

SCREENING MARKERŮ TRANSFUZÍ PŘENOSNÝCH INFEKČÍ U DÁRCŮ KRVE

Klinická hematologie a
transfuzní služba

Screening transfuzí přenosných infekcí u dárců krve – Doporučení WHO

- Každá země by měla mít pro screening transfuzí přenosných infekcí u dárců krve vypracovanou vlastní politiku (strategie a algoritmy screeningu)
- Jako povinný stanoví WHO screening merkerů těchto infekcí:
 - 1) HIV-1 a HIV-2: stanovení protilátek nebo kombinovaný test antigen + protilátky
 - 2) HBV: stanovení antigenu HBsAg
 - 3) HCV: stanovení anti-HCV protilátek nebo kombinovaný test antigen + protilátky
 - 4) Syfilis: stanovení specifické protilátky proti *Treponema pallidum*
- Screening dalších infekcí stanoví každá země dle epidemiologické situace (např. malárie, Chagasova choroba, HTLV)

Sérologické metody screeningu je doporučeno doplnit metodami NAT

Směrnice EU Legislativa ČR

- Směrnice Evropského parlamentu a Rady **2002/98/ES ze dne 27. ledna 2003**, kterou se stanoví standardy jakosti a bezpečnosti pro odběr, vyšetření, zpracování, skladování a distribuci lidské krve a krevních složek
- Směrnice Komise **2004/33/ES ze dne 22. března 2004**, kterou se provádí směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/98/ES, pokud jde o některé technické požadavky na krev a krevní složky
- **Vyhláška MZ ČR 143/2008 Sb.**, (vyhláška o lidské krvi), ve znění pozdějších předpisů

„ Při každém odběru se provádí vyšetření diagnostických vzorků získaných od dárce (dále jen „vzorky od dárce“) zahrnující vyšetření k průkazu známek infekce

1. virem lidského imunodeficitu typů 1 a 2 (dále jen „HIV 1 a 2“), a to metodou stanovení protilátky a antigenu p24,
2. virem hepatitidy typu B (dále jen „HBV“), a to metodou stanovení povrchového antigenu,
3. virem hepatitidy typu C (dále jen „HCV“), a to metodou stanovení protilátky, a
4. syfilis, a to metodou stanovení protilátky

Vyhláška stanoví i základní postupy confirmace

- každý iniciálně reaktivní vzorek musí být znovu 2 x vyšetřen
- 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

Možnosti screeningu I.

- **Nepřímý průkaz – sérologické metody**
- Nepřímý průkaz přítomnosti infekčního agens v krvi dárce je založen na průkazu specifických protilátek nebo antigenů
- **Metody imunochemické**
- Imunochemické metody jsou založeny na reakci antigenních determinant s vazebným místem protilátky. Pomocí imunochemických metod lze stanovit antigeny infekčního původu nebo specifické protilátky vzniklé na základě jejich imunologického podnětu.

IMUNOANALÝZA

- U imunochemických metod je dosahováno zvýšení citlivosti značením jedné z reagujících složek – antigenu nebo protilátky látkou, která je v závěru reakce detekována.
- Značkou může být:
 - ENZYM (enzymová imunoanalýza)
 - FLUORESCENČNÍ nebo CHEMILUMINISCENČNÍ látka (fluorescenční nebo chemiluminiscenční imunoanalýza)

Omezení sérologických metod

- Všechny screeningové laboratorní testy jsou zatíženy rizikem diagnostického okna

- Dagnostické okno sérologických testů:

HIV – 2 až 3 měsíce

HBV – 4 až 6 týdnů

HCV – 2 až 6 měsíců



Důraz na vysokou senzitivitu používaných testů



metody NAT

Možnosti screeningu II.

- **Přímý průkaz**
- Přímý průkaz infekčního agens v krvi dárce je založen na detekci nukleových kyselin infekčního agens (NAT)
- **Detekce nukleových kyselin**
- V současné době nabývá na významu především metoda real-time PCR a multiplexní PCR.
- Tato moderní technologie umožňuje rychlou a citlivou detekci a kvantifikaci specifického úseku DNA nebo RNA infekčního agens.

PCR

- **Polymerázová řetězová reakce** – metoda, která slouží k namnožení úseků DNA, výsledkem je obrovské množství kopií původní sekvence DNA
- Tři základní pochody PCR, které se cyklicky opakují:
 - 1. DENATURACE – denaturace DNA vlivem vysoké teploty (92 – 96°C), rozrušení vodíkových můstků v molekule DNA, rozvolnění dvoušroubovice, vznik jednovláknové DNA
 - 2. HYBRIDIZACE – nasednutí krátkých úseků DNA (primery – 20 až 25 nukleotidů) při teplotě 45 – 65°C
 - 3. ELONGACE – na řetězec DNA je napojena DNA-polymeráza, která zajišťuje připojování nových nukleotidů (syntéza DNA)

Modifikace PCR

- MULTIPLEXNÍ PCR

- Současná amplifikace několika cílů najednou (DNA, RNA)
- Použito je více párů specifických primerů komplementárních k různým cílovým sekvencím v jedné amplifikační reakci
- Reverzní transkripce a PCR amplifikace probíhá v téže reakční směsi (DNA polymeráza vykazuje za přítomnosti Mn^{2+} aktivitu reverzní transkriptázy)

- REAL-TIME PCR

- Reakční směs je obohacena o detekční sondy značené oznamovacími fluorescenčními barvivy, tyto sondy během PCR hybridizují se vznikajícími produkty
- Detekce a rozlišení PCR produktů v reálném čase jsou prováděny měřením fluorescence uvolněných oznamovacích barviv

Význam NAT

Zkrácení diagnostického okna

- Je důležité, abychom byli schopni identifikovat dárce, kteří se nacházejí ve velmi časných fázích infekce HCV, HIV nebo HBV. Toto kritické období před vytvořením protilátek proti viru je označováno jako „imunologické okno“.
 - U HIV a HCV vzniká již během „imunologického okna“ vysoká virémie, kdy pravděpodobnost přenosu nákazy je vysoká.
 - Naopak během infekce HBV je rychlost replikace virů v období imunologického okna nízká.
-
- HIV o 7 – 9 dní
 - HCV o 59 – 65 dnů
 - HBV o 25 – 30 dnů

HIV

- Obalený RNA virus
- Přenos parenterální cestou (krví, tělními tekutinami)
- Replikuje se především v lymfocytech hostitele
- Virová NK se integruje do DNA hostitelské buňky ve formě proviru (přepis virové RNA do dvouvláknové DNA - RT)

- Dosud byly identifikovány dva typy viru HIV:
- HIV-1 a HIV-2

- Popsány byly různé subtypy virů HIV, které mají odlišnou geografickou distribuci

Subtypy viru 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 identifikovány v Evropě a v USA

Skupina N (non-M, non-O))

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

Screeningové metody markerů infekce virem HIV v transfuzní službě

- Sérologické markery:
 - - protilátky anti-HIV 1 skupiny M i skupiny O
 - - protilátky anti-HIV 2
 - - antigen HIV p24, duální testy
- Markery NAT:
 - HIV-1 RNA skupiny M i skupiny O
 - HIV-2 RNA
- Použité testy by měly být schopny detekovat všechny subtypy viru

HIV POZITIVNÍ PŘÍPADY V ČR PODLE ZPŮSOBU PŘENOSU

Kumulativní údaje ke dni 31.12.2021

ZDROJ: SZÚ, NRL pro HIV AIDS

ZPŮSOB PŘENOSU	CELKOVY POČET HIV+		
	Muži	Ženy	Celkem
Homosexuální/ bisexuální	2 659	0	2 659
Injekční uživatelé drog (IUD)	113	36	149
IUD + homosexuální/bisexuá lní	75	0	75
Hemofilici	17	0	17
Příjemci krve a krevních přípravků	14	3	17
Heterosexuální	512	513	1025
Matka-dítě	4	5	9
Nozokomiální	5	5	10
Jiný	5	2	7
Nezjištěný	91	15	106
Celkem občané ČR/rezidenti	3 495	579	4 074
Cizinci	353	154	507
Celkem HIV+	3 848	733	4 581

HCV

- Obalený RNA virus
- Přenos parenterální cestou (krví, tělními tekutinami)
- Dominantní cesta přenosu – IUD
- Jakmile se virus dostane do krevního řečiště putuje do jater, kde se replikuje v hepatocytech
- 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)

Geografická distribuce subtypů HCV

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!)

Screeningové metody markerů infekce virem HCV v transfuzní službě

- Sérologické markery:
 - - protilátky anti-HCV
 - - HCV antigen, duální testy

- Markery NAT:
 - HCV RNA

- Použité testy by měly být schopny detekovat všechny subtypy viru

HBV

- Obalený DNA virus
 - Přenos parenterální cestou (krví, tělními tekutinami)
 - Replikuje se v hepatocytech
-
- ❑ 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)

Jak HBsAg „escape“ mutace ovlivňují diagnostické testování

- Vznik HBsAg mutant je výsledkem selekčního tlaku způsobeného imunitní odpovědí organismu nebo léčebnými postupy (**HBsAg „escape“ mutanty popsány v literatuře na přelomu 80. a 90. let 20. století**)

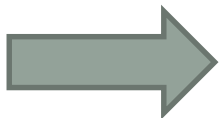
Model s proteinu HBsAg

Determinanta „a“ – vysoce imunogenní ale také mutagenní oblast
pozičně ohraničená aa 100 – 160
Proti epitopům „a“ determinanty jsou namířeny Ab používané v dostupných
HBsAg testech

- Mab proti epitopům v a-a regionu 100-160 (determinanta „a“) X Mutace úseků DNA kódujících tento epitop



monoklonální Ab nerozezná epitop



test nedetekuje přítomnost HBsAg, produkce falešně negativního výsledku !!

- **Je třeba „monitorovat“ virus, jeho schopnost mutovat a přizpůsobovat tomu tak diagnostické testy**

Screeningové metody markerů infekce virem HBV v transfuzní službě

- Sérologické markery:
 - - antigen HBsAg
 - - celkové protilátky anti-HBc
- Pod selektivním tlakem může virus vytvářet mnoho různých životaschopných mutací HBsAg („únikové mutace“)
- Použité testy by měly být schopny detekovat velké množství těchto mutací

- Markery NAT:
 - HBV DNA

Syfilis

- Původcem onemocnění syfilis je bakterie *Treponema pallidum*
- Přenos: infikuje pouze člověka, přenos zejména pohlavním stykem (90%), parenterálně krví a tkáněmi dárce, transplacentárně z matky na dítě
- *Treponema pallidum* je citlivá na teplo, skladování při teplotě pod +20°C po dobu delší než 72 hodin vede k jejímu nevratnému poškození
 - ➔ Riziko přenosu infekce syfilis TP skladovanými při teplotě nižší než +20°C je velmi nízké
 - ➔ RIZIKO u TP skladované při +20 až + 24°C (trombocytové TP)

Screeningové metody markerů infekce syfilis

- Sérologické markery:

- - specifické protilátky proti *T. pallidum* (EIA, TPHA)

V **TPHA** reagují specifické protilátky vzniklé při syfilis s antigenem Nicholsova kmene *T. pallidum* naneseným na krůtích erythrocytech. Sérum obsahující protilátky proti treponematům aglutinuje (shlukuje) červené krvinky za vzniku typického povlášku erythrocytů – aglutinátu.

- - v zemích, kde je výskyt infekce syfilis vyšší, je doporučeno WHO provádět také testy na nepecifické reaginové protilátky

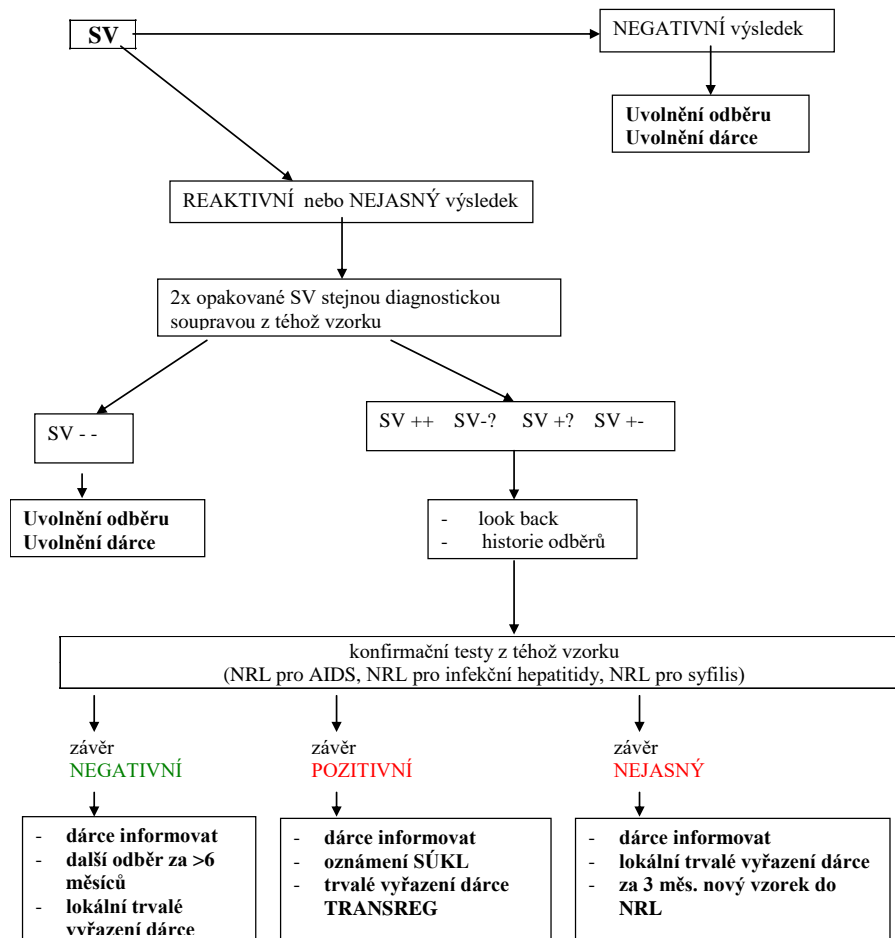
RRR (rychlá reaginová reakce) neboli **RPR** (*rapid plasma reagin*) je screeningový test syfilis. RRR je mikroflokulační reakce, kde antigenem je kardiolipin smíšený s cholesterolem a lecitinem. Kardiolipin je fosfolipid (hapten) obsažený v membráně *Treponema pallidum*

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 TTO FN Brno
(HIV, anti-HCV, HBsAg, syfilis)**



SV- screeningové vyšetření

Screening infekčních markerů u dárců krve v ČR – historický přehled

- • Syphilis 1967
 - • HBsAg 1971
 - • Anti-HIV 1987
 - • Anti-HCV 1992
 - HIV Ag/Ab 2003
-
- Od roku 1997 (Německo) postupně zaváděny NAT HIV, HCV, HBV v zemích EU – v ČR není zakotveno v legislativě

Další infekce přenosné krví / transfuzí

- rizika a jejich řešení

- A) Transfuzí přenosné infekce, které mohou představovat riziko v některých zemích či regionech
- Endemický výskyt některých infekcí v některých zemích (malárie, Chagasova choroba, HTLV) – zavedení screeningu (univerzální , selektivní)
 - Ne-endemické oblasti – specifická rizika představují potenciální DK, kteří žili nebo cestovali do těchto endemických oblastí
- B) Nové a nově se objevující infekce (West Nile Virus, Dengue, Chikungunya)
- Pro posouzení těchto rizik jsou potřebné spolehlivé epidemiologické údaje
 - Po vyhodnocení rizik zavedení screeningu (Je-li k dispozici)
 - Kritéria pro posuzování způsobilosti k dárčovství musí být aktualizována

Virová hepatitida A

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 (za rok 2009 1648)
2016 (ke dni 31.12.2016) – celkem 930 případů, z toho 448 v Jmk

Virová hepatitida E

- Malý neobalený RNA virus hepatitidy E (VHE)
- Jsou známy 4 genotypy infikující člověka HEV 1 až 4
- Rezervoárem jsou domácí i divoká zvířata, nejčastěji prase domácí i divoké, spárkatá zvěř
- Přenos:
 - požitím nedostatečně tepelně zpracovaného masa, ale uplatňuje se i fekálně orální přenos
 - krví (transfuzí nebo injekční aplikací drog)
- Klinický obraz onemocnění: asymptomatický, manifestní i fulminantní, těžký průběh u těhotných (mortalita 15-25% u genotypu 1)

Virus hepatitidy E ve světě

(zdroj CDC)

Genotypy HEV mají rozdílnou geografickou distribuci:

Genotyp 1 – Asie a Severní Afrika

Genotyp 2 – Mexiko a Jižní Amerika

Genotyp 3 – Evropa a Severní Amerika

Genotyp 4 – jihovýchodní Asie

Postupy pro zajištění bezpečnosti transfuzních přípravků v ČR – hepatitida A, E

- **Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP – Posuzování způsobilosti k dárce krve a krevních složek (verze 10, 07/2022)**
- Potenciální dárce krve se po prodělání hepatitidy A, E vylučuje dočasně na dobu 1 roku po uzdravení

Lidský T-buněčný lyfotropní virus HTLV III

- ❑ **Obalené RNA viry, retroviry**

- ❑ **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:
- ❑ HTLV I - jižní Japonsko, Karibské ostrovy, některé oblasti Afriky, Střední a Jižní Ameriky, Melanésie včetně Papuy - Nové Guineje a střední a severní Austrálie
- ❑ HTLV II je přítomný u některých indiánských kmenů Severní, Střední a Jižní Ameriky.
 - v endemických 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)

- ❑ Výskyt v Evropě je spojen s návštěvou některých z těchto endemických oblastí.
- ❑ Oba viry (HTLV I a II) se vyskytují u nitrožilních uživatelů drog v Severní Americe, Asii i Evropě.

- ❑ V současnosti jsou oba viry rozšířeny po celém světě v důsledku migrace nosičů z endemických oblastí hlavně do Evropy a USA

Postupy pro zajištění bezpečnosti transfuzních přípravků v ČR – HTLV I/II

- **Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP – Posuzování způsobilosti k dárce krvě a krevních složek (verze 10, 07/2022)**
- Trvalé vyloučení z dárce krvě (onemocnění nebo laboratorní průkaz protilátek)

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).

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

Postupy pro zajištění bezpečnosti transfuzních přípravků v ČR - WNV

- **Vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění pozdějších předpisů**
- Systém epidemiologické bdělosti nákaz vyvolaných virem západonilské horečky (WNV) – Činnost transfuzní služby :

Pracoviště transfuzní služby zajistí:

- a) vyloučení z dárcovství plné krve a krevních složek u všech osob, které pobývaly v oblasti s probíhajícím přenosem WNV na lidi, a to po dobu 28 dní po opuštění takové oblasti
- b) v indikovaných případech vyšetření vytipovaných šarží plné krve a krevních složek na přítomnost nukleových kyselin WNV
- c) Společnost pro transfuzní lékařství České lékařské společnosti Jana E. Purkyně zajistí uveřejnění informací o aktuální epidemiologické situaci ve výskytu humánních případů nákazy WNV v zahraničí podle zpráv zaslaných cestou Ministerstva zdravotnictví a Státního ústavu pro kontrolu léčiv na svých webových stránkách.

Postupy pro zajištění bezpečnosti transfuzních přípravků v ČR - WNV

- **Vyhláška č. 143/2008 Sb.**, o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), ve znění pozdějších předpisů
- **Odklad z dárcovství na 28 dní** po opuštění oblasti s rizikem místního získání viru západonilské horečky, ledaže je jednotlivě provedená zkouška metodou amplifikace nukleových kyselin (NAT) negativní
- **Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP – Posuzování způsobilosti k dárcovství krve a krevních složek** (verze 10, 07/2022)
- Potenciální dárce krve se vylučuje dočasně z dárcovství krve a krevních složek na dobu 28 dní po návratu z rizikové oblasti s výskytem infekcí virem západonilské horečky, ledaže je jednotlivě provedená zkouška metodou amplifikace nukleových kyselin (NAT) negativní
- Po prodělání západonilské horečky se potenciální dárce krve vylučuje dočasně na dobu 120 dní po úplném uzdravení

Opatření proti přenosu infekce WNV transfuzí krve v České republice 2019

Seznam evropských zemí nebo oblastí, jejichž návštěva je důvodem k dočasnému vyřazení z dárcovství krve pro riziko přenosu infekce virem západonilské horečky na člověka

Doporučení předsednictva Národní transfuzní komise ze dne 10. 6. 2019 - seznam evropských zemí nebo oblastí, jejichž návštěva je důvodem k dočasnému vyřazení z dárcovství krve pro riziko přenosu infekce virem západonilské horečky na člověka

S ohledem na dostupné informace o geografické distribuci případů infekce virem západonilské horečky (dále jen „WNV“) v Evropě v loňském roce publikované Evropským střediskem pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) a další dostupné informace vztahující se k WNV, které jsou významné z epidemiologického hlediska, doporučuje předsednictvo Národní transfuzní komise dočasně na 28 dnů po opuštění uvedené země nebo oblasti vyřadit z dárcovství krve a jejích složek pro výrobu transfuzních přípravků pro riziko přenosu WNV na člověka osoby, které v období od 1. 5. 2019 do 31. 10. 2019 pobývaly (pozn. za pobyt se považuje návštěva zahrnující alespoň 1 přenocování) v následujících zemích nebo oblastech:

Země	Oblast vyřazení
Albánie	celá země
Bosna a Hercegovina	celá země
Bulharsko	celá země
Černá Hora	vnitrozemí K vyřazení se nepřistupuje při pobytu u moře, v případě, že ani v rámci cesty nedošlo k přenocování ve vnitrozemí.
Francie	regiony Okcitéanie, Provence, Korsika vnitrozemí
Chorvatsko	vnitrozemí K vyřazení se nepřistupuje při pobytu u moře, v případě, že ani v rámci cesty nedošlo k přenocování ve vnitrozemí.
Itálie	provincie: Emilia Romana, Piemont, Lombardie, Veneto, Friuli-Venezia Giulia, Sardinie a Sicílie Pozn.: orientačně ve vnitrozemí provincie severně od Toskánska a San Marina
Kosovo	celá země
Kypr	celý ostrov
Maďarsko	celá země
Makedonie (nově Severní Makedonie)	celá země
Moldavsko	celá země
Rakousko	spolkové země Dolní Rakousy a Vídeň
Rumunsko	celá země
Řecko	celá země vnitrozemí
Slovensko	vnitrozemí K vyřazení se nepřistupuje při pobytu u moře, v případě, že ani v rámci cesty nedošlo k přenocování ve vnitrozemí.
Srbsko	celá země
Turecko	celá země
Ukrajina	celá země

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	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
ČR	13	29	81	35	40	123	57	36	81	38

Autochtonní případy ve Španělsku a Francii říjen 2018

- Devět případů autochtonního přenosu horečky Dengue bylo potvrzeno v EU začátkem října
- Z toho tři ve Španělsku a šest ve Francii, ve třech samostatných ohniscích
- Autochtonní přenos horečky Dengue byl zaznamenán v jižní Francii v letech 2010, 2013, 2014 a 2015. **Ve Španělsku jde o první zaznamenaný případ lokálního přenosu horečky Dengue**, což nebylo neočekávané, vzhledem k tomu že výskyt *Ae. albopictus* je zde znám už od roku 2004.

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 Zika

- Zika virus patří s virem žluté zimnice, dengue, WNV a japonské encefalitidy mezi RNA viry čeledi Flaviviridae
- K přenosu infekce může dojít:
 - bodnutím infikovaného komára (rod Aedes – A. aegypti, A. albopictus)
 - krevní transfuzí, krví
 - pohlavním stykem
 - transplacentárně z matky na plod

Onemocnění:

- Inkubační doba 3 až 12 dní
- Vysoká teplota, vyrážka, zánět spojivek, bolest hlavy a kloubů
- Souvislost s vývojovými malformacemi (mikrocefalie, kalcifikace CNS)

Virus Zika

- Doporučení dle dokumentu ECDC „ Zika virus and safety of substances of human origin, A Guide for preparedness activities in Europe“ ze dne 15.7.2016

Krev a krevní složky	<p>Odklad dočasně na dobu 28 dní</p> <ul style="list-style-type: none">a) Po návratu z oblasti s výskytem Zika virub) Po vymizení symptomů v případě potvrzené infekce virem Zikac) Po sexuálním kontaktu s mužem u kterého byla diagnostikovaná infekce virem Zika nebo s mužem, který pobýval v oblastech s výskytem viru Zika nebo s mužem, který žil v oblastech s výskytem viru Zika 3 měsíce před posledním sexuálním kontaktem <p>NEBO – NAT screening nebo použití technik inaktivace patogenů plazmy a destiček</p>
----------------------	--

Virus Zika

Počet případů importovaných do ČR

(zdroj: SZÚ, Epidat)

ZIKA	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
ČR	0	0	0	0	0	13	4	1	1	2

Malárie

- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ **Vyvolává malárii:** Plasmodium falciparum – tropická malárie
Plasmodium vivax , P. ovale – malárie třídní (terciána)
Plasmodium 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 násleky pro jimi zásobované orgány)

Postupy pro zajištění bezpečnosti transfuzních přípravků v ČR - malárie

- **Vyhláška č. 143/2008 Sb.**, o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), ve znění pozdějších předpisů
- **Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP – Posuzování způsobilosti k dárcovství krve a krevních složek** (verze 10, 07/2022)
 - Pobyt 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)

Další parazitární infekce

Trypanosoma cruzi

- ❑ **Patří mezi prvoky**
- ❑ **Původce Chagasovy choroby**
- ❑ **Výskyt:** jižní a střední Amerika, Mexiko
- ❑ **Přenos:** Přenašečem jsou tropické krevsající ploštice (Triatoma, Rhodnius), infekce vzniká vetřením infekčních stadií parazita obsažených ve výkalech ploštice 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 dárčovství

Postupy pro zajištění bezpečnosti transfuzních přípravků v ČR – tropické choroby

- **Vyhláška č. 143/2008 Sb.**, o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), ve znění pozdějších předpisů
- **Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP – Posuzování způsobilosti k dárceví krve a krevních složek** (verze 10, 07/2022)
- Tropické a v ČR neobvyklé choroby (Chagasova choroba, babesióza, leismanióza – Kala Azar) – trvalé vyloučení z dárceví

Další 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

Další 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

Další parazitární infekce

Počet hlášených případů v ČR - Leishmanióza

Zdroj: SZÚ, Epidat

ROK	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Počet případů	2	1	4	2	0	1	3	2	0	3	0

Posouzení způsobilosti k dárčovství krve

DOTAZNÍK DÁRCE KRVE

- Otázka 21. Pobýval(a) jste v zahraničí? Kde (i krátkodobě, turistický pobyt)
- Otázka 27. ANAMNÉZA:
- Infekční žloutenka, HIV infekce (AIDS), infekce a nosičství virem HTLV I/II, pohlavní nemoc (syfilis, kapavka), tuberkulóza, jiné přenosné nemoci (inf. mononukleóza, klíšťová encefalitida, brucelóza, tularémie, toxoplazmóza, listerióza, borelióza, malárie, babesióza, leishmaniáza (Kala-Azar), Chagasova choroba, Q horečka, tyfus, paratyfus, aj.)

Transfuzní a tkáňové oddělení Fakultní nemocnice Brno

Příjmení.....titul	číslo odběru (nevyplňuje)
Jméno.....rodné číslo	

Vypíšte, prosím, odpovědně a úplně všechny údaje a otázky. **Správnou odpověď zakroužkujte!**
Před vyplněním dotazníku se seznáme, prosím, s „**Poučením dárce krve**“

1. Seznámil(a) jste se s poučením o rizikovém chování z hlediska dárání krve a rozumíte mu? ano ne
2. Patříte do některé skupiny s rizikovým chováním? (viz „**POUČENÍ DÁRCE KRVE**“) ano ne

SOUČASNÝ ZDRAVOTNÍ STAV

3. Cítíte se zdravý (a)? ano ne
4. Užíváte pravidelné léky? (uveďte všechny, včetně např. acylpyrinu, hormonální antikoncepce) ano ne
Jaké:
5. Uží(a) jste v posledních 4 týdnech nějaké jiné léky? (pravidelné užívané léky již neuvádějte) ano ne
Jaké:
6. Léčíte se nebo jste sledován(a) pro nějaké onemocnění (včetně infekčního)? ano ne
Jaké:
7. Potíte se v noci v nadměrné míře, pozorujete zvýšené teploty, zduřelé uzliny? ano ne
8. Hubnete v poslední době bez zjevné příčiny? ano ne
9. Prodělal(a) jste v posledních 4 týdnech nějaké onemocnění (nachlazení, průjemné onemocnění apod.)? ano ne
Jaké:
10. Podstoupil(a) jste v posledních 7 dnech trhání zubů nebo malý chirurgický výkon? ano ne
Jaký:
11. Měl(a) jste v posledních 4 týdnech přísáté klíšťe? ano ne
- 11a. Pro ženy: Napíšte, prosím, termín poslední menstruace.

ZMĚNY ZDRAVOTNÍHO STAVU

V uplynulých 6 měsících:

12. Prodělal(a) jste transplantaci, operaci, ošetření v nemocnici, nitrožilní podání léků, endoskopické vyšetření, poranění injekční jehlou, kontakt s krví (poraněním nebo silnicí)? ano ne
Jaké: Kdy:
13. Dostal(a) jste transfuzi krve? ano ne
Kde (uveďte stát): Kdy:
14. Bylo Vám provedeno tetování, akupunktura, propichování uší, piercing? ano ne
15. Byl(a) jste očkován(a)? ano ne
Proti čemu: Kdy:
16. Pracujete v rizikovém (infekčním, zdravotně škodlivém) prostředí? ano ne
V jakém (infekce, záření, chemická rizika atd.):
17. Byl(a) jste léčen(a) pro pohlavní chorobu? ano ne
18. Pobýval(a) jste v některém zařízení (vězení)? ano ne
19. Byl(a) jste pokousán(a) zvířetem? Jakým: Kdy:
20. Byl(a) jste v úzkém kontaktu (rodina, pohlavní styk) s nemocným s infekční žloutenkou, AIDS, jiným infekčním onemocněním nebo s nitrožilním uživatelem drog? ano ne
Jakým:
21. Pobýval(a) jste v zahraničí? ano ne
Kde (i krátkodobě, turistický pobyt): Kdy:
22. Pro ženy: Byla jste v posledním roce nebo jste těhotná? ano ne

ODBĚRY KRVE V MINULOSTI

23. Darujete krev nebo její složky poprvé (pokud ano, otázky 24 a 25 nevyplňujte) ano ne
24. Měl(a) jste po minulém odběru zdravotní komplikaci (např. mdloby, kolaps, větší hematom, aj.)? ano ne
Pokud ano, jakou:
25. Chodíte darovat krev nebo plazmu i do jiného zařízení transfuzní služby (odběrového centra)? ano ne
26. Byl(a) jste někdy odmítnut(a) jako dárce-dárkyně krve nebo plazmy? ano ne
Důvod odmítnutí:

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 (anti-HBc)
- C) Protiinfekční ošetření těch TP, u kterých je to možné