

Sérologická a molekulárně biologická IVD diagnostika firmy Roche – první zkušenosti v zařízení transfuzní služby v ČR

Transfuzní a tkáňové oddělení
FN Brno

RNDr. Eva Křížová, Ph.D., MUDr. Eva Tesařová, RNDr. Rita Pacasová, Ph.D.

Postupy vyšetřování markerů krví přenosných infekcí u dárců krve stanovené v ČR

- **Vyšetřovací postupy stanoví vyhláška MZ ČR 143/2008 Sb. Vyhláška o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), ve znění vyhlášky 351/2010 Sb.**
- **Vyhláška o krvi vychází z požadavků směrnic Evropského parlamentu a rady 2002/98 ES, 2004/33/ES, 2005/61/ES a 2005/62/ES**
- **Na základě Vyhlášky 143/2008 ve znění pozdějších předpisů jsou u dárců krve prováděna sérologická vyšetření:**
 - Ab anti-HIV 1,2 a HIV p24 Ag**
 - Ab anti-HCV**
 - HBsAg**
 - Ab proti Treponema pallidum**

Postupy vyšetřování markerů krve přenosných infekcí u dárců krve stanovené v ČR

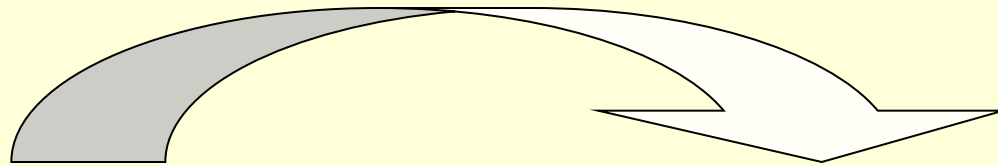
- **Vyhláška MZ ČR 143/2008 Sb. (vyhláška o krvi) stanoví i základní postupy confirmace reaktivního výsledku**
 - každý opakovaně reaktivní vzorek od DK musí být confirmován v NRL SZÚ
 - pozitivní výsledek confirmace musí být oznámen dárci krve a útvaru pro ochranu veřejného zdraví
 - v případě HIV positivity musí být výsledek oznámen dárci krve, útvaru pro ochranu veřejného zdraví a jednomu ze sedmi AIDS center v ČR, které si dárce krve povinně vybere pro svoji dispenzarizaci; dárce krve je rovněž informován o právech a povinnostech HIV pozitivní osoby
- **Ke zpětnému vyloučení eventuální positivity infekčních markerů při předchozích odběrech téhož dárce slouží archivní vzorek séra/plazmy, který se uchovává při každém darování krve**

Sérologický screening markerů krví přenosných infekcí u dárců krve na TTO FN Brno

Marker	Metoda	IVD	Výrobce
Anti-HIV 1/2 Ab + p24 Ag	ECLIA	Elecsys HIV Combi PT	ROCHE
HBsAg	ECLIA	Elecsys HBsAg II	ROCHE
Anti-HCV	CMIA	ARCHITECT Anti-HCV	ABBOTT
Anti -Treponema pallidum	CMIA	ARCHITECT Syphilis TP	ABBOTT

Sérologický screening markerů HIV 1/2 Ab a p24 Ag a HBsAg u dárců krve na TTO FN Brno – IVD Roche

VALIDACE PROCESU



ČERVEN 2010

- Instalace analyzátorů cobas e 411
- Instalace metod Elecsys HIV Combi
Elecsys HBsAg II

SRPEN 2010

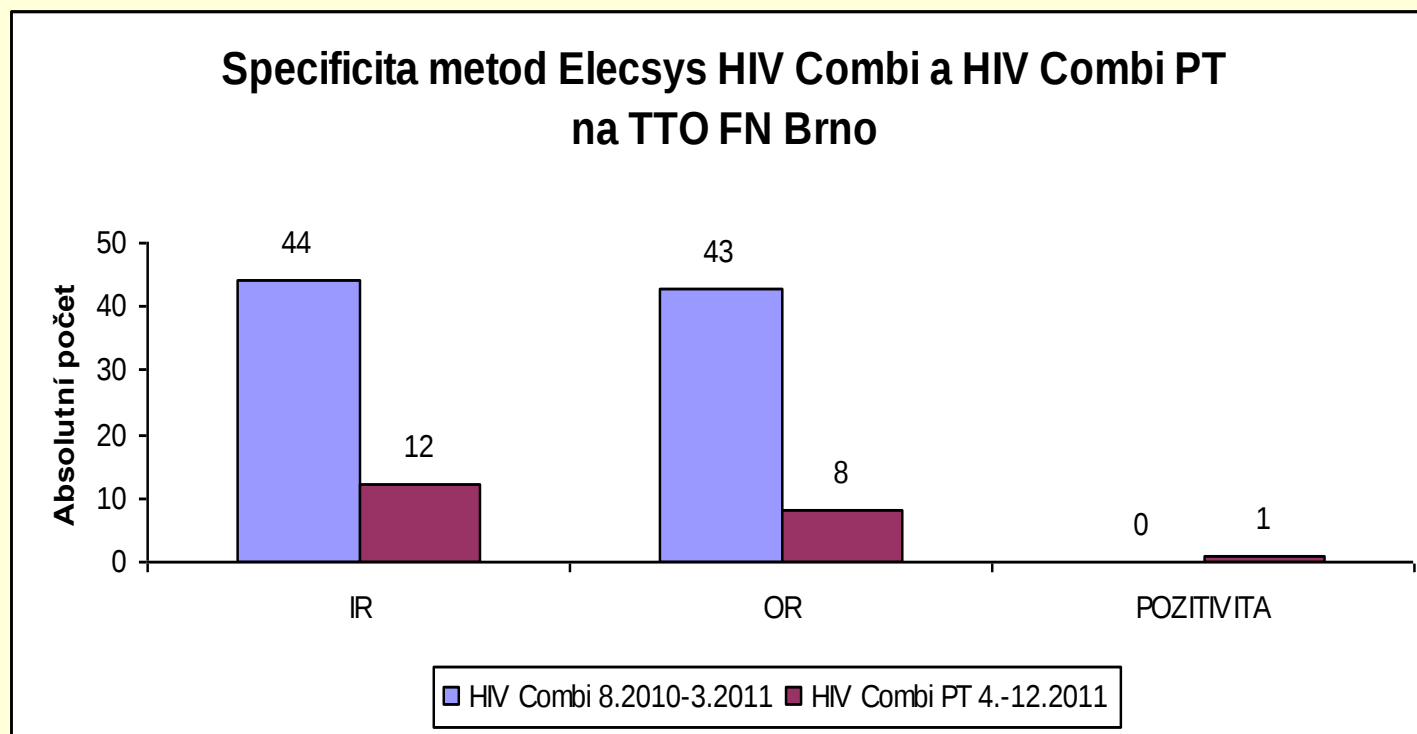
Zahájení rutinního provozu

Sérologický screening markerů HIV 1/2 Ab a p24 Ag u dárců krve na TTO FN Brno – IVD Roche

Elecsys HIV Combi	POČET VYŠETŘENÍ	INICIÁLNÍ REAKTIVITA (IR)	OPAKOVANÁ REAKTIVITA (OR)	POZITIVITA	SPECIFICITA (%)
TTO FN Brno (08/2010 – 03/2011)	19 201	44 (0,2 %)	43 (0,2 %)	0	99,78
Výrobce IVD (informace z příbalového letáku)	8 406	31 (0,4 %)	29 (0,3 %)	6	99,76

Elecsys HIV Combi PT	POČET VYŠETŘENÍ	INICIÁLNÍ REAKTIVITA (IR)	OPAKOVANÁ REAKTIVITA (OR)	POZITIVITA	SPECIFICITA (%)
TTO FN Brno (04/2011 – 12/2011)	21 782	12 (0,06 %)	8 (0,04 %)	1	99,97
Výrobce IVD (informace z příbalového letáku)	7 343	13 (0,20 %)	11 (0,10 %)	1	99,88

Sérologický screening markerů HIV 1/2 Ab a p24 Ag u dárců krve na TTO FN Brno – IVD Roche



Sérologický screening markerů HBsAg u dárců krve na TTO FN Brno – IVD Roche

Elecsys HBsAg II	POČET VYŠETŘENÍ	INICIÁLNÍ REAKTIVITA (IR)	OPAKOVANÁ REAKTIVITA (OR)	POZITIVITA	SPECIFICITA (%)
TTO FN Brno (08/2010 – 12/2011)	40 983	39 (0,1 %)	11 (0,03 %)	3	99,98
Výrobce IVD (informace z příbalového letáku)	6 360	8 (0,1 %)	3 (0,05 %)	2	99,98

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



- Poolovací jednotka HAMILTON
- COBAS AmpliPrep pro přípravu vzorků
- COBAS TaqMan pro RT PCR a detekci

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

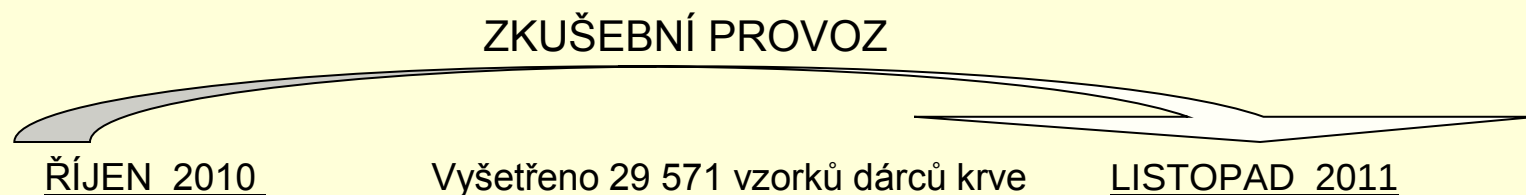
cobas TaqScreen MPX Test

Kvalitativní in vitro test pro přímé stanovení

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

v lidské plazmě

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



- Instalace cobas s 201
- Instalace IVD Cobas TaqScreen MPX test

Infekce potvrzená v NRL	Výsledky screeningu na TTO FN Brno		Dárce krve
	Sérologie	NAT	
HBV	HBsAg +	HBV DNA +	Prvodárce
	HBsAg +	HBV DNA +	Prvodárce
	HBsAg -	HBV DNA +	56 odběrů
	HBsAg -	HBV DNA +	43 odběrů
HIV	HIV Ag/Ab +	HIV RNA +	5 odběrů
HCV	Anti-HCV +	HCV RNA -	Prvodárce

Kazuistika 1

Muž, 49 let, 56 odběrů

Výsledky testů provedených v TTO FN Brno ze vzorku krve k odběru ze dne 23.6.2011:

- HBsAg Negativní
- HBV DNA metodou PCR POZITIVNÍ

Výsledky testů provedených v NRL pro virové hepatitidy ze vzorku krve k odběru ze dne 23.6.2011:

- HBsAg Negativní
- Anti-HBc celkové POZITIVNÍ
- Anti-HBs POZITIVNÍ (436,5 mIU/ml)
- HBV DNA metodou PCR Negativní

Výsledky testů provedených na Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno (vzorek odebrán 25.7.2011):

- HBsAg Negativní
- HBeAg Negativní
- Anti-HBc celkové POZITIVNÍ
- Anti-HBe SLABĚ POZITIVNÍ
- Anti-HBs POZITIVNÍ (443,6 mIU/ml)

- Dárce krve prodělal očkování vakcínou TWINRIX v termínech 30.6.2010, 9.8.2010 a 21.1.2011
- Dodatečně byly v TTO FN Brno vyšetřeny nejstarší arbitrážní vzorky, které byly k dispozici a to vzorky z roku 2007. Všechny vzorky (ze dne 26.1.2007, 9.5.2007 a ze dne 14.8.2007) vykazují anti-HBc pozitivitu

Kazuistika 2

Muž, 60 let, 43 odběrů

Výsledky testů provedených v TTO FN Brno ze vzorku krve k odběru ze dne 5.10. 2011:

- HBsAg Negativní
- HBV DNA metodou PCR POZITIVNÍ

Výsledky testů provedených v NRL pro virové hepatitidy ze vzorku krve k odběru ze dne 5.10. 2011 :

- HBsAg Negativní
- HBeAg Negativní
- Anti-HBe POZITIVNÍ
- Anti-HBc celkové POZITIVNÍ
- Anti-HBc IgM Negativní
- Anti-HBs Negativní
- HBV DNA metodou PCR SLABĚ POZITIVNÍ

- Dodatečně byl v TTO FN Brno vyšetřen nejstarší arbitrážní vzorek, který byl k dispozici a to vzorek z roku 2008. Vzorek (ze dne 8.7.2008) vykazuje anti-HBc pozitivitu.

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

- Od prosince 2011 je sérologický screening dárců krve dle Vyhlášky 143/2008 Sb. o lidské krvi na TTO FN Brno doplněn o screening NK virů HIV, HCV a HBV u každého dárce krve (kromě autologních)
- Od prosince 2011 do září 2012 byl proveden přímý průkaz NK HIV, HCV a HBV u 21 790 vzorků dárců krve

Infekce potvrzená v NRL	Výsledky screeningu na TTO FN Brno		Dárce krve
	Sérologie	NAT	
HBV	HBsAg +	HBV DNA +	Prvodárce
HCV	Anti-HCV +	HCV RNA +	Prvodárce

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

- Zajištění maximální bezpečnosti příjemce transfuzních přípravků
 - včasný záchyt infekcí VHC, VHB, HIV zkrácením diagnostického okna
 - detekce OBI (occult hepatitis B infection)

ZÁVĚRY

- A. V podmínkách provozu laboratoře ZTS TTO FN Brno bylo během prvního roku používání IVD Elecsys HBsAg II a Elecsys HIV Combi PT dosaženo hodnot specifity stejných nebo lepších než uvádí výrobce IVD v příbalovém letáku.
- B. V období od října 2010 do září 2012 bylo v TTO FN Brno IVD Cobas TaqScreen MPX Test provedeno přímé stanovení NK virů HIV, HCV a HBV u 51 361 vzorků dárců krve z nichž ve dvou případech byla zjištěna pozitivita NK při současné negativitě sérologického testu.
- C. V souladu s dikcí zákona č.378/2007 ve znění pozdějších předpisů (Zákon o léčivech), § 67, odstavce 4, písmena g) probíhá došetřování možného přenosu VHB a oznamování dodatečně zjištěných skutečností odběratelům transfuzních přípravků

DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST

