

Bezpieczeństwo przetoczeń krwi pod względem czynników zakaźnych przenoszonych drogą krwi w świetle doniesień prezentowanych na 23. Zjeździe Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi w Amsterdamie

Safety of transfusion in terms of transmission of blood born infectious agents in the light of reports presented at the 23rd Congress of the International Society of Blood Transfusion

Piotr Grabarczyk, Aneta Kopacz

Zakład Wirusologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Streszczenie

Podczas 23. Zjazdu Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi w Amsterdamie omawiano różnorodne aspekty działań zmierzających do ograniczania ryzyka przenoszenia czynników zakaźnych drogą krwi. W niniejszym opracowaniu zwrócono szczególną uwagę na: trudności związane z procedurą kwalifikacji dawców krwi, między innymi na zjawisko tak zwanych test seekers (osób zgłaszających się, by oddać krew przede wszystkim w celu uzyskania wyników badań wirusologicznych), sformułowania zawarte w ankietach epidemiologicznych, źródła zakażeń dawców, u których stwierdzono markery infekcji, oraz efektywność różnych strategii prowadzenia badań przeglądowych markerów zakażenia HBV. Przedstawiono najważniejsze informacje odnoszące się do nowo pojawiających się czynników zakaźnych, między innymi wirusów, takich jak wirus Zachodniego Nilu (WNV) i wirus Dengi (DENV) uznawanych obecnie za największe potencjalne zagrożenie dla bezpieczeństwa przetoczeń oraz do kategoryzacji EID wprowadzonej przez grupy ekspertów ze Stanów Zjednoczonych i Europy. Poświęcono także uwagę innym czynnikom zakaźnym, istotnym dla bezpieczeństwa transfuzji, takim jak ludzki wirus cytomegalii (CMV) i parwowirus B19 (B19V). Podsumowano wyniki dotychczasowych prac badawczych, których celem było ograniczenie ryzyka powikłań wywołanych przez bakterie. W niniejszym opracowaniu omówiono również doniesienia zaprezentowane przez polską służbę krwi.

Słowa kluczowe: kwalifikacja dawców krwi, badanie przeglądowe, nowo pojawiające się czynniki zakaźne

J. Transf. Med. 2014; 7: 61–72

Wstęp

W czerwcu 2013 roku w Amsterdamie odbył się Regionalny Kongres Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi (ISBT, *International Society of Blood Transfusion*), na którym byli obecni zarówno delegaci z państw Europy, jak i liczni przedstawiciele innych kontynentów. Podsumowanie najnowszych obserwacji i osiągnięć w dziedzinie transfuzjologii prezentowano — jak co roku — podczas sesji plakatowych oraz wielu wykładów plenarnych. Oddzielną sekcję plakatową poświęcono zakażeniom przenoszonym drogą transfuzji. Sekcja ta obejmowała podgrupy, w których omawiano strategie badań przeglądowych, problemy związane z zakażeniami wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV, *hepatitis B virus*), typu C (HCV, *hepatitis C virus*), ludzkim wirusem upośledzającym odporność (HIV, *human immunodeficiency virus*), bakteriami, pasożytami oraz nowo wyłaniającymi się czynnikami zakaźnymi. Kwestie związane z bezpieczeństwem przetoczeń poruszano również w innych podgrupach, zajmujących się między innymi rekrutacją dawców krwi. Problematykę czynników zakaźnych przenoszonych przez krew i jej składniki omawiano na kilku sesjach wykładowych (tzw. *ISBT Academy*). Sesje te dotyczyły perspektyw chorób zakaźnych przenoszonych przez transfuzję (2 części), motywacji dawców do oddawania krwi oraz bezpieczeństwa donacji, a także zakażeń bakteryjnych produktów krwiopochodnych, zagrożeń dla dostępności i bezpieczeństwa krwi, nowych zakażeń, niejasności dotyczących zakażeń oraz badania kwasów nukleinowych wirusów. W niniejszym opracowaniu zwrócono szczególną uwagę na trudności związane z kwalifikacją dawców krwi [tzw. *test seekers* (TS), formułowanie ankiet epidemiologicznych, źródła zakażeń dawców, u których wykryto markery wirusa/-ów] oraz efektywność różnych strategii prowadzenia badań przeglądowych markerów zakażenia HBV. Przedstawiono także wybrane doniesienia poświęcone:

- nowo wyłaniającym się czynnikom zakaźnym (EID, *emerging infectious diseases*),
- kategoryzacji EID przez grupy ekspertów ze Stanów Zjednoczonych i Europy,
- wirusom, które według nich stanowią obecnie największe potencjalne ryzyko dla bezpieczeństwa przetoczeń [wirus Zachodniego Nilu (WNV, *West Nile virus*) i wirus Dengi (DENV, *Dengue virus*)].

Przytoczono najważniejsze wątki z dyskusji na temat ograniczania ryzyka przeniesienia zakażenia ludzkim wirusem cytomegalii (CMV)

i parwowirusem B19 (B19V). Podsumowano także wyniki dotychczasowych wysiłków mających na celu ograniczenie ryzyka powikłań wywoływanych przez bakterie oraz streszczono prezentacje przygotowane przez polską służbę krwi.

Kwalifikacja dawcy

Prelegenci występujący podczas konferencji zwracali uwagę, że pomimo stosowania bardzo czułych testów w badaniach przeglądowych przed oddaniem krwi przez dawcę nadal niezbędna jest odpowiednia procedura jego kwalifikacji na podstawie wywiadu epidemiologicznego. Dyskwalifikacji nadal powinny podlegać osoby z grupy ryzyka zakażenia czynnikami zakaźnymi przenoszonymi drogą krwi. Podkreślano konieczność aktualizacji kryteriów kwalifikacji dawców na podstawie najnowszych danych epidemiologicznych oraz ustaleń dotyczących dróg zakażenia, co pozwoli uniknąć nieuzasadnionej straty dawców [1].

W tym kontekście zwraca uwagę znaczna liczba informacji poświęconych optymalizacji procedury kwalifikacji dawców pod kątem zmniejszania ryzyka zakażenia wirusem HIV. Istotnym problemem obserwowanym w wielu krajach jest zgłaszanie się do punktów pobrania krwi osób, których pierwotną motywacją jest wyłącznie uzyskanie wyników badań wirusologicznych. Jest to grupa TS, która stanowi narastający problem zwłaszcza w sytuacji ograniczonego dostępu do badań przeglądowych poza obszarem krwiodawstwa. Do grupy TS należą zazwyczaj osoby, które podejrzewają, że mogą być zakażone wirusem HIV, chociaż przed donacją nie zgłaszają sytuacji obarczonych istotnym ryzykiem takiego zakażenia, ponieważ chcą uniknąć dyskwalifikacji, zanim próbka ich krwi zostanie przebadana. Analizie tego problemu poświęcono między innymi badanie przeprowadzone w Brazylii w latach 2009–2011 z udziałem 341 dawców zakażonych HIV (grupa I) oraz 791 dawców, u których nie wystąpiły markery zakażenia (grupa II). Osoby te poproszono — odpowiednio po identyfikacji zakażenia lub oddaniu krwi — o odpowiedź na pytanie, czy zgłosiły się do oddania krwi, ponieważ chciały się poddać badaniom w kierunku czynników zakaźnych. Do kategorii TS należało 15,5% respondentów z grupy I, w grupie II zaś tego typu deklarację złożyło około 5%. W grupie I nie obserwowano istotnych różnic pod względem orientacji seksualnej. Dawcy TS znacznie częściej podejmowali ryzykowne zachowania seksualne przed donacją, niezależnie od tego, czy wykryto u nich zakażenie HIV czy nie. Warto podkreślić, że aż 5% spośród osób zakażonych zgłosiło się, aby

oddać krew, chociaż wyniki badań wirusologicznych wykonanych w innych laboratoriach wskazywały na zakażenie [2].

Tego samego problemu dotyczyło doniesienie z Sao Paulo — równie licznej brazylijskiej aglomeracji. Wykazano, że u 2,4% kandydatów na dawców motywacją, która towarzyszyła zgłoszeniu do oddania krwi, była chęć wykonania badania w kierunku zakażenia HIV. W tym przypadku autorzy badania usiłowali dociec, jakie były pierwotne przyczyny takiego zachowania. Okazało się, że najczęstszą przyczyną były złe doświadczenia dotyczące badań w kierunku HIV wykonywanych w punktach świadczących takie usługi, niezwiązanych z krwiodawstwem. Respondenci zwracali szczególną uwagę na długi czas oczekiwania na wyniki badania, niesatysfakcjonującą poradę oraz złe warunki panujące w takich placówkach, a także na brak prywatności. Spośród 6000 dawców uczestniczących w badaniu ankietowym około 38% poddawało się już wcześniej badaniom w kierunku HIV poza krwiodawstwem [3].

Podczas zjazdu prezentowano liczne analizy dotyczące źródeł zakażenia u osób, u których wykryto markery wirusa HIV. Analiza przeprowadzona przez Włochów objęła 218 niedoszłych dawców: 29,4% dawców przyznało się do zachowań ryzykownych w okresie 4 miesięcy przed donacją, 28,9% w okresie wcześniejszym niż 4 miesiące przed donacją, a w przypadku 41,7% ankietowanych źródło zakażenia pozostało nieznane. W grupie 64 osób elementem ryzyka (ang. *risk exposure*) były ryzykowne zachowania seksualne ($n = 60$, w tym kontakty homoseksualne zadeklarowało 19 osób). Sporadycznie zgłaszano inne potencjalne przyczyny zakażenia (interwencje chirurgiczne, podróże do endemicznych obszarów, tatuaż — 4 osoby). Zwraca uwagę istotnie wyższa częstość ryzykownych zachowań seksualnych wśród osób zakażonych HIV u dawców wielokrotnych w porównaniu z pierwszorazowymi. Jako przyczyny niezgłaszania sytuacji związanych ze zwiększonym ryzykiem zakażenia wirusem HIV najczęściej wymieniano przekonanie, że wprawdzie ryzykowne zachowanie podjęto (52,7%), ale prawdopodobieństwo zakażenia uznano za niewielkie (29,3%), wskazywano także na problemy ze zrozumieniem pytań postawionych w kwestionariuszu poprzedzającym oddanie krwi (6,9%). Stwierdzono zatem, że uzyskane wyniki powinny obowiązywać autorów ankiety do jednoznacznego objaśnienia terminu „ryzykowne zachowanie seksualne podejmowane przed donacją”. Niezbędne jest także bardziej zrozumiałe formułowanie pytań w kwestionariuszu wypełnianym przed donacją [4].

W 2012 roku w Portugalii usunięto z formularza dawcy pytanie o kontakty seksualne między osobami tej samej płci. W związku z tym w jednym z centrów krwiodawstwa przeanalizowano źródła infekcji u dawców zakażonych wirusem HIV. Spośród 9 zakażonych 4 osoby wskazały na kontakty homoseksualne jako prawdopodobne źródło zakażenia, 3 na kontakty heteroseksualne, a w 2 przypadkach źródło zakażenia pozostało nieznane. Podobnie jak w pracy przedstawionej przez Włochów, tu również autorzy wskazują na konieczność bardziej precyzyjnego i jednoznacznego formułowania treści materiałów edukacyjnych i pytań zawartych w kwestionariuszu, aby ułatwić samodyskwalifikację [5].

Podczas tej samej sesji zaprezentowano pracę z Norwegii, w której oceniano odbiór i zrozumienie przez dawców pytań umieszczonych w formularzu służącym do kwalifikacji przed donacją. Badanie podjęto między innymi z powodu skarg zgłaszanych przez dawców na czułość (*sensitivity*) pytań oraz na ich niewłaściwą strukturę. Oceny 55 pytań z ankiety wypełnianej 220 000 razy w roku przez dawców dokonało 354 z nich. Jedna trzecia oceniających ankietę przyznała, że nie zwracała uwagi na podtytuły; połowa, że ich odpowiedzi mogą być błędne, ponieważ nie zastanawiali się wystarczająco długo nad odpowiedzią. Jedna trzecia stwierdziła, że trudno im odtworzyć wydarzenia z ostatnich 6 miesięcy. Trudne do zrozumienia były niektóre pytania, zwłaszcza te dotyczące odbytych podróży, leczenia, a niektóre słowa i sformułowania oceniono jako niejasne i trudne; co trzeci respondent nie umiał udzielić odpowiedzi. Zwrócono również uwagę na rozbieżności w interpretacji znaczenia niektórych słów (np. 50% dawców nie wiedziało, czego dotyczy określenie „choroba Creutzfeldta-Jakoba”). Wśród zaproponowanego zestawu odpowiedzi do wyboru niektórzy dawcy nie mogli znaleźć takiego wariantu odpowiedzi, który „pasowałby” do ich sytuacji. Autorzy zwrócili uwagę na konieczność przeprowadzania okresowej oceny kwestionariuszy wykorzystywanych do kwalifikacji dawców [6].

W sekcji dotyczącej zakażeń wirusem HCV przedstawiono analizę czynników ryzyka u dawców krwi ostatnio zakażonych tym wirusem. Analizę przeprowadzono w Państwowym Zakładzie Higieny – Instytucie Badawczym i Instytucie Hematologii i Transfuzjologii (IHIT), opierając się na danych pochodzących z polskich centrów krwiodawstwa i krwiolecznictwa.

Począwszy od roku 2000, kiedy wprowadzono w Polsce badania metodami biologii molekularnej (NAT, *nucleic acid amplification techniques*) dla

dawców osocza (w 2002 r. obowiązek takich badań został rozszerzony na wszystkich dawców krwi), aż do roku 2012 zidentyfikowano 117 osób seronegatywnych — NAT-dodatnich. Dodatkowo, co roku zakażenie jest potwierdzane u 20–42 dawców wielokrotnych z powtarzalnie reaktywnymi wynikami badań immunoenzymatycznych. Osoby z tych dwóch grup poproszono o wypełnienie kwestionariusza opracowanego na podstawie materiałów *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) i Amerykańskiego Czerwonego Krzyża (*American Red Cross*) [7]. W ankiecie znalazły się pytania dotyczące charakterystyki dawców, ich zachowań oraz odbytych ostatnio podróży. Odpowiedzi udzielone przez dawców zakażonych HCV (grupa I) porównano z informacjami uzyskanymi od dawców niezakażonych dobranych pod względem płci i wieku (kontrola ujemna — grupa II).

W okresie 2000–2011 zgromadzono ankiety od 42 dawców ostatnio zakażonych HCV i od 126 dawców z grupy kontrolnej. Średni wiek wszystkich uczestników badania wynosił 25,8 roku; większość stanowili mężczyźni (stosunek liczby mężczyzn do liczby kobiet wynosił 13:1). W obu grupach dominowali dawcy wielokrotni — odpowiednio 81,0% i 66,4%. Zidentyfikowano następujące prawdopodobne czynniki związane z zakażeniem HCV ($p < 0,05$): ekspozycja na cudzą krew, tatuaż, przyjmowanie narkotyków, 2 i więcej partnerów seksualnych w ciągu 6 miesięcy przed donacją i wspólne korzystanie z golarek/szczoteczki do zębów. Autorzy stwierdzają, że wyniki przeprowadzonej analizy mogą mieć istotne znaczenie dla bezpieczeństwa przetoczeń, ponieważ umożliwiają uzupełnienie kwestionariusza, aktualizację materiałów informacyjnych dla dawców, a w konsekwencji — bardziej precyzyjne zidentyfikowanie dawców należących do grup ryzyka zakażenia HCV. Ponadto można wykorzystać te wyniki przy podejmowaniu działań profilaktycznych zapobiegających szerzeniu się HCV w Polsce [8].

Zakażenia HBV

Zagadnienia dotyczące wirusa HBV przedstawiono podczas sesji pt. „Zdrowie dawcy i bezpieczeństwo krwiodawstwa — badania NAT”. W trakcie wykładów plenarnych poruszano między innymi tematy związane z wpływem stosowanych badań (metod, algorytmów) na częstość wykrywania zakażenia HBV u krwiodawców oraz związane z tym ryzyko przeniesienia zakażenia przez transfuzje (TT-HBV, *transfusion-transmitted HBV*).

Nico Lelie mówił na temat częstości zakażeń HBV w 6 regionach świata oraz różnic w czułości klinicznej prowadzonych równolegle badań przeglądowych dotyczących antygenu powierzchniowego HBV (HBsAg) [Abbott, metoda immunochemiluminescencji (CMIA, *chemiluminescent microparticle immunoassay*)] i DNA HBV [Novartis, metoda amplifikacji przez odwrotną transkrypcję (TMA, *transcription-mediated amplification*)]. Przedstawiona przez niego analiza obejmowała 20 ośrodków krwiodawstwa, w których wykonywano badania molekularne w pojedynczych donacjach. Podsumowano wyniki badań blisko 11 000 000 donacji (lata 2005–2011) pochodzących od dawców pierwszorazowych (FT, *first time*), powtórnych (LPD, *lapsed* — przerwa między donacjami > 365 dni) i wielokrotnych (RPT, *repeat* — przerwa między donacjami < 365 dni). Łącznie wykryto 9458 zakażeń wirusem HBV, w tym: 1,4% z okresu okna serologicznego (WP, *window period*); 0,1% ostrego ukrytego zakażenia; 0,2% przełamania ochrony poszczepiennej (ang. *breakthrough*); 84,8% współwykrywania HBsAg i DNA HBV; 0,6% drugiego okna serologicznego (II WP, tj. po spadku HBsAg do wartości niewykrywalnych); 6,4% HBsAg+/DNA HBV–; 6,2% ukrytego zakażenia HBV (OBI, *occult hepatitis B*); 0,2% nieklasyfikowalnych.

Stwierdzono różnice w proporcjach liczby zakażeń wykrytych w okresie: HBsAg+/HBV DNA+ względem HBsAg+/HBV DNA– (HBsAg *yield* — zakażenia HBV tylko z HBsAg) względem HBsAg–/HBV DNA+ (HBV DNA *yield*) w poszczególnych grupach FT, LPD i RPT i w poszczególnych regionach. U dawców pierwszorazowych średnio 90% zakażeń stanowiły HBsAg+/DNA HBV+, 7% HBsAg *yield* i tylko 3% HBV DNA *yield*. Największe różnice w liczbie wykrytych HBsAg *yield* v. DNA HBV *yield* stwierdzono w Egipcie i południowo-wschodniej Azji — blisko 9%, najmniejsze zaś w południowej Afryce — 1,5% (średnio 4%). Proporcje typów wykrywanego zakażenia zależały od grupy badanych dawców. Odsetek zakażeń DNA HBV *yield* wzrastał od 2,1% u dawców pierwszorazowych przez 37,3% u dawców ponownych do 59% w grupie dawców wielokrotnych.

Częstość wykrytych zakażeń HBV na etapie okna serologicznego była większa u dawców FT niż u LPD i RPT (była ona statystycznie istotna w południowej Afryce i krajach basenu Morza Śródziemnego). Wykazano, że czułość kliniczna testów wykrywających HBsAg wynosiła: dla donacji od dawców pierwszorazowych — 97%, powtórnych — 62,7% i wielokrotnych — 41%, natomiast w testach NAT było to odpowiednio 93%, 95%

i 98,3%. Reasumując, Lelie podkreślił, że większa czułość badania HBsAg w wykrywaniu zakażenia u dawców pierwszorazowych oraz NAT u dawców powtórnych i wielokrotnych świadczy o wzajemnym uzupełnianiu się tych badań. Przyczynia się to do poprawy bezpieczeństwa krwi. W pierwszych analizach efektywności różnych algorytmów badań przeglądowych wykazano przewagę badań NAT prowadzonych w pojedynczych donacjach (ID Ultrio Plus) nad strategią badań przeglądowych obejmujących HBsAg, anti-HBc i NAT w pulach.

W swoim wystąpieniu N. Lelie zwrócił uwagę na 2 przypadki przełamania odporności poszczeniowej w południowej Afryce (ang. *breakthrough infection*) ustalone metodą NAT. U obu dawców zakażenie zidentyfikowano na etapie okna serologicznego; dodatkowe badania osocza badanych donacji wykazały obecność przeciwciał anti-HBs. Przełamanie przeciwwirusowej odporności potwierdzano badaniami kolejnych próbek krwi pobranych od tych dawców, w których wykazano ponad 2-krotny wzrost miana anti-HBs oraz pojawienie się przeciwciał anti-HBc. N. Lelie skonstrastował te przypadki z podgrupą ukrytego zakażenia anti-HBc-/anti-HBs+ (tzw. *OBI only anti-HBs*), w której — w odróżnieniu od *breakthrough infection* — w kolejnych próbkach nie wykrywa się przeciwciał anti-HBc i nie obserwuje tak znacznych zmian miana anti-HBs [9].

W tej samej sesji M. Vermeulen zaprezentowała wyniki badań, w których porównywano wykrywanie DNA HBV testem Ultrio i Ultrio Plus (test Ultrio nowej generacji) w próbkach dawców z RPA. W badaniach przeprowadzonych w południowej Afryce wykazano 1,7-krotny wzrost częstości wykrywania zakażenia DNA HBV+/HBsAg-, to jest z faz WP i OBI, testem Ultrio Plus w porównaniu z poprzednio stosowanym testem Ultrio. Badając czułość analityczną obu testów, wyliczono, że test nowej generacji pozwala skrócić okno serologiczne do 14,5 dnia (wobec 24,7 dnia dla Ultrio), co zmniejsza ryzyko przeniesienia zakażenia (z donacji osoby będącej w WP) przez transfuzję z 1:27 000 do 1:43 000. Określono, że ryzyko TT-HBV dla składnika krwi pochodzącego od osoby z ukrytym zakażeniem (TT-OBI) jest mniejsze niż dla donacji od osoby będącej w okresie WP i wynosi 1:72 000. Omawiając temat ukrytego zakażenia, na podstawie prawdopodobieństwa wykrycia zakażenia przez test Ultrio Plus oraz 50% zakaźności koncentratu krwinek czerwonych (KKCz) zawierającego 316 kopii wirusa/ml, Vermeulen oszacowała skuteczność badań testem Ultrio Plus w zapobieganiu przeniesienia OBI przez transfuzję

na 82%. Pomimo zmniejszonego ryzyka TT-OBI przy stosowaniu testu Ultrio Plus, w prowadzonej w RPA procedurze *look back* wykazano przypadek wskazujący na przeniesienie zakażenia przez KKCz pochodzący z donacji, w której retrospektywnie wykryto DNA HBV = 1,6 kopii/ml oraz przeciwciała anti-HBc. Badanie sekwencji całego genomu HBV wyizolowanego od dawcy i biorcy wykazało 100-procentową homologię [10].

Wyniki z południowej Afryki współbrzmia z obserwacjami z innych części świata — Hongkongu [11] oraz Polski [12]. W obydwu przypadkach wykazano, że zwiększenie czułości analitycznej związane ze zmianą testu z Ultrio na Ultrio Plus przekłada się na podniesienie czułości klinicznej badań przeglądowych.

Aneta Kopacz z IHiT przedstawiła porównanie efektywności testu Ultrio i Ultrio Plus w wykrywaniu zakażenia wirusem HBV u HBsAg-negatywnych dawców krwi w Polsce. We wcześniejszych badaniach przeprowadzonych w IHiT wykazano, że modyfikacja metody TMA (dodanie odczynnika zawierającego wodorotlenek glinu) w teście Ultrio Plus 2,4-krotnie zwiększyła czułość analityczną testu dla HBV w porównaniu z testem wcześniejszej generacji (Ultrio) [13]. Podczas sesji plakatowej w Amsterdamie przedstawiono wpływ zwiększonej czułości analitycznej testu Ultrio Plus na liczbę wykrywanych zakażeń HBV w fazie okienka serologicznego (WP) i ukrytego zakażenia (OBI NAT *yield*). Przeanalizowano dane z dwóch 18-miesięcznych okresów, podczas których prowadzono badania przeglądowe odpowiednio testem Ultrio i Ultrio Plus (okresy I i II). We wszystkich próbkach badanych NAT równolegle badano HBsAg (Abbott Architect). Wynik powtarzalnie reaktywny DNA HBV w donacjach seronegatywnych weryfikowano w IHiT testami wykorzystującymi metodę TMA (Novartis), PCR (Roche) oraz dodatkowo badano anti-HBc (Abbott) i anti-HBs (BioMerieux). Zaobserwowano spadek częstości zakażeń HBsAg+ z 1:770 w okresie I do 1:1187 w okresie II ($p < 0,001$). W tym samym czasie częstość HBV NAT *yield* wzrosła z 1:31 643 do 1:16 909 (1,9 raza). Różnice częstości zakażeń HBV WP i OBI NAT *yield* potwierdzonych (powtarzalnie reaktywne w testach weryfikacyjnych DNA HBV) nie były istotne statystycznie. Znacznie częściej OBI NAT *yield* z wynikami rozbieżnymi (niereaktywne w testach weryfikacyjnych DNA HBV) obserwowano podczas badań testem Ultrio Plus (13/25, 52%) niż Ultrio (4/13, 31%) ($p < 0,001$). Test nowej generacji wykazuje większą czułość kliniczną 372/381 (97,6%) w porównaniu z testem pierwszej generacji

522/548 (95,4%). W przeprowadzonej analizie wskazano, że po wprowadzeniu do rutynowych badań testu o czułości analitycznej 2,4 raza większej prawie 2-krotnie wzrosła liczba wykrytych HBV NAT *yield*, w tym ponad 3-krotnie liczba HBV NAT *yield* rozbieżnych, pomimo 1,5-krotnego spadku liczby zakażeń serodatnych (HBsAg) [12].

Warto również wspomnieć o kilku innych doniesieniach z zakresu HBV wskazujących na wysoką skuteczność szczepień przeciwko HBV, wpływ częstości ekspresji Treg i PD-1 CD4+ oraz interakcji KIR/HLA na odporność przeciwwirusową, skuteczność przeglądowych badań HBsAg i NAT w zapobieganiu TT-HBV oraz trudności w wykrywaniu i potwierdzaniu zakażeń z fazy OBI.

Nowo pojawiające się czynniki zakaźne (emerging pathogens)

Podjęmowane są inicjatywy mające na celu ocenę zagrożeń związanych z nowo- lub ponownie pojawiającymi się chorobami zakaźnymi przenoszonymi przez krew (EID). Szczególną uwagę zwraca się na patogeny, dla których nie opracowano dotychczas skutecznych działań pozwalających zapobiegać ich przeniesieniu przez krew. W Stanach Zjednoczonych, w ramach *American Association of Blood Banks* (AABB), powstała specjalna grupa robocza zajmująca się analizą tych chorób. Członkowie grupy opracowali listę 69 czynników, które spełniają następujące 3 kryteria: mogą być obecne we krwi dawcy w fazie bezobjawowej zakażenia, zachowują zakaźność w trakcie preparatyki oraz przechowywania, wreszcie mogą wywoływać objawy chorobowe u przynajmniej części zakażonych przez krew biorców. Na tej liście, opublikowanej w 2009 roku, wśród patogenów, które mogą stanowić największe zagrożenie dla osób leczonych krwią, wymieniono nowy wariant choroby Creutzfeldt-Jakoba (vCJD, *variant Creutzfeldt-Jakob disease*), DENV, pasożyty krwinek czerwonych, które wywołują babeszjozę (*Babesia microti* i inne) [14]. Opracowanie to powstało na podstawie analizy sytuacji epidemiologicznej w Stanach Zjednoczonych oraz Kanadzie, ma ono jednak istotne znaczenie dla bezpieczeństwa przetoczeń/transfuzji w Europie. Eksperti uczestniczący w przygotowaniu tego dokumentu deklarują konieczność dalszego monitorowania EID oraz aktualizacji oceny ryzyka dla bezpieczeństwa krwi, jak również opracowanie działań zapobiegawczych. Potrzeba ciągłej aktualizacji takiej analizy wymaga opracowania narzędzi do realizacji przyjętych celów w dłuższej perspektywie czasowej, w szczególności zaś metod:

1) monitorowania EID, 2) rozpoznawania zagrożeń dla bezpieczeństwa przetoczeń, 3) oceny ilościowej ryzyka oraz 4) optymalnego postępowania w przypadku pojawienia się zagrożenia [15].

Podobne próby kategoryzacji zakażeń przenoszonych drogą krwi podejmowane są również w Unii Europejskiej [16, 17]. Instytucją, która zajmuje się między innymi realizacją tego zadania, jest *European Center for Disease Prevention and Control* (ECDC). W ostatniej analizie przeprowadzonej pod auspicjami tej organizacji wzięło udział 19 ekspertów z 8 krajów. Ocenę istotności nowych czynników zakaźnych przenoszonych przez krew przeprowadzono w dwóch etapach. W pierwszym oceniono prawdopodobieństwo wystąpienia epidemii na terenie UE oraz ryzyko przeniesienia przez SoHO (*substances of human origin*), a po uwzględnieniu obu elementów podliczono liczbę punktów i uszeregowano patogeny w kolejności od najistotniejszych do najmniej istotnych. Listę patogenów przenoszonych przez SoHO otwiera WNV; dalsze pozycje zajmują kolejno DENV, malaria, choroba Chagasa oraz wirus Chikungunya i leiszmanioza [16].

Poczesne miejsce wśród patogenów stanowiących realne zagrożenie dla bezpieczeństwa transfuzji zarówno w raporcie amerykańskim, jak i europejskim zajmuje DENV. Skalę zagrożenia, jakie może wystąpić w przypadku epidemii, pokazują wyniki badań przeprowadzonych w dużych brazylijskich miastach w okresie od lutego do czerwca 2012 roku. W badaniach blisko 1000 donacji wykazano częstość przeciwciał sięgającą 90%, częstość pojawiania się przeciwciał klasy IgM wynosiła zaś 6%. RNA wirusa wykryto testem TMA, w 0,78% i 0,5% donacji pobranych odpowiednio w Recife i Rio de Janeiro (łącznie przebadano 40 000 donacji). Najwyższa częstość zakażeń w jednym z tygodni epidemii sięgnęła odpowiednio nawet 1,9% i 1%. Zidentyfikowano 6 prawdopodobnych przypadków zakażenia przez transfuzję [18].

Na podstawie obserwacji prowadzonych w trakcie epidemii w roku 2012 badacze z Puerto Rico wykazali, że zakaźność DENV dotyczy zarówno osocza, jak i krwi pełnej. W szczegółowej analizie filogenetycznej wykazano, że od roku 2010 w populacji Puerto Rico krąży genotyp V DENV [19].

W trakcie kongresu zaprezentowano szczegółowe dane dotyczące epidemii DENV na Maderze. Sytuacja epidemiologiczna na tej portugalskiej wyspie była w centrum zainteresowania ze względu na jej położenie — w sąsiedztwie kontynentu europejskiego i dużą popularność wśród turystów. 3 października 2012 roku zarejestrowano 2 przypadki

potwierdzonego zakażenia tym wirusem u mieszkańców Madery. Był to początek pierwszej epidemii na wyspie od czasu pojawienia się w tym rejonie komara odpowiedzialnego za przenoszenie zakażenia (*Aedes aegypti*). Do 3 lutego 2013 roku w populacji liczącej 268 000 mieszkańców odnotowano 2164 przypadki zakażenia. Wśród turystów przybywających z Europy kontynentalnej zarejestrowano 88 przypadków zakażenia (11 przybyszów z Portugalii oraz 67 podróźnych z 13 innych krajów). W związku z zaistniałą sytuacją epidemiologiczną podjęto działania mające na celu ograniczenie ryzyka zakażenia DENV przez krew zarówno w Portugalii, jak i na samej wyspie. Czasową dyskwalifikacją objęto dawców powracających do Portugalii z Madery (28 dni). Podobne ograniczenia dotyczyły osób z gorączką oraz objawami grypopodobnymi (dyskwalifikacja czasowa na okres 28 dni od momentu wyzdrowienia). Dyskwalifikacją czasową na okres 120 dni od chwili wyzdrowienia objęto osoby z potwierdzonym zakażeniem. Bardziej restrykcyjne działania zostały podjęte na samej wyspie: zarządzono kwarantannę i badanie wszystkich jednostek KKCz przygotowanych w ciągu ostatnich 28 dni. Wprowadzono badanie wszystkich donacji metodą łańcuchowej reakcji polimerazy poprzedzoną odwrotną transkrypcją (RT-PCR, *reverse transcriptase polymerase chain reaction*); apelowano do dawców o zgłaszanie wszystkich objawów zaobserwowanych w okresie 15 dni po donacji. Zaprzeszono także produkcji koncentratów komórek płytkowych (KKP) i rozpoczęto sprowadzanie ich z Portugalii kontynentalnej. W okresie od października 2012 roku do lutego 2013 roku zidentyfikowano 44 przypadki zakażeń (częstość 22,6/1000 donacji). W badaniu retrospektywnym metodami serologicznymi wykazano obecność przeciwciał IgM w kolejnych 9 donacjach w okresie poprzedzającym ogłoszenie epidemii (przed 3 października 2013 r.). U dawców zidentyfikowano zakażenie wirusem DENV-I — najbardziej podobnym do wirusów krążących w Ameryce Łacińskiej [20].

W Europie epidemia zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu E (HEV, *hepatitis E virus*) jest udokumentowana wynikami wielu badań. Najnowsze badania holenderskie przynoszą uzupełnienie i aktualizację tych wyników. W Holandii średnio 27% losowo wybranych dawców jest nosicielami przeciwciał anti-HEV klasy IgG (zbadano ok. 5200 dawców), a u 3,5% stwierdzono swoiste przeciwciała klasy IgM (49), u 4 z nich wykryto RNA HEV. W innym badaniu obejmującym ponad 40 000 donacji wykryto RNA wirusa w 14 donacjach. Zidentyfikowano genotypy 3c i 3f zakażające

także hodowle świń w Holandii. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy zwracają uwagę na powszechny charakter bezobjawowego zakażenia HEV wśród dawców krwi w Holandii, gdzie w zasadzie codziennie przetaczane są donacje zakażone tym wirusem [21].

Rutynowe obligatoryjne badania przeglądowe czynników zakaźnych przenoszonych drogą krwi

Testy do badań przeglądowych

W trakcie jednego z wykładów plenarnych poruszono temat metody tak zwanych szybkich testów (*rapid tests*), którą można prowadzić badania przeglądowe w krajach o ograniczonych możliwościach finansowych. Podkreślono jednak niską czułość tych testów w porównaniu z testami immunoenzymatycznymi (EIA, *enzyme immunoassay*), co w konsekwencji oznacza, że ryzyko przeniesienia zakażenia jest nadal stosunkowo wysokie [22].

W prezentacji plakatowej M. Kruk-Janiak z Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) w Poznaniu przedstawiono wyniki badań przeglądowych w kierunku kiły (*treponema pallidum*). Analizowano dane z lat 2006–2012, kiedy badania wykonywano metodami nieswoistymi z wykorzystaniem aglutynacji. Do roku 2009 potwierdzenie wyników odbywało się wyłącznie testem hemaglutynacji (TPHA, *treponema pallidum hemagglutination test*), a w okresie późniejszym dodatkowo metodą immunofluorescencji pośredniej (FTA, *fluorescent treponemal antibody*). Częstość potwierdzonych markerów zakażenia wahała się od 0,01% do 0,03% u dawców pierwszorazowych, a u dawców wielokrotnych była kilkakrotnie niższa (0,001–0,005%) [23].

Ewa Rudowska i wsp. postanowili dokonać oceny wpływu wprowadzenia badań NAT na bezpieczeństwo przetoczeń w tym samym okresie na terenie obsługiwanym przez RCKiK w Katowicach. Przebadano ponad 700 000 donacji i zidentyfikowano 28 donacji seronegatywnych (częstość 39/1 000 000), w tym 4 zakażone HIV (5,6/1 000 000 donacji), 6 HCV (8,4/1 000 000 donacji) i 18 HBV (25,1/1 000 000 donacji) [24].

W trakcie konferencji przedstawiono wyniki porównania czułości analitycznej 3 testów przeglądowych wykorzystujących amplifikację przez transkrypcję (TMA). Do przeprowadzenia tej analizy wykorzystano również dane z badań polskiej służby krwi. Porównanie jest bardzo aktualne, ponieważ oprócz testów Ultrio oraz Ultrio Plus uwzględniono test Ultrio Elite na aparacie Procleix Panther, który

niedawno wprowadzono w wielu krajach europejskich, w tym także w Polsce. Testy Ultrio i Ultrio Elite różni przede wszystkim zastosowanie dodatkowych starterów i sond do wykrywania HIV-2 w drugim z nich. Czulość analityczną kolejnych wersji testów Ultrio określono przez badanie paneli rozcieńczeń WHO IS przygotowanych przez Bio-QControl (Rijswijk, Holandia). W 7 europejskich laboratoriach referencyjnych badano rozcieńczenia standardów międzynarodowych WHO HBV genotyp A (97/750 — 6 rozcieńczeń obejmujących 50–0,05 IU/ml); podtyp 1a HCV (06/100, stężenia 100–0,1 IU/ml) i HIV-1 WHO podtypu B (97/650, stężenia 600–0,6 IU/ml). Panele zostały przetestowane w 32–40, 292–303 i 229–246 powtórzeniach odpowiednio testami Ultrio, Ultrio Plus i Ultrio Elite. W odniesieniu do HBV względna czulość (95% CI) testu Ultrio Elite względem Ultrio Plus się nie różniła. Zarówno Ultrio Plus, jak i Ultrio Elite wykrywały HBV z 2,5-krotnie większą czulością niż test Ultrio. Przedstawione wyniki wskazują na porównywalną czulość analityczną testów Ultrio, Ultrio Plus i Ultrio Elite dla badania HIV-1 i HCV oraz podobną czulość wykrywania HBV testami Ultrio Plus i Ultrio Elite, jednak wyższą niż dla testu Ultrio [25].

W doniesieniach zjazdowych znalazło się podsumowanie stosowania systemu Cobas s201 do prowadzenia badań przeglądowych w indywidualnych donacjach (IDT, *individual donation testing*). Analiza została oparta na wynikach badań IDT prowadzonych w Grecji w latach 2009–2013. Badania objęły 364 000 donacji i prowadzono je w próbkach uprzednio przebadanych metodami serologicznymi. W analizowanym okresie wyniki początkowo reaktywne uzyskano dla 593 donacji (0,48%), z czego w 926 donacjach uzyskano wyniki powtarzalnie reaktywne [26].

Roberta Bruhn podsumowała wyniki analizy ryzyka zakażenia HCV oraz efektywności badań przeglądowych prowadzonych różnymi metodami. Wyliczenia przeprowadzono na podstawie informacji dostarczonych przez międzynarodową grupę badawczą, która zgromadziła dane z 15 państw z różnych kontynentów. Uwzględniono także dane pochodzące z Polski. Przeanalizowano wyniki badania ponad 10 000 000 donacji pobranych w latach 2005–2011. W regionie obejmującym Polskę (północna i centralna Europa) obserwowano zwiększoną liczbę zakażeń w okienku (2,3/1 000 000) w porównaniu z pozostałymi regionami (1,4/1 000 000 donacji). Wyjątek stanowi Egipt, gdzie częstość identyfikacji zakażenia HCV w okienku bije wszelkie rekordy i wynosi 134/1 000 000

donacji! Dane uzyskane dla naszej części Europy są o tyle zaskakujące, że w porównaniu z innymi analizowanymi regionami Europy częstość zakażeń ograniczonych (seropozytywne bez wykrywalnego RNA HCV) oraz seropozytywnych (wynik dodatni zarówno badania anty-HCV, jak i RNA HCV) nie jest najwyższa. Ta obserwacja wymaga dalszej szczegółowej analizy i weryfikacji opartej na większej liczbie danych z naszego kraju i ewentualnego podjęcia próby wyjaśnienia przyczyn takiego stanu rzeczy. Uzyskane dane epidemiologiczne posłużyły do oszacowania ryzyka zakażenia HCV przez przetoczenie KKCz (RBC) przy założeniu, że ID₅₀ wynosi 3,16. Dla dawców pierwszorazowych ryzyko to w przeliczeniu na 1 000 000 donacji wyniosło 0,09 w przypadku jednoczesnego badania pojedynczych donacji metodami molekularnymi (ID-NAT) oraz markerów serologicznych (anty-HCV); 0,16 przy zachowaniu badań anty-HCV oraz badań molekularnych w pulach osocza pochodzącego z 8 donacji oraz 0,18 przy prowadzeniu badań przeglądowych anty-HCV oraz RNA HCV w pulach z 16 donacji. Ryzyko zakażenia pozostaje istotnie wyższe przy założeniu, że badania przeglądowe obejmują jedynie wykrywanie metodami immunoenzymatycznymi antygenu rdzeniowego (HCV-Ag — 1,79/1 000 000 przetoczeń) lub wyłącznie anty-HCV (2,99 zakażeń/1 000 000 donacji) [27].

Inne istotne obserwacje dotyczące czynników zakaźnych przenoszonych drogą krwi

Priony

Dotychczasowe dane przemawiają za prawdziwością hipotezy, że choroby prionowe (TSEs, *transmissible spongiform encephalitis*) mogą być przenoszone drogą krwi. W związku z tym dużym zainteresowaniem cieszą się testy, które mogłyby służyć do prowadzenia badań przesiewowych w przypadkach podejrzenia, że krew potencjalnego dawcy może być istotnym źródłem zakażenia. Podczas kongresu zaprezentowano obiecujące wyniki wieloletnich badań, które doprowadziły do opracowania czułego i swoistego testu do wykrywania we krwi białek odpowiedzialnych za wywołanie wariantu choroby Creutzfeldta-Jakoba u ludzi (PrP^{TSE}) jeszcze na etapie przed wystąpieniem objawów TSE. Wykonanie testu obejmuje 3 etapy: koncentrację PrP^{TSE}, cykliczną amplifikację wadliwego składania białek (PMCA, *protein misfolding cyclic amplification*) i specyficzną detekcję metodą *immunoblot* po częściowym trawieniu proteinazą K. Pierwsza metoda — PMCA — jest

techniką amplifikacji obejmującą nie nukleotydy, jak w przypadku PCR, ale proteiny. Pozwala ona namnożyć priony o nieprawidłowej/patologicznej strukturze przestrzennej. Pierwotnie została opracowana przez Soto i współpracowników i polega na inkubacji niewielkiej liczby nieprawidłowych prionów z nadmiarem normalnego białka. W konsekwencji dochodzi do konwersji do nieprawidłowych białek, których stężenie rośnie lawinowo. Dzięki powtarzaniu cyklu masa normalnego białka maleje, natomiast rośnie masa prionów patologicznych (oznaczanych jako PrPSc) [28]. Dotychczas z powodzeniem przeprowadzono badania krwinek białych, kożuska leukocytarnego oraz osocza (odpowiednio wyjściowa objętość materiału 25 μ l i 500 μ l) w ostrej, bezobjawowej fazie zakażenia u owiec. Planowane są dalsze badania, tym razem u ludzi, szczególnie w grupie wysokiego ryzyka zakażenia [29].

Ludzki wirus cytomegalii (CMV)

Zespół z Irlandii przedstawił analizę ryzyka zakażenia wirusem CMV przez transfuzję. Prezentacja ta jest echem artykułu Zieman i wsp. opublikowanego na łamach „Transfusion” w 2007 roku [30]. Wówczas sugerowano, że resztkowe zakażenie wirusem CMV jest największe w okienku serologicznym. Obecnie badaniami objęto grupę ponad 95 000 dawców. Częstość wykrywania przeciwciał wynosiła 21,97% i była większa u kobiet niż mężczyzn, rosła od 10% w grupie wiekowej 18–20 lat do 40% u najstarszych dawców (61–65%). Istotne różnice występowały między dawcami irlandzkimi i urodzonymi poza wyspą (16,38% *v.* 56,73%). Serokonwersję stwierdzono u 483 dawców (0,77%). Najwyższą jej częstość obserwowano w grupie wiekowej 31–40 lat (1,46% *v.* 0,55% w porównaniu z pozostałymi grupami wiekowymi). U 17,7% dawców, którzy przeszli serokonwersję, wykryto DNA CMV i u nich stwierdzano niską awidność swoistych przeciwciał. Na podstawie wyników badań autorzy sformułowali zalecenie lokalne, aby unikać przetoczeń od dawców po serokonwersji. Podjęte działania mają w szczególności dotyczyć biorców z obniżoną odpornością [31] oraz dawców z serokonwersją, u których poprzednia ujemna donacja nastąpiła niedawno.

Parwovirus B19 (B19V)

Kolejne doniesienie z Polski dotyczyło charakterystyki testu ROCHE COBAS TAQSCREEN DPX przeznaczonego do wykrywania parwovirusa B19V (B19V) u dawców krwi. Test cobas TaqScreen DPX (test DPX) na aparacie Cobas

s 201 służy do ilościowego badania DNA B19V i detekcji RNA wirusa zapalenia wątroby typu A (HAV, *hepatitis A virus*) w ludzkim osoczu. W Polsce badanie DNA B19V wykonywane jest obowiązkowo w osoczu do produkcji anty-D i anty-HBs oraz u dawców krwinek czerwonych używanych do immunizacji oraz fakultatywnie w osoczu do wytwarzania innych produktów osoczo pochodnych. Niektóre testy mogą zaniżać stężenie B19V lub nie wykrywają jego wszystkich form polimorficznych, co jest istotne, ponieważ w polskiej populacji oprócz genotypu 1 krąży również genotyp 2. Podkreśla się, że dobór testów przeglądowych i diagnostycznych, również w naszym kraju, powinien uwzględniać zdolność testu do wykrywania wszystkich form polimorficznych B19V. Na prezentacji plakatowej została przedstawiona ocena przydatności testu DPX do identyfikacji donacji wysokowiremicznych oraz zakażonych formami polimorficznymi B19V. W pierwszej części badań przeprowadzono analizę czułości analitycznej testu przez badanie panelu rozcieńczeń materiału referencyjnego WHO genotypów B19V (09/110) — 6 rozcieńczeń genotypów 1–3 obejmujących stężenia od 31,6 IU/ml do 0,1 IU/ml badano w 24 powtórzeniach każde. W drugiej części analizowano wyniki badań przeglądowych w pulach osocza pochodzącego z 96 donacji oraz w tak zwanych pulach niepełnych, wykonanych retrospektywnie (grupa I) i prospektywnie (grupa II). Grupa I składała się z 816 donacji niereaktywnych w badaniu testem RealArt Parvo B19 PCR Kit Artus oraz z 3 próbek z DNA B19V od 5×10^4 IU/ml do ponad 10^9 IU/ml. Grupę II stanowiło 112 675 donacji. Limit detekcji (LOD, *limit of detection*) 50- i 95-procentowy dla testu DPX wynosił odpowiednio: 3,1 IU/ml (2,3–4,2) i 11,7 IU/ml (7,8–23,6) dla genotypu 1; 1,1 IU/ml (0,8–1,5) i 4,6 IU/ml (3,0–10,0) dla genotypu 2 oraz 0,6 IU/ml (0,4–0,8) i 2,3 IU/ml (1,5–5,0) dla genotypu 3. Wyniki badania próbek z grupy I były w 100% zgodne z wynikami spodziewanymi, aczkolwiek próbki z B19V DNA powyżej 10^9 IU/ml (powyżej zakresu liniowości testu) wymagały 1000-krotnego rozcieńczenia w celu uzyskania wyników ważnych. Podczas badania II grupy 5 (6,7%) spośród 73 serii wymagało powtórzenia ze względu na nieważny wynik podwójnej kontroli dodatniej (2–2,7%) oraz standardu wysokiej wiremii B19 (3–4,1%). W 5/1254 pul stwierdzono B19V-DNA powyżej 10^4 (9,65 $\times 10^5$ IU/ml do $1,63 \times 10^{12}$ IU/ml). Autorzy wnioskowali, że test DPX pozwala prawidłowo identyfikować dawców, których osocze może spowodować przekrocze-

nie dopuszczalnego poziomu 10^4 IU/ml w puli produkcyjnej w procesie produkcji składników osoczo pochodnych [32].

W kontekście szczegółowego opisu nieimmunologicznego obrzęku płodu i leczenia za pomocą transfuzji dopłodowej autorzy z Irlandii zwrócili uwagę na konieczność rozważenia zasadności badania markerów zakażenia B19V w przypadku przetaczania jakichkolwiek składników krwi kobietom w ciąży. Jest to problem podnoszony również przez klinicystów w Polsce i bez wątpienia warto rozważyć możliwość i zasadność podjęcia tego typu działań w celu zwiększenia bezpieczeństwa przetoczeń u kobiet w ciąży. Co prawda, nie opisano dotychczas przypadku przeniesienia zakażenia B19V przez dopłodową transfuzję KKCz, należy jednak pamiętać, że wielokrotnie udokumentowano przeniesienie zakażenia przez ten rodzaj składnika krwi na biorców z innych grup. Nie można zatem wykluczyć takiego ryzyka również w przypadku ciężarnych. Konieczność jego oszacowania jest wciąż aktualna [33].

Bakterie

W centrum uwagi nadal znajdują się zakażenia bakteryjne stanowiące główną przyczynę ostrych powikłań potransfuzyjnych. O ile ryzyko zakażenia wirusami HCV, HBV czy HIV zostało obniżone do poziomu poniżej 1:1 000 000 donacji, o tyle zakażenia bakteryjne stanowią problem istotniejszy. Ogólnie ryzyko zakażenia szacuje się na 1:2000 do 1:3000, a prawdopodobieństwo śmiertelnej sepsy w następstwie przetoczenia zakażonej krwi waha się od 1:100 000 do 1:1 000 000. W trakcie wykładu plenarnego M. Schmidt, analizując strategie realizowane w różnych krajach, dokonał przeglądu różnych metod zapobiegania przeniesieniu zakażeń bakteryjnych przez transfuzję [34]. Wiadomo, że zagrożenie związane z zakażeniami bakteryjnymi dotyczy przede wszystkim przetoczeń płytek krwi, które są przechowywane w temperaturze 18–22°C. W USA 87% śmiertelnych powikłań w latach 2005–2009 nastąpiło właśnie w następstwie przetoczenia zakażonych KKP, w Wielkiej Brytanii zaś 83% przeniesień zakażeń bakteryjnych dotyczy właśnie płytek. Zakażenie składnika krwi może przebiegać według 3 scenariuszy:

- bakterie mogą nie przetrwać w środowisku składnika krwi;
- bakterie mogą przetrwać w małej liczbie, w określonych warunkach przechowywania składnika krwi, jednak się nie namnażać;
- bakterie mogą się namnożyć w jednostce składnika krwi (do poziomu 10^8 – 10^{12} cfu/ml).

Szczególnie wariant ostatni wiąże się z najwyższym prawdopodobieństwem wystąpienia istotnych klinicznie następstw. Bakterie, w przeciwieństwie do wirusów, zachowują zdolność do namnażania się w pobranej krwi, dlatego obecnie jednym z najważniejszych wyzwań stojących przed badaniami bakteriologicznymi jest ustalenie, kiedy należy prowadzić badania, w jakiej objętości składnika i jakim testem. Idealny test powinien się charakteryzować krótkim czasem wykonania (maks. 2 godz.), wysoką czułością (1 cfu/ml), powinien być specyficzny, niedrogi i łatwy w zastosowaniu. Niestety, żaden z dostępnych obecnie testów nie spełnia wszystkich tych kryteriów. Najpowszechniej używany na świecie system BacT/ALERT jest uważany za złoty standard — czułość hodowli wynosi 1–10 cfu/ml, jednak czas uzyskania wyniku to od 18 godz. do 24 godz. [35]. Inne testy pozwalają na znacznie wcześniejsze uzyskanie wyniku, jednak nie są tak czułe: Bacti-flow — 100 cfu/ml; Verax wykorzystuje cytometrię przepływową (10^3 – 10^5 cfu/ml). Za pomocą BacTx identyfikuje się antygeny ściany bakteryjnej (10^3 – 10^4 cfu/ml), z kolei przy użyciu PhSAFE wykrywa się bakterie na podstawie zmian pH. Do innych sposobów ograniczania ryzyka zakażenia bakteriami przez transfuzję zaliczamy odrzucenie pierwszych 10–40 ml krwi oraz stosowanie metod inaktywacji patogenów. Wielu prelegentów podczas tej konferencji wyrażało przekonanie, że zapobieganie infekcjom bakteryjnym przenoszonym przez krew jest problemem nadal wymagającym rozwiązania; szczególnie potrzebna jest debata nad wyborem procedur najtańszych i o najwyższym poziomie efektywności [34].

Warto jeszcze wspomnieć o interesujących doniesieniach z Włoch, wskazujących na związek pomiędzy antygenami znajdującymi się na płytkach krwi a przebiegiem zakażenia HCV. Ze wstępnej analizy wyników badań wynika, że obecność antygenów HPA3ab lub HPA3bb jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia marskości u osób przewlekle zakażonych wirusem HCV [36], a u osób z antygenem HPA3aa, nawet jeśli nie doszło do marskości wątroby, średnia liczba płytek we krwi obwodowej jest istotnie statystycznie mniejsza [37]. Trombocytopenia u osób zakażonych HCV może być skutkiem różnych czynników: procesów autoimmunologicznych, inhibicji szpiku kostnego, zmniejszenia produkcji erytropoetyny w wątrobie. W badaniach potencjalnie zdrowych dawców, u których stwierdzono zakażenie, wykazuje się statystycznie istotnie większą częstość przeciwciał skierowanych do płytek krwi, głównie

anty-GP(3a), u osób zakażonych niż u niezakażonych (55% *v.* 6,4%). Doniesienia te są cenne ze względu na rozbieżne dane literaturowe. Wobec tych obserwacji dalsza analiza tego problemu wydaje się konieczna, podobnie jak poszukiwanie dodatkowych czynników sprzyjających wytwarzaniu autooprzeciwciał do antygenów płytkowych w trakcie zakażenia HCV [38].

Piśmiennictwo

1. Goldman R. Donor selection for recipient safety. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 6.
2. Bruhn R., Moreno E., Sabino E. i wsp. Self-disclosed test seeking and HIV exposure risk among blood donors in Brazil. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 47–48.
3. Gonzalez T.T., Blatyta P.B., Montebello S. i wsp. Past negative experiences with HIV testing predicts test-seeking motivation among blood donors, Sao Paulo, Brazil. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 119–120.
4. Suligoi B., Pupella S., Regine V. i wsp. Low perception of the risk of HIV infection among repeat and first-time blood donors in Italy. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 48–49.
5. Nobre Fernandes S., Koch C., Araujo F. Analysis of risk behaviors in HIV positive blood donors in a Portuguese Hospital Blood Center. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 49.
6. Farnes Z., Kjollesdal J.G., Bjertnaes O.A., Flesland O. User evaluation of the Norwegian blood donor questionnaire. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 105.
7. Orton S.L., Stramer S.L., Dodd R.Y., Alter M.J. Risk factors for HCV infection among blood donors confirmed to be positive for the presence of HCV RNA and not reactive for the presence of anti-HCV. *Transfusion* 2004; 44: 275–281.
8. Grabarczyk P., Czerwinski M., Rosinska M. i wsp. Transfusion Cvpb. Risk factors for infection among recently HCV infected blood donors in Poland. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 182.
9. Lelie P.N., Bruhn R., Custer B., Busch M., Kleinman S. Prevalence of HBV infection in six geographical regions and clinical sensitivity of HBsAg and HBV-DNA screening. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 55–56.
10. Vermeulen M., Coleman C., Van Drimmelen H. i wsp. Enhanced detection of window period and occult hepatitis B infection by the Ultrio Plus Assay in donor samples with varying HBV-DNA. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 56.
11. Tsoi W.-C., Lelie N., Lin C.-K. Enhanced detection of hepatitis B virus in Hong Kong blood donors after introduction of a more sensitive Transcription-Mediated Amplification Assay. *Transfusion* 2013; 53: 2477–2488.
12. Kopacz A., Gdowska J., Gorska J. i wsp. Sensitivity of the Ultrio and Ultrio Plus Assay versions in detecting window period and occult hepatitis B infection in Polish blood donors. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 178.
13. Grabarczyk P., Van Drimmelen H., Kopacz A. i wsp. Head-to-head comparison of two transcription-mediated amplification assay versions for detection of hepatitis B Virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus Type 1 in blood donors. *Transfusion* 2013; 53: 2512–2524.
14. Stramer S.L., Hollinger F.B., Katz L.M. i wsp. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion* 2009; 49: 1s–235s.
15. Stramer S.L. Current perspectives in transfusion-transmitted infectious diseases: emerging and imported infections, including parasites. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 8.
16. Domanovic D. Prioritisation of arthropod-borne diseases as urgent threats for transmission through substances of human origin in European Union. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 196.
17. Janssen M.P., Oei W., Neslo R.E.J. Prioritizing emerging pathogens in transfusion safety through expert elicitation. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 195–196.
18. Linnen J.M., Gao K., Carrick J.M. i wsp. A Duplex Transcription-Mediated Amplification (TMA) assay for the simultaneous quantitation of Parvovirus B19 DNA and qualitative detection of hepatitis A virus RNA on a fully automated instrument system. *Transfusion* 2011; 51: 5A.
19. Rios M., Anez G., Heisey D. i wsp. Molecular, virological and phylogenetic characterization of Dengue virus Types 1 and 4 infecting blood donors from Puerto Rico, 2012. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 57–58.
20. Escova M.A., Sousa G., Freitas B. i wsp. Dengue outbreak in Madeira Island (Portugal) blood safety measures. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 192–193.
21. Zaaijer H.L., Slot E., Molier M., Hogema B.M. Frequent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 58.
22. Laperche S. Testing for established viruses: from the screening to the confirmation. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 6.
23. Krug-Janiak M. The number of *Treponema Pallidum* (Tp) infections among the blood donors of The Regional Blood Centre in Poznan. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 189.
24. Rudowska E., Basta L., Drybanska B., Dylag S. The influence NAT testing on the blood transfusion safety in the operating area Regional Blood Centre and blood treatment in Katowice in years 2006–2012. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 166–167.
25. Grabarczyk P., Gdowska J., Koppelman M.M. i wsp. Equivalent analytical sensitivity of three triplex Transcription Mediated Amplification (TMA) assay versions. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 174.
26. Varaklioti A., Kontopanou A., Georgieva L. i wsp. Individual donor NAT testing using the Cobas S201 system: 4 years experience in a Molecular Blood Transfusion Center. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 173.
27. Bruhn R., Lelie N., Custer B., Busch M., Kleinman S. HCV transmission risk and efficacy of screening strategies estimated from data provided by an International NAT Study Group. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 180.
28. Saborio G.P., Permanne B., Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature* 2001; 411: 810–813.
29. Segarra C., Bougard D., Beringue V., Coste J. An amplification assay for the presymptomatic detection of prion in blood. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 47.
30. Ziemann M., Krueger S., Maier A.B. i wsp. High prevalence of cytomegalovirus DNA in plasma samples of blood donors in connection with seroconversion. *Transfusion* 2007; 47: 1972–1983.
31. O'riordan J.M., Creighton D., Connell J., Williams P. CMV seroprevalence, seroconversion and primary CMV infection in the Irish donor population. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 56–57.
32. Grabarczyk P., Kopacz A., Liszewski G. i wsp. Evaluation of the Roche Cobas (R) Taqscreen DPX test for Parvovirus B19

- DNA genotypes detection in blood donors. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 172.
33. Quigley J., Doyle B., Burke E. i wsp. Non immune hydrops due to Parvovirus B19 in pregnancy: a case report. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 250–251.
 34. Schmidt M.S. Bacterial contamination of blood products. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 33.
 35. McDonald C.P. Transfusion risk reduction: testing for bacteria. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 7–8.
 36. Gentile L., Fratellanza G., Meola M. i wsp. Human platelet antigen genotypes as predictors of liver cirrhosis in patients with HCV chronic infection. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 239.
 37. Fratellanza G., Gentile L., Meola M. i wsp. Human platelet antigen 3 genotype is an independent predictor of platelet count in patients with chronic hepatitis C. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 239–240.
 38. Dell'aversana M.R., De Caprio G., Munno E. i wsp. Correlation between hepatitis C and anti platelets antibodies. *Vox Sanguinis* 2013; 105: 243.