

Krví přenosné choroby a jejich testování v ZTS

RNDr. Eva Křížová, Ph.D.

TTO FN Brno

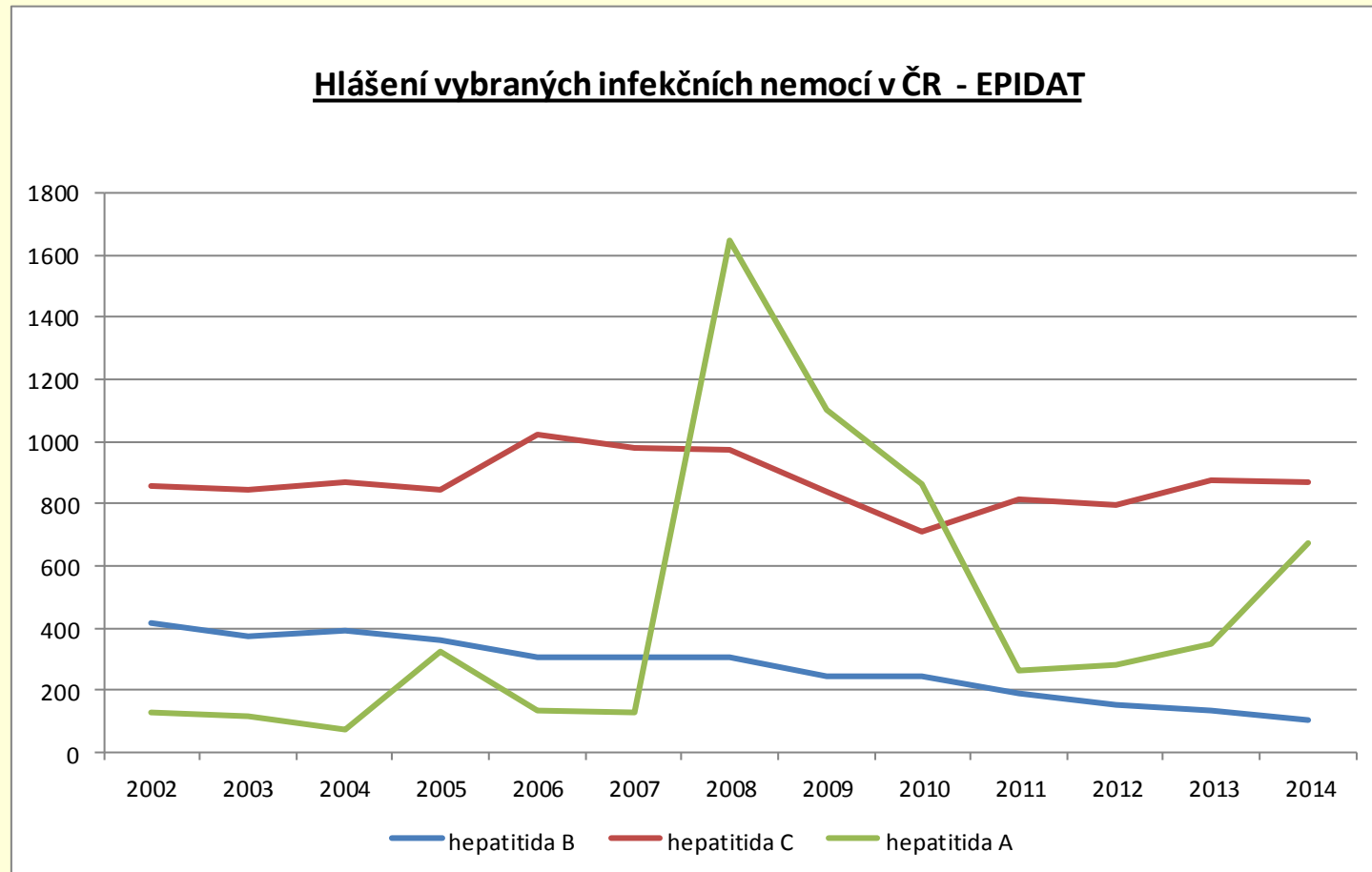
Infekční komplikace transfuze

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)

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

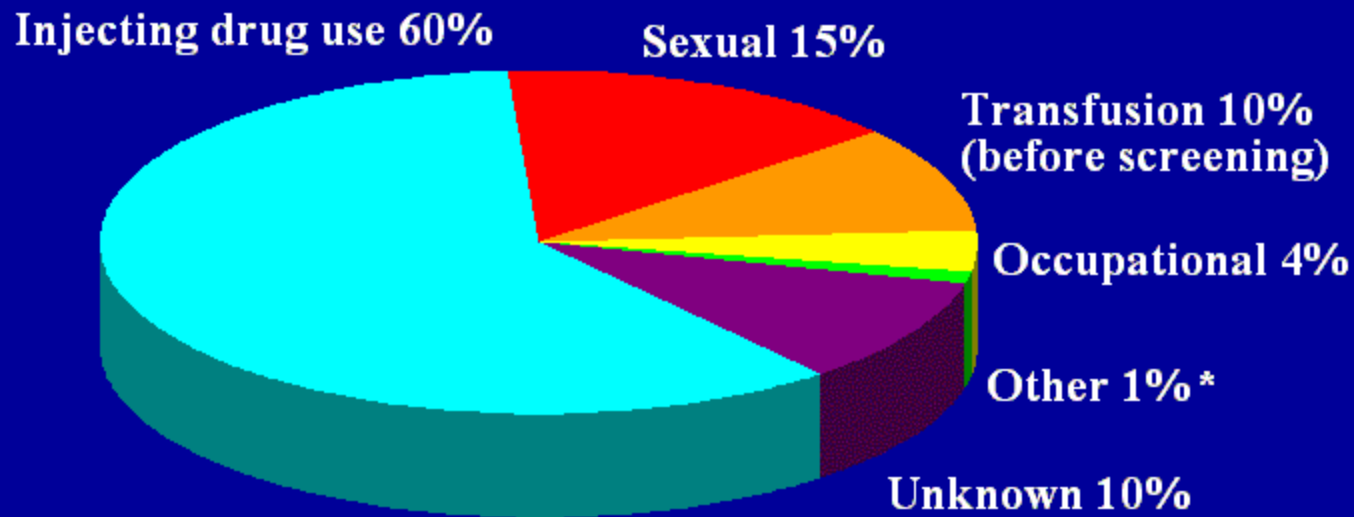
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Konfirmovaná HBV	35	45	44	42	30	31	37
z toho prvodárci	27	37	35	29	21	22	21
z toho opakovaní dárce	8	8	9	13	9	9	16

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)

Sources of Infection for Persons With Hepatitis C



* Nosocomial; iatrogenic; perinatal

Source: Centers for Disease Control and Prevention



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

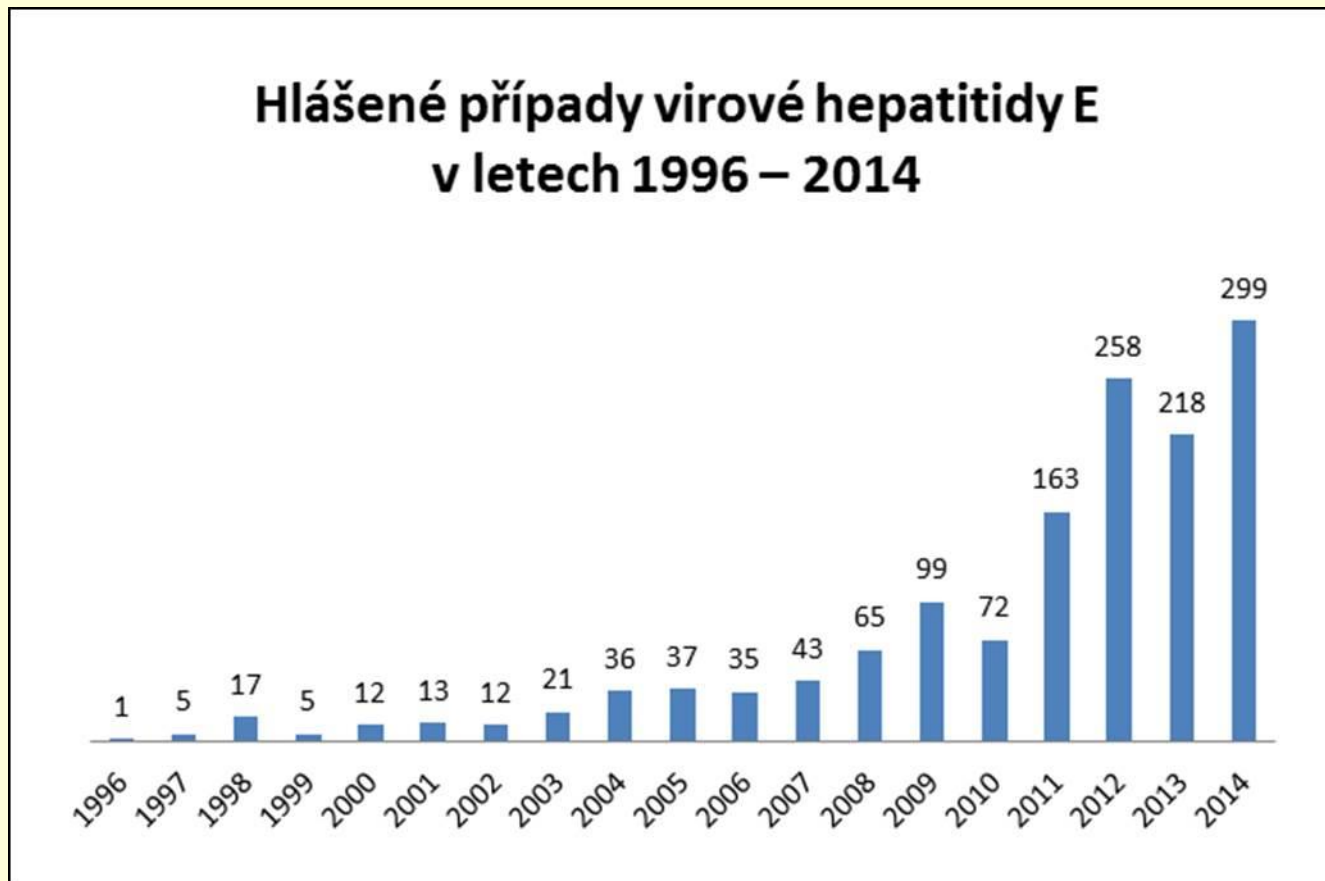
Virus hepatitidy E

- 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 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

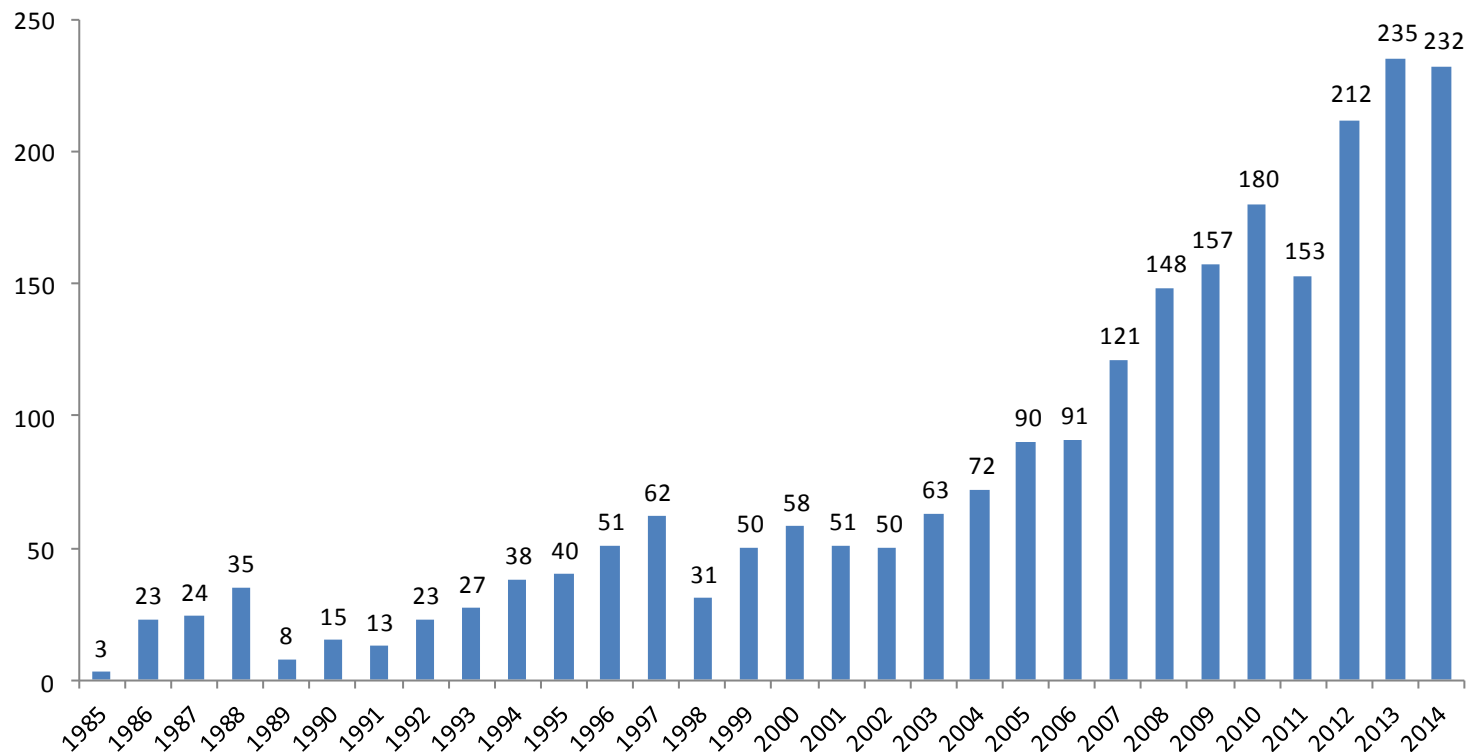
- **Genetické subtypy A – G**
- **Většinu infekcí vyvolávají subtypy A a B**
- **Endemický v západní Africe**
- **Identifikovány infekce též v USA, Evropě i Asii**
- **Podobnost s HIV-1: strukturální morfologie, způsob přenosu, schopnost vyvolávat AIDS**
- **Méně patogenní než HIV-1, delší období latence,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

HIV POZITIVNÍ PŘÍPADY V ČR PODLE ZPŮSOBU PŘENOSU

Kumulativní údaje ke dni 31.12.2014, zdroj SZU

ZPŮSOB PŘENOSU	CELKOVY POČET HIV+		
	Muži	Ženy	Celkem
Homosexuální/ bisexuální	1483	0	1483
Injekční uživatelé drog (IUD)	68	27	95
IUD + homosexuální/bisexuální	50	0	50
Hemofilici	17	0	17
Příjemci krve a krevních přípravků	11	3	14
Heterosexuální	267	332	599
Matka-dítě	4	3	7
Nozokomiální	1	3	4
Nezjištěný	71	13	84
Celkem občané ČR/rezidenti	1 973	381	2 354
Cizinci	271	120	391
Celkem HIV+	2 244	5014	2 745

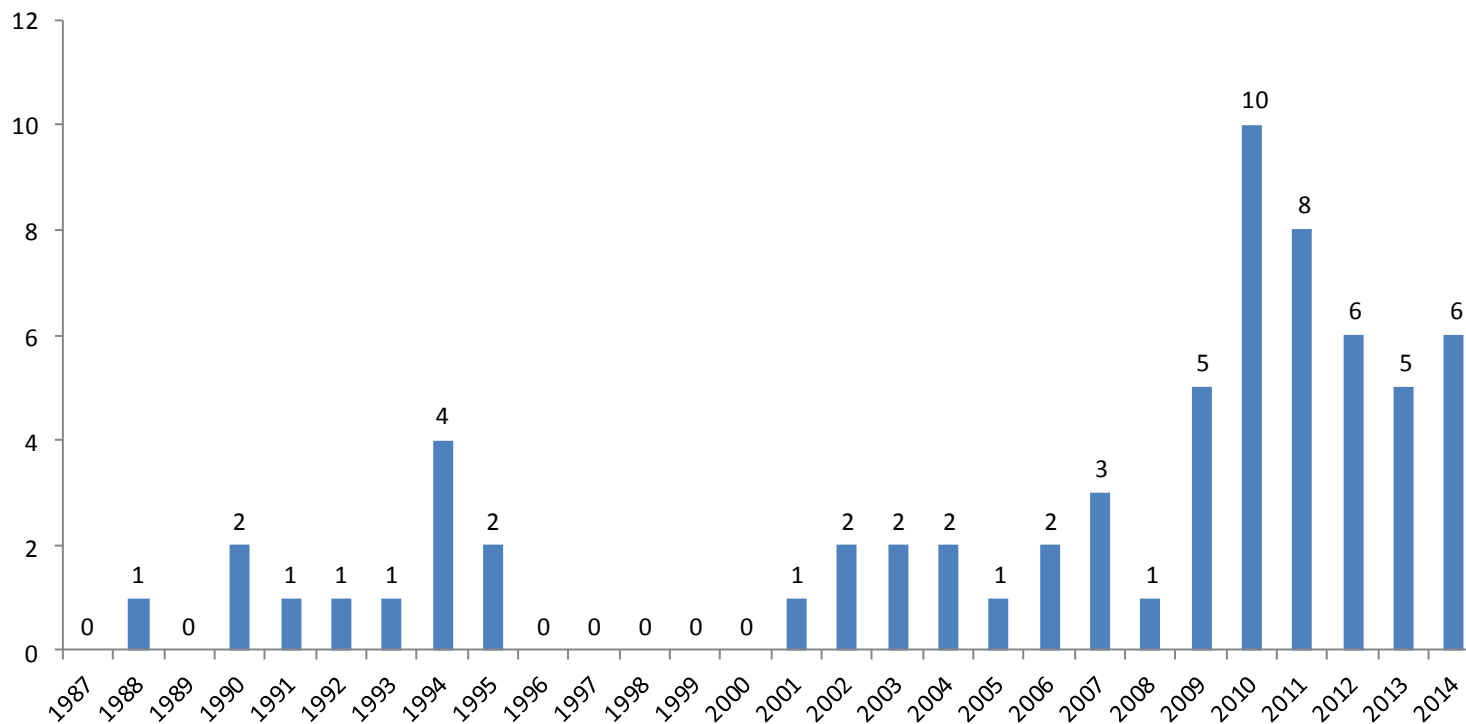
Počet HIV+ v ČR v jednotlivých letech
(jen občané ČR a cizinci s trvalým pobytem)
Absolutní údaje ke dni 31.12.2014, Zdroj SZU



HIV POZITIVNÍ CIZINCI V ČR - Podle původu – geografické oblasti
 Kumulativní údaje ke dni 31.12.2014, Zdroj SZU

Geografická oblast	Muži	Ženy	Celkem
ZÁPADNÍ EVROPA	44	8	52
STŘEDNÍ EVROPA	39	9	48
VÝCHODNÍ EVROPA	75	54	129
SUBSAHARSKÁ AFRIKA	62	44	106
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	17	0	17
KARIBSKÁ OBLAST	0	0	0
JIŽNÍ AMERIKA	6	0	6
CELKEM	271	120	391

**Testování krevních vzorků v transfuzní službě v jednotlivých letech
(jen občané ČR a cizinci s trvalým pobytem)
Absolutní údaje 1.7.1987 - 31.12.2014, Zdroj SZU**



Konfirmovaná HIV+ u dárců krve v letech 2010 - 2014

(podle statistiky SZU, NRL HIV AIDS)

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

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

- Obalené DNA viry
- Pro imunokompetentní organismus není výjimkou celoživotní latentní infekce

- Herpes simplex virus typu 1 a 2 (HSV 1,2)
- Varicella-zoster virus (VZV)
- virus Epstein-Barrové (EBV)
- Cytomegalovirus (CMV)
- Lidský herpesvirus typ 6 (HHV-6)
- Lidský herpesvirus typ 7 (HHV-7)
- Lidský herpesvirus typ 8 (HHV-8)

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 imunoprese (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 imunopresiv
- ❑ 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)

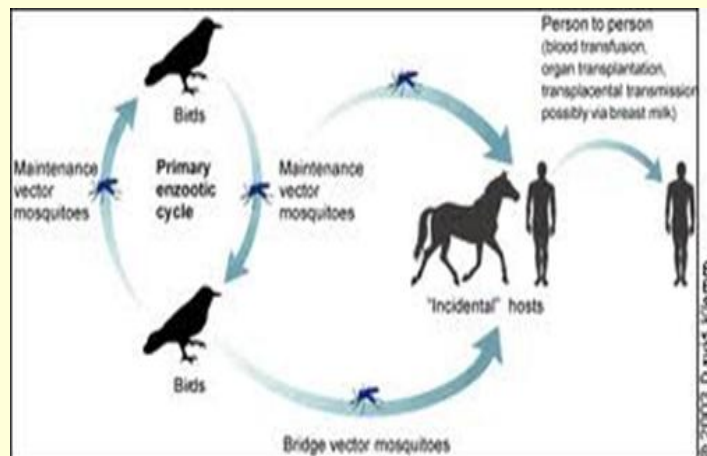
Epidemiologické údaje WNV

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

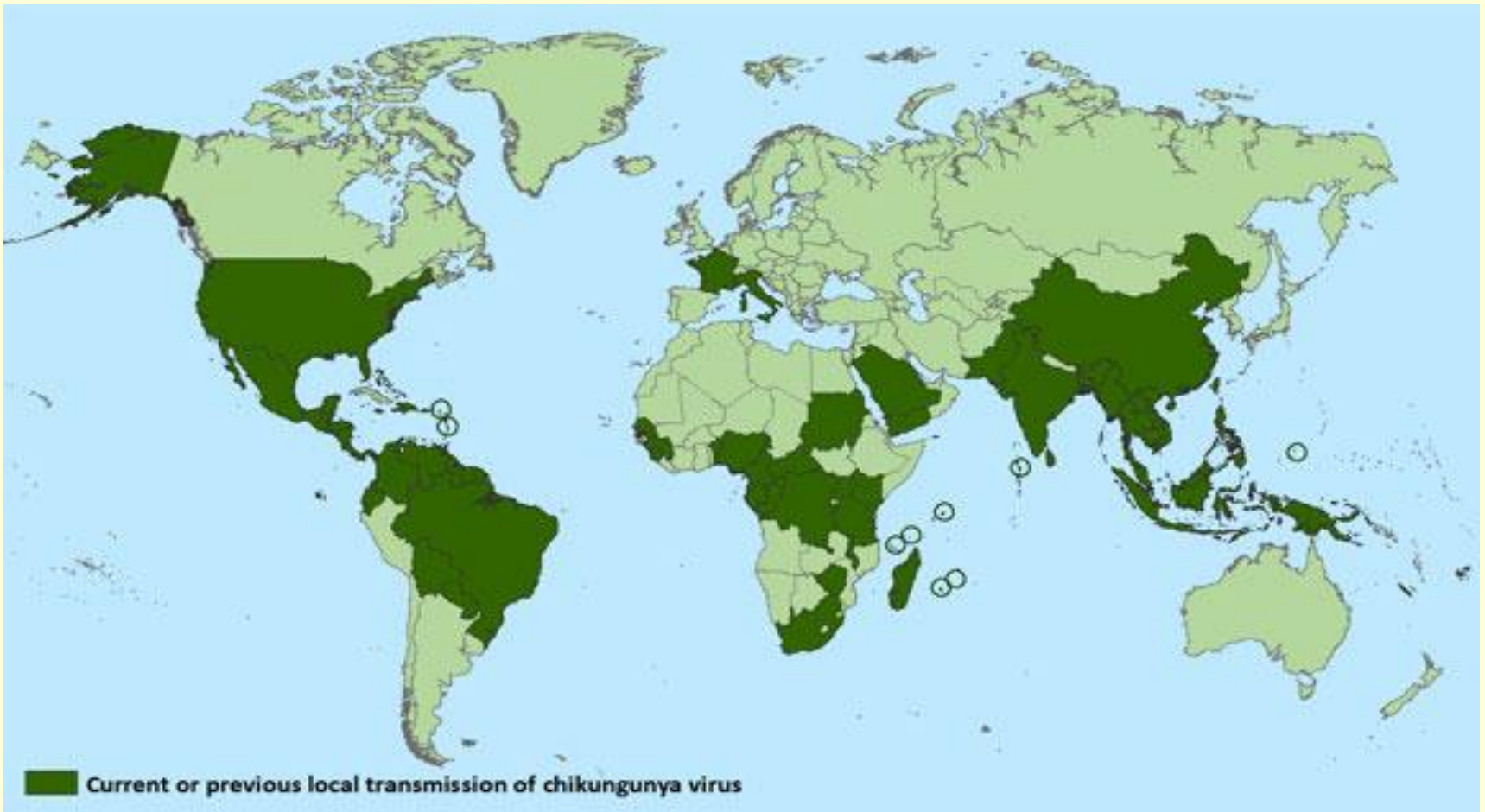
Virus Chikungunya

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)

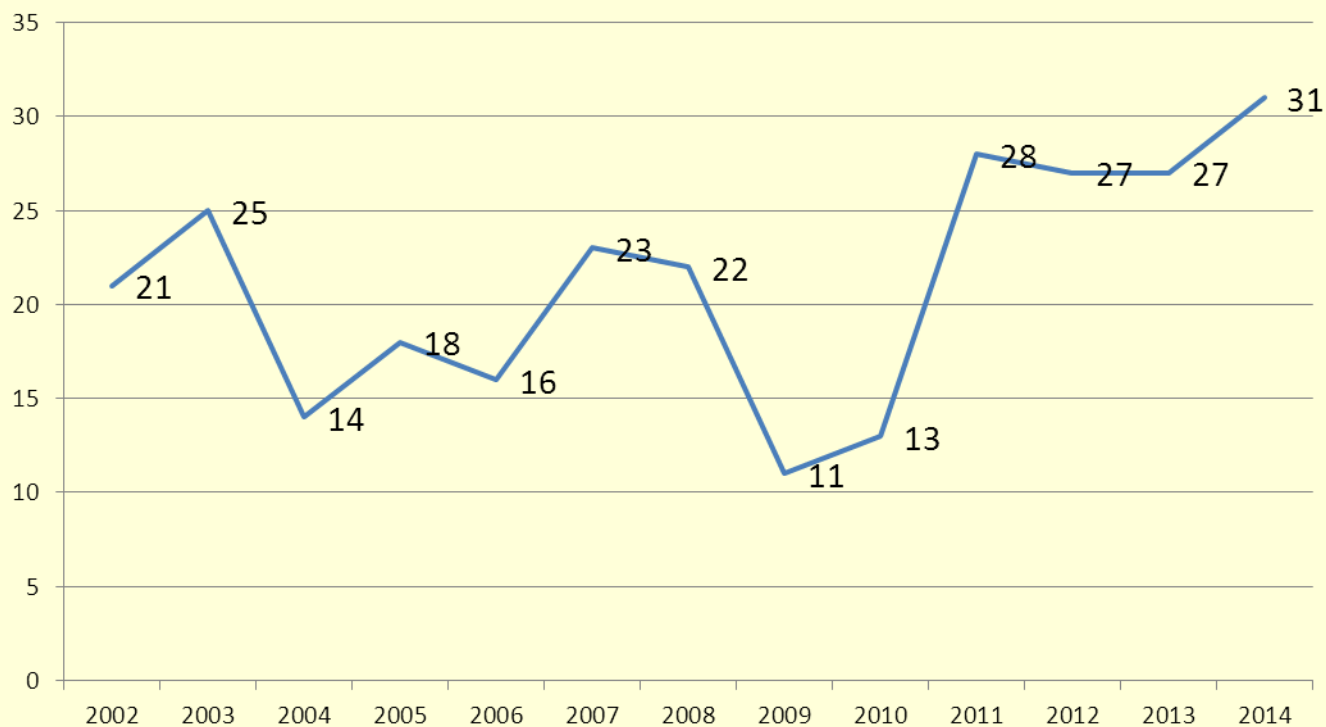


Parazitární infekce

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)

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

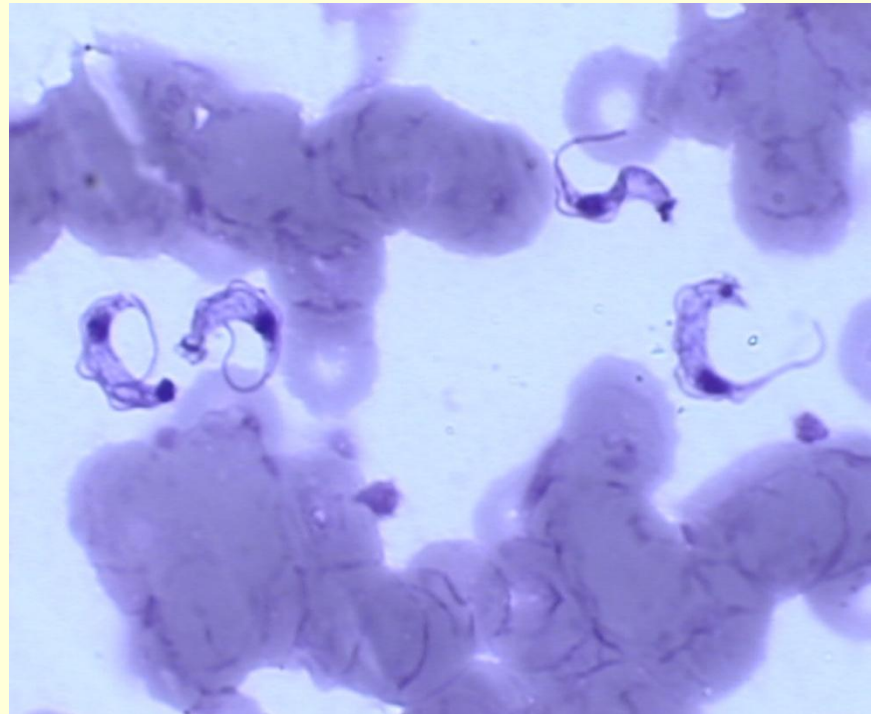
- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ **Původce Chagasovy choroby**
- ❑ **Výskyt:** jižní a střední Amerika, Mexiko
- ❑ **Přenos:** Přenašečem jsou tropické krevsajcí ploštice (*Triatoma*, *Rhodnius*), infekce vzniká vetřením infekčních stadií parazita obsažených ve výkalech ploštic do kožní oděrky nebo spojivkového 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: myokarditida, meningoencefalitida mohou být smrtelné
 - chronická fáze se projevuje po latenci 10 až 20 let (onemocnění srdce, malformace na střevním traktu)



Trvalé vyloučení z dárčovství

Parazitární infekce

Triatoma, Trypanosoma cruzi



Parazitární infekce

Babesia microti



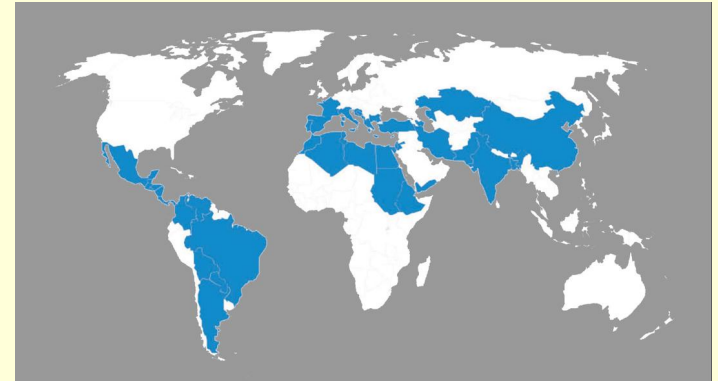
- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ Vyvolává onemocnění **babesiózu**
- ❑ **Výskyt:** - Babesioza je jednou z nejběžnějších celosvětově rozšířených infekcí volně žijících zvířat, zejména hlodavců
 - Endemická oblast výskytu humánní nákazy - USA, v Evropě méně často
- ❑ **Přenos:** Sáním infikovaného klíštěte, 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

Parazitární infekce

Toxoplasma gondii

- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ Způsobuje **toxoplazmózu**
- ❑ **Výskyt:** kosmopolitní, jeden z nejčastějších parazitů člověk a domácích zvířat
 - V ČR se setkalo s infekcí cca 40% osob starších 40 let (prevalence kolísá dle profesním, sociálním aj. složení populace – životní zvyky, hygiena)
- ❑ **Přenos:** člověk se může nakazit a)
 a) Pozřením oocysty vyloučené kočkou (definitvní hostitel)
 b) Pozřením nedostatečně tepelně upraveného masa jiných
 mezihostitelů (kterýkoliv teplokrevný obratlovec)
 c) Transplacentárně (při primoinfekci matky během gravidity)
 Přenos krevní transfuzí nebo orgánovou transplantací je vzácný.
- **Po prodělání toxoplazmózy se potenciální dárce krve vylučuje dočasně na dobu 6 měsíců po uzdravení**



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

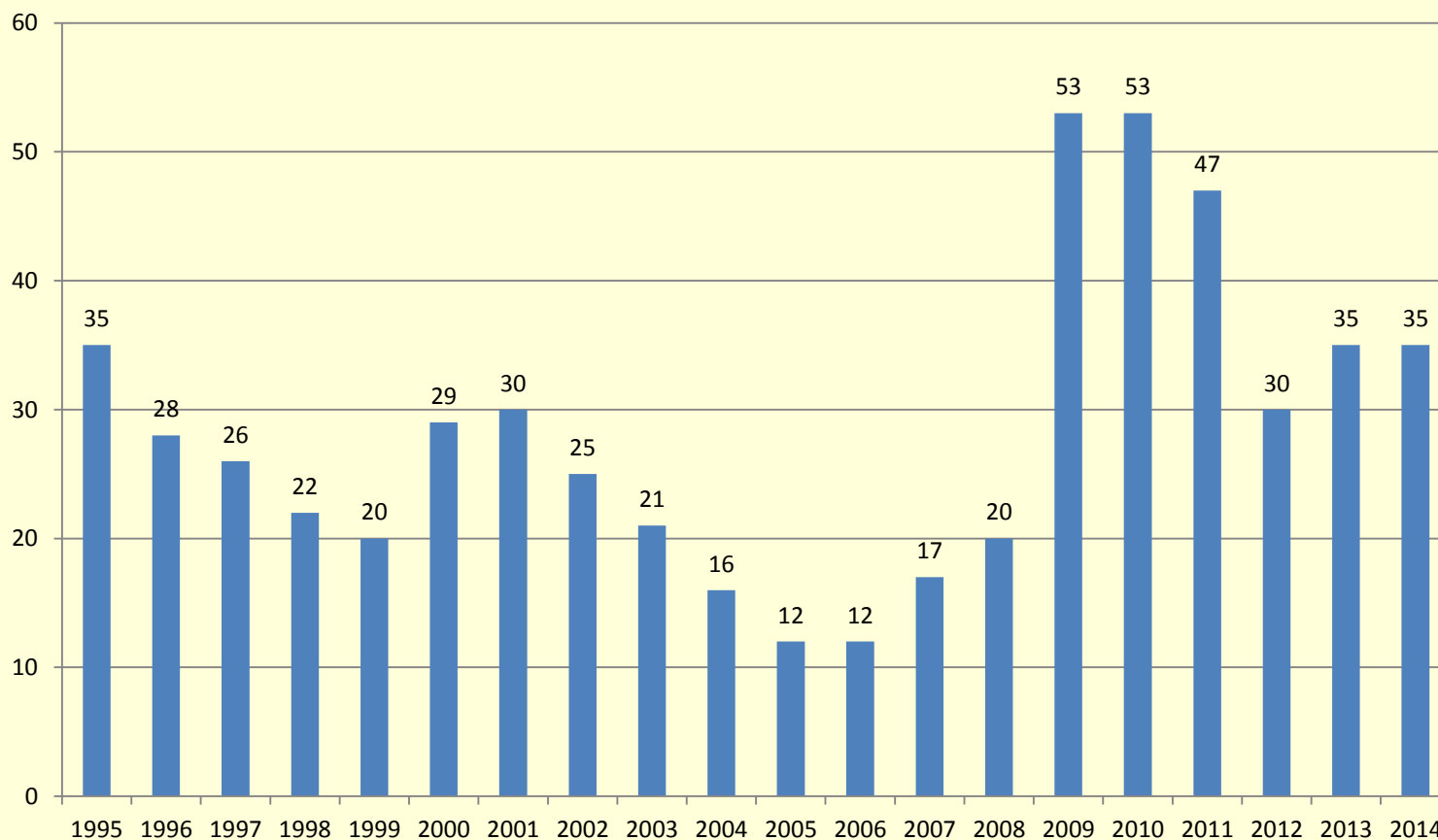
- ❑ **Incidence syfilis:** - počet hlášených onemocnění od roku 1990 nezadržitelně stoupá
 - (hlavní rezervoár jsou nejspíše komerční sexuální pracovnice v kombinaci s imigrací obyvatelstva východní Evropy, kde je roční počet zjištěných onemocnění až 40ti násobně vyšší než u nás (Ukrajina, Rusko)

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 dárce	11	18	21	42	10	15	12

Riziko infekce v aplikovaných krevních přípravcích

(Galuszková: Rizika krevních transfuzí. Interní med. 2007, 9 (11))

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		
Erythrocyty	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 TTO FN Brno:

Architect i2000SR

Princip metody: chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA)

Cobas e 411

Princip metody:
elektorchemiluminiscenční imunoamalyza na mikročásticích (ECLIA)

ARCHITECT[®] i2000 SR

Základní charakteristika

- velkokapacitní, plně automatizovaný imunochemický analyzátor
- náhodný a kontinuální přístup vzorků: kapacita podavače až 125 vyšetřovaných vzorků
- výkon až 200 analýz za hodinu
- možnost vložení reagensů až pro 25 metod do chlazeného reagenčního karuselu
- velikost reagenčních souprav 100 a 500 testů
- technologie stanovení: ChemiFlex (CMIA) umožňující tzv. flexibilní protokoly
- možnost multiplikace (spojení) do modulárního systému ARC *i4000*, *i6000* a *i8000*



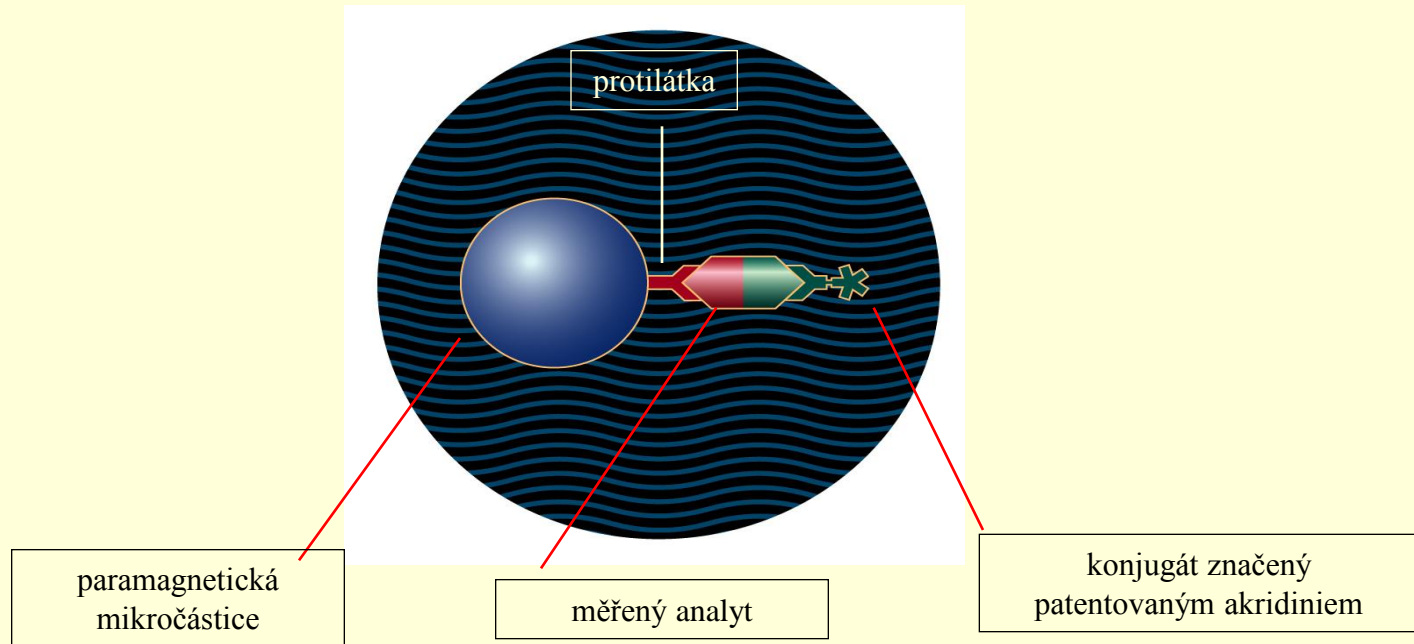
In vitro diagnostika

Architect i2000 SR (Abbott Diagnostics)

- anti-HCV
- anti – TP

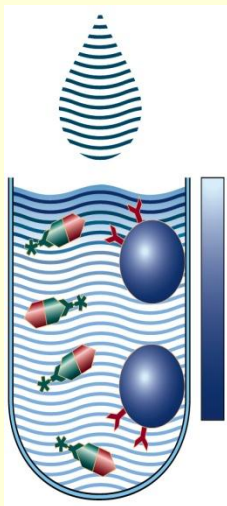
Používané testy mají CE značku

CMIA



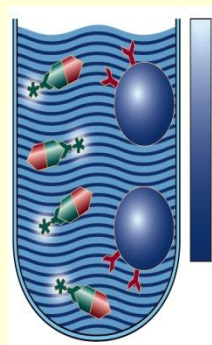
*

CMIA



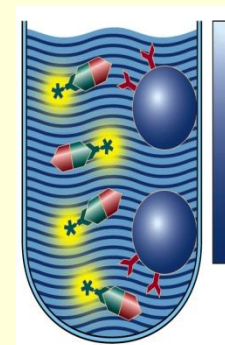
Přidá se pre-trigger

sloužící k uvolnění chemiluminiscenční značky (akridinia) z vazby s pevnou fází do roztoku



Přidá se trigger

který vyvolává chemiluminiscenční reakci



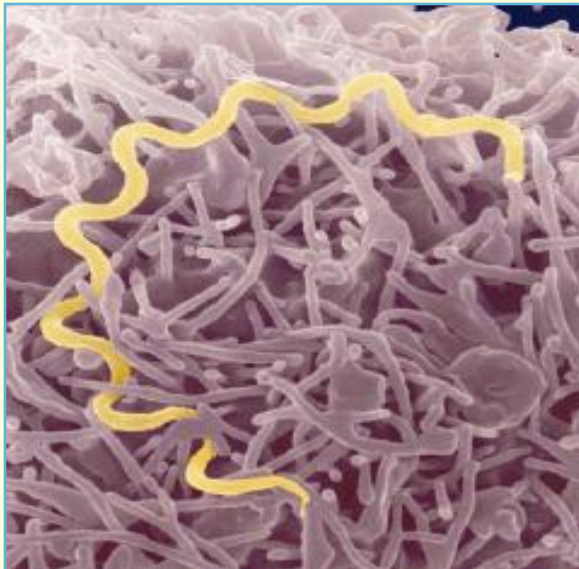
Měří se emitované světlo v RLU (relativní světelné jednotky) které jsou přímo úměrné množství měřených Ab/Ag

ARCHITECT Anti - HCV

- ❑ **Dvukroková chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (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 – dárci 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

Cobas e 411

- Stolní imunochemický analyzátor
- Plně automatizovaný softwarově řízený systém
- Byl vyvinut pro heterogenní imunoanalýzu široké palety testů
- Technologie ECLIA
- Hodinový výkon 80 – 85 testů za hodinu



***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 konfirmace v NRL pro AIDS.**
- Od roku 2003 duální testy**

ECLIA - reagencie

Elecsys HIV Combi

M – Mikročástice potažené streptavidinem

R1 – HIV-1/2 specifické rekombinantní antigeny a specifické peptidy značené biotinem, monoklonální protilátka proti p-24 značená biotinem

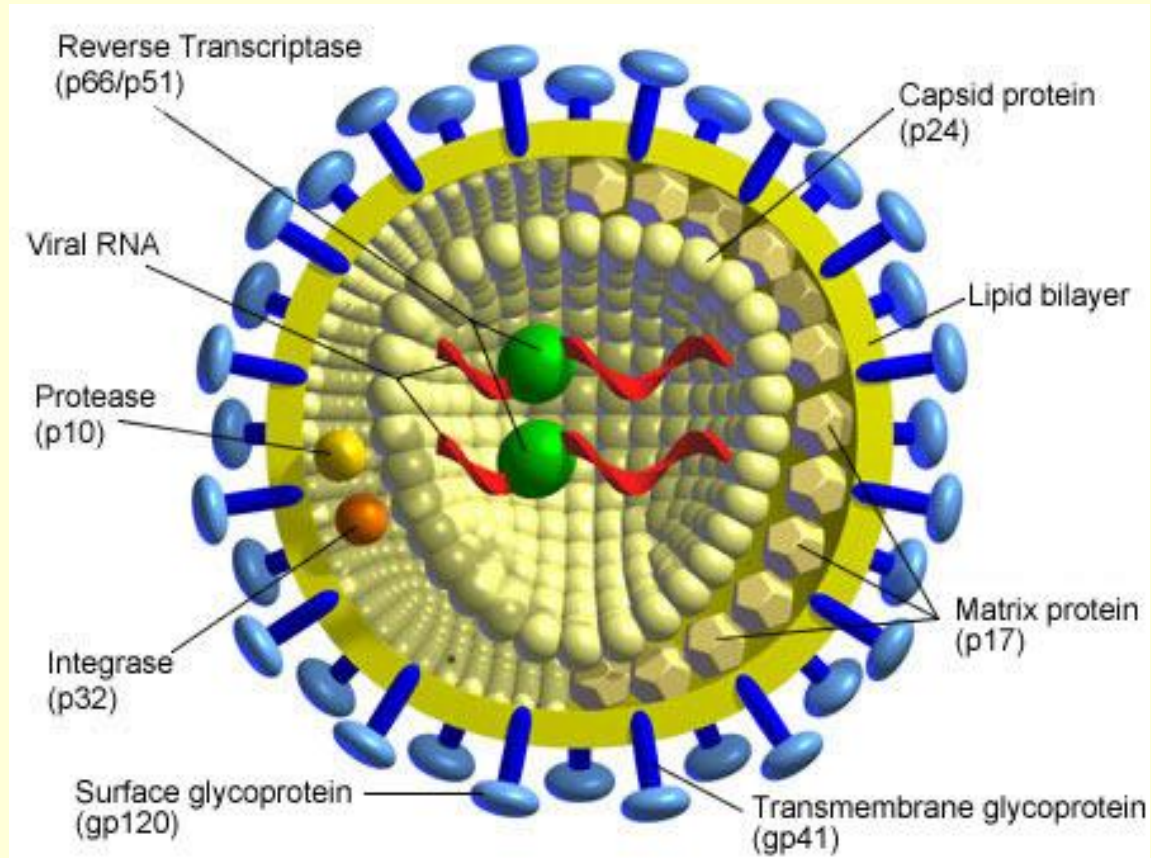
R2 – HIV-1/2 specifické rekombinantní antigeny a specifické peptidy značené rutheinovým komplexem, monoklonální protilátka proti p-24 značené rutheinovým komplexem

1. inkubace: Vzorek + R1 + R2 reaguje za tvorby sendvičového komplexu

2. inkubace: Po přidání mikročástic, potažených streptavidinem se komplex váže na pevnou fázi prostřednictvím interakce mezi biotinem a streptavidinem

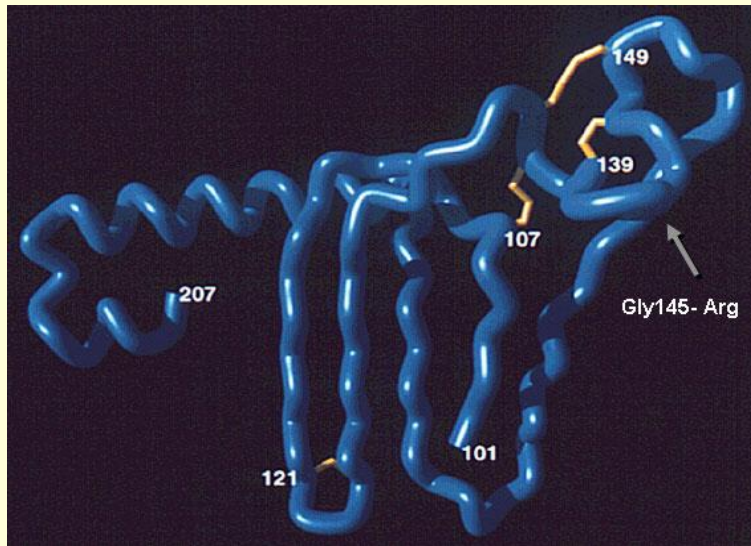
Vizualizace reakce: Reakční směs je nasáta do měřicí cely, kde jsou mikročástice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody. Po přidání roztoku ProCell přivedené napětí na elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem.

Elecsys HIV Combi



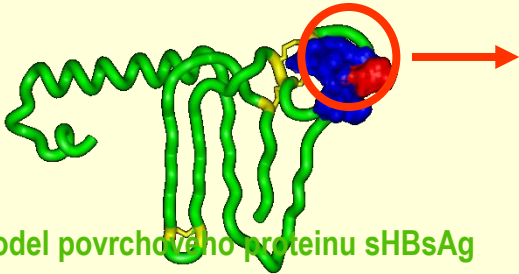
Elecsys HBsAg

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



HBsAg 'escape' mutace a jejich vliv na diagnostické testování?

Vznik HBsAg mutant je výsledkem selekčního tlaku způsobeného imunitní odpovědí organismu nebo léčebnými postupy



Dříve komerčně používané monoklonální HBsAg testy

- ❑ MAb proti epitopům v a-a regionu 100-160 (determinanta „a“)

Mutace epitopů (resp. úseků DNA kódujících tento epitop)

- ❑ - monoklonální Ab nerozezná epitop
- ❑ - test nedetekuje přítomnost HBsAg
- ❑ - produkce **falešně negativního** výsledku.
- ❑ - změna struktury proteinu / epitopu

ECLIA-reagencie

Elecsys HBsAg

- M – mikročástice potažené streptavidinem
 - R1 - monoklonální protilátka proti HBsAg značená biotinem
 - R2 - polyklonální protilátka proti HBsAg značená rutheinovým komplexem
1. inkubace: Vzorek + biotinylované protilátky a protilátky značené rutheinovým komplexem reagují s HBsAg za tvorby sendvičového komplexu
2. inkubace: Po přidání mikročástic, potažených streptavidinem se komplex váže na pevnou fázi prostřednictvím interakce mezi biotinem a streptavidinem
- Vizualizace reakce: Reakční směs je nasáta do měřící cely, kde jsou mikročástice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody. Po přidání roztoku ProCell přivedené napětí na elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem.

Elecsys HBsAg

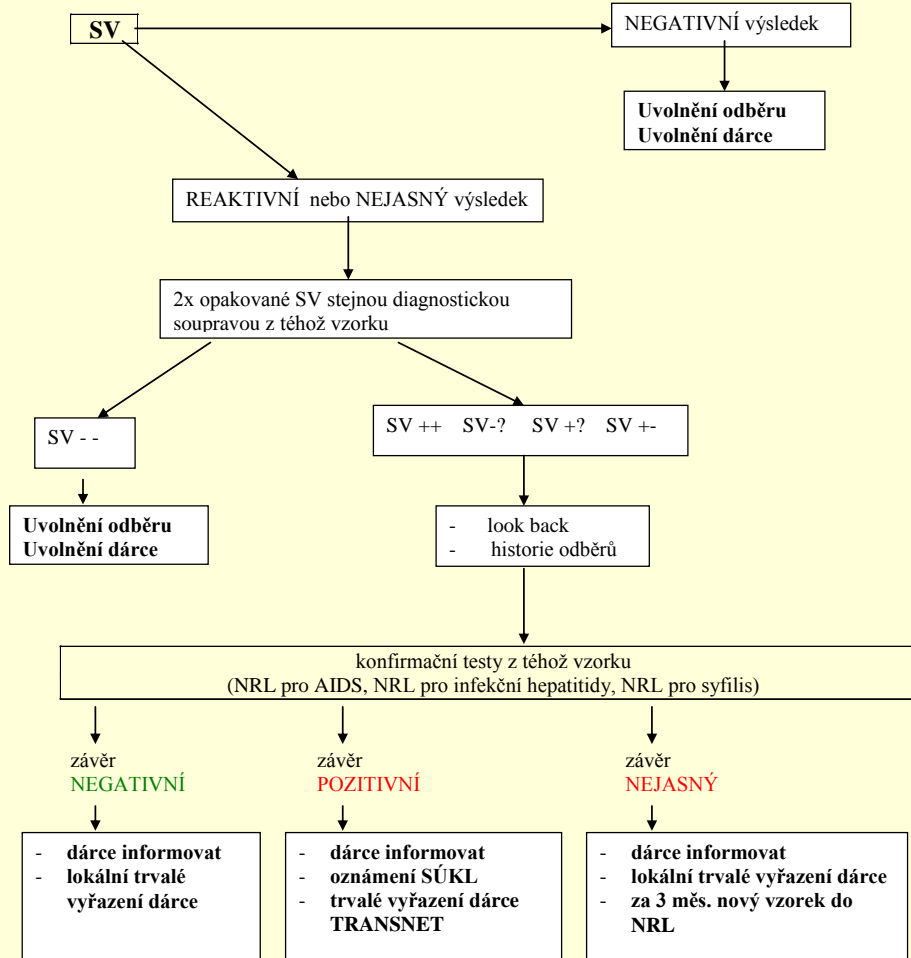
- ❑ Testování DK na HBsAg probíhá v ČR v transfuzní službě od roku 1971 (imunoprecipitační metody), od roku 1980 ELISA na mikrotitračních destičkách
- ❑ Od roku 1993 konfirmace opakovaně reaktivních výsledků v NRL pro virové hepatitidy
- ❑ HBsAg „escape“ mutanty popsány v literatuře na přelomu 80. a 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 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