubanek B. Mini-pool screening by nucleic acid testing for hepatitis B virus, hepatitis C virus and HIV: preliminary results. *Transfusion* 1998; 38: 905–907. German Red Cross Blood Transfusion Service of Baden-Wuerttemberg, Germany.
- World Health Organization. Press Release 7 April 2000. www.who.int/inf/pr-2000/en/pr2000-25.html
- World Health Organization. Safe blood starts with me! Blood saves lives! Stories and souvenirs from World Health Day 2000 together with useful information on blood safety. http://www.who.int/bloodsafety/en/WHO_Safe_Blood_2000.pdf
- Global Database on Blood Safety. WHO global database on blood safety report 2001–2002 Geneva, WHO Global Database on Blood Safety, 2004.
- Soldan K., Davidson K., Dow B. Estimates of the frequency of HBV, HCV and HIV infectious donations entering the blood supply in the United Kingdom, 1996 to 2003. *Euro Surveill.* 2005; 10: 17–19.
- Velati C., Romano L., Baruffi L., Zanetti AR. Impact of nucleic acid testing for hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus on the safety of blood supply in Italy: a 6-year survey. *Transfusion* 2008; 48: 2205–2213.
- Kloosterboel N., Paul H., Jansen C. i wsp. Natural controlled HIV infection: Preserved HIV-specific immunity despite undetectable replication competent virus. *Virology* 2005; 339: 70–80.
- Okulicz J.F., Marconi V.C. i wsp. Clinical outcomes of elite controllers, viremic controllers and long-term nonprogressors in the US Department of Defense HIV Natural History Study. *J. Infect. Dis.* 2009; 200: 1714–1723.