

*Piotr Grabarczyk, Aneta Kopacz, Ewa Sulkowska, Dorota Kubicka-Russel,  
Maria Mikulska, Ewa Brojer, Magdalena Łętowska*

## **BADANIA WIRUSÓW PRZENOSZONYCH PRZEZ KREW U DAWCÓW KRWI W POLSCE**

Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

### STRESZCZENIE

Wirusologiczne badania przeglądowe dawców krwi w Polsce obejmują oznaczanie przeciwciał anti-HCV, anti-HIV1/2 i antygenu HBs (testy typu ELISA lub cheluminescencji) oraz HCV RNA, HIV-1 RNA i HBV DNA (metody biologii molekularnej, tj. NAT). Badania NAT wykonywane są w tzw. manipulach (utworzonych przez zlanie osocza z 6 donacji) testami wykorzystującymi metodę PCR w czasie rzeczywistym lub w pojedynczych donacjach testami opartymi na amplifikacji przez transkrypcję (TMA). Dawcy osocza przeznaczonego do produkcji immunoglobuliny anti-D oraz anti-HBs są dodatkowo badani w kierunku DNA parwowirusa B19 (B19V). Testy oraz używany do badań sprzęt, przed wprowadzeniem do krwiodawstwa są zawsze poddawane ocenie w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii (IHIT).

W ciągu ostatnich 20 lat odnotowano spadek wykrywalności antygenu HBs zarówno w grupie dawców pierwszorazowych jak i wielokrotnych (odpowiednio z 1% do 0,3% oraz z 0,1% do 0,02%). Częstość powtarzalnie reaktywnych wyników badania przeciwciał anti-HCV oscyluje wokół 0,8% dawców pierwszorazowych oraz 0,2% dawców wielokrotnych. W ostatnich latach obserwowano podwyższoną częstość seropozytywnych zakażeń HIV (w latach 2008-2013 7-9 przypadków/100 000 dawców). HCV RNA wykrywa się średnio raz na 119 235 donacji seronegatywnych, HIV RNA 1/783 821, a HBV DNA 1/ 61 047. Większość zakażeń HBsAg-/HBV DNA+ dotyczyła tzw. ukrytych zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu B (1/80 248); zakażenia na wczesnym etapie, w tzw. okienku serologicznym obserwowano rzadziej (1/255 146). Wykrywalność HBV DNA zależała od czułości testu przeglądowego i liczby donacji w puli.

**Słowa kluczowe:** *wirus zapalenia wątroby typu B, wirus zapalenia wątroby typu C, ludzki wirus niedoboru odporności, parwowirus B19, badania przeglądowe dawców krwi, NAT*

Skróty: B19V – parwowirus B19, CKiK – Centrum (-a) Krwiodawstwa i Krwiolęcznictwa, IHIT – Instytut Hematologii i Transfuzjologii, LOD – granica wykrywalności, MP – manipule, MP6/24/48 – manipula osocza zlanego z 6/24/48 donacji, NAT – metody biologii molekularnej, OBI – ukryte zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu B, RR – powtarzalnie reaktywny, r-t PCR – reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym, TMA – amplifikacja przez transkrypcję, WP – okienko serologiczne.

W ostatnich latach, bezpieczeństwo transfuzji krwi uległo znacznej poprawie, do czego przyczyniło się wdrożenie metod biologii molekularnej (NAT). Pierwsza część artykułu opisuje polskie doświadczenia dotyczące badań przeglądowych dawców w kierunku wirusów przenoszonych drogą krwi, ze szczególnym

uwzględnieniem postępu w badaniach technikami biologii molekularnej, uważanych obecnie za kluczowy element wpływający na bezpieczeństwo przetoczeń. Druga część artykułu omawia wyniki badań przeglądowych w kierunku wirusów przenoszonych drogą krwi w Polsce.

### **METODOLOGIA BADAŃ PRZEGLĄDOWYCH W KIERUNKU ZAKAŻEŃ KRWIPOCHODNYCH U DAWCÓW KRWI W POLSCE**

Zapobieganie przeniesieniu wirusów drogą krwi opiera się na badaniach serologicznych i molekularnych swoistych markerów zakażeń wirusowych. Badania serologiczne w kierunku przeciwciał anti-HCV, anti-

-HIV-1/2 oraz antygenu HBs prowadzone są przy użyciu w pełni zautomatyzowanych systemów wykorzystujących chemiluminescencję - Abbott Architect (Abbott, USA) oraz Vidas (Ortho, USA). Do końca 2012r., u wszystkich dawców krwi analizowano aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT). Obecnie, nie jest to konieczne, gdyż wykonuje się badania molekularne markerów HBV, HCV oraz HIV. Oznaczenia kwasów nukleinowych prowadzone są w automatycznych systemach, w pojedynczych donacjach lub w minipulach (pula po zlanii osocza pochodzącego z 6 donacji).

Polska była jednym z pierwszych krajów, który wdrożył metody biologii molekularnej (ang. *nucleic acid testing*, NAT) do badań przeglądowych u dawców krwi. Poczynając od 1999 r., metody biologii molekularnej stosowano do badań w kierunku HCV RNA w osoczu przeznaczonym do frakcjonowania, a od 2002 r. u wszystkich dawców krwi (1). Do roku 2005 w większości Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (CKiK) badania prowadzono metodą PCR w pulach zlanych z 48 donacji. W 2003r. próbki dawców zaczęto badać również w kierunku HIV RNA w CKiK-ach, które do badania przeglądowego RNA HCV wprowadziły test HCV/HIV1 Procleix (Chiron, USA). Był to pierwszy test wykorzystujący amplifikację przez transkrypcję (TMA), który pozwalał wykrywać zarówno HCV RNA, jak i HIV RNA (2).

W 2005 r. w Polsce badania HIV RNA oraz HBV DNA wpisano na listę obowiązkowych badań wykonywanych u krwiodawców (3). Od 2005, testy wykorzystujące PCR, stosowano do badania osocza zlanego z 24 donacji w tzw. minipule (MP24), a TMA do pojedynczych donacji (3). Pierwotnie, badanie za pomocą PCR wykonywano przy użyciu testów Cobas Amplicor, a później - Cobas Ampliscreen (Roche, Niemcy). W obu powyższych testach, izolowanie kwasu nukleinowego wykonywano manualnie, natomiast amplifikacja oraz wykrywanie amplikonów z użyciem sond hybrydujących odbywały się oddzielnie dla różnych wirusów w aparacie Cobas Amplicor Analyser (Roche, Niemcy).

Badanie w pulach z 6 donacji (MP6) wprowadzono w 2007 r. wraz z techniką PCR w czasie rzeczywistym (test cobas Taqscreen MPX wersja 1.0). Wdrożenie testu cobas Taqscreen MPX w sposób istotny usprawniło proces diagnostyczny, ponieważ do izolacji wirusa zaczęto stosować w pełni zautomatyzowaną stację pipetującą Ampliprep. Warto również zaznaczyć, że test cobas Taqscreen MPX jest testem przeglądowym typu multiplex, umożliwiającym amplifikację oraz wykrywanie amplikonów dla kilku wirusów jednocześnie, w jednej próbce z użyciem sond taq-man w systemie cobas s201.

Walidacja przeprowadzona w IHiT w 2012 r. wykazała wysoką czułość, dobrą wydajność oraz zwiększoną efektywność kolejnej wersji testu (test MPX wersja 2.0).

Test pozwala na identyfikację wykrytego czynnika zakaźnego przez co przestało być konieczne wykonywanie dodatkowych badań różnicujących. Jest to podstawowa różnica pomiędzy dwoma wersjami tego testu. Nowa wersja testu wykazuje wyższą czułość analityczną. 95% granica wykrywalności (95% przedział ufności) testu wynosi 2,87 IU/ml (1,69-6,68) dla HBV; 13,69 IU/ml (7,65-45,30) dla HCV, oraz 28,83 IU/ml (17,57-86,91) dla HIV-1. W trakcie oceny testu w IHiT dodatkowo dokonano oceny czułości klinicznej. Analizowano donacje zakażone formami polimorficznymi najczęściej spotykanymi wśród dawców krwi w Polsce: genotypami A, D oraz H wirusa HBV; podtypami 1b, 3a oraz 4 wirusa HCV oraz podtypem B wirusa HIV-1. Poziom wirerii w badanych próbkach wynosił 6,92-3,26x10<sup>3</sup> IU/ml dla HBV, 3,2x10<sup>4</sup>-1,61x10<sup>6</sup> IU/ml dla HCV oraz 1,17x10<sup>2</sup>-5,61x10<sup>5</sup> IU/ml dla HIV. Wyniki reaktywne otrzymano zarówno we wszystkich próbkach, jak i po ich 6-krotnych rozcieńczeniach. (4).

Test Procleix Ultrio (Chiron, USA) był pierwszym testem typu multiplex, wykorzystującym technologię TMA do jednoczesnego wykrywania HCV, HBV oraz HIV-1, został wprowadzony w Polsce w 2005 r. (2). W 2013 r. wprowadzono test Procleix Ultrio Elite (Grifols, Hiszpania), który jest porównywalny do jego poprzedniej wersji (test Ultrio Plus). Innowacja testu Ultrio Elite polega na zastosowaniu dodatkowych primerów i sondy umożliwiających wykrycie HIV-2. Wszystkie wersje testu Ultrio umożliwiają wykrycie dwóch regionów genomu HIV-1. Badania testem Ultrio Elite prowadzone są w systemie Procleix Panther, podczas gdy testami Ultrio oraz Ultrio Plus w systemie Tigris. W odróżnieniu do testu Ultrio, zarówno testy Ultrio Plus, jak i Ultrio Elite używają dodatkowego odczynnika na bazie skoncentrowanego wodorotlenku litu, który wspomaga proces rozpadu wirionów HBV oraz uwolnienia DNA wirusa. Ostatnio przeprowadzone analizy wykazały, że 50% oraz 95% granica wykrywalności HBV DNA, przy użyciu Ultrio Plus, wynosi odpowiednio 0,8 (0,6-1,0) oraz 4,6 (3,2-7,2) IU/ml, co oznacza, że czułość tego testu jest 2,4-krotnie (1,4 - 4,8) wyższa niż testu Ultrio. W teście Ultrio Plus w porównaniu do testu Ultrio czułość analityczna wykrywania genotypów HBV (A-G) wzrosła od 1,3 do 7,3 razy, a 50% granica wykrywalności (95% przedział ufności) zwiększyła się z 12,5 (10-15) do 3,8 (3,2-4,4) kopii/ml (5).

Poprawa czułości analitycznej zapewniła wyższą czułość kliniczną. W trakcie porównawczych badań ewaluacyjnych prowadzonych testem Ultrio i Ultrio Plus wśród 10 000 pierwszorazowych dawców krwi badanych w trzech Regionalnych Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK), testem Ultrio Plus zidentyfikowano 1 donację zakażoną genotypem D HBV, która była ujemna w teście Ultrio. Analiza

tego przypadku wykazała 9-krotnie wyższą czułość kliniczną testu Ultrio Plus. Specyficzność Ultrio Plus wynosiła 99,41% (5).

W kolejnej analizie porównano wyniki badań przy zastosowaniu techniki biologii molekularnej w pojedynczej donacji, przy użyciu testów Ultrio oraz Ultrio Plus, w dwóch następujących po sobie 18-miesięcznych okresach. Wyższa czułość analityczna testu Ultrio Plus przekładała się na 1,9-krotnie częstszą wykrywalność seronegatywnych zakażeń HBV u polskich dawców krwi, pomimo obserwowanego 1,5-krotnego spadku częstości antygenu HBs (6).

W następnych ocenach wykazano, że czułość analityczna wykrywania HIV RNA i HCV RNA dla wszystkich wersji testu Ultrio jest porównywalna, a dodanie w teście Ultrio Elite oligonukleotydów i sond służących wykrywaniu HIV-2 nie wpływa na czułość analityczną wykrywania pozostałych wirusów, niezależnie od genotypu (7).

## ORGANIZACJA BADAŃ I KONTROLA JAKOŚCI

Badania markerów serologicznych wykonywane są w każdym z 21 CKiK, a badania molekularne prowadzone są metodą PCR lub TMA na miejscu lub zlecane są innemu CKiK.

Pod koniec 2014 r. 17 laboratoriów prowadziło badania przeglądowe technikami biologii molekularnej - pięć laboratoriów testami TMA w pojedynczych donacjach oraz 12 wykorzystując technologię PCR w czasie rzeczywistym w mini-pulach (MP6). Wszystkie powtarzalnie reaktywne próbki są badane testami potwierdzającymi. W przypadku powtarzalnie reaktywnych (RR) wyników anty-HCV i anty-HIV, w celu weryfikacji wykonuje się badanie potwierdzające w laboratorium referencyjnym (IHiT) - na obecność kwasów nukleinowych (TMA lub PCR) oraz/lub testy potwierdzenia technikami immunoenzymatycznymi - Western blot (HCV i HIV), w przypadku RR HBsAg wykonywany jest test neutralizacji w CKiK lub IHiT. Donacje seronegatywne, reaktywne w badaniu przeglądowym NAT badane są w IHiT na obecność kwasów nukleinowych w próbce wcześniej nieotwieranej (wykluczenie wyniku fałszywie reaktywnego będącego np. wynikiem zanieczyszczenia produktem amplifikacji) oraz na obecność dodatkowych markerów serologicznych (m.in. anty-HBc, anty-HBs).

Od czasu wprowadzenia do stosowania metod biologii molekularnej, system kontroli jakości badań wirusologicznych został znacząco rozbudowany. Obecnie obejmuje: walidację każdego nowego testu/systemu przed wprowadzeniem do stosowania (wykonywane w IHiT); ewaluację i ponowną walidację wszystkich

procedur obowiązujących w CKiK; przeprowadzenie auditów w laboratoriach (nie rzadziej niż co dwa lata); udział w zewnętrznych programach kontroli jakości (przede wszystkim programy VQC Amsterdam, QCMD Glasgow, Labquality Helsinki); analizę wyników codziennej zewnętrznej kontroli jakości (EDC-NET) oraz wyników kontroli wewnętrznych dla każdego badania (IC), analizę wyników fałszywie reaktywnych oraz fałszywie negatywnych; walidację wszystkich automatycznych urządzeń oraz systemów, kontrolę warunków przechowywania oraz transportu próbek oraz odczynników (np. monitorowanie temperatury); kwalifikowanie odczynników oraz sprzętu jednorazowego użytku oraz wymóg przedstawiania przez producenta wyników zewnętrznej kontroli jakości każdej serii odczynników (ang. *batch release*).

Codzienna zewnętrzna kontrola jakości (EDC-NET) polega na badaniu każdego dnia, próbek kontrolnych (takich samych we wszystkich laboratoriach stosujących określoną metodykę badania). Ich wyniki są wprowadzane do oprogramowania dostępnego *online*, a następnie między poszczególnymi laboratoriami porównuje się wybrane wartości uzyskane w analizie statystycznej (odchylenia standardowe, wartości średnie i inne).

W Polsce, dodatkowo obowiązuje badanie wybranych donacji na obecność DNA parwowirusa B19 (B19V). Badanie to jest wymagane u dawców krwi, których osocze jest wykorzystywane do produkcji immunoglobuliny anty-D, anty-HBs oraz dawców komórek przeznaczonych do immunizacji. Polimorfizm B19V jest kluczowym czynnikiem wpływającym na czułość kliniczną testów przeglądowych (8, 9). Wiadomo, że w Polsce (10) oraz w krajach sąsiadujących (11, 12) występuje genotyp 2 B19V. Niektóre testy typu *home made* lub testy komercyjne mogą zaniżyć stężenie jego DNA lub nawet w ogóle go nie wykrywać. Dlatego szczególną uwagę zwraca się na ocenę czułości klinicznej wykrywania wszystkich znanych genotypów tego wirusa. Według danych uzyskanych w trakcie oceny testu DPX, który jest powszechnie stosowany w polskim krwiodawstwie, umożliwia on wykrywanie z porównywalną czułością genotypów 1-3 parwowirusa B19, tym samym skutecznie zapobiega skażeniu pul produkcyjnych osocza DNA B19V o mianie przekraczającym poziom  $>10^4$  IU/ml, zgodnie z wytycznymi Farmakopei Europejskiej (13). Biorąc pod uwagę możliwość wystąpienia wyników fałszywie ujemnych lub nieważnych badań DNA B19V wykonanych metodą PCR w czasie rzeczywistym, w próbkach o wysokiej wiremii zaleca się 1/ prowadzić szczegółowe analizy wykresu fluorescencji dla każdego oznaczenia oraz 2/ dochodzić przyczyn wyników nieważnych na podstawie wykresów przebiegu reakcji oraz wykonywanie dodatkowych badań wyjaśniających (14). Umiejętność postę-

powania w takich sytuacjach sprawdzana jest w trakcie regularnych kontroli jakości badań, przeprowadzanych na panelach zaprojektowanych oraz przygotowanych przez IHiT.

## WYNIKI BADAŃ PRZEGLĄDOWYCH

W okresie ostatnich 20 lat obserwuje się spadek częstości wykrywania antygeny HBs zarówno wśród dawców pierwszorazowych, jak i wielokrotnych. W pierwszej grupie, w 1994r, częstość antygeny HBs zbliżyła się do 1%, następnie sukcesywnie spadała w kolejnych latach, aż do ok. 0,3% w 2013r. Poprawa nastąpiła głównie dzięki wprowadzeniu programu szczepień ochronnych w latach 80-tych (15). W 2013 r. zanotowano spadek częstości z 0,6 do 0,3%, co należy wiązać z przystąpieniem młodych, w większości zaszczepionych osób, do grona dawców krwi. Należy podkreślić, że wśród dawców krwi w Polsce przeważają osoby młode. W grupie dawców wielokrotnych w latach 90-tych, częstość wykrywania antygeny HBs nieznacznie przekroczyła 0,1%, podczas gdy w ostatnich latach rejestrowane są rocznie jedynie pojedyncze zakażenia.

W porównaniu z innymi krajami europejskimi u polskich dawców krwi obecność HBV DNA przy jednoczesnym braku HBsAg stwierdzana jest często (tab. I) – 1 na ok. 61 tysięcy donacji. Większość przypadków to ukryte zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B (ang. *occult hepatitis B virus infection*, OBI). Wysoka częstość tego typu zakażeń jest wynikiem złej sytuacji epidemiologicznej w Polsce w przeszłości. W połowie lat 80-tych Polska należała do grona krajów europejskich o jednym z najwyższych wskaźników zapadalności na wzv B (45/100 000) (15). Zakażenie HBV w tzw. okienku serologicznym obserwuje się rzadziej – 1 na 255 146. Jak wspomniano wcześniej, efektywność badań przeglądowych w kierunku HBV DNA, za pomocą technik biologii molekularnej, zależy od czułości badania (stosowanego systemu) (16). Analiza częstości wykrywania zakażeń o profilu HBsAg-/HBV DNA+, przeprowadzona na dużej liczbie donacji potwierdza tego typu zależność, ponieważ częstość identyfikacji dawców w tzw. „okienku serologicznym” oraz z ukrytym zakażeniem HBV w pojedynczych donacjach oraz MP6 w porównaniu do MP24 jest kilkanaście razy wyższa ( $p < 0,01$ ) (17).

Należy dodać, że wśród polskich dawców krwi, u których stwierdzono obecność antygeny HBs, dominuje genotyp A2 (80%) a mniej osób jest zakażonych genotypem D (20%) (18). Z kolei wśród dawców krwi z ukrytym zakażeniem HBV stwierdzono odmienny rozkład częstości genotypów: genotyp D - 60%, genotyp A - 35% oraz pojedyncze przypadki zakażenia genotypem H (19). Z klinicznego punktu widzenia (diagnozy,

leczenia i zjawiska reaktywacji) warto podkreślić, że w porównaniu do genotypu A2, genotyp D znacznie częściej podlega substytucji i charakteryzuje się większym polimorfizmem, co może wpływać na przebieg zakażenia (18).

W porównaniu do zakażeń HBV, obraz zmian sytuacji epidemiologicznej HCV w Polsce jest mniej optymistyczny. Występowanie wyników powtarzalnie reaktywnych anty-HCV w latach 1993–2013 oscylowało wokół 0,8% w przypadku dawców pierwszorazowych oraz 0,2% dawców wielokrotnych i nie obserwowano istotnej poprawy sytuacji. Obecność HCV RNA u dawców seronegatywnych (anty-HCV ujemnych) stwierdza się średnio u 1 na 119 235 donacji i nie obserwuje się różnicy w odniesieniu do czułości analitycznej zastosowanego systemu. Wynika to z krótszego okresu podwojenia liczby wirionów (kilka godzin w porównaniu do 2,5 dnia dla HBV), a w konsekwencji mniejszego znaczenia różnic (na poziomie 1-500 IU/ml) w czułości badania dla efektywności wykrywania HCV technikami biologii molekularnej na etapie tzw. okienka serologicznego, kiedy zwłaszcza w początkowej fazie stężenie wirusa rośnie, aż do osiągnięcia tzw. *plateau*.

W pierwszych latach po wdrożeniu badań przeglądowych w kierunku HCV RNA, w grupie dawców zakażonych w tzw. okienku serologicznym w porównaniu do dawców z przeciwciałami anty-HCV obserwowano nieoczekiwanie wysoką częstość genotypu 4 oraz podtypu 3a przy jednocześnie obniżonej częstości podtypu 1b (1). U 36% dawców zakażonych HCV w tzw. okienku serologicznym stwierdzono zakażenie podtypem 1b, podczas gdy odpowiednio u 40% i 14% osób stwierdzono podtyp 3a oraz 4c/d. Rozkład częstości genotypów różnił się istotnie w porównaniu do seropozytywnych (RNA HCV+, anty-HCV+) dawców oraz pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, wśród których częstość podtypu 1b była istotnie wyższa (odpowiednio 75,7% oraz 85,3%) (1).

Różnice w występowaniu genotypów u dawców we wczesnej fazie zakażenia oraz w stadium przewlekłego wzv C prawdopodobnie związane są z odmiennym przebiegiem zakażenia form polimorficznych HCV oraz ostatnio obserwowanymi zmianami w drogach przenoszenia zakażenia HCV w kontekście poszczególnych genotypów. O ile w przeszłości najprawdopodobniej głównym źródłem zakażenia były przetoczenia i inne zakażenia szpitalne, to ostatnie analizy statystyczne czynników niezależnie powiązanych z zakażeniem HCV, które nastąpiło niedawno wskazują na: przypadkową ekspozycję na krew, tatuowanie, używanie narkotyków drogą iniekcyjną oraz poza-iniekcyjną, kontakty seksualne z dwoma lub więcej partnerami w ciągu 6 miesięcy przed oddaniem krwi oraz wspólne używanie maszynek do golenia/ szczoteczki do zębów (20).

Poczynając od chwili wdrożenia metod biologii molekularnej aż do końca 2014 r., opisano w Polsce jeden przypadek przeniesienia zakażenia HCV przez transfuzję. Został zgłoszony w 2003 r. i dotyczył koncentratu krwinek czerwonych od osoby regularnie oddającej krew, dla której wynik rutynowego badania przeglądowego w kierunku HCV RNA wykonanego w minipuli obejmującej osocze z 48 donacji był negatywny (21).

Pomimo faktu, iż Polska jest krajem o niskiej endemiczności zakażeń HIV, od 2009 r. obserwuje się niewielki wzrost częstości zakażeń HIV. W ostatnich latach zakażenie HIV wykrywane jest u 7-9 dawców na 100000. O ile w przypadku dawców pierwszorazowych przeciwciała anty-HCV oraz antygen HBs wykrywane są wielokrotnie częściej niż u dawców wielokrotnych, to częstość zakażeń HIV jest podobna w obu grupach dawców. Zjawisko to może być wynikiem zgłaszania się do krwiodawstwa osób, których główną motywacją jest uzyskanie wyniku badania markerów zakażenia HIV (tzw. *test seekers*). Pomimo, w porównaniu z innymi krajami europejskimi, dobrej ogólnie sytuacji epidemiologicznej rejestrowana jest stosunkowo duża liczba zakażeń HIV w okienku serologicznym. Po przebadaniu 10 milionów donacji wykryto

13 takich przypadków (anty-HIV-/RNA HIV+). W czterech przypadkach analizowano polimorfizm genetyczny i zidentyfikowano podtyp B (22).

#### **Podziękowanie**

Autorzy niniejszej pracy pragną złożyć podziękowania współpracownikom z Instytutu Hematologii i Transfuzjologii oraz z Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa za owocną współpracę w ramach rutynowego zbierania danych. Szczególne podziękowania należą się również Pani Krystynie Dudziak za pomoc przy redagowaniu niniejszego artykułu, a pani Natalii Pardzie za pomoc przy opracowaniu polskiej wersji tekstu.

Otrzymano: 09.01.2015 r.

Zaakceptowano do publikacji: 11.05.2015 r.

#### **Adres do korespondencji:**

prof. nadzw. dr hab. n. med. Piotr Grabarczyk  
Zakład Wirusologii  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii  
ul. Indiry Gandhi 14  
02-776 Warszawa  
tel. +22 34 96 685  
fax. +22 34 96 603

