

Krví přenosné choroby a jejich testování v ZTS

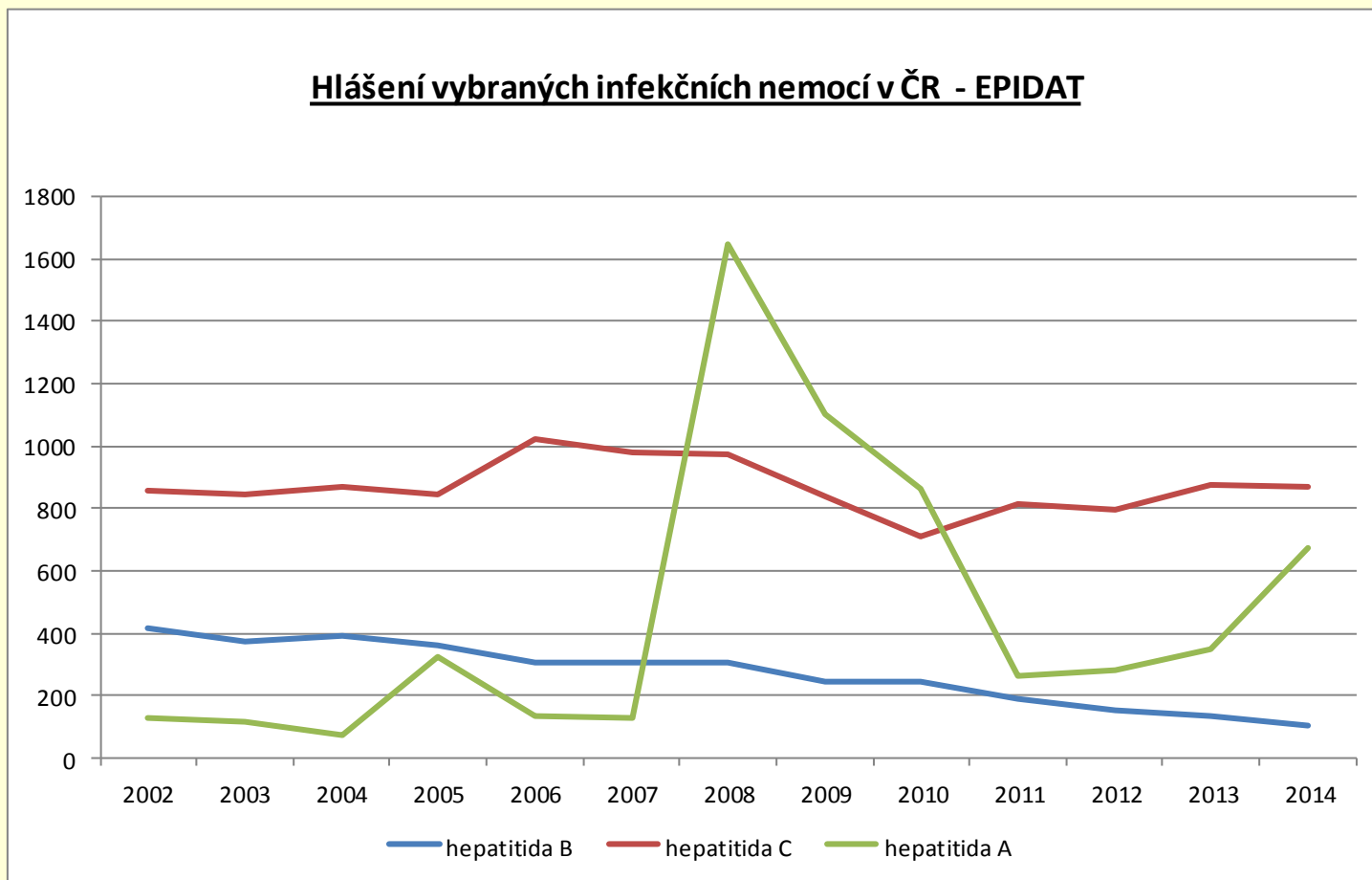
Infekční komplikace transfuze

Krví přenosné choroby z infikovaného dárce na příjemce transfuze

Každé infekční agens, které se v průběhu infekčního cyklu objeví v krvi, může být přeneseno transfuzí

- převážně virové infekce
- vzácněji infekce parazitární, bakteriální
- infekce prionové

Virové infekce – hepatotropní viry



Virové infekce – hepatotropní viry

Virus hepatitidy B (HBV)

- ❑ **Obalený DNA virus**
- ❑ **Přenos:** krví a krevními deriváty, sekrety (sliny, sperma, mateřské mléko), homosexuálním a heterosexuálním stykem, kontaminovanými jehlami a z matky na dítě
- ❑ **Inkubační doba:** 30 – 180 dní
- ❑ V průběhu infekce virus HB produkuje velké množství povrchového antigenu viru hepatitidy B (HBsAg) – jeden z nejdůležitějších markerů využívaných k diagnostice HBV infekce (detekovatelný 50 – 60 dní po infekci)
- ❑ HBsAg přetrvává během akutní fáze a vymizí během rekonvalescence
- ❑ Pokud HBsAg nevymizí během 6 měsíců stává se pacient chronickým nosičem HBsAg
- ❑ Celosvětově chronicky infikováno HBV je asi 350 milionů lidí
- ❑ ČR patří mezi státy s nízkou prevalencí infekce HBV (0,56% občanů ČR je chronicky infikováno HBV)
- ❑ Ročně je v ČR hlášeno 200 – 400 případů akutních virových hepatitid B
 - Do chronického stadia přejde méně než 5% akutních hepatitid B u dospělých imunokompetentních pacientů
 - Imunokompromitovaní pacienti (protinádorová, imunosupresivní léčba, HIV+, hemodialyzovaní) mají sníženou schopnost rozeznat nebo eliminovat infekci HBV – do chronicity přechází více než 50%
 - Novorozenci infikovaní od matky – pravděpodobnost vzniku chronicity 90%
 - Děti mladší 5 let – pravděpodobnost chronicity 25-50%

Konfirmovaná HBV u dárců krve v letech 2008-2014
(podle statistiky UZIS/MZ/STL)

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Konfirmovaná HBV	35	45	44	42	30	31	37
z toho prvodárci	27	37	35	29	21	22	21
z toho opakovaní dárce	8	8	9	13	9	9	16

Virové infekce – hepatotropní viry

Virus hepatitidy C (HCV)

- ❑ **Obalený RNA virus**
- ❑ **Prenos:** krví a krevními deriváty, z matky na dítě, kontaminovanými jehlami – IUD dnes dominantní
- ❑ **Inkubační doba:** 15 – 150 dní
- ❑ Infekce probíhá jen asi ve 25% symptomaticky (jako mírné onemocnění bez ikteru)
- ❑ Chronicky infikovaných zůstává 75 – 85% nemocných VHC (cirhóza, riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu)
- ❑ Virus hepatitidy C patří v současné době k nejvýznamnějším parenterálně přenosným infekčním agens
- ❑ - ve srovnání s jinými typy hepatitid význam VHC narůstá
- ❑ - odhaduje se, že v Evropě je infikováno 1% populace (gradient nárůstu od severu k jihu)
- ❑ skandinávské země 0,1 - 0,2%
- ❑ střední Evropa 0,5%
- ❑ jižní Evropa a Španělsko 2,5% Itálie 3,5%
- ❑ východní Evropa : Estonsko 2,5%, Ukrajina 4,0%, Rumunsko 6%
- ❑ ČR – dle kvalifikovaných odhadů 0,3 – 0,5% (nízká prevalence)

**Konfirmovaná HCV u dárců krve v letech
2008-2014**

(podle statistiky UZIS/MZ/STL)

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Konfirmovaná HCV	80	142	96	134	111	149	138
z toho prvodárci	63	126	77	106	87	119	97
z toho opakovaní dárci	17	16	19	28	24	30	41

Virové infekce – hepatotropní viry

Virus hepatitidy A

- ❑ **Neobalený RNA virus**
- ❑ **Přenos:** orofekální (do organismu vstupuje přes trávicí trakt)
- ❑ **Inkubační doba:** 15 – 45 dní, virémie trvá 2 – 4 týdny
- ❑ Nekomplikovaná hepatitida A trvá 3 týdny – měsíc, zpravidla končí uzdravením
- ❑ HAV nevyvolává chronické perzistentní infekce
- ❑ Riziko odběru krve u dárce ve stadiu virémie je minimální (klinické příznaky, zvýšená hladina ALT)

- ❑ Epidemie ČR: 1979 (30 000 případů), potom ročně cca 3 500 případů, historické minimum v roce 2004 (70 případů)
2008/2009 – 73,6 případů na 100 000 obyvatel (ze rok 2009 1648)

Virové infekce - hepatotropní viry

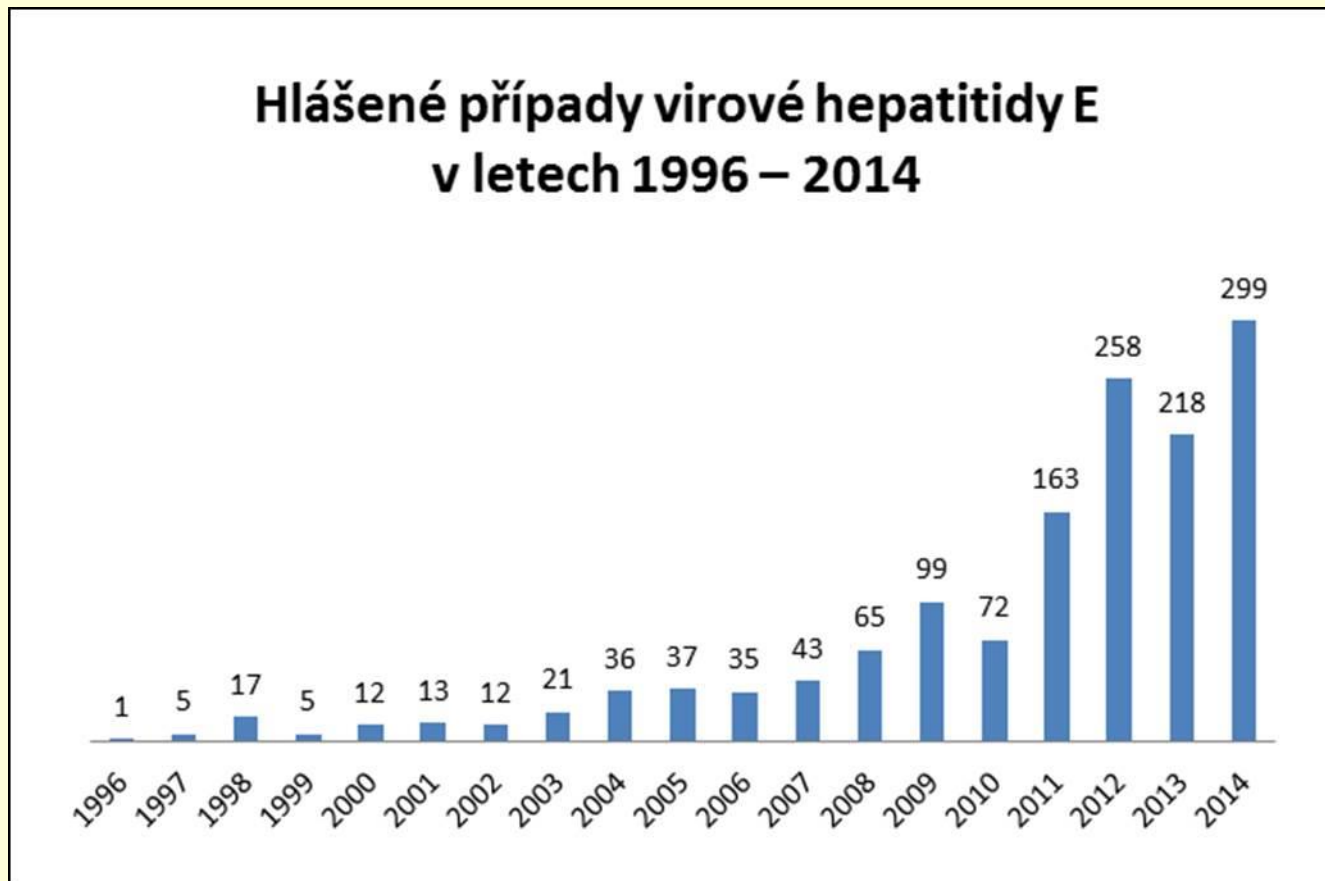
Virus hepatitidy E

- Malý neobalený RNA virus hepatitidy E (VHE)
- U lidí jsou prokázány infekce genotypem 1 a 2, genotyp 3 a 4 se vyskytuje u lidí i u zvířat
- V uplynulých desetiletích byl v industrializovaných zemích kromě dlouho známého přenosu fekálně-orálního popsán i přenos zoonotický a krevními transfuzemi
- Klinický obraz onemocnění: asymptomatický, manifestní i fulminantní, těžký průběh u těhotných (mortalita 15-25% u genotypu 1)
- Cesta přenosu: vodou, kontaminovanými potravinami, nedostatečně tepelně upraveným masem, kontaktem, parenterálně – transfuzí, transplantovanou tkání)
- Byla registrovaná první vakcína, zatím na čínském trhu

Virové infekce - hepatotropní viry

Virus hepatitidy E v ČR

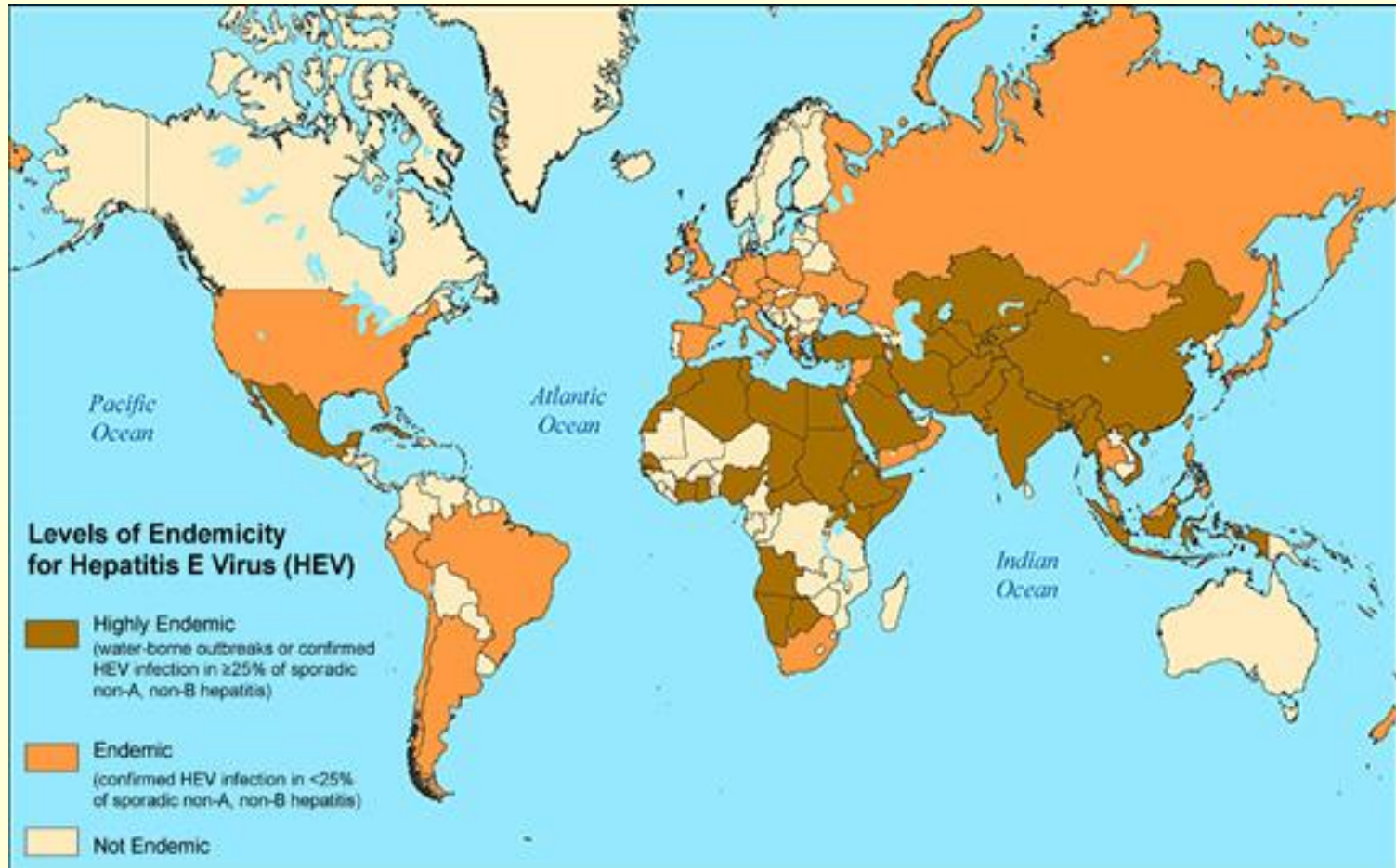
(zdroj SZÚ)



Virové infekce - hepatotropní viry

Virus hepatitidy E ve světě

(zdroj CDC)



Virové infekce - hepatotropní viry

Virus hepatitidy G (HGV)

- ❑ **RNA virus** s podobnými vlastnostmi jako HCV
- ❑ **Přenos:** parenterálně – krví, krevními deriváty, možný též sexuální přenos
- ❑ Klinické důsledky přenosu VHG krevní transfuzí dosud nebyly zjištěny, jeho patogenita nebyla dosud prokázána
 - Kombinované infekce HGV s HCV nebo HBV mají těžší průběh
- ❑ Infikovaní imunokompetentní jedinci produkují neutralizační protilátky proti proteinům obalu VHG s následnou eliminací viru

Virové infekce – hepatotropní viry

Transfuzí přenosný virus (TTV)

- ❑ **Neobalený DNA virus**
- ❑ **Výskyt:** - TTV byl zjištěn u velké části osob s akutním či chronickým jaterním onemocněním
 - infekce TTV je v běžné populaci častá, až 92% populace (i.v. narkomani, prostitutky, homosexuálové a hemofilici – promořenost vyšší než u ostatní populace)
- ❑ **Přenos:** krví a krevními produkty, pravděpodobně existují i neparenterální cesty přenosu (fekálně-orální cesta), často se nachází ve stolici, též ve slinách, slzách a spermatu
- ❑ **Patogenita a klinické příznaky:** Nebyl dosud prokázána příčinná souvislost s žádným onemocněním, není jasné zda současná infekce HBV nebo HCV vede k rychlejší progresi onemocnění, nevyvolává klinické příznaky.

Vztah mezi TTV a hepatitidou se intenzivně zkoumá.

Virové infekce - retroviry

A) Viry lidského získaného imunodeficitu

HIV 1/2

B) Lidské T-lymfotropní viry

HTLV I/II

Virové infekce - retroviry

HIV 1/2

- ❑ **Obalený RNA virus**
- ❑ **Přenos:** parenterálně krví a krevními deriváty, sekrety (mateřské mléko), kontaminované jehly (IUD), z matky na dítě, homosexuální i hetrosexuální pohlavní styk
- ❑ **Inkubační doba:** HIV patří k pomalým virovým nákazám, onemocnění se po různě dlouhé latenci od okamžiku nákazy rozvíjí plíživě po řadu let se stupňujícími se známkami deficitu imunologické obrany až k úplnému selhání
 - rozvinutý syndrom AIDS
 - 1. za 2-3 týdny po infekci PRIMÁRNÍ SYNDROM (chřipkové příznaky, zvětšené lymfatické uzliny)
 - 2. Období latence – bez příznaků, různě dlouhé
 - 3. PGL – ARC - AIDS

Virové infekce - retroviry

HIV 1

Skupina M (Major – hlavní)

- viry skupiny M jsou rozšířené po celém světě
- genetické subtypy skupiny M: A, B, C, D, F, G, H, J, K + cirkulující rekombinantní formy (CRF)

Skupina O (Outlier – odlehlá)

- viry skupiny O byly relativně vzácné a endemické ve středozápadní Africe
- infekce skupiny O však byly identifikovány v Evropě a v USA

Skupina N (non-M, non-O)

- viry skupiny N jsou relativně vzácné a endemické ve středozápadní Africe

Virové infekce - retroviry

HIV 2

- **Genetické subtypy A – G**
- **Většinu infekcí vyvolávají subtypy A a B**
- **Endemický v západní Africe**
- **Identifikovány infekce též v USA, Evropě i Asii**
- **Podobnost s HIV-1: strukturální morfologie, způsob přenosu, schopnost vyvolávat AIDS**
- **Méně patogenní než HIV-1, delší období latence, pomalejší postup onemocnění**

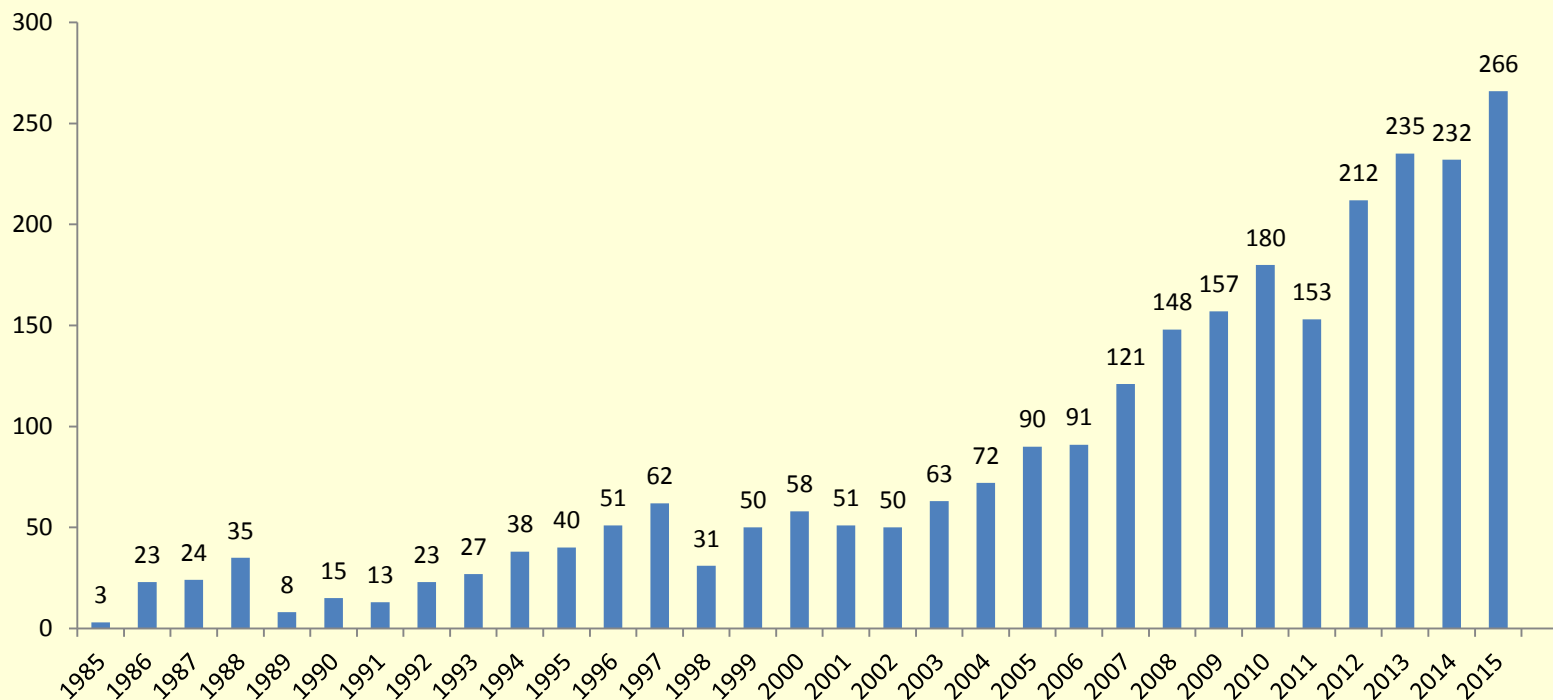
HIV POZITIVNÍ PŘÍPADY V ČR PODLE ZPŮSOBU PŘENOSU

Kumulativní údaje ke dni 31.12.2015

ZPŮSOB PŘENOSU	CELKOVY POČET HIV+		
	Muži	Ženy	Celkem
Homosexuální/ bisexuální	1694	0	1694
Injekční uživatelé drog (IUD)	71	27	98
IUD + homosexuální/bisexuální	50	0	50
Hemofilici	17	0	17
Příjemci krve a krevních přípravků	11	3	14
Heterosexuální	299	352	651
Matka-dítě	4	3	7
Nozokomiální	1	3	4
Nezjištěný	67	11	78
Celkem občané ČR/rezidenti	2 221	399	2 620
Cizinci	279	125	404
Celkem HIV+	2 500	524	3 024

Nové případy infekce HIV v české republice

v jednotlivých letech (jen občané ČR a cizinci s trvalým pobytem)
Absolutní údaje ke dni 31.12.2015



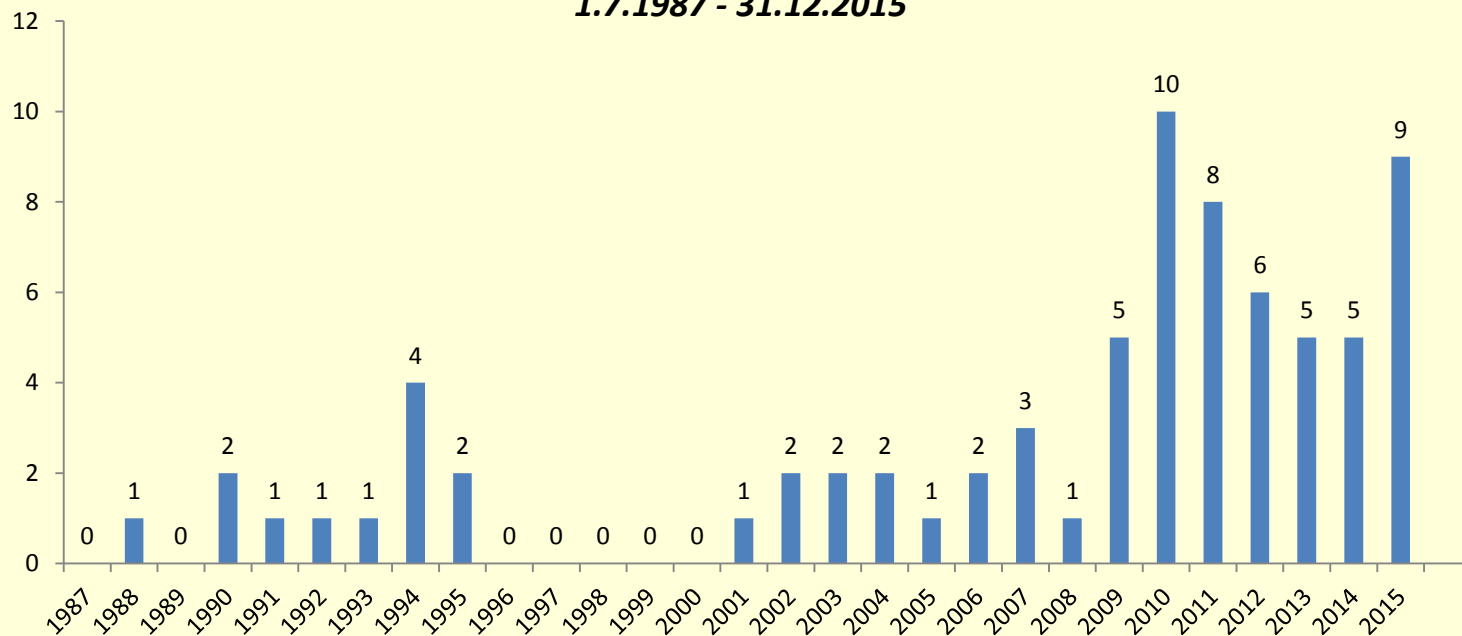
HIV POZITIVNÍ CIZINCI V ČR - Podle původu – geografické oblasti
Kumulativní údaje ke dni 31.12.2015

Geografická oblast	Muži	Ženy	Celkem
ZÁPADNÍ EVROPA	46	11	57
STŘEDNÍ EVROPA	41	9	50
VÝCHODNÍ EVROPA	77	55	132
SUBSAHARSKÁ AFRIKA	62	45	107
SEVERNÍ AFRIKA A BLÍZKÝ VÝCHOD	6	0	6
JIŽNÍ A JIHOVÝCHODNÍ ASIE	21	4	25
VÝCHODNÍ ASIE A OCEÁNIE	1	1	2
AUSTRÁLIE A NOVÝ ZÉLAND	0	0	0
SEVERNÍ AMERIKA	18	0	18
KARIBSKÁ OBLAST	0	0	0
JIŽNÍ AMERIKA	7	0	7
CELKEM	279	125	404

Testování krevních vzorků v transfúzní službě

v jednotlivých letech

1.7.1987 - 31.12.2015



**Konfirmovaná HIV+ u dárců krve v letech
2010 - 2015**
(podle statistiky UZIS/MZ/STL)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Konfirmovaná HIV +	10	8	9	5	6	9
z toho prvodárci	3	1	4	1	3	1
z toho opakovaní dárce	7	7	5	4	3	8

Virové infekce - retroviry

Lidský T-buněčný lymfotropní virus typu I (HTLV I)

- ❑ **Obalené RNA viry**
- ❑ **Přenos:** transfuzí krve (nikoliv však plazmou, nákaza je vázána na buňky), sexuálně , z matky na dítě prokazatelně zprostředkovaný mateřským mlékem
- ❑ Infekce probíhá většinou inaparentně
- ❑ Endemické oblasti: jižní Japonsko, karibská oblast, Afrika
 - protilátky v těchto oblastech má 5-15% zdravých osob
 - u 2 až 5% nosičů se vyvíjí zhoubná leukemie
- ❑ ATL – T-lymfom dospělých (zhoubný nádor buněk imunitního systému –T lymfocytů)
 - onemocnění se manifestuje jako kožní léze, doba přežití při akutní ATL je kratší než rok
- ❑ V současnosti jsou oba viry rozšířeny po celém světě v důsledku migrace nosičů z endemických oblastí hlavně do Evropy a USA
- ❑ Odhaduje se, že virem HTLV I je celosvětově infikováno 20 – 30 milionů lidí (zejména narkomani, prostituující osoby)

Virové infekce - retroviry

Lidský T-buněčný lymfotropní virus typu II (HTLV II)

- ❑ **Obalené RNA viry**
- ❑ **Přenos:** transfuzí krve, nejčastěji je infekce zjišťována u uživatelů intravenozních drog
- ❑ **Výskyt:** promořenost v ostatních částech světa mimo uvedené endemické oblasti výskytu je nízká
- ❑ Infekce tímto virem jsou spojovány s výskytem některých druhů leukemií a lymfomů

Virové infekce - herpesviry

Cytomegalovirus (CMV)

- ❑ CMV má vysokou prevalenci – infikováno až 100% dospělé populace
 - ve vyspělých zemích západní Evropy je infikováno 60 – 70%
- ❑ Po překonané nákaze virus vždy latentně perzistuje v organismu po zbytek života a jeho replikace může být aktivována v podmínkách imunosuprese (primární infekce probíhá většinou inaparentně, méně často s příznaky IM nebo hepatitidy)
- ❑ ŠIROKÉ SPEKTRUM HOSTITELSKÝCH BUNĚK: makrofágy, endotelie, lymfocyty, granulocyty, epiteliální buňky, fibroblasty
- ❑ **Přenos:** Sliny, sperma, poševní sekret, mateřské mléko, úzkým kontaktem s osobou vylučující virus nebo transplacentárně, transfuzí nebo transplantovanou tkání
- ❑ Primární potransfuzní infekce u příjemce s intaktním imunitním systémem je obvykle asymptomatická
- ❑ OSOBY SE SNÍŽENOU SCHOPNOSÍ IMUNOLOGICKÉ OBRANY:
 - přenos nákazy transfuzí nebo infikovaným štěpem (ledvina, kostní dřeň)
 - aktivace latentní infekce při terapii imunosupresiv
- ❑ U imunodeficientních jedinců je třeba věnovat pozornost prevenci přenosu CMV infekce
 - používání krevních přípravků od séronegativních dárců
 - Deleukotizace - odstranění leukocytů z transfuzního přípravku na hodnotu $\leq 1 \times 10^6$ leukocytů/TU se provádí systémem „pre-storage“ (při procesu výroby transfuzního přípravku) nebo „post-storage“ (filtrací).

Virové infekce – jiné

Lidský parvovirus B 19

Neobalený DNA virus

Přenos: aerosolem, přímým kontaktem, transplacentárně na plod, krevní transfuzí

- přenos transfuzním přípravkem od jednoho dárce málo častý
- naopak riziko přenosu je velké v případě koncentrátů faktorů srážlivosti krve

Průběh nákazy: většinou inaparentně, před dosažením dospělosti má protilátky 60 – 80% osob

Patogeneze a klinické příznaky:

- virus napadá, množí se a rozkládá se ve vývojových buňkách červené krevní řady
- u normálního hostitele (ohraničená aplázie červených krvinek s následnou vyrážkou – pátá dětská nemoc, dospělí artropatie bez erythema infectiosum)
- pacienti s hematologickými poruchami a imunodeficientní pacienti (až akutní nebo chronická anemie)
- těhotné ženy (komplikace, spontánní potrat)

Molekulárně biologické testy – účinná prevence přenosu

Virové infekce - jiné

West Nile virus (WNV)

- ❑ **RNA virus**
- ❑ Původce západonilské horečky
- ❑ **Přenos:** zdrojem nákazy jsou různá zvířata a ptáci (psi, kočky, veverky, vrabci), vektorem je komár, byl popsán přenos transfuzí krve, orgánovou transplantací, transplacentárně i mateřským mlékem
- ❑ **Výskyt:** Afrika, Eurasie, Austrálie, od roku 1999 také Severní Amerika
Epidemie: 1996 Rumunsko, 1999 jižní Rusko, 1999 USA (New York), v USA od roku 1999 do roku 2006 zaznamenáno 19 000 případů, infekce se stále šíří
Situace v ČR: jižní Čechy – výskyt protilátek u 2% krav a koní, 4% zajíců (1979, Grešíková a kol.)
jižní Morava – výskyt protilátek u 8% lovné zvěře (daňci, divoká prasata, zajíci) a u 10% komárů (začátek 90.let, Juřicová a kol.)
Břeclavsko – po povodni 1997 protilátky prokázány u 2% z 619 vyšetřených obyvatel, u 5ti z nich se před tím objevili klinické příznaky WNF
rok 2002 – 1. popsáný importovaný případ infekce WNV z USA do ČR
rok 2007 – 2. importovaný případ infekce WNV pravděpodobně z Kypru
- ❑ **Klinické projevy:** - převážná většina infekcí proběhne asymptomaticky (80%)
 - 20% se manifestuje jako WNF (horečka, zimnice, bolesti hlavy a svalů, břicha, průjem)
 - pouze v 1% případů postižení nervového systému (meningitida, encefalitida)

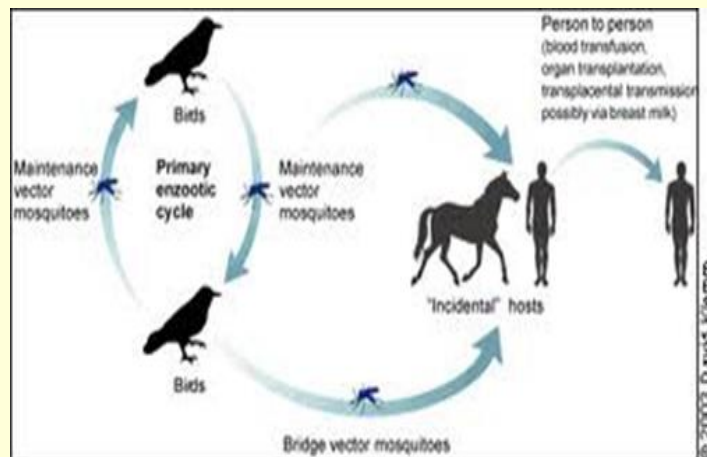
Epidemiologické údaje WNV

Přenos ze zvířete na člověka

- Expozice poštípání komárem v oblasti
 - A) s endemickým výskytem WNV u koní a ptáků
 - B) s extrémním přemnožením komárů, zejména v souvislosti se záplavami

Přenos z člověka na člověka (krví a tkáněmi)

- Transfuze krve
- Transplantace
- Transplacentárně



Virové infekce - jiné

West Nile virus (WNV)

Onemocnění u potenciálního dárce

- Po prodělání západonilské horečky se potenciální dárce krve vylučuje dočasně na dobu 120 dní po úplném uzdravení
- Návštěva rizikové oblasti s výskytem infekce virem západonilské horečky - potenciální DK se vylučuje dočasně na dobu 4 týdnů po návratu, pokud nebyly klinické příznaky

Distribution of West Nile fever cases by affected areas, European region/Mediterranean basin
Transmission season 2013 (latest update 05/06/2014)



Distribution of West Nile fever cases by affected areas, European region and Mediterranean basin
Transmission season 2015; latest data update 3 Sep 2015



Distribution of West Nile fever cases by affected areas, European region and Mediterranean basin
Transmission season 2014; latest update 30 October 2014



Virus Dengue

- RNA virus s lipidovým obalem (flavivirus)
- Vektor: komár *Aedes* sp., rezervoár: člověk
- V endemických oblastech potvrzen přenos transfuzí krve
- Inkubační doba: 3 – 14 dní
- Virémie: 6-11 dní (asi 2 dny před symptomy)
- Klinické příznaky: 50 % asymptomatická, horečka, exantém, někdy hemoragická horečka

Dengue	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
ČR	7	9	10	11	15	17	13	29	81	35

Virus Dengue



- Odklad v dárcovství krve: Návštěva rizikové oblasti v době výskytu infekce virem Chikungunya nebo Dengue a podobné virové neuroinvazivní choroby: **4 týdny** po návratu, pokud nebyly klinické příznaky, také přihlíží se k aktuální epidemiologické situaci v daném regionu

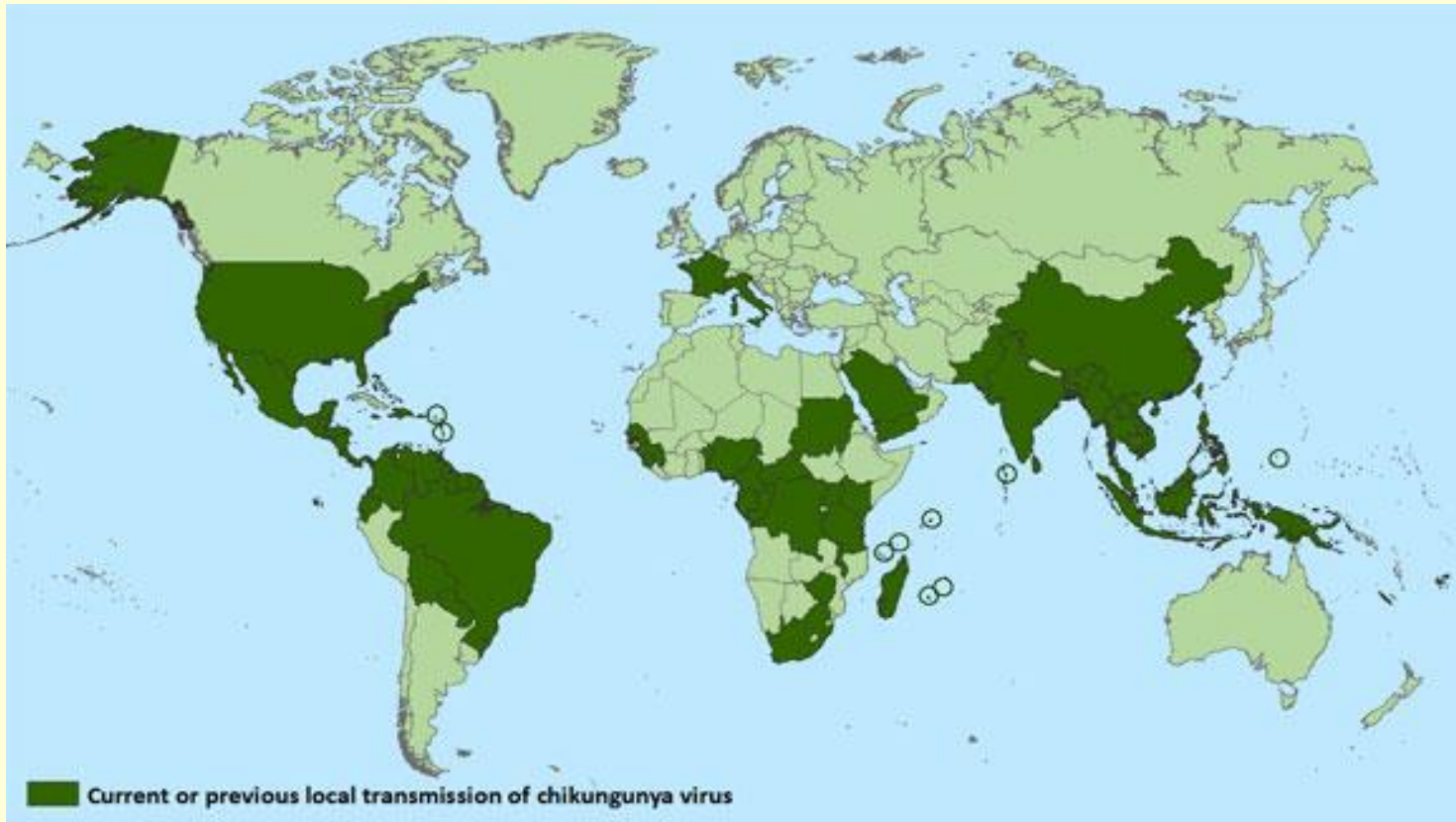
Virus Chikungunya

RNA virus s lipidovým obalem (alfavirus)

- Vektor: komár (*Aedes* sp.), rezervoár: savci, ptáci, člověk
- Inkubační doba: 2 – 12 dní
- Virémie: asi týden
- Klinické projevy: 15 % asymptomatické, teplota, exantém, kruté bolesti kloubů
- Epidemiologie: původně Afrika, rozšířila se v Indickém oceánu a v JV Asii (2005-2007 epidemie na Reunionu, import do Francie, 2014 – epidemie v Karibiku, jih USA, Itálie 250 případů)
- **Přenos transfuzními přípravky nebyl popsán**, budí pozornost zejména pro výrazné šíření infekce
- Odklad v dárcovství krve: návštěva rizikové oblasti v době výskytu infekce virem Chikungunya nebo Dengue a podobné virové neuroinvazivní choroby: **4 týdny** po návratu, pokud nebyly klinické příznaky , také přihlíží se k aktuální epidemiologické situaci v daném regionu

Virus Chikungunya

Countries and territories where chikungunya cases have been reported
(as of March 10, 2015, zdroj CDC)

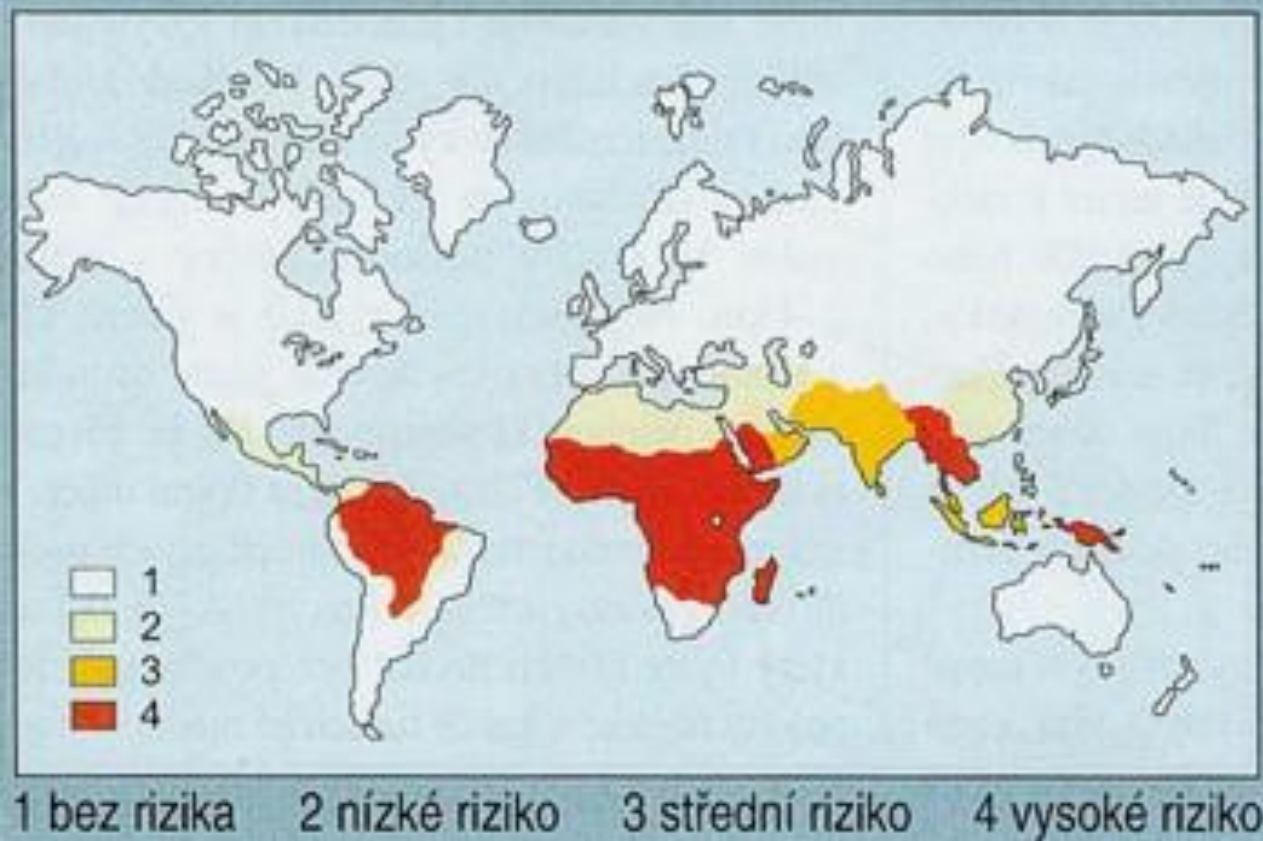


Parazitární infekce

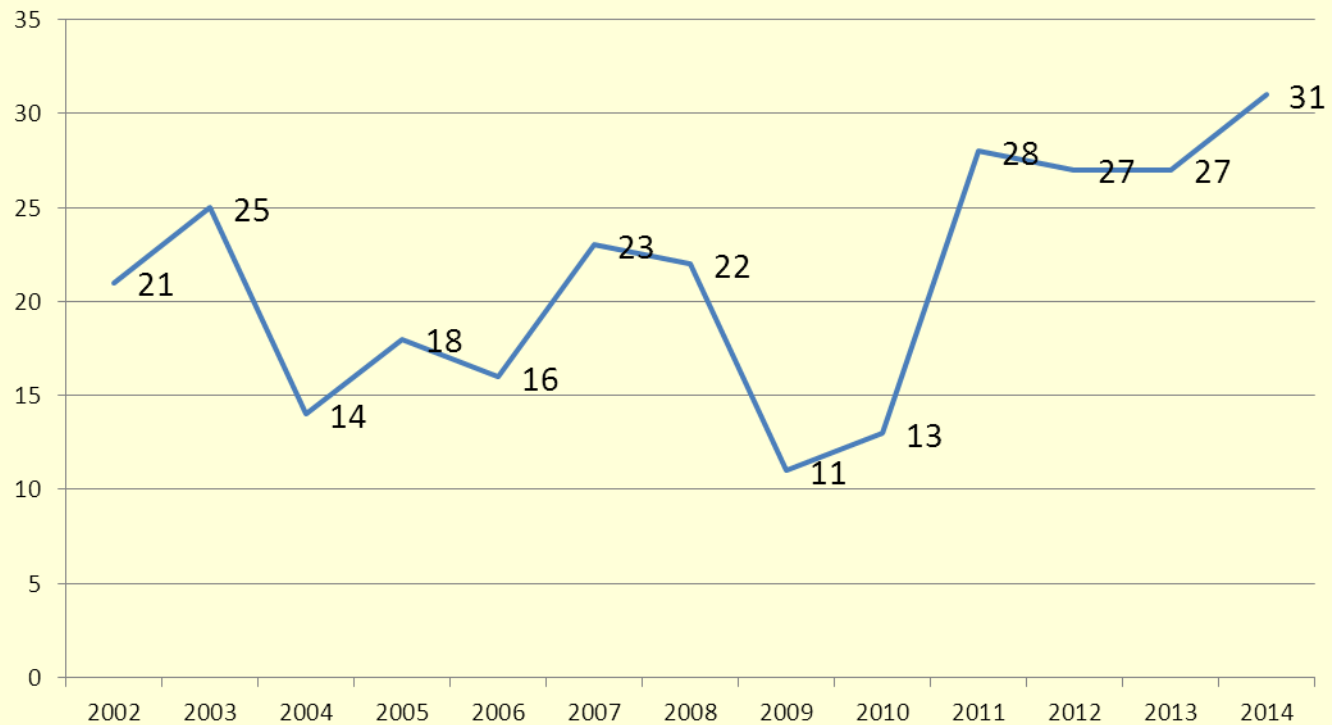
Plasmodium

- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ **Vyvolává malárii:** *P. falciparum* – tropická malárie
 - P. vivax* , *P. ovale* – malárie třídní (terciána)
 - P. malariae* – malárie čtyřdní (kvartána)
- ❑ **Výskyt:** - Hlavně tropy a subtropy, vyskytuje se ve 102 zemích v pásu mezi 40. rovnoběžkou jižní a severní zeměpisné délky.
 - Nebezpečným formám malárie je vystaveno 40 % světové populace. Podle odhadu Světové zdravotnické organizace každoročně onemocní malárií 200 - 300 milionů lidí, z nichž 2,7 milionu zemře, především dětí ve věku mladším pěti let. K nákaze dochází převážně v Africe.
 - Ojedinelé případy všech druhů malárie se objevují i v mírném pásmu (import jedinci nakaženými v malarických oblastech nebo komáry v letadlech)
- ❑ **Přenos:** sáním nakaženého komára, transfuzí krve
- ❑ **Symptomatika a patogeneze:** - opakující se malarické záchvaty (třesavka, horečka), bez léčení se pravidelně opakují
 - život ohrožující je tropická malárie, kdy infikované ery mají tendenci adherovat ke stěnám krevních kapilár vnitřních orgánů (těžké následky pro jimi zásobované orgány)

Výskyt malárie



Hlášení vybraných infekčních nemocí v ČR Epidat - MALÁRIE



Parazitární infekce

Plasmodium

- Pobyť v malarické oblasti, pokud nebyly příznaky onemocnění – potenciální DK se vylučuje na dobu 6 měsíců po návratu
- V případě onemocnění malárií se potenciální DK vylučuje na 3 roky po ukončení léčby (lze přijmout až po negativním výsledku imunologického nebo molekulárně-biologického testu)

Parazitární infekce

Trypanosoma cruzi

- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ **Původce Chagasovy choroby**
- ❑ **Výskyt:** jižní a střední Amerika, Mexiko
- ❑ **Přenos:** Přenašečem jsou tropické krevsajcí ploštice (*Triatoma*, *Rhodnius*), infekce vzniká vetřením infekčních stadií parazita obsažených ve výkalech ploštic do kožní oděrky nebo spojivkového vaku, možný je též přenos transfuzí krve nebo kongenitální
- ❑ **Symptomatika a patogeneze:**
 - v místě vniknutí parazita do hostitele se vyvíjí zánětlivý infiltrát
 - akutní fáze infekce často bez klinických příznaků (zduření mízních uzlin v místě infekce), u dětí horečky, hepatosplenomegalie, akutní fáze odezní za 1 až 2 měsíce
 - komplikace: myokarditída, meningoencefalitída mohou být smrtelné
 - chronická fáze se projevuje po latenci 10 až 20 let (onemocnění srdce, malformace na střevním traktu)



Trvalé vyloučení z dárcovství

Parazitární infekce

Babesia microti



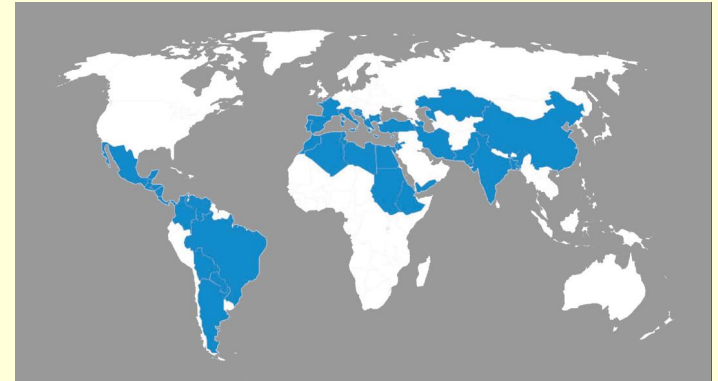
- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ Vyvolává onemocnění **babesiózu**
- ❑ **Výskyt:** - Babesioza je jednou z nejběžnějších celosvětově rozšířených infekcí volně žijících zvířat, zejména hlodavců
 - Endemická oblast výskytu humánní nákazy - USA, v Evropě méně často
- ❑ **Přenos:** Sáním infikovaného klíštěte, vetřením zbytků infikovaného klíštěte do oděrky či spojivky, v USA nejčastěji hlášená transfuzí přenesená infekce! (1979 – 2009 : 162 případů)
- ❑ Symptomatika a patogeneze:
 - může probíhat asymptomaticky, jako mírné onemocnění nebo jako závažné onemocnění s malarickými příznaky (vysoké teploty, třesavka)

Trvalé vyloučení z dárcovství



Parazitární infekce

Leishmania spp.



- ❑ Patří mezi prvoky (malí bičíkovci 2 – 3 mm)
- ❑ Vyvolává onemocnění leishmaniózu
- ❑ **L. tropica a L. major – kožní leishmanióza**
L. donovani – viscerální leishmanióza - kala-azar (černá nemoc) - nejnebezpečnější
L. infantum – dětská viscerální leishmanióza
- ❑ **Výskyt:**
Kožní leishmanióza – sev. Afrika, Arménie, Azerbajdžán, Turkmenistán, Uzbekistán, Afganistán
Dětská viscerální l. – jižní Evropa, sev. Afrika, Blízký Východ
Kala-azar – Indický subkontinent a některé oblasti Afriky (Súdán)
- ❑ **Přenos:** při sání nakažených flebotomů (komárům podobný hmyz)
- ❑ Rezervoár nákazy: psi, lišky, šakali, hlodavci
- ❑ Symptomatika a patogeneze:
 - u teplokrevných obratlovců včetně člověka žije parazit výlučně uvnitř makrofágů, de se množí v bezbičíkaté formě
 - po prasknutí infikovaných makrofágů jsou uvolnění parazité fagocytováni dalšími makrofágy

Trvalé vyloučení z dárcovství



Bakteriální infekce

Treponema pallidum

- ❑ **Spirochety** (jemné spirální bakterie)
- ❑ Je původcem **venerické syfilis**
- ❑ **Přenos:** infikuje pouze člověka, přenos zejména pohlavním stykem (90%), transplacentárně z matky na dítě, vzácně kontaminovanými předměty, krví a tkáněmi dárce
- ❑ Průběh onemocnění: probíhá ve stádiích charakterizovaných projevy na kůži, sliznicích a postižením vnitřních orgánů

V současné době podávání antibiotik pro různá jiná infekční onemocnění zůstává často pacient zcela bez klinické manifestace – **Syfilis latens** – diagnóza může být stanovena pouze serologicky

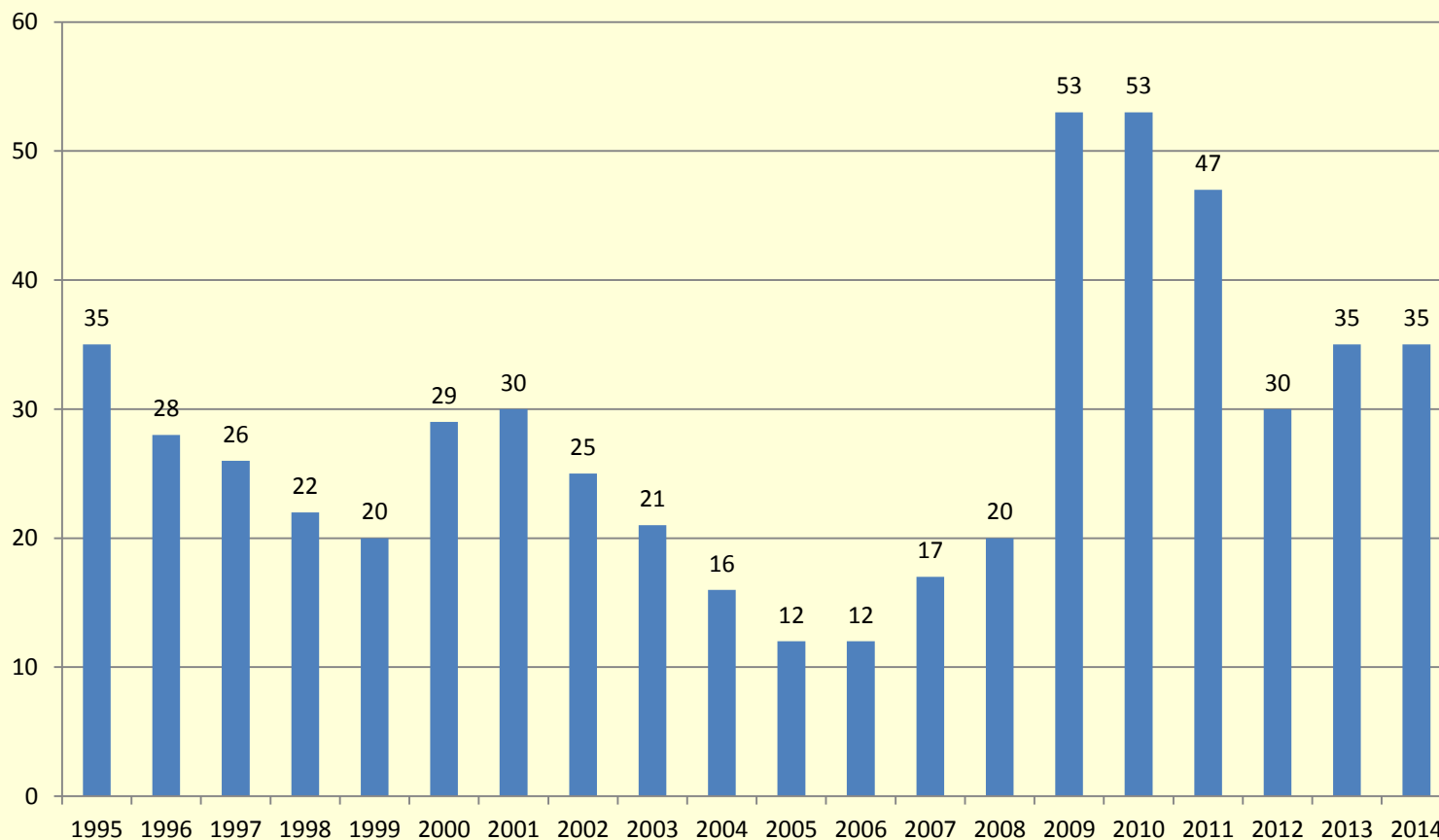
- ❑ **Incidence syfilis:** - počet hlášených onemocnění od roku 1990 nezadržitelně stoupá
 - (hlavní rezervoár jsou nejspíše komerční sexuální pracovnice v kombinaci s imigrací obyvatelstva východní Evropy, kde je roční počet zjištěných onemocnění až 40ti násobně vyšší než u nás (Ukrajina, Rusko)

Hlášené případy v ČR v roce 2006 - 2013:

2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
502	822	850	997	1022	737	696	710

Dárci krve se sérologicky potvrzenou syfilis

Zdroj - SZÚ NRL pro diagnostiku syfilis



**Konfirmovaná syfilis u dárců krve v letech
2008-2014**

(podle statistiky UZIS/MZ/STL)

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Konfirmovaná syfilis	20	53	53	47	30	35	35
z toho prvodárci	9	35	32	5	20	20	23
z toho opakovaní dárci	11	18	21	42	10	15	12

Bakteriální infekce

Borrelia burgdorferi

- ❑ **Spirochety**
- ❑ Onemocnění **Lymeská borrelióza**
- ❑ **Přenos:** přisátím infikovaného klíštěte (Borrelie pronikají přes kůži do krevního oběhu s následným usazením v různých orgánech)
Přenos krevní transfuzí nebyl dosud popsán
- ❑ Průběh onemocnění:
 1. Erythema migrans – centrální zarudnutí kůže v místě přisátí klíštěte > 5 cm, trvá 2 – 3 týdny
 2. Další klinické projevy – zvětšení lymfatických uzlin, horečka, bolesti svalů, migrující artritida
 3. Chronické stadium - poškození srdce, kloubů i nervového systému

Po prodělání boreliózy se potenciální dárce krve vylučuje dočasně na dobu 6 měsíců po uzdravení

Lidská prionová onemocnění (transmisivní spongiformní encefalopatie TSE)

- Vzácná skupina neurodegenerativních onemocnění, vyznačující se přítomností patologicky konformovaného prionového proteinu (PrP)
- Fyziologicky je PrP přítomen u mnoha buněčných populací v lidském těle, nejvíce v neuronech
- Základem patologické konformace PrP je změna sekundární struktury (prostorového uspořádání) proteinové molekuly do podoby tzv. beta – skládaného listu (příčina změny konformace je stále neznámá)

Výsledkem je silně hydrofobní varianta PrP s tendencí k agregaci

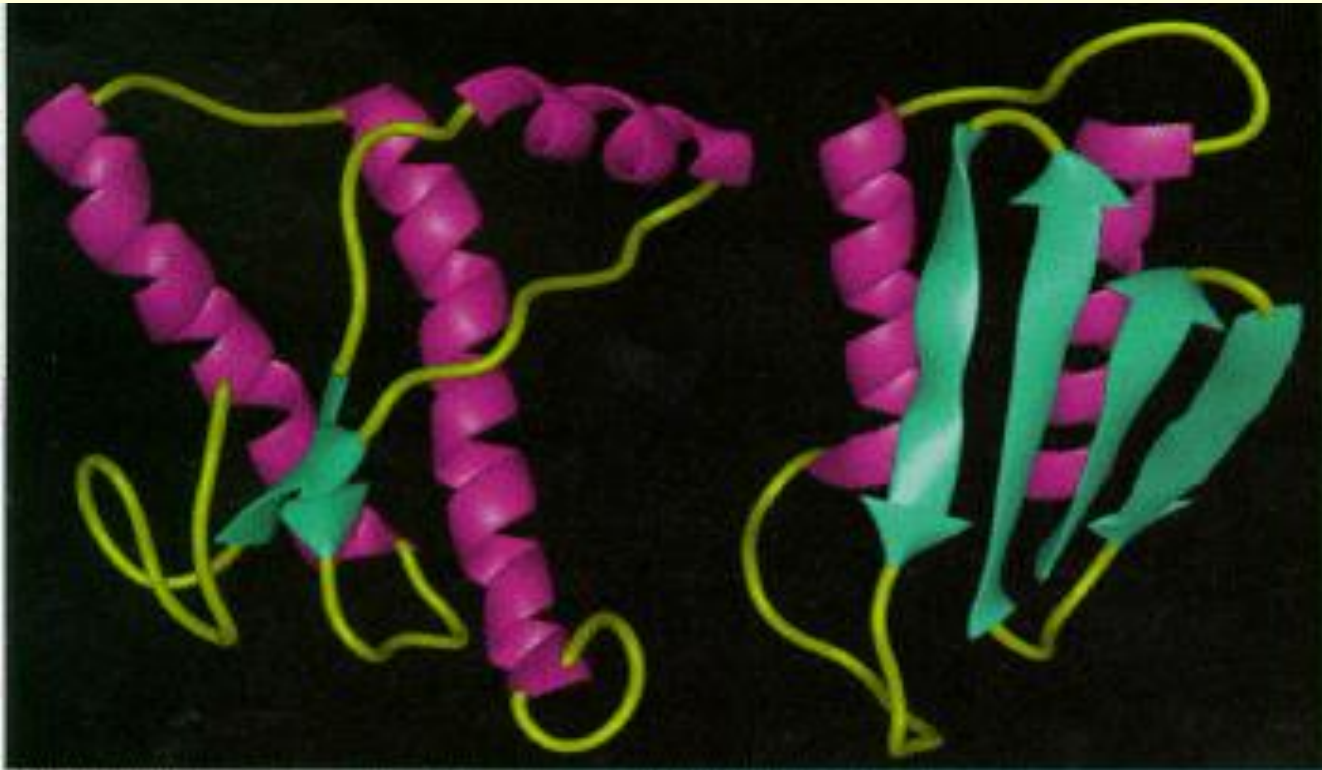
Molekulární model struktury:

PrP

Převažuje α -helix (3x)

PrP^{Sc}

β -skládání list (40%), α -helix (30%)



Lidská prionová onemocnění (transmisivní spongiformní encefalopatie TSE)

1. Creutzfeldtova-Jakobova nemoc (CJN)
 - a) forma sporadická (nejčastější, 1-3 případy/1 milion obyvatel/rok)
 - b) forma genetická (familiární)
 - c) forma iatrogenní (náhodně přenesená – chirurgický výkon, transplantace rohovky)
2. Nová varianta CJN
 - známá od roku 1996
 - je spolu s iCJN epidemiologicky nejzávažnějším prionovým onemocněním
 - alimentární přenos při konzumaci hovězího masa z dobytka nakaženého bovinní spongiformní encefalopatií BSE

Prionová onemocnění v ČR

- Autoptická verifikace všech podezření na prionová onemocnění je v ČR povinná
- Vyšetření zajišťuje NRL pro lidská prionová onemocnění při oddělení patologie a molekulární medicíny v Thomayerově nemocnici v Praze
- Od založení NRL v roce 2002 do roku 2014 bylo v ČR potvrzeno 181 případů prionových onemocnění (146 sCJN, 31 fCJN)
- Prevalence v ČR 13 případů/rok, nicméně je zde patrný trend ke zvyšování prevalence způsobený postupnou optimalizací diagnostických metod (atupsie mozkové tkáně - imunohistochemie, WB)

Prionová onemocnění v ČR

- a) V ČR probíhá od roku 2007 na základě doplnku transplantačního zákona povinné testování mozkové tkáně všech dárců rohovek na přítomnost PrPsc metodou WB
- b) Podle platné legislativy jsou z dárcovství krve, lidských tkání, orgánů a buněk vyloučeny osoby s rodinnou anamnézou CJN
- c) Z dárcovství krve jsou navíc vyloučeny osoby, které pobývaly ve Velké Británii a ve Francii v letech 1980-1996 po dobu delší než 6 měsíců, popřípadě jim byla podána transfuze v zahraničí

Riziko infekce v aplikovaných krevních přípravcích

Infekční agens	USA	Evropa
VIRUS		
HIV	1 na 2 135 000	1 na 909 000 – 5 500 000
HCV	1 na 1930 000	1 na 2 000 000 – 4 400 000
HBV	1 na 277 000	1 na 72 000 – 1 100 000
WNV	1 na 350 000	
HTLV I/II	1 na 2 293 000	
BAKTERIE		
Bakteriální kontaminace		
Erytrocyty	1 na 38 500	
Trombocyty	1 na 5 000	
PARAZITI		
Malárie	1 na 1 000 000 – 5 000 000	

Infekční rizika transfuze

Vyšetřovací postupy stanovené v ČR

- ❑ Vyšetřovací postupy stanoví vyhláška MZ ČR 143/2008 Sb. (vyhláška o krvi), která vychází z požadavků Direktivy 2002/98EU
- ❑ Direktiva 2002/98EU požaduje tato vyšetření:
 - Ab anti-HIV 1,2
 - Ab anti-HCV
 - HBsAg
- ❑ Vyhláška ukládá nad rámec direktivy ještě tato vyšetření:
 - Ag p24 HIV (používá se duální test (Ab-Ag))
 - Ab proti *Treponema pallidum*
- ❑ Vyhláška stanoví i základní postupy confirmace
 - každý opakovaně reaktivní vzorek od DK musí být odeslán ke confirmaci NRL SZÚ
 - případný pozitivní výsledek musí být oznámen dárci krve a hlášen v rámci povinných hygienických hlášení
- ❑ Ke zpětnému vyloučení eventuální positivity infekčních markerů při předchozích odběrech téhož dárce slouží archivní vzorek séra/plazmy, který se uchovává při každém darování krve

Přístrojové vybavení:

Architect i2000SR

Princip metody: chemiluminiscenční
imunoanalýza na mikročásticích (CMIA)

Cobas e 411

Princip metody:
elektorchemiluminiscenční
imunoamalyza na mikročásticích
(ECLIA)

In vitro diagnostika

Architect i2000 SR (Abbott Diagnostics)

- anti-HCV
- anti – TP

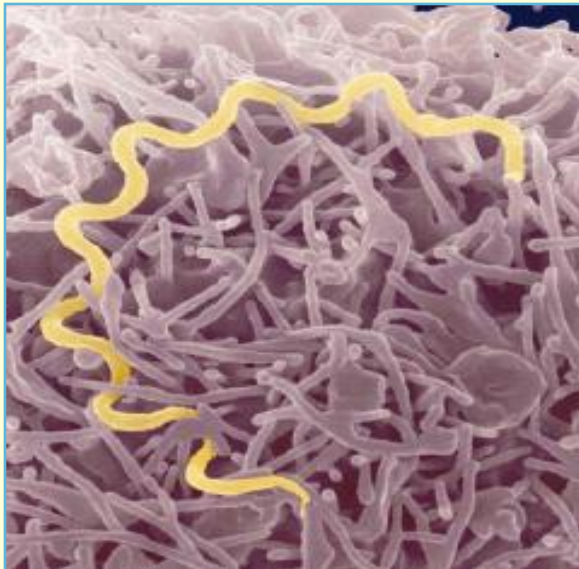
Používané testy mají CE značku

ARCHITECT Anti - HCV

- ❑ **Dvukroková chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročasticích (CMIA) ke kvalitativní detekci protilátek třídy IgG a IgM proti viru hepatitidy C v lidském séru a plazmě**
- ❑ **Detekuje většinu známých genotypů viru hepatitidy C**
- ❑ **Genotypy HCV – 6typů, více než 70 subtypů**
ČR – dárce krve: 66% 1b, 13% 1a, 20% 3a, 2a a 2b v 0,5%
Pokles 1b, nárůst 3a (3a – genotyp převážně IUD!)
- ❑ **V ČR testy zavedeny do transfuzní služby v roce 1992 (ELISA na mikrotitračních destičkách), od roku 1992 confirmace opakovaně reaktivních výsledků v NRL pro virové hepatitidy.**

ARCHITECT Syphilis TP

- ❑ dvoukroková chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročasticích (CMIA) určená ke kvalitativnímu stanovení protilátek třídy IgG a IgM proti *Treponema pallidum* v lidském séru nebo plazmě



- **Metoda Architect Syphilis TP představuje na trhu první, plně automatizovaný test určený ke stanovení diagnózy syfilis**

ARCHITECT Syphilis TP

- ❑ 1967 – Netreponemový flokulační test VDRL (detekce reaginových Ab)
- ❑ 1994 – treponemové testy k detekci specifických treponemových Ab proti *T. pallidum* (TPHA – nepřímá hemaglutinace)
- ❑ KONFIRMACE: Do r. 1995 – opakovaně reaktivní vzorky potvrzovány v Nelsonské laboratoři FNuSA
- ❑ Od r. 1996 – potvrzování v NRL pro diagnostiku syfilis SZU Praha

***In vitro* diagnostika cobas e 411 (Roche)**

- HBsAg
- anti-HIV 1 a 2 a HIV 1 p24 antigen

Používané testy mají CE značku

Elecsys HIV combi

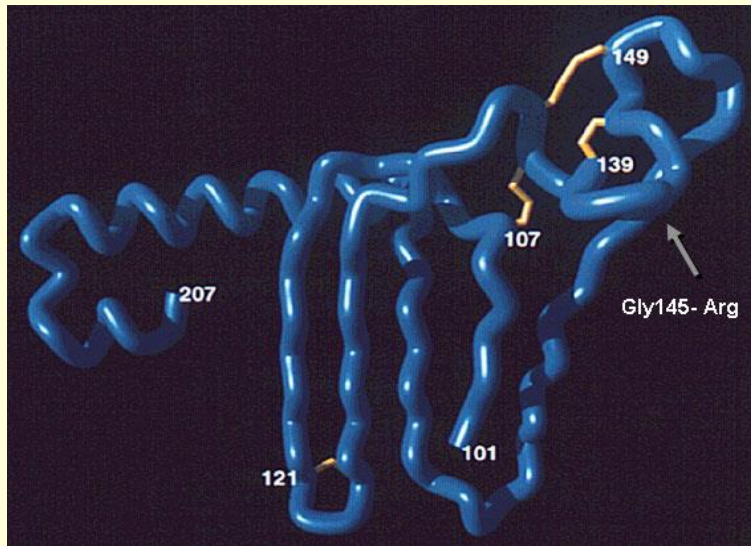
- Imunoanalýza ke stanovení přítomnosti antigenu HIV p24 a protilátek anti-HIV-1 (skupiny M a skupiny O) a anti-HIV-2 v lidském séru a plazmě využívající technologii electrochemiluminiscenční imunoamnalýzy na mikročásticích (ECLIA)**

- Simultánní detekce protilátek proti viru HIV 1 / 2 a HIV p24 Ag**
- Detekce p 24 Ag \leq 2 IU/ml**
- Omezení diagnostického okna (3 – 5 dní)**

- V ČR se HIV v transfuzní službě testuje od roku 1987(ELISA testy).**
- Od téhož roku opakovaně reaktivních výsledků confirmace v NRL pro AIDS.**
- Od roku 2003 duální testy**

Elecsys HBsAg

- ❑ Imunoanalýza ke stanovení přítomnosti povrchového antigenu hepatitidy B (HBsAg) v lidském séru a plazmě využívající technologii electrochemiluminiscenční imunoamnalýzy na mikročasticích (ECLIA)
- ❑ Stanovení Elecsys HBsAg bylo vyvinuto speciálně pro detekci velkého množství mutací (úniková – „escape“ mutanta)
- ❑ Imunitní odpověď je převážně směřována proti determinantě a HBsAg



Elecsys HBsAg

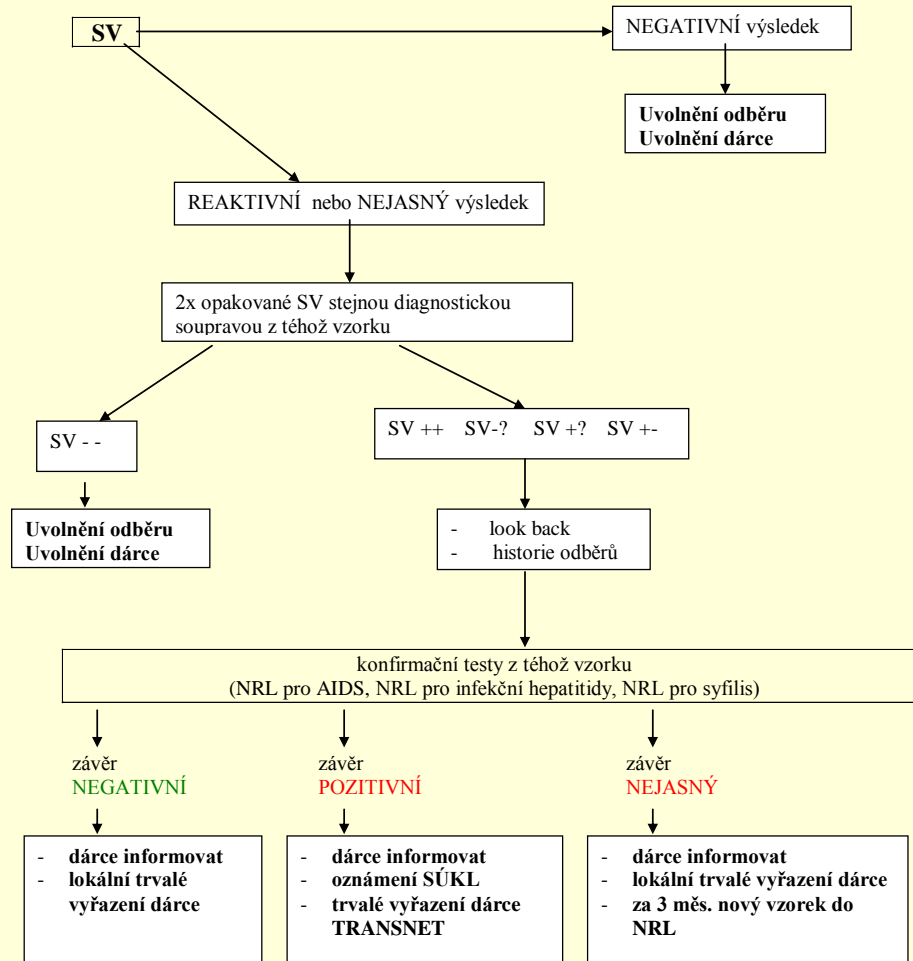
- ❑ Testování DK na HBsAg probíhá v ČR v transfuzní službě od roku 1971 (imunoprecipitační metody), od roku 1980 ELISA na mikrotitračních destičkách
- ❑ Od roku 1993 konfirmace opakovaně reaktivních výsledků v NRL pro virové hepatitidy
- ❑ HBsAg „escape“ mutanty popsány v literatuře na přelomu 80. a 90. let 20. století
- ❑ **Vlivem nekončícího selekčního tlaku vznikají stále nové genetické formy viru**
- ❑ **Je třeba „monitorovat“ virus, jeho schopnost mutovat a přizpůsobovat tomu tak diagnostické testy**

POSTUP HODNOCENÍ REAKTIVNÍHO VZORKU

Typ reakce	1. vyšetření	2. vyšetření	3. vyšetření	Hodnocení laboratoře
				HBV, HCV, HIV, Syfilis
1	-	netestováno	netestováno	NEGATIVNÍ
2	+	-	-	NEGATIVNÍ
3	+	+	-	REAKTIVNÍ
4	+	+	+	REAKTIVNÍ
5	+	+	*	REAKTIVNÍ
6	+	*	*	REAKTIVNÍ
7	*	*	*	REAKTIVNÍ
8	*	*	-	REAKTIVNÍ
9	*	-	-	NEGATIVNÍ

- výsledek screeningového vyšetření pod hodnotou pod hodnotou tzv. šedé zóny
- + výsledek screeningového vyšetření nad hraniční hodnotou testu
- * výsledek screeningového vyšetření s hodnotou spadající do tzv. šedé zóny

**Vyšetření infekčních markerů u dárců krve TO FN Brno
(HIV, anti-HCV, HBsAg, syfilis)**



SV- screeningové vyšetření

Infekční rizika transfuze - perspektiva

- *Současné algoritmy vyšetřování infekčních markerů v transfuzní službě přinášejí poměrně vysokou míru bezpečnosti TP*

Existují postupy, kterými by bylo možno stávající míru rizika snížit

- A) Možnosti pro screening – detekce NK infekčních agens
molekulárně genetickými technikami
- B) Možnosti rozšíření screeningu infekčních markerů u DK o další
testy (WNV, anti-HBc, HTLV)
- C) Protiinfekční ošetření těch TP, u kterých je to možné

Přímý průkaz NK virů HIV, HCV a HBV u dárců krve na TTO FN Brno – cobas s 201, IVD Roche



- Poolovací jednotka HAMILTON

- COBAS AmpliPrep pro přípravu vzorků
- COBAS TaqMan pro RT PCR a detekci

Přímý průkaz NK virů HIV, HCV a HBV u dárců krve na TTO FN Brno – cobas s 201, IVD Roche

cobas TaqScreen MPX Test

Kvalitativní in vitro test pro přímé stanovení

- RNA viru HIV-1 skupiny M
- RNA viru HIV-1 skupiny O
- RNA viru HIV-2
- RNA viru hepatitidy C
- DNA viru hepatitidy B

v lidské plazmě

Přínosy přímého průkazu NK virů HIV, HCV a HBV u dárců krve v ZTS

- Zajištění maximální bezpečnosti příjemce transfuzních přípravků
- Včasný záchyt infekcí VHC, VHB, HIV zkrácením diagnostického okna