

# Jsou dárci krve bezpeční? aneb pozitivně potvrzené infekce u dárců krve ve FN Brno v letech 2001 – 2015

Eva Tesařová  
[tesarova@fnbrno.cz](mailto:tesarova@fnbrno.cz)

XXIII. mezinárodní konference NEMOCNIČNÍ EPIDEMIOLOGIE A HYGIENA, Brno 19. - 20. dubna 2016

# Transfuzní přípravky

- individuálně vyráběné léčivé přípravky (IVLP)
- plní výhradně substituční funkci
- vyráběny v zařízeních transfuzní služby
- v ČR t.č. bez povinné inaktivace patogenů
- baleny ve vacích (PVC, polyolefiny, EVA)
- expedovány nativní, zmrazené
- připraveny vždy z krve jednoho dárce z jednotlivého odběru nebo z aferézy
- výjimka
  - směsné trombocyty
  - kryoprecipitát (kryoprotein)

# Transfuzní přípravky

- Erytrocyty
- Trombocyty
- Plazma pro klinické použití
- Kryoprotein
- Granulocyty (výjimečné použití)

# Skladování erytrocytů $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ exspirace 42 dny



# Skladování trombocytů $22 \pm 2^\circ\text{C}$ za agitace; expirace 5 dnů



# Skladování plazmy - 25°C a méně expirace 36 měsíců



# Dárci krve ?



# Legislativní požadavky

Screening markerů krví přenosných infekcí dárců krve, dárců orgánů, dárci tkání a buněk je realizován v souladu s legislativními požadavky

- Zákon 378/2007 Sb., o léčivech (ve znění z. 70/2013 Sb.)
- Vyhláška 143/2008 Sb., o lidské krvi
- Zákon 296/2008 Sb., o lidských tkáních a buňkách
- Vyhláška 422/2008 Sb., o lidských tkáních a buňkách
- Zákon 285/2002 Sb., transplantační (ve znění z. 44/2013 Sb.)
- Vyhláška 437/2002 Sb., transplantační (ve znění v. 114/2013. Sb.)





# Posouzení způsobilosti

## Exaktní definice kritérií

- § 67, odst. 4, písm. i) zákona 378/2007 Sb. v platném znění
- § 4, odst. 1, písm. b) vyhlášky 143/2008 Sb. v platném znění
- příloha č. 2, část B bod 1., 2., 3. vyhlášky 143/2008 Sb. v platném znění
  - údaje jednoznačně identifikující dárce
  - údaje o zdravotním stavu a anamnéze dárce
  - údaje obsahují důležité faktory, které mohou napomoci k identifikaci a vyloučení osob, jejichž odběr by mohl představovat zdravotní riziko pro příjemce transfuze nebo přinášet nepřiměřené riziko pro dárce samotného
  - dárce svým podpisem mj. potvrzuje, že
    - četl poskytnuté informace a že jim rozumí
    - měl příležitost klást otázky
    - dostal uspokojivé odpovědi
    - poskytl informovaný souhlas s odběrem a laboratorním vyšetřením své krve
    - **informace jím poskytnuté jsou pravdivé**
- příloha č. 3, část A, B vyhlášky 143/2008 Sb. v platném znění „kritéria pro výběr (vyloučení) dárců“

# Povinně prováděná sérologická vyšetření

## DÁRCI KRVE:

- HIV 1 p24 Ag a anti-HIV 1/2
- anti-HCV
- anti-TP (syfilis)
- HBsAg

## DÁRCI ORGÁNŮ, TKÁNÍ A BUNĚK:

- HIV 1 p24 Ag a anti-HIV 1/2
- anti-HCV
- anti-TP (syfilis)
- HBsAg
- anti-HBc
- anti-HTLV I/II (v indikovaných případech)

# Indikace pro vyšetření anti-HTLV I/II

U všech dárců tkání a buněk se v souladu s dikcí platné legislativy provádí vyšetření krve na přítomnost známek HIV/AIDS, žloutenky typu B, žloutenky typu C a syfilis. Vyšetření na přítomnost známek HTLV se provádějí **u dárců, kteří žijí v oblastech s výskytem této infekce nebo z nich pocházejí nebo u dárců, kteří mají sexuální partnery, kteří pocházejí z oblastí s výskytem této infekce nebo u dárců, jejichž rodiče pocházejí z těchto oblastí.**

HTLV (human T-lymhotropic virus) je virová infekce člověka způsobená virem, podobným viru HIV/AIDS s podobnými klinickými projevy. V současné době se HTLV infekce vyskytuje v **jižním Japonsku, v Karibiku, v jižní Americe, v centrální Africe a v Mikronésii.**

V případě, že budou některé výsledky vyšetření, jež byla z Vaší krve provedena, vykazovat reaktivní nebo pozitivní výsledky, budete o této skutečnosti informován lékařem TTO FN Brno. Zároveň Vám budou poskytnuty informace, jak s výsledky vyšetření nakládat v souvislostech, důležitých pro Vaše zdraví.



# Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno



# TTO FN Brno vyšetřuje navíc u dárců krve

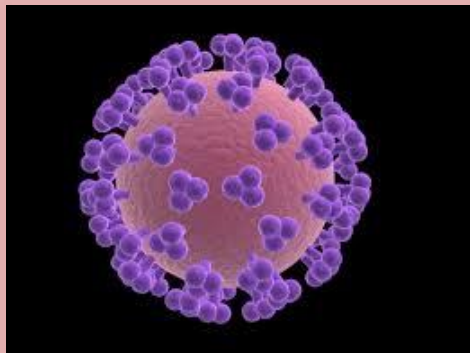
- RNA HCV
  - DNA HBV
  - RNA HIV
- 
- RT PCR MPX COBAS s201**  
(od 10.10.2010)

## Výhody

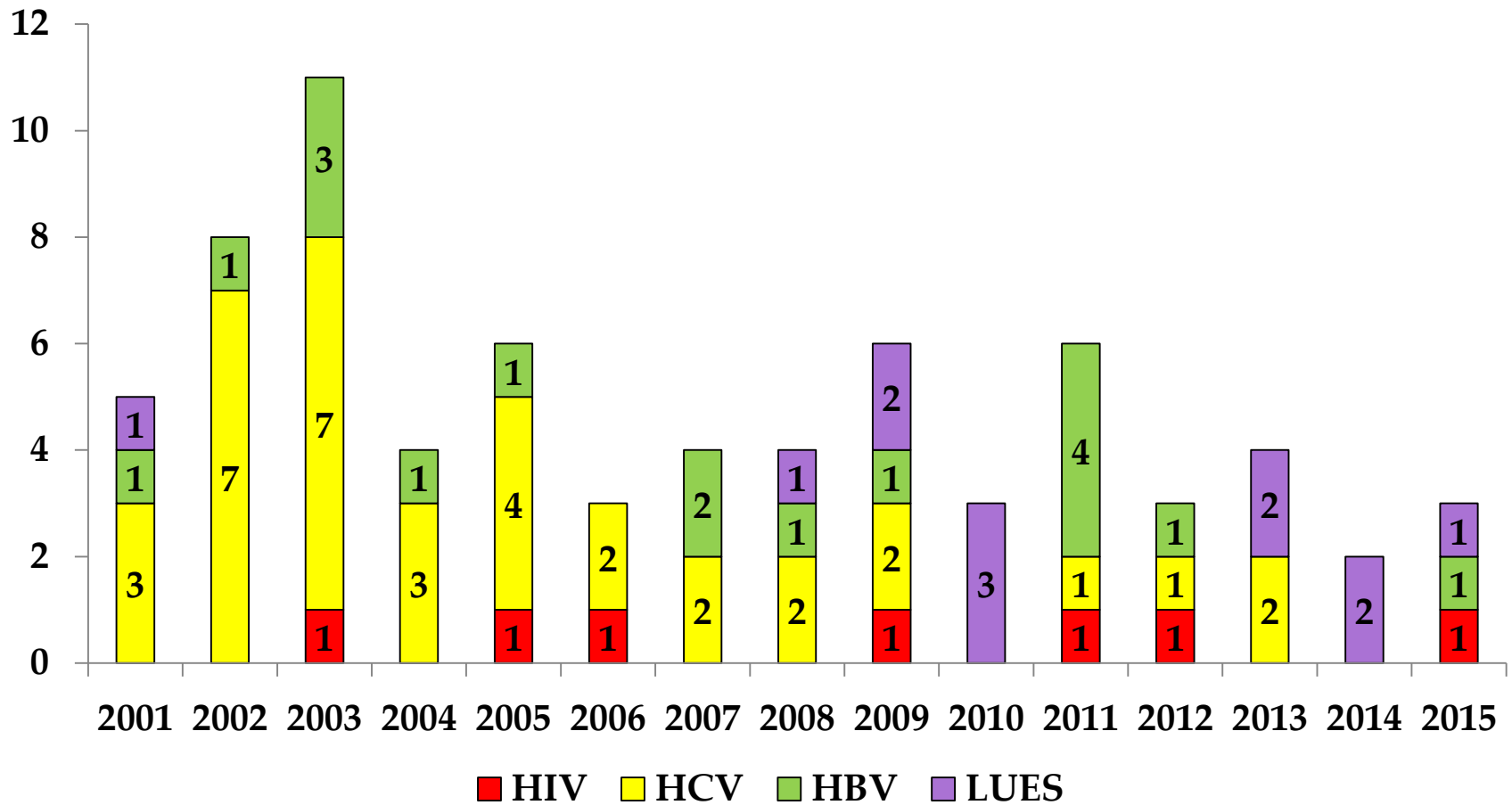
- zkrácení diagnostického okna
- detekce OBI (occult hepatitis B infection)
- zkrácení karantény plazmy (ze 6 na 4 měsíce)

# Informace, poskytované dárci krve

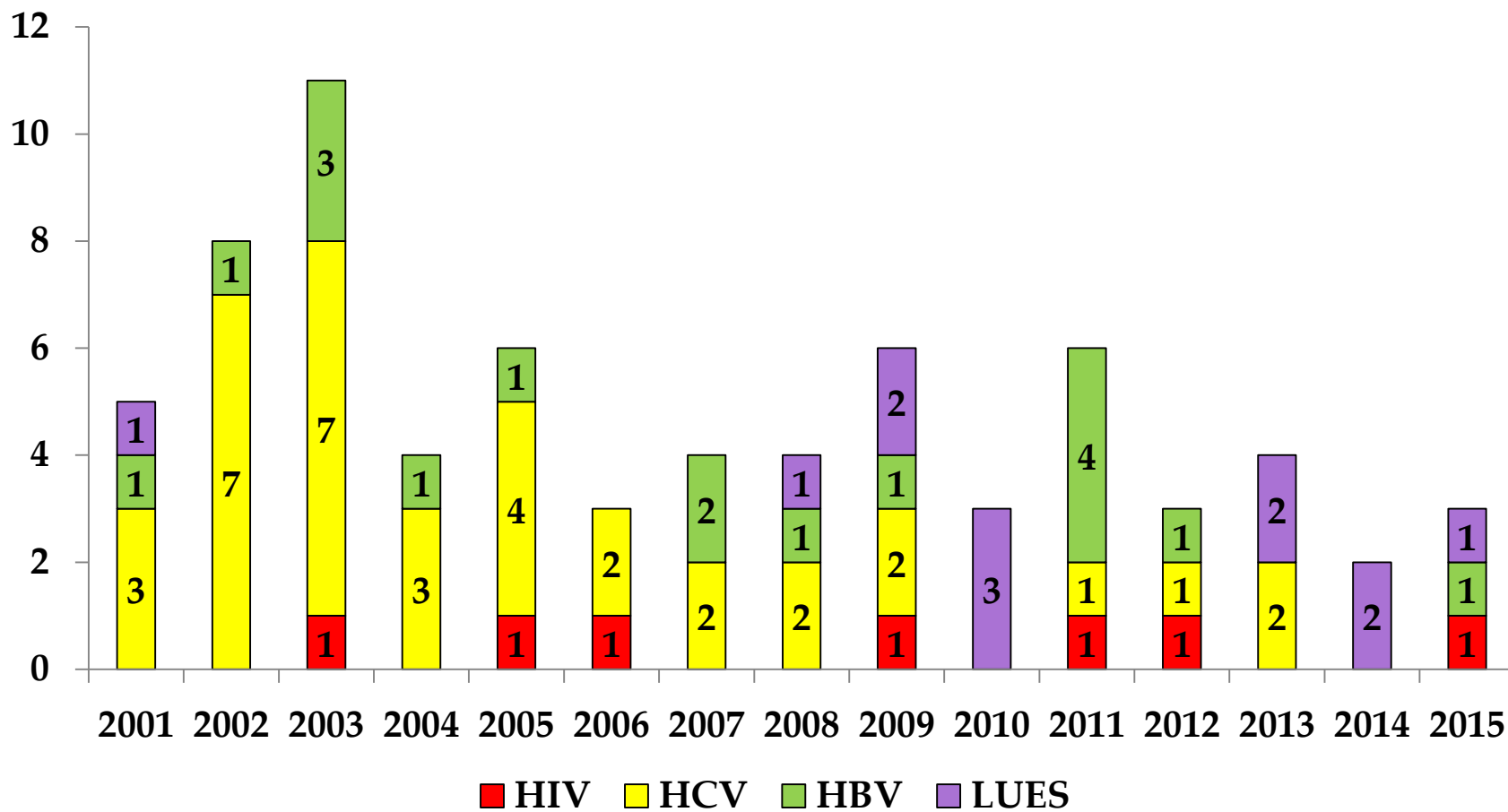
- **nejsou pravdivé vždy !**
- v letech 2001 – 2015 v TTO FN Brno
- bylo zachyceno a potvrzeno s pozitivním výsledkem v NRL SZÚ CEM v Praze **72 osob** na povinně sledované infekce (HBV, HCV, HIV 1/2, LUES)



# Dárci krve FN Brno confirmovaní v NRL SZÚ CEM v Praze

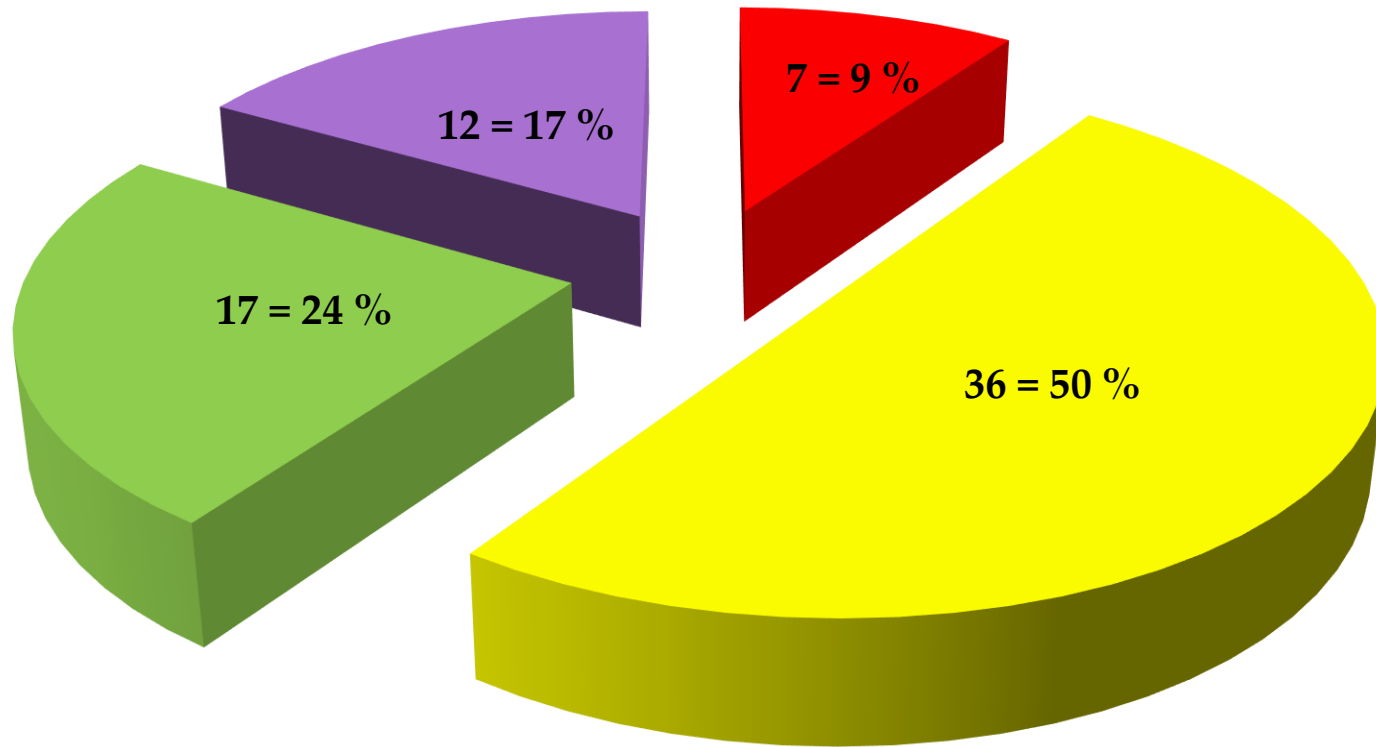


# Dárci krve FN Brno confirmovaní v NRL SZÚ CEM v Praze – celkem 72 osob



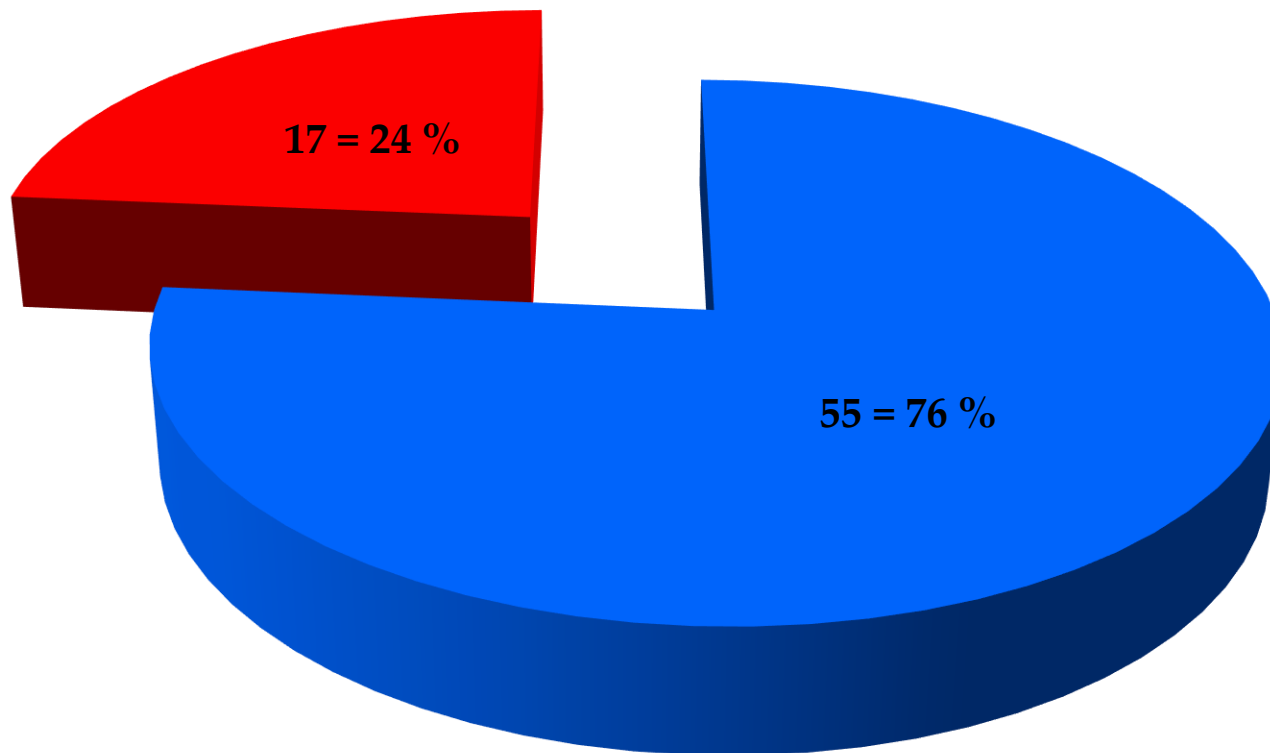


# Rozdělení dle typu infekce



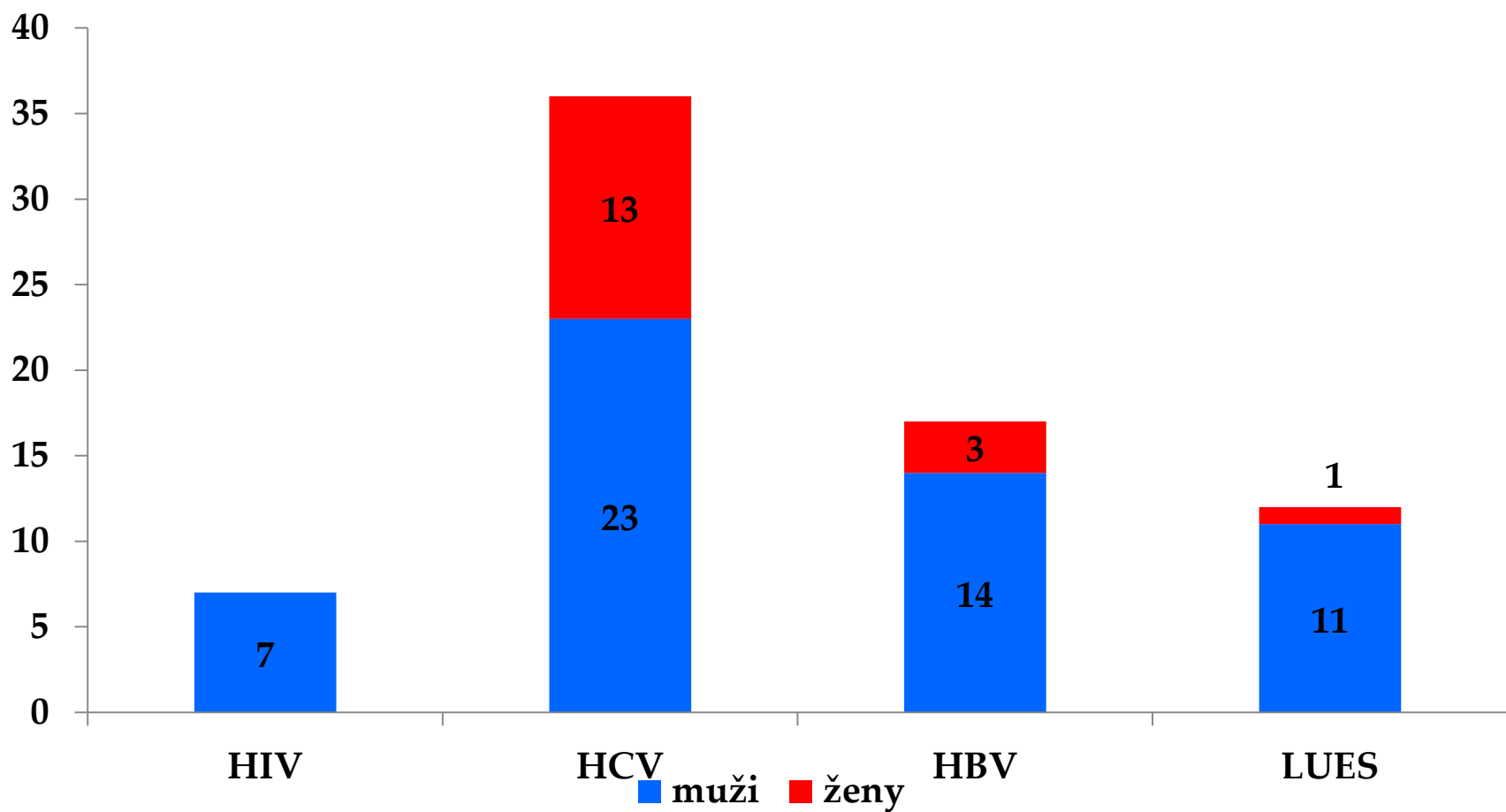
■ HIV ■ HCV ■ HBV ■ LUES

# Rozdělení dle pohlaví

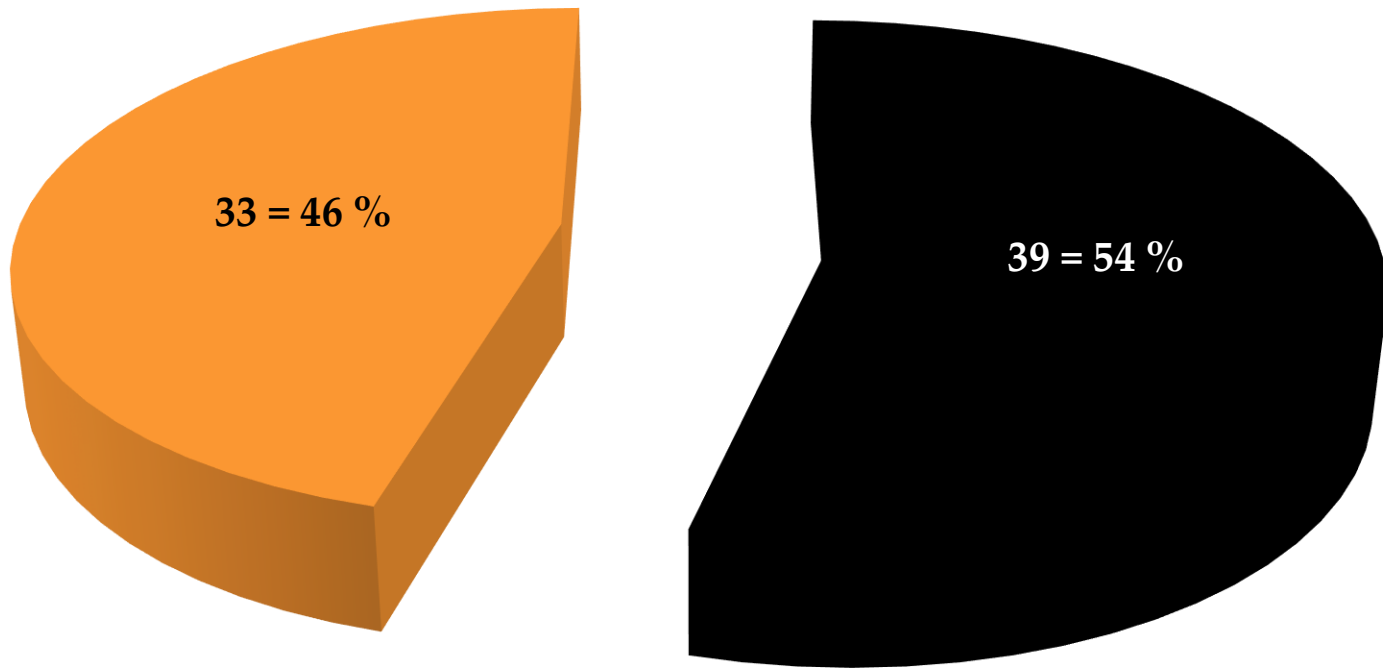


■ muži ■ ženy

# Vztah pohlaví k typu infekce

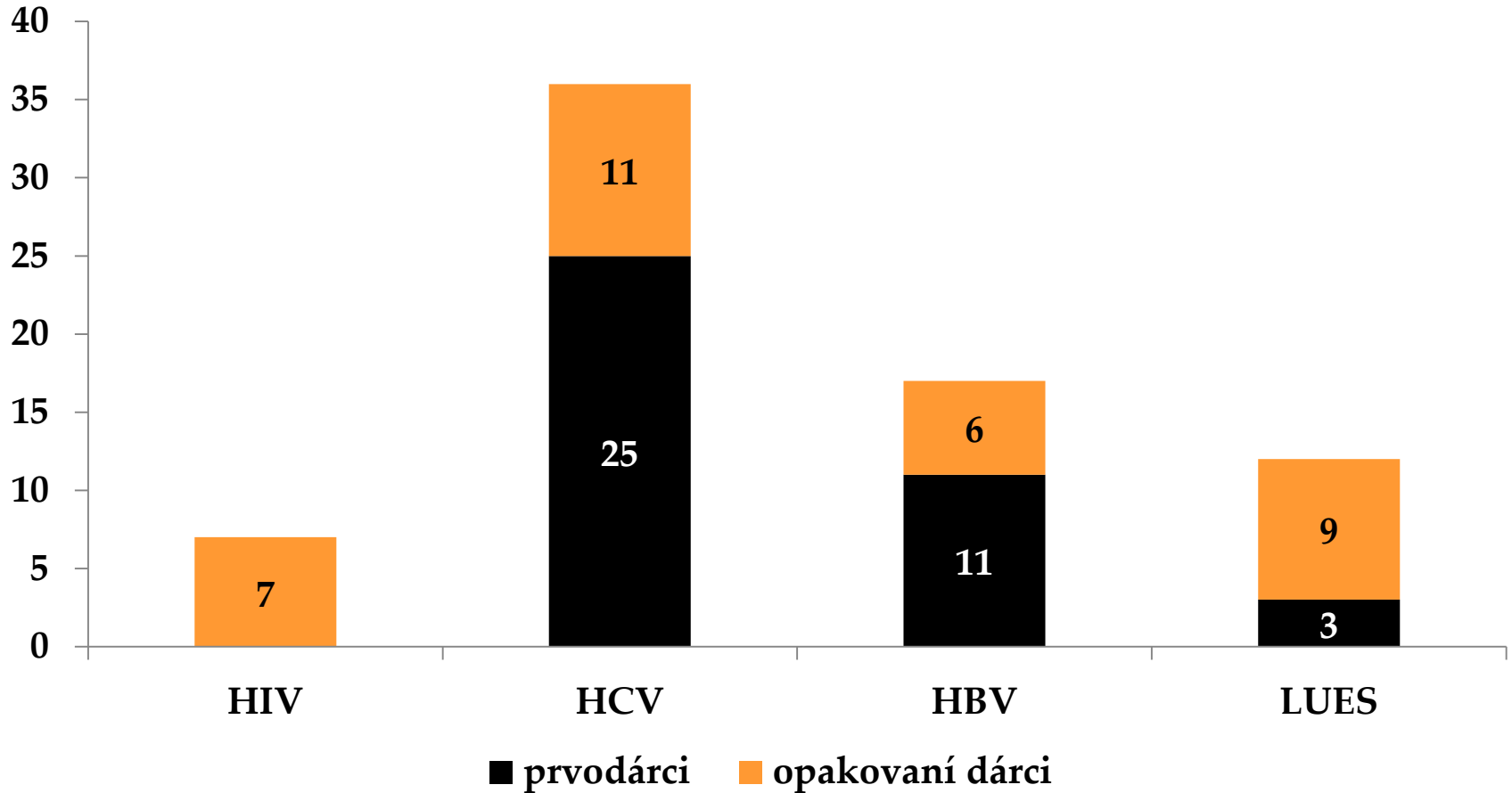


# Rozdělení dle charakteru dárce prvodárce vs. opakovaný dárce

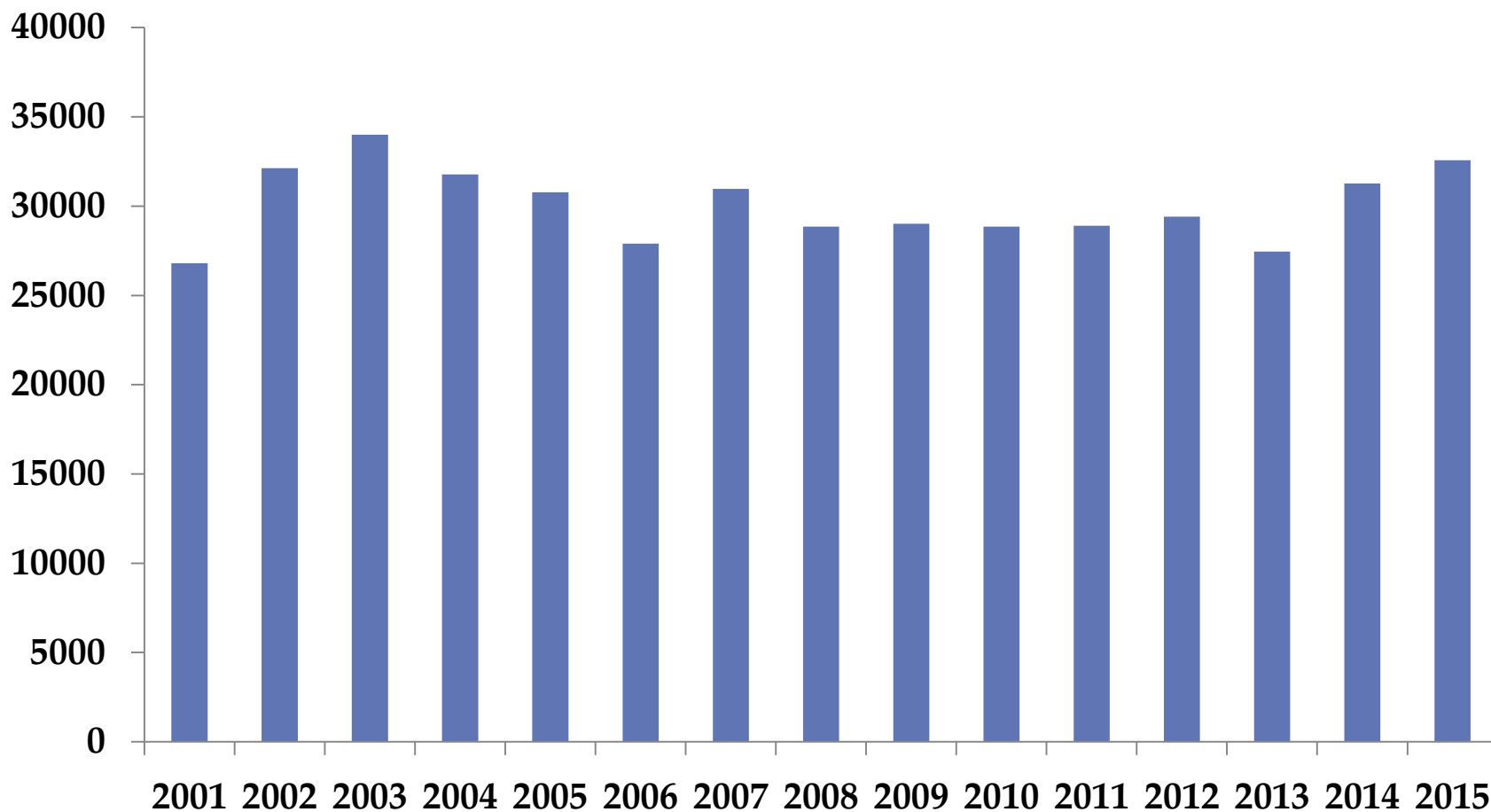


■ prvodárci ■ opakovaní dárce

# Charakter odběru k typu infekce



# Celkem realizováno 450.669 odběrů



# Celkem realizováno 450.669 odběrů

- v období 2001 – 2015 byl průměrně každý **6.259** odběr potenciálně nebezpečný (od infikovaného dárce krve)
- nejhorší situace v roce 2003 – každý 3.091 odběr potenciálně nebezpečný
- nejlepší situace v roce 2014 – každý 15.632 odběr potenciálně nebezpečný

# HIV pozitivní dárci krve ve FN Brno

- 7 mužů
- věk 24 - 53 let
- průměrný věk: 36 let a 8 měsíců
- **všichni pravidelní dárci krve !!**
- počet odběrů: 2, 3, 5, 10, 15, 43, 102
- průměrný počet odběrů: 25,7
- riziko:
  - 6 mužů MSM (men who have sex with men)
  - 3 muži ČD (přenos na půdě „Českých drah“)
- **1 muž vyšetřen mimo ZTS (zodpovědný dárcce krve)**
- **6 mužů vyšetřeno v souvislosti s odběrem v ZTS !!**



# HIV pozitivní dárce krve ve FN Brno

| rok                     | pohlaví dárce | věk           | počet odběrů | riziko     | krevní skupina    | poznámka                         | bydliště           |
|-------------------------|---------------|---------------|--------------|------------|-------------------|----------------------------------|--------------------|
| 2003                    | muž           | 53 let        | 102          | MSM, ČD    | A RhD poz.        | VŠ                               | Bo – město         |
| 2004                    | muž           | 27 let        | 10           | MSM        | B RhD poz.        | VŠ, vyšetřen mimo ZTS            | Bo – město         |
| <b>2006<sup>♠</sup></b> | <b>muž</b>    | <b>29 let</b> | <b>3</b>     | <b>MSM</b> | <b>0 RhD poz.</b> | <b>VŠ</b>                        | <b>okr. Třebíč</b> |
| 2008                    | muž           | 45 let        | 15           | ČD         | A RhD poz.        | manželka<br>24 TU EBR<br>25 TU P | Bo – venkov        |
| 2011                    | muž           | 24 let        | 5            | MSM        | B RhD neg.        | motiv matky k DK                 | Bo – město         |
| 2012                    | muž           | 43 let        | 43           | MSM, ČD    | 0 RhD poz.        | zlatník                          | Bo – venkov        |
| 2015                    | muž           | 39 let        | 3            | MSM        | A RhD poz.        | Šumperk                          | Bo – město         |

♠ pacienti byli aplikováni HIV pozitivní erytrocyty

# HIV pozitivní dárce krve ve FN Brno

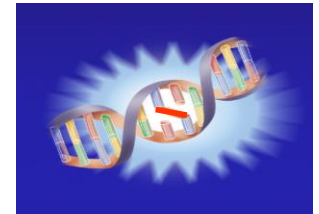
- odběr krve dne 29.7.2005 byl realizován v imunologickém okně (IVD Abbott Architect, test anti-HIV ½ + p24 Ag – NEGATIVNÍ), ALT – 0,41  $\mu$ kat/l, leu –  $5,8 \times 10^9/l$
- dárce krve zatajil MSM, který posléze v řízeném rozhovoru přiznal
- následující odběr 3.2.2006 IVD Abbott Architect, test anti-HIV ½ + p24 Ag **REAKTIVNÍ, potvrzena HIV pozitivita dárce v NRL pro AIDS**
- v rámci look-back odeslán arbitrážní vzorek ze dne 29.7.2005 do NRL pro AIDS

## VÝSLEDKY

- sérologické testy NEGATIVNÍ
- **HIV RNA (PCR) POZITIVNÍ**
- následným testováním plazmy (v roce 2010) dárce z odběru ze dne 29.7.2005 v TTO FN Brno pomocí IVD Cobas s201 TaqScreen MPX testu byla přítomnost HIV RNA detekována
- **pokud by byla NAT technologie implementována v roce 2005, k výdeji HIV pozitivních erytrocytů by nedošlo**
- **HIV pozitivní dárce by byl odeslán k dispenzarizaci do AIDS centra o 7 měsíců dříve**

# Výdej HIV pozitivních erytrocytů

- **po podání HIV pozitivních erytrocytů nedošlo k přenosu HIV infekce na příjemce transfuze**
- **PACIENT**
  - pacient muž, 50 let, CML, den +175 po aloPBSCT od HLA identického bratra
  - výdej a podání TP: 2.8.2005 (odběr 29.7.2005)
  - KO v den podání TP: Ery: 63 g/l, Hkrit: 0,17, Leu:  $4,2 \times 10^9/l$ , Ly:  $0,3 \times 10^9/l$
  - HIV status 1.3.2006: NEGATIVNÍ
- **TRANSFUZNÍ PŘÍPRAVEK**
  - EBR (nežádoucí kontaminace leu  $< 1,2 \times 10^9/TP$ )
  - EO – TP ozářen dávkou 30 Gy (blokace replikace HIV RNA? Poškození cca každého 37.000 pb, HIV RNA = 9.749 pb)
  - stáří přípravku v den jeho použití: 4 dny
  - objem přípravku: 270 ml
  - virová nálož: cca 135 000 – 3 240 000 kopií HIV RNA
- **TEORETICKÁ INFEKČNÍ DÁVKA HIV RNA**
  - 50% infekční dávka pro parenterální nálož 2 – 65 000 kopií HIV RNA



# HIV infekce

- **cílové buňky CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty** (prekurzory helperů)
- **makrofágy** (vč. mikroglíí CNS, dendritických buněk) slouží jako rezervoár infekce
- virus se váže svým **gp 120** (ligand) na **CD4** (receptor) cílových buněk
- k vazbě nutné **koreceptory** (chemokinové receptory na povrchu cílových buněk)
  - CXCR-4 na povrchu T<sub>H</sub> lymfocytů
  - CCR-5 na povrchu makrofágů
- RNA se do DNA CD4 přepisuje pomocí specifického enzymu, **reverzní transkriptázy**, kterou virus HIV disponuje

# Kdo se uchází o dárcovství krve ?



# Klient AIDS centra FN Brno

- muž, 28 let, VŠ
- rizikový pohlavní styk
- vyšetřen dne 20.1.2009 sérologickými testy na přítomnost známek HIV s negativním výsledkem; samoplátce, za test zaplatil 279,- Kč.
- lékař AIDS centra doporučil opakovat sérologické vyšetření na přítomnost známek HIV v časovém odstupu
- dne 13.3.2009 muž daroval v TTO FN Brno krev (BOPK) a píše lékaři AIDS centra sdělení:
  - „předat kompetentní osobě: dnes jsem byl darovat krev ve FN Brno; kdy bude proveden test na HIV? Děkuji a hezký den Ing. XY“

# Problematický dárce

- muž, pravidelný dárce, 27 let, 30 odběrů v TTO FN Brno
- přichází 4.8.2010 darovat krev, uvádí, že se jedná o jeho 100. odběr, dočasně vyloučen pro ošetření u zubního lékaře včera, otok tváře
- nesouhlasí s dočasným vyloučením, stížnost řediteli nemocnice, v pracovně ředitele se psychicky hroutí, pláč, ataka vzteku
- s ohledem na psychickou labilitu dárce prověřena jeho zdravotní dokumentace
- v průběhu předchozích dvou let byl hospitalizován pro hemoptýzu, vyšetřován bronchoskopicky
- **v uvedeném období pravidelně daroval krev bez dodržení 6 měsíčního intervalu po endoskopických výkonech**

# Opilý dárce

- muž, pravidelný dárce, 50 let, 38 odběrů
- ráno (po zahájení pracovní směny) odeslán nadřízeným z práce domů pro opilost
- telefonicky se objednává k odběru krve
- v průběhu dopoledne dne 22.6.2011 v TTO FN Brno realizován BOPK; jeho opilost nikdo nepoznal
- následně přináší nadřízenému omluvenku z TTO FN Brno o realizovaném odběru
- v TTO FN Brno podezření na dárcovství krve pod jinou identitou – neprokázáno
- **v plazmě (uzavřený způsob odběru a uskladnění) následně detekována hladina etanolu 28,4 mmol/l, tj. 1,3 ‰**



# Je možné dárcům krve věřit ?

- většině jistě ano, ale
- do ZTS přicházejí k odběru jednotlivci, kteří vědomě tají informace nebo vědomě informují zkresleně
- považují za nezbytné:
  - implementovat dostupná bezpečnostní opatření, technologie, procesy

# Postupy, zavedené v TTO FN Brno

- 2006 – plazma pro klinické použití výhradně od dárců mužů  
(1. zařízení transfuzní služby v ČR – prevence TRALI)
- 2008 – výroba trombocytů v PAS (platelet additive solution)  
(1. zařízení transfuzní služby v ČR – prevence FNHTR a TRALI)
- 2010 – plošná deleukotizace trombocytů, všechny v PAS (více než 7.000 TD ročně)  
(1. zařízení transfuzní služby v ČR – prevence FNHTR a TRALI)
- 2010 – RT PCR detekce RNA HIV, DNA HBV, RNA HCV u dárců krve  
(1. zařízení transfuzní služby v ČR – prevence přenosu HIV, HBV, HCV)
- 2012 – ošetření TP metodou inaktivace patogenů CERUS®  
(jedno ze tří zařízení transfuzní služby v ČR, ve kterých je inaktivace prováděna – prevence TA-GvHD, FNHTR a přenosu VŠECH mikroorganismů)
- 2012 – použití OCTAPLAS  
(2. zařízení transfuzní služby v ČR – prevence TRALI, prevence přenosu mikroorganismů a prevence výskytu alergických potransfuzních reakcí)
- 2012 – plošná prestorage deleukotizace erytrocytů KS 0 RhD negativních, včetně erytrocytů pro akutní použití ve všech ARIP klinických útvech FN Brno (3.421 TU)  
(1. zařízení transfuzní služby v ČR)

# Postupy, zavedené v TTO FN Brno

- 2012 – karanténa plazmy zkrácena ze 6 měsíců na 4 měsíce  
(jediné zařízení transfuzní služby v ČR – prevence ztráty koagulační aktivity labilních koagulačních faktorů, u kterých není k dispozici protivirově ošetřený koncentrát, zejména faktory V a X)
- 2014 – výroba kryoproteinu, ošetřeného metodou PI  
(1. zařízení transfuzní služby v ČR – zdroj koagulačního faktoru I a XIII pro léčbu diluční, traumatické a peripartální koagulopatie)
- 2015 – hemovigilanční štítky s trasovatelností do zdravotní dokumentace pacienta  
(1. zařízení transfuzní služby v ČR)

# Postupy k omezení infekčních rizik

- Důsledný výběr dárců krve
- Akcent na bezpříspěvkové dárcovství
- Sérologický screening
- Deleukotizace přípravků
- **PCR vyšetřovací techniky (NAT)**
- Použití patogen-inaktivace
- Hemovigilance

# Screening dárců krve v zahraničí

- téměř ve 100 % sérologie HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1/2 a syfilis
- od roku 1997 (Německo) postupně zaváděny NAT HIV, HCV, HBV
- v některých zemích anti-HBc a HIV p24 Ag
- další infekce (v endemických oblastech nebo v případě epidemie)
  - anti-HTLV I/II
  - WNV (NAT)
  - HEV, HAV, parvo B19

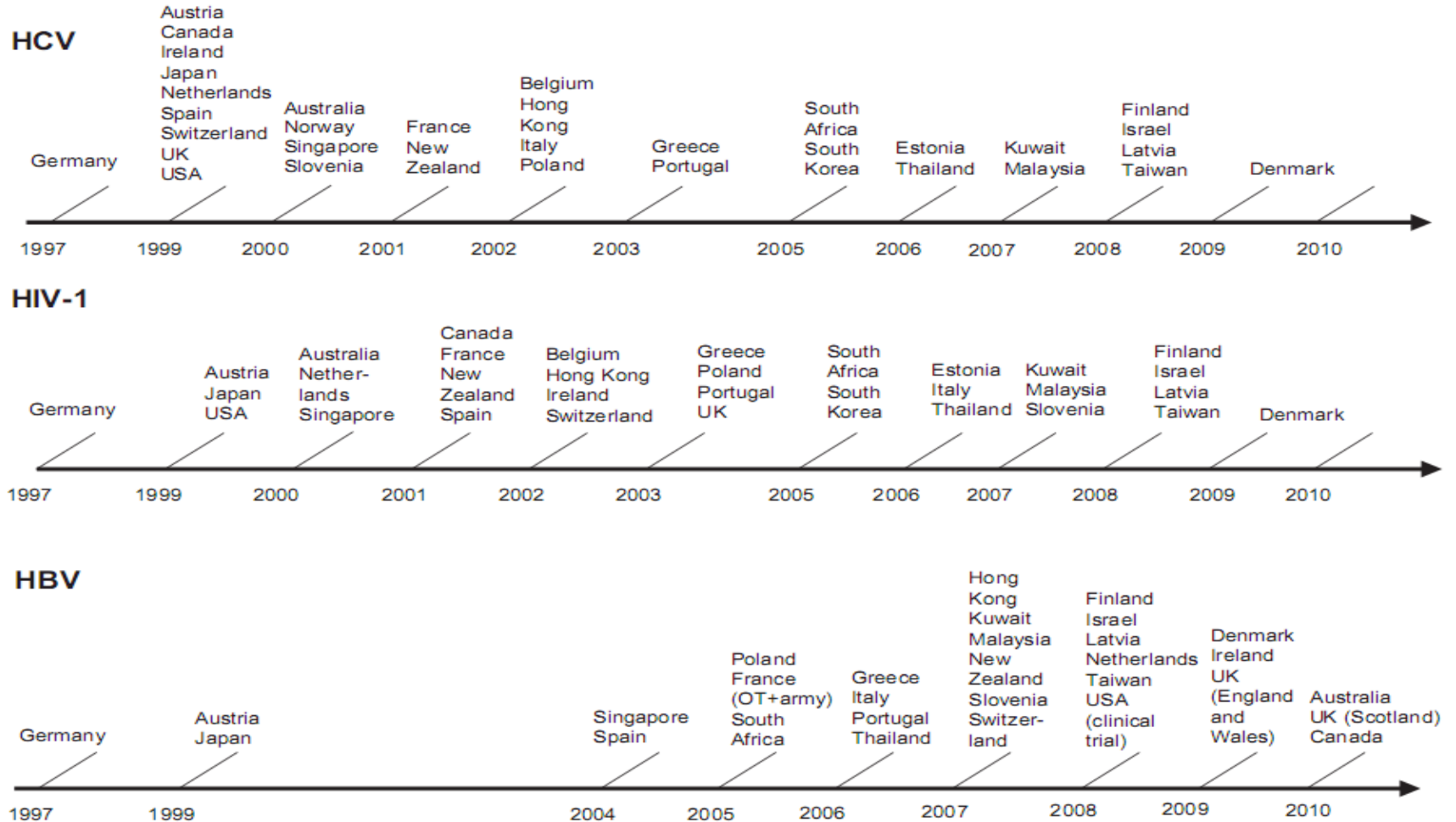
**INTERNATIONAL FORUM**

© 2011 The Author(s)  
 Vox Sanguinis © 2011 International Society of Blood Transfusion  
 DOI: 10.1111/j.1423-0410.2011.01506.x

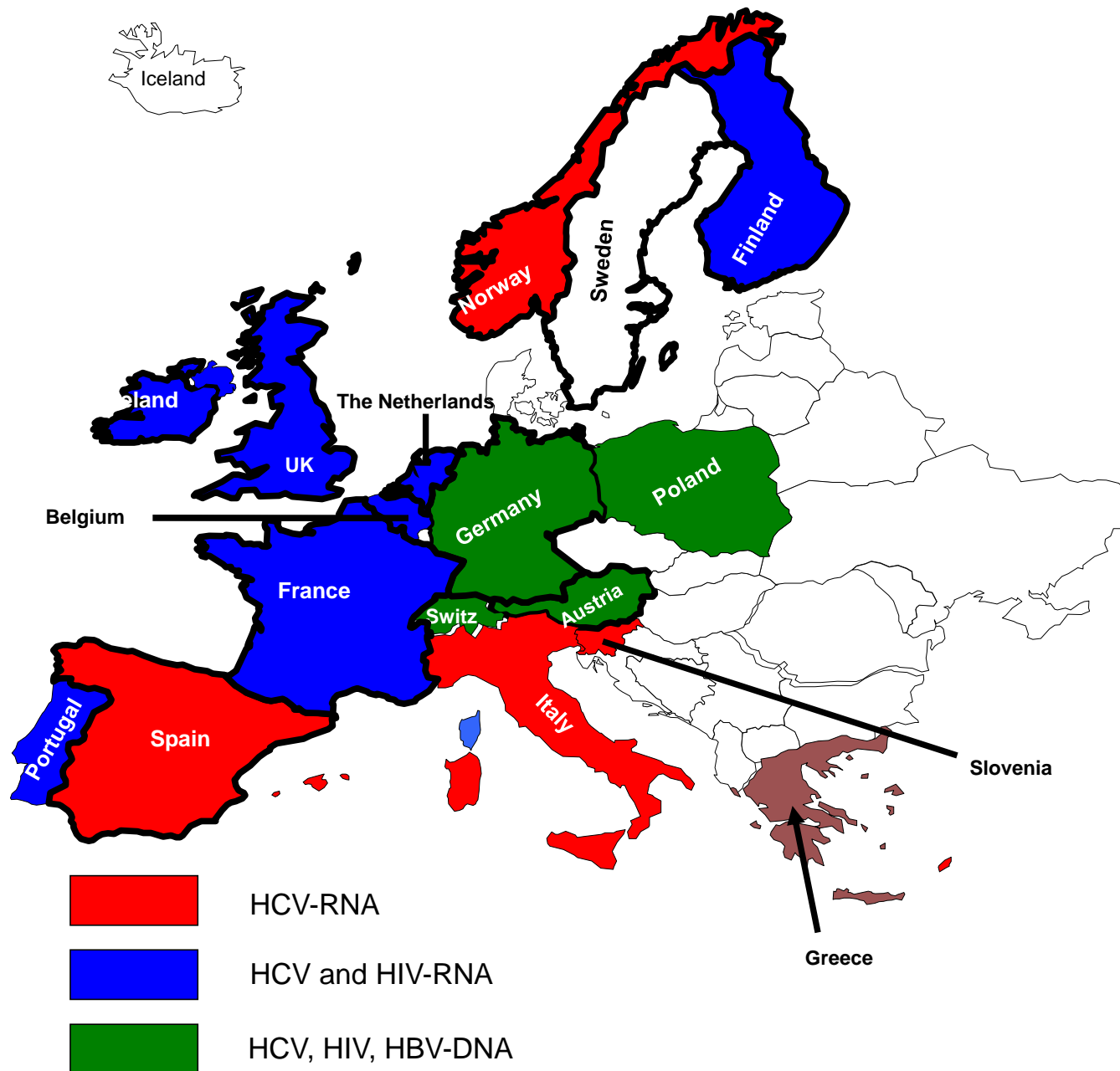
Vox Sanguinis

**International survey on NAT testing of blood donations:  
 expanding implementation and yield from 1999 to 2009**

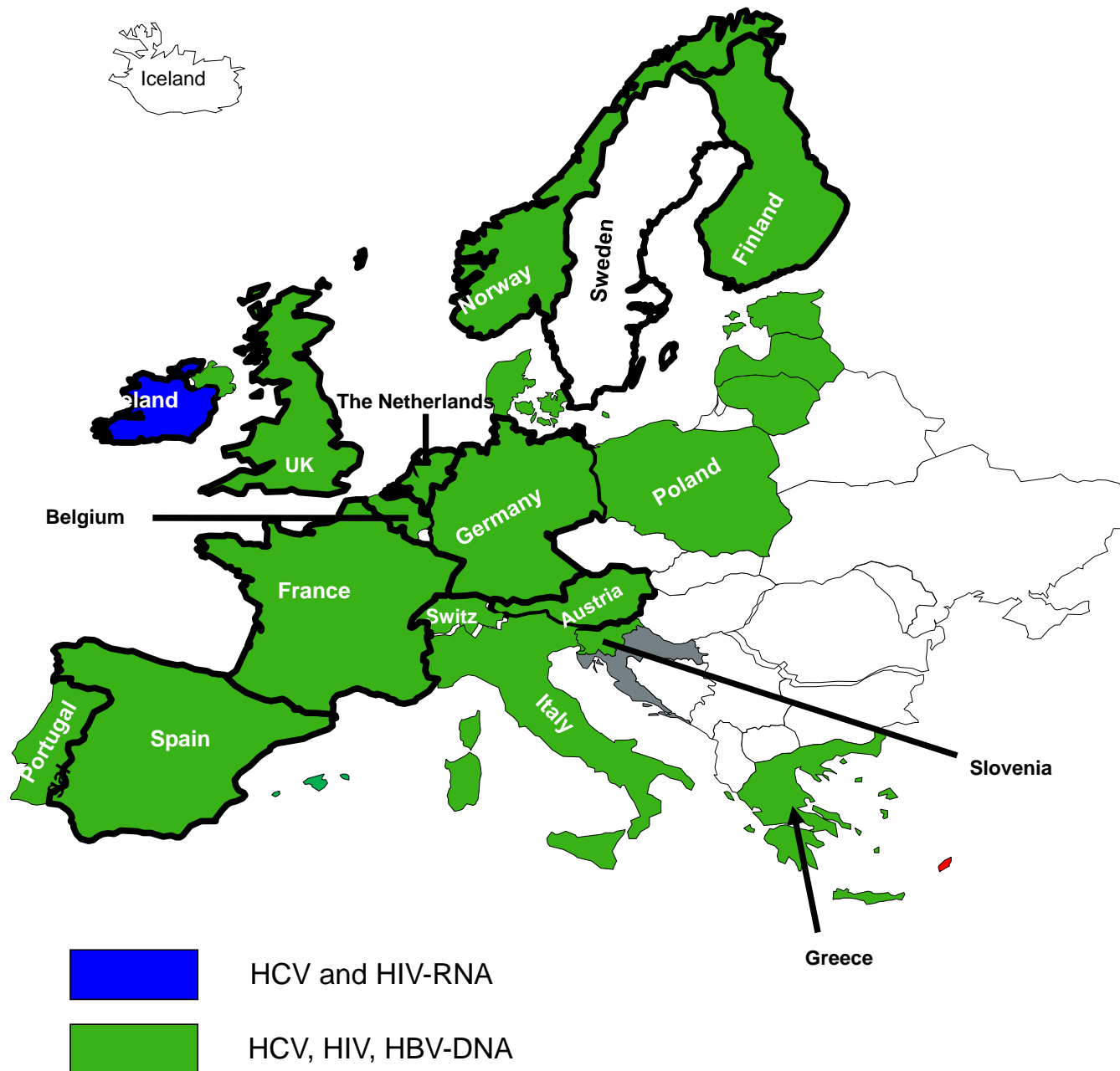
**Introduction of NAT testing**



# Testování NAT dárců krve v Evropě 2005

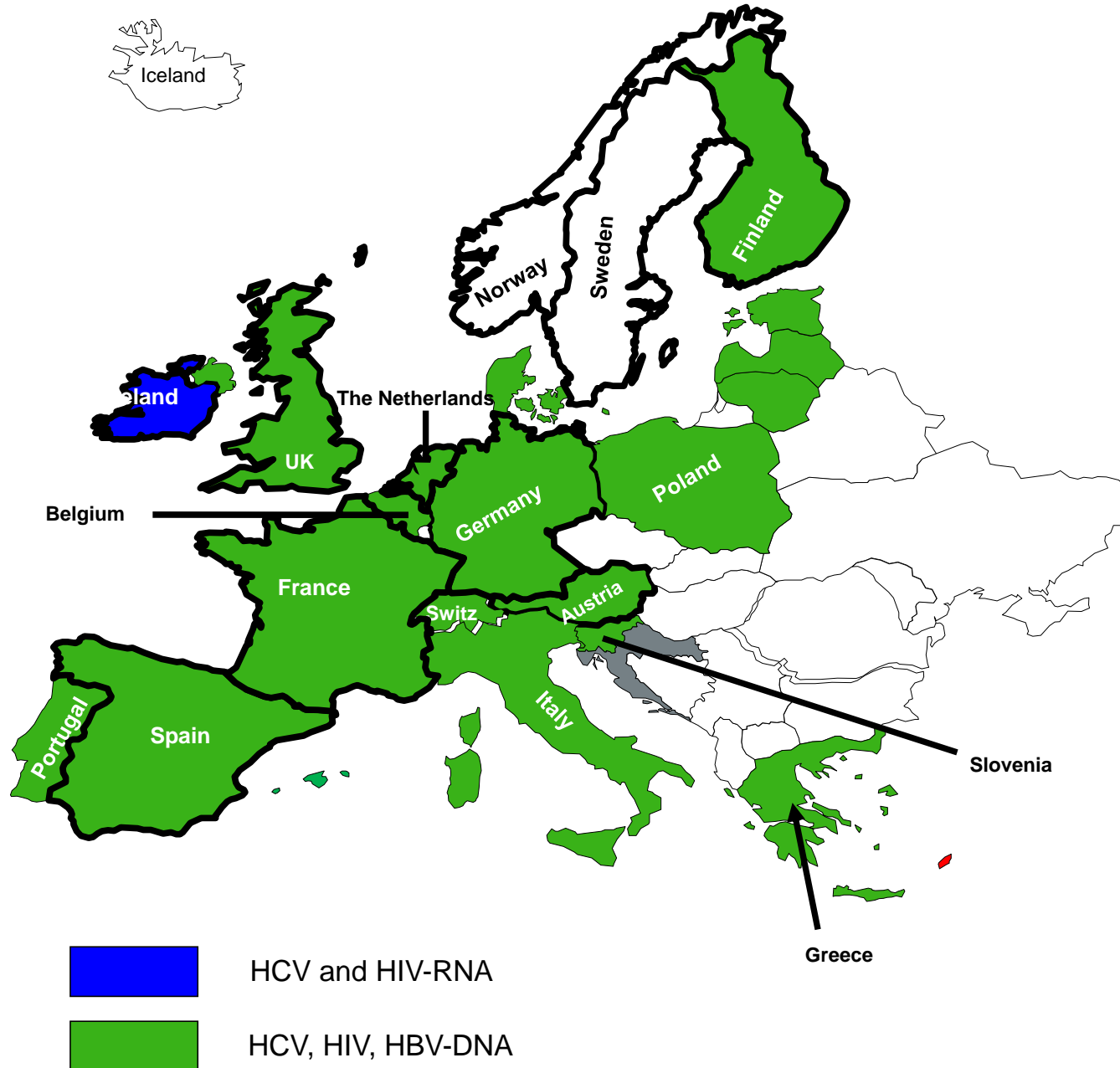


# Testování NAT dárců krve v Evropě 2014





# Testování NAT dárců krve v Evropě 2015

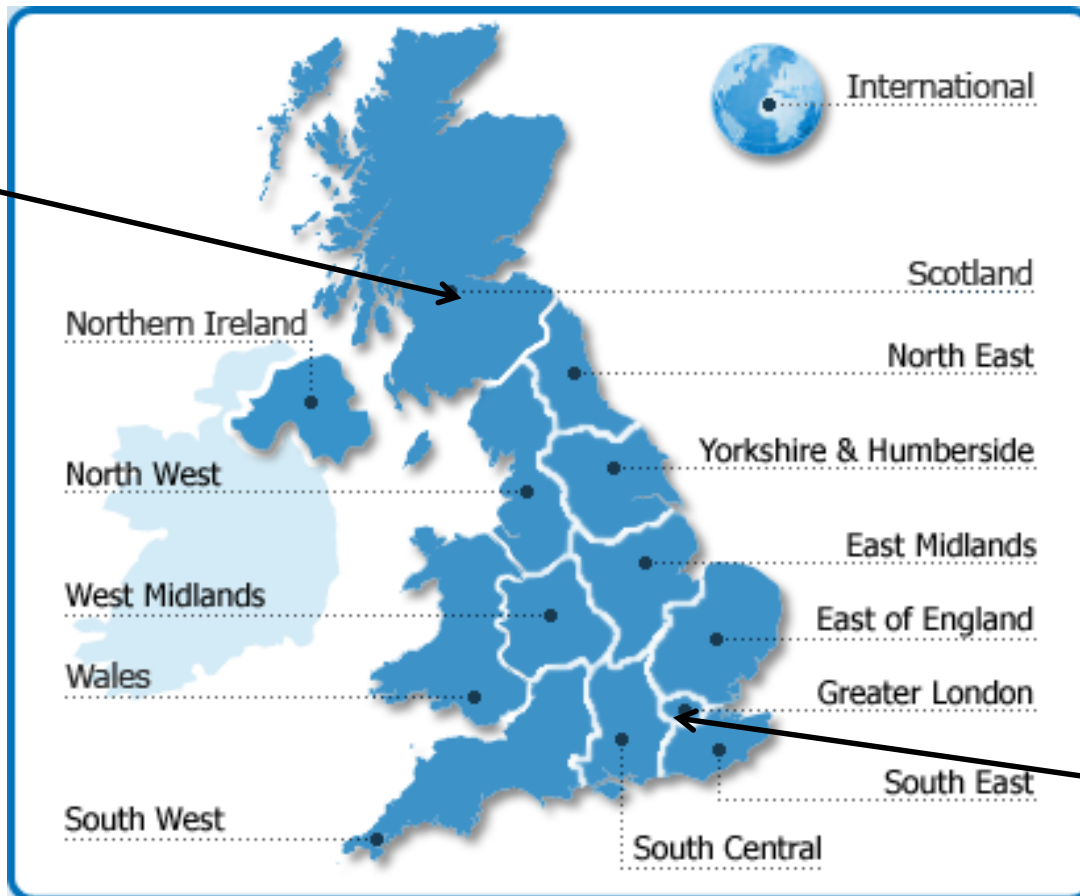




# NHSBT (England and North Wales)

1,313.000 odběrů / rok, 2 laboratorní centra:

Liverpool,  
500 000 / rok



Londýn,  
813 000 / rok

# Detekce NAT infekce ve FN Brno

| HIV           |                  |                             |                          |
|---------------|------------------|-----------------------------|--------------------------|
| odběr         | sérologie        | NAT                         | NRL                      |
| C201011010043 | reaktivní        | reaktivní                   | pozitivní                |
| C201012016146 | reaktivní        | reaktivní                   | pozitivní                |
| HBV           |                  |                             |                          |
| C201011002433 | <b>NEGATIVNÍ</b> | <b>REAKTIVNÍ</b>            | <b>OBI</b>               |
| C201011101877 | reaktivní        | reaktivní                   | pozitivní                |
| C201011009047 | <b>NEGATIVNÍ</b> | <b>REAKTIVNÍ<br/>(CAPA)</b> | <b>OBI</b>               |
| C201011013711 | reaktivní        | reaktivní                   | pozitivní                |
| C201012014144 | reaktivní        | reaktivní                   | pozitivní                |
| HCV           |                  |                             |                          |
| C201011010402 | reaktivní        | <b>NEGATIVNÍ</b>            | <b>PRODĚLANÁ<br/>HCV</b> |
| C201012011850 | reaktivní        | reaktivní                   | pozitivní                |
| C201013002047 | reaktivní        | reaktivní                   | pozitivní                |
| C201013003771 | reaktivní        | reaktivní <b>(CAPA)</b>     | <b>PRODĚLANÁ<br/>HCV</b> |

# Nespecifická reaktivita

- 2010 - 0
- 2011 – 6 případů
- 2012 – 1 případ
- 2013 – 0
- 2014 – 0
- 2015 – 3 případy



# Laboratoř TTO FN Brno



# Pracovní plocha pro přípravu vzorků



# PC k řízení analyzátorů a zpracování výsledků





# Přenos HCV v ČR v roce 2015

- přenosu HCV cestou transfuzních přípravků (trombocytů z aferézy)
- třem dětským pacientům ve FN Motol, kteří jsou léčeni pro maligní onemocnění
- další profesionální přenos infekce na zdravotnického pracovníka - zdravotní sestru
- 13 letá dívka s ALL; v únoru 2015 relaps onemocnění; prodělala alogenní transplantaci krvetvorných buněk; stav pacientky komplikován sepsí s těžkým průběhem a s ohrožením vitálních funkcí; původce *P. aeruginosa*; léčba antibiotiky; biologická léčba; HCV pozitivní transfuze aplikována dne 20.9.2015; pacientka s HCV RNA pozitivitou žila několik měsíců; byla léčena virostatiky, HCV nálož eliminována; bohužel zesnula na základní onemocnění v únoru 2016
- 10 letá dívka s neuroblastomem retroperitonea; prodělala autologní transplantaci krvetvorných buněk; stav pacientky komplikován mykotickou pneumonií; HCV pozitivní transfuze aplikována dne 20.9.2015; pacientka HCV RNA pozitivní; dne 7.12.2015 relaps základního onemocnění; pacientka 28.12.2015 zemřela
- 6 letá dívka s NH lymfomem; po chemoterapii t.č. v remisi; pacientka HCV RNA pozitivní; žije; léčena virostatiky
- zdravotní sestra - HCV RNA pozitivní; je řešena jako nemoc z povolání

# Dárce krve ?

Zpětným šetřením bylo zjištěno, že transfuzní přípravky byly vyrobeny ve FTO VFN Praha, jako zařízení transfuzní služby. Dárce byl opakovaný pravidelný dárce, který daroval trombocyty systémem dvojité aferézy, a to ve dnech 21.8.2015 a 16.9.2015; v obou případech za odběr obdržel příspěvek 900,- Kč. Následně dárce krve onemocněl hepatitidou C a šetřením bylo zjištěno, že v minulosti byl IDU (nitrožilní uživatel drog), realizoval sex s prostitutkou, byl hospitalizován pro etylickou ebrietu, trvale hlášen k pobytu na adrese Magistrátu Praha 11 a jako své hobby uvedl „vybírání popelnic“. Z odběrů trombocytaferézou byly vyrobeny čtyři transfuzní přípravky, koncentráty trombocytů, pacientům byly podány pouze tři z nich, čtvrtý přípravek exspiroval a byl zlikvidován.

# Jak dál ?

Dárce krve daroval trombocyty v době diagnostického okna; byl vyšetřen na přítomnost známek hepatitidy C pomocí IVD Abbott ARC anti - HCV Reagent Kit; obě vyšetření poskytla negativní výsledky. Následně byly vzorky v NRL pro virové hepatitidy SZÚ CEM Praha a v HTO ÚVN Praha opětovně vyšetřeny a bylo zjištěno, že test MPX Cobas s201, Roche v poolu 24 by infekci v obou případech spolehlivě zachytil na rozdíl od sérologického testování antigenémie HCV, kdy oba vzorky při použití „combo testu“ (společný test pro vyšetření antigenu i protilátky) přítomnost HCV nezachytily a při použití sérologického testu pro detekci HCV Ag byl první vzorek ze dne 21.8.2015 také negativní; vzorek ze dne 16.9.2015 by přítomnost HCV Ag zachytil, resp. vykazoval reaktivní výsledek.

S ohledem na výše uvedené se několik let se snažím prosadit plošné vyšetřování dárců krve pomocí NAT stejně, jak činí 22 členských zemí EU a mnoho dalších vyspělých států světa.

# Štěpánek – příjemce transfuze

