

# Význam vyšetřovania alanínaminotransferázy u darcov krvi pre redukciu rizika prenosu hepatitíd B a C hemoterapiou

Katarína Kusendová<sup>1</sup>, Peter Gavorník<sup>2,3</sup>, Peter Sabaka<sup>2</sup>, Klára Svitekóvá<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Národná transfúzna služba SR Bratislava, Slovenská republika

<sup>2</sup> II. interná klinika LF UK a UN Bratislava, Slovenská republika

<sup>3</sup> Prvé angiologické pracovisko (PAP) LF UK a UN Bratislava, Slovenská republika

## Súhrn

**Úvod:** Cieľom retrospektívnej observačnej prierezovej štúdie bolo zhodnotiť prínos testovania alanínaminotransferázy (ALT) u darcov krvi a jej komponentov v prevencii prenosu hepatitíd B a C hemoterapiou v kontexte súčasných skríningových metód. **Metódy:** Vyhodnotené boli odbery s eleváciou ALT nad stanovený limit (muži 80 IU/l, ženy 64 IU/l, spektrofotometrický UV test, KUADRO™, BPC BioSed Srt, Castelnovo di Porto Roma, Italia) alebo reaktivitou niektorého z virologických parametrov hepatitíd HBsAg, anti-HBc, anti-HCV (chemiluminiscenčná metóda, ARCHITECT i2000™, Illinois, USA). Darcovia boli konfirmačne pretestovaní. Na základe definitívneho virologického statusu boli odbery rozdelené na skupiny so spoločnými biologickými vlastnosťami a štatisticky vyhodnotené v programoch Graph Pad Prism 6.05 a Microsoft Excel 2003. **Výsledky:** Zo 61 214 odberov sa elevácia ALT vyskytla u 420 odberov (0,69 %), aktívna HBV infekcia u 25 (0,04 %), aktívna HCV infekcia u 5 darcov krvi (0,01 %). Súčasná elevácia ALT a potvrdená HBV infekcia sa vyskytla u jedného darcu (0,002 %), rovnako ako HCV (0,002 %). Hodnoty ALT v skupine s jej eleváciou bez prítomnosti HBV alebo HCV infekcie boli vyššie ako v skupinách s aktívnymi hepatitídami B a C ( $p < 0,05$ ). Nezachytili sme darcu krvi v sérologickom okne anti-HCV s eleváciou ALT. Elevácia ALT vykazovala nízku špecificitu (69,14 %) aj senzitivitu (6,45 %) pre aktívne hepatitídy. Nedokázali sme kladnú koreláciu medzi ALT a S/CO (signal-to-cut-off) anti-HBc (Spearman  $r = -0,565$ ,  $p < 0,0001$ ), ALT a S/CO anti-HCV (Spearman  $r = -0,1046$ ,  $p = 0,0022$ ), výsledok pri ALT a S/CO HBsAg nedosiahol štatistickú významnosť (Spearman  $r = -0,00968$ ,  $p = 0,77$ ). Kladná ale štatisticky nevýznamná korelácia ALT a anti-HCV bola zaznamenaná v skupine 5 darcov s aktívnou HCV infekciou (Spearman  $r = 0,4$ ,  $p = 0,51$ ). Skríningová schéma pre záchyt HCV infekcie anti-HCV + ALT bola na 1 odber o 0,18 € drahšia ako schéma anti-HCV + HCV RNA pre veľký počet znehodnotených odberov s izolovanou eleváciou ALT (825 TU v hodnote 41 388,89 €). **Záver:** Elevácia ALT u darcov nebola patognomická pre hepatitídy B a C. Skríningová schéma HCV v zložení anti-HCV + HCV RNA (metóda testovania nukleových kyselín, COBAS AmpliScreen HCV 2.0™, ROCHE Diagnostics, Hague Road, Indianapolis, USA) je viac cost-efektívna ako anti-HCV + ALT.

**Kľúčové slová:** alanínaminotransferáza – hemovigilancia – hepatitída B – hepatitída C – skríning

## Significance of alanine aminotransferase screening in blood donors for risk reduction of hepatitis B and C transmission by haemotherapy

### Summary

**Background:** The goal of the retrospective observatory cross-sectional study was to evaluate the benefit of alanine aminotransferase screening of blood donors in prevention of hepatitis B and C transmission by haemotherapy in context of actual screening methods. **Methods:** Donations with elevated ALT more than the defined limit (ALT men 80 IU/l, women 64 IU/l, spectrophotometric UV test, KUADRO™, BPC BioSed Srt, Castelnovo di Porto Roma, Italy) and/or reactivity any of the hepatitis screening parameters HBsAg, anti-HBc, anti-HCV (chemiluminescence method, ARCHITECT i2000™, Illinois, USA) were evaluated. Donors were confirmatory retested. They were classified into groups with common biological properties according to their final virological status and statistically evaluated in programs Graph Pad Prism 6.05 and Microsoft Excel 2003. **Results:** From a total of 61 214 donations elevated ALT was found in 420 (0.69 %), active HBV in 25 (0.04 %), active HCV infection in 5 (0.01 %) blood donors. Coincidental elevation of ALT and active HBV infection occurred in 1 donor (0.002 %), as well as HCV (0.002 %). Levels of ALT were higher in the group with elevated ALT without active HBV or HCV infection than in groups with active HCV and HCV infection ( $p < 0.05$ ). Occurrence of blood donor in seronegative anti-HCV window was not observed. Elevated ALT

was low specific (69.14 %) and sensitive (6.45 %) for active hepatitis. We did not prove positive correlation of ALT and S/CO (signal-to-cut-off) anti-HBc (Spearman  $r = -0.565$ ,  $p < 0.0001$ ), ALT and S/CO anti-HCV (Spearman  $r = -0.1046$ ,  $p = 0.0022$ ), in ALT and S/CO HBsAg the result was not statistically significant (Spearman  $r = -0.00968$ ,  $p = 0.77$ ). Positive but statistically insignificant correlation ALT and S/CO anti-HCV occurred in the group of 5 blood donors with active HCV infection (Spearman  $r = 0.4$ ,  $p = 0.51$ ). Screening scheme for HCV infection testing anti-HCV + ALT was per one donation by € 0.18 more expensive than the scheme anti-HCV + HCV RNA due to amount of wasted donations with ALT elevation (825 TU, € 41 388.89). **Conclusion:** Elevation of ALT in blood donors was not pathognomonic for hepatitis B and C infection. Screening of HCV consisting of anti-HCV + HCV RNA (nucleic acid testing method, COBAS AmpliScreen HCV 2.0™, ROCHE Diagnostics, Hague Road, Indianapolis, USA) is more cost-effective than the scheme anti-HCV + ALT.

**Keywords:** alanine aminotransferase – haemovigilance – hepatitis B – hepatitis C – screening

## Úvod

Hemoterapia prináša so sebou riziko prenosu infekčných hepatitíd B a C napriek implementácii nových skriningových testov detegujúcich protilátky, antigény alebo nukleové kyseliny vírusov. **Infekcia vírusom hepatitídy C (HCV)** tvorila pred identifikáciou vírusu 90 % potransfúzných hepatitíd. V roku 1986 Americká asociácia krvných bánk odporučila testovanie alanínaminotransferázy ako nešpecifického markera diagnostiky jej pôvodcu, pričom v niektorých krajinách (vrátane Slovenska) sa testoval ešte skôr v 80. rokoch 20. storočia. Opatrenie znížilo výskyt potransfúzných hepatitíd non-A, non-B o 50 % [1]. Po objavení vírusu HCV a skriningu anti-HCV protilátok riziko potransfúzných HCV infekcií kleslo na 1 : 100 000, testovanie HCV RNA redukuje riziko na 1 : 2 000 000 podaných transfúzií [2]. Podľa odporúčaní Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) k povinným markerom skriningu HCV v transfúznej medicíne patria anti-HCV protilátky, k nepovinným HCV RNA alebo HCV antigén spolu s anti-HCV [2–4]. Nepovinné testy HCV RNA alebo HCV antigén sa na Slovensku v rámci skriningu nepoužívajú vzhľadom na ich vysokú cenu [5,6]. Anti-HCV je protilátka namierená proti štruktúram HCV a v sére hostiteľa sa objaví najskôr od 8.–10. týždňa po infekcii, 98 % populácie vytvorí anti-HCV protilátku do 180 dní a asi 2 % populácie ju môžu vytvoriť ešte neskôr. Prvým cirkulujúcim markerom je HCV RNA, objavuje sa na 7. deň po expozícii. Antigén HCV Ag sa objavuje v sére rovnako alebo do 20 dní neskôr ako HCV RNA [3,7]. Vzhľadom na sérologický profil HCV infekcie predchádza objavenie HCV RNA zvýšenie hodnoty ALT asi o 4 týždne, ale elevácia ALT predchádza objaveniu anti-HCV protilátok o minimálne o 3 týždne, alebo o dlhší čas, ak dôjde k neskoršej tvorbe anti-HCV protilátky [4]. V prípade použitia skriningovej schémy iba s anti-HCV protilátkou prínos ALT pre hemovigilanciu spočíva v skrátení sérologického okna anti-HCV minimálne o 3 týždne. V prípade skriningovej schémy anti-HCV spolu s HCV RNA predchádza objavenie virémie eleváciu ALT zhruba o 4 týždne [4]. Skrining ALT v takomto prípade už neprináša benefit v oblasti hemovigilancie a možno ho zrušiť [1,2,8–13]. Pri skriningu vírusu hepatitídy B (HBV) u darcov krvi

je podľa WHO povinným markerom povrchový antigén vírusu hepatitídy B (HBsAg). Testovanie protilátok proti jadrovému antigénu HBV (anti-HBc) a HBV DNA nie je povinné, ale použitie jednotlivých testov spolu s HBsAg zvyšuje bezpečnosť hemoterapie [3–6,14]. V Národnej transfúznej službe (NTS) skrining HBV pozostáva z HBsAg a anti-HBc. Objavenie HBsAg v sére sa vyskytuje spolu s HBV DNA – 2–4 týždne od expozície, elevácia ALT nastáva po 5–16 týždňoch. Vyšetrenie ALT v skriningu HBV nie je prínosné, ani odporúčané [3,4,15]. **Hodnoty ALT** môžu byť ovplyvnené vekom, pohlavím, rasou, hmotnosťou, požitím potravy, hepatotoxických látok a fyzickou námahou. Viac ako 10-násobné zvýšené hodnoty ALT korelujú s rozsahom poškodenia pečene. Vo väčšine prípadov býva u darcov krvi zvýšenie aktivity ALT spôsobené nešpecifickými, z titulu hemovigilancie nezávažnými faktormi s dominanciou obezity, nealkoholovej steatózy pečene a abúzu alkoholu [11,13]. Pre potreby transfuziologie sa akceptuje hodnota do 2-násobku horného limitu referenčných hodnôt [5,6]. Skrining ALT generuje množstvo nešpecifických elevácií, čo má za následok znehodnocovanie transfúzných prípravkov, vyradovanie darcov a predražovanie skriningovej schémy HCV s použitím anti-HCV protilátok v kombinácii s ALT. V štúdií hodnotíme význam ALT pri skriningu hepatitíd B a C a porovnávame náklady skriningových schém HCV infekcie anti-HCV + ALT vs anti-HCV + HCV RNA.

## Súbor a metódy Participanti

Do štúdie boli zaradené odbery, ktorých darcovia spĺňali aktuálne platné kritériá pre odber krvi a jej komponentov a po poučení podpísali informovaný súhlas. Odbery celej krvi ( $n = 57\,665$ ), produktívna trombocytaferéza ( $n = 3\,477$ ), produktívna erytrocytaferéza ( $n = 39$ ), produktívna granulocytaferéza ( $n = 30$ ) a produktívna plazmaferéza ( $n = 3$ ) v období od septembra roku 2010 do decembra roku 2012 boli vykonané na pracoviskách Národnej transfúznej služby (NTS) Bratislava Ružinov a Kramáre, na výjazdoch mobilnej odberovej jednotky NTS Bratislava a odberovom centre NTS v Dunajskej Strede. Do štúdie neboli zaradení darcovia-pacienti,

ktorí absolvovali autológný odběr celé krve alebo autológnu produktívnu trombocytaferézu za účelom prípravy amniovej záplaty (amniopatch) na intraamniové podanie trombokoncentrátu s kryoprecipitátom pri predčasnej ruptúre plodových obalov v 2. trimestri gravidity.

## Design štúdie

Zo 61 214 odberov bolo vyhodnotených 853 s eleváciou ALT nad limit hodnôt stanovených v NTS (ALT  $\geq$  80 IU/l muži,  $\geq$  64 IU/l ženy, spektrofotometrický UV test, KUADRO, ALT 60 IU/l = 1  $\mu$ kat/l) alebo reaktivitou niektorého z virologických parametrov hepatitid HBsAg, anti-HBc, anti-HCV (S/CO  $\geq$  1, chemiluminiscenčná metóda, ARCHITECT i2000). Darcovia boli konfirmačne pretestovaní (tab. 1) a retrospektívne vyhľadani v informačnom systéme ISTO 3300 s odstupom 8 mesiacov od zaradenia posledných odberov do štúdie. Na základe definitívneho virologického statusu boli odbery rozdelené na skupiny so spoločnými biologickými vlastnosťami (tab. 2) a štatisticky vyhodnotené v programoch Graph Pad Prism 6.05 a Microsoft Excel 2003. Cena skríningu anti-HCV + ALT bola vypočítaná ako súčet nákladov na skrínigové testy anti-HCV a ALT v NTS a hodnoty znehodnotených transfúzných liekov pre reaktívne výsledky anti-HCV a eleváciu ALT. Analogicky bola vyráňaná cena skríningu anti-HCV + HCV RNA. Skrínig HCV RNA v NTS nerealizujeme, preto sme jeho cenu a hodnotu transfúzných liekov znehodnotených pre jeho reaktivitu vyráňali z externých zdrojov [16–18]. Cost-efektivita oboch schém bola prepočítaná a porovnaná pre jeden odber v súbore a pre všetky odbery z roku 2014.

## Štatistické metódy

Na zhodnotenie distribúcie parametrov bol použitý D'Agostinov-Pearsonov a Kolmogorovov-Smirnov test. Hodnoty ALT v súbore a jeho skupinách nevykazovali normálnu distribúciu a boli uvedené ako aritmetický priemer, medián  $\pm$  štandardná chyba, ktorá je pri nerovnomernej distribúcii dát výhodnejšia. Smerodajnú odchýlku sme z tohto dôvodu nestanovovali. Hodnoty ALT medzi skupinami boli porovnané neparametrickým Kruskalovým-Wallisovým testom. Stanovili sme typ závislosti a koreláciu medzi hodnotami ALT a hodnotami S/CO virologických parametrov (HBsAg, anti-HBc, anti-HCV) vyjadrenú neparametrickým Spearmanovým korelačným koeficientom. Za štatisticky významné boli považované výsledky s p-hodnotou  $\leq$  0,05.

## Výsledky

### Elevácia hodnoty ALT v súbore

Elevácia ALT sa vyskytla u 420 odberov (0,69 %). Z toho u 413 išlo o izolovanú eleváciu ALT bez reaktivity virologických parametrov hepatitid (0,67 %). V 7 odberoch bola prítomná elevácia ALT a prvotná reaktivita niektorého virologického parametra hepatitid (0,01 %), z toho potvrdená aktívna HBV infekcia so súčasnou eleváciou ALT sa vyskytla v 1 odbere (0,002 %), rovnako ako HCV infekcia – 1 odber (0,002 %). Hodnoty ALT v skupine s jej eleváciou bez prítomnosti HBV alebo HCV infekcie  $[102,2 (93) \pm 1,6 \text{ U/l}]$  boli štatisticky významne vyššie ako v skupinách s aktívnou HBV  $[35,00 (32) \pm 3,106 \text{ U/l}]$  a HCV infekciou  $[44,00 (26) \pm 15,49 \text{ U/l}]$ ,  $p < 0,05$ . Výskyt sérologického okna anti-HCV sme vylúčili u 287 darcov s izolovanou eleváciou ALT.

**Tab. 1. Schémy konfirmácie odberov s reaktivitou virologických parametrov hepatitid B a C a eleváciou ALT**

| HBsAg <sup>1</sup> RR<br>(S/CO $\geq$ 1)                      | anti-HBc <sup>3</sup> RR<br>(S/CO $\geq$ 1) | anti-HCV <sup>5</sup> RR<br>(S/CO $\geq$ 1) | ALT <sup>8</sup> elevácia<br>(muži $\geq$ 80 U/l, ženy $\geq$ 64 U/l)                 |
|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. konfirmácia HBsAg Qualitative II Confirmatory <sup>2</sup> | anti-HBs <sup>4</sup>                       | 1. konfirmácia DECISCAN HCV <sup>6</sup>    | 6 mesiacov                                                                            |
| 6 mesiacov                                                    | 6 mesiacov                                  | 6 mesiacov                                  | praktický lekár                                                                       |
| HBsAg <sup>1</sup>                                            | anti-HBc <sup>3</sup>                       | anti-HCV <sup>5</sup>                       | ALT <sup>8</sup> , HBsAg <sup>1</sup> , anti-HCV <sup>5</sup> , anti-HBc <sup>3</sup> |
| 6 mesiacov                                                    | 6 mesiacov                                  | 6 mesiacov                                  | –                                                                                     |
| HBsAg <sup>1</sup>                                            | anti-HBc <sup>3</sup>                       | anti-HCV <sup>5</sup>                       | –                                                                                     |
| 2. konfirmácia HBsAg Qualitative II Confirmatory <sup>2</sup> | –                                           | 2. konfirmácia DECISCAN HCV <sup>6</sup>    | –                                                                                     |
| –                                                             | –                                           | v prípade negativity HCV RNA <sup>7</sup>   | –                                                                                     |

RR – opakovane reaktívny

metódy: 1 – chemiluminiscenčná metóda, ARCHITECT HBsAg Qualitative II, ARCHITECT i2000™, Illinois, USA 2 – chemiluminiscenčná metóda, ARCHITECT HBsAg Qualitative II Confirmatory V.1, ARCHITECT i2000™, Illinois, USA 3 – chemiluminiscenčná metóda, ARCHITECT anti-HBc II, ARCHITECT i2000™, Illinois, USA 4 – chemiluminiscenčná metóda, ARCHITECT anti-HBs, ARCHITECT i2000™, Illinois, USA 5 – chemiluminiscenčná metóda, ARCHITECT anti-HCV, ARCHITECT i2000™, Illinois, USA 6 – imunoblottingový test, Deciscan HCV PLUS, Bio-Rad Laboratories, Corporate Offices, 1000 Alfred Nobel Drive Hercules, California, USA 7 – metóda testovania nukleových kyselín, COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV, v2.0™, ROCHE Diagnostics, Hague Road, Indianapolis, USA 8 – spektrofotometrický UV test, KUADRO™, BPC BioSed Srt, Castelnovo di Porto Roma, Italy

## Prevalencia hepatitíd B a C

Prvotný záchyt HBsAg antigénu bol v 29 odberoch (0,05 %), potvrdil sa spolu s anti-HBc protilátkou v 15 odberoch s aktívnou HBV infekciou (0,02 %). Prvotný výskyt protilátky anti-HBc (bez HBsAg) bol v 326 odberoch (0,53 %), potvrdená bola v 188 odberoch (0,3 %) – 10 odberov s aktívnou („anti-HBc only“)

a 178 odberov s prekonanou HBV infekciou. Aktívna HBV infekcia sa v súbore vyskytla v 25 odberoch (0,04 %). Prvotný záchyt anti-HCV protilátky bol v 87 odberoch (0,14 %), z čoho u 5 s aktívnou HCV infekciou (0,01 %) bol potvrdený. K nepotvrdeným odberom patria nešpecificky reaktívne, stavy po očkovaní, nejasné výsledky.

**Tab. 2. Skupiny odberov so spoločnými biologickými vlastnosťami**

| skupina | ALT | virologický status HBV infekcia                                        | virologický status HCV infekcia                       | záver – HBV a HCV infekcia           | n odberov      |
|---------|-----|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------|
| 1       | E   | nereaktívny                                                            | nereaktívny                                           | zdravý                               | 287            |
| 1       | E   | nereaktívny                                                            | nereaktívny                                           | zdravý, okno HCV infekcie nevylúčené | 126            |
| 6       | E   | nereaktívny                                                            | anti-HCV RR, confirmácia negatívna                    | zdravý                               | 1              |
| 6       | E   | anti-HBc RR, anti-HBs negatívny, HBsAg negatívny                       | nereaktívny                                           | zdravý                               | 3              |
| 6       | N   | HBsAg RR, anti-HBc negatívny, confirmácia HBsAg negatívny              | nereaktívny                                           | zdravý                               | 13             |
| 6       | N   | anti-HBc RR, anti-HBs negatívny/RR po očkovaní, HBsAg negatívny        | nereaktívny                                           | zdravý                               | 114            |
| 6       | N   | nereaktívny                                                            | anti-HCV RR, confirmácia negatívna                    | zdravý                               | 54             |
| 4       | E   | nereaktívny                                                            | anti-HCV RR, confirmácia pozitívna                    | HCV infekcia aktívna                 | 1              |
| 4       | N   | nereaktívny                                                            | anti-HCV RR, confirmácia pozitívna                    | HCV infekcia aktívna                 | 4              |
| 2       | E   | anti-HBc RR, anti-HBs > 10 mIU/ml, HBsAg negatívny                     | nereaktívny                                           | HBV infekcia prekonaná neaktívna     | 1              |
| 2       | N   | anti-HBc RR, anti-HBs > 10 mIU/ml, HBsAg negatívny                     | nereaktívny                                           | HBV infekcia prekonaná neaktívna     | 175            |
| 2       | N   | anti-HBc RR, anti-HBs > 10 mIU/ml, HBsAg negatívny                     | anti-HCV RR, confirmácia negatívna                    | HBV infekcia prekonaná neaktívna     | 2 (4 výsledky) |
| 3       | E   | HBsAg RR, confirmácia HBsAg pozitívna, anti-HBc RR, anti-HBs negatívny | nereaktívny                                           | HBV infekcia aktívna                 | 1              |
| 3       | N   | HBsAg RR, confirmácia HBsAg pozitívna, anti-HBc RR, anti-HBs negatívny | nereaktívny                                           | HBV infekcia aktívna                 | 14             |
| 3       | N   | anti-HBc RR > 10 S/CO, anti-HBs negatívne, HBsAg negatívne*            | nereaktívny                                           | HBV infekcia aktívna                 | 10             |
| 5       | N   | HBsAg opakovane RR, anti-HBc negatívny, confirmácia HBsAg negatívna    | nereaktívny                                           | nejasný                              | 1              |
| 5       | N   | anti-HBc opakovane RR, anti-HBs negatívny/nejasný, HBsAg negatívny     | nereaktívny                                           | nejasný                              | 21             |
| 5       | N   | nereaktívny                                                            | anti-HCV opakovane. RR, confirmácia negatívna/nejasná | nejasný                              | 25             |

\*V súbore sme zachytili 10 darcov s „anti-HBc only“ HBV infekciou. Nakoľko sme v štúdií nestanovovali HBV DNA, nie je možné zhodnotiť prítomnosť okultnej hepatitídy B (OBI) v tomto súbore. Ščepkinová et al sledovali prítomnosť HBV DNA v sére darcov po dobu 4 rokov v rôznych regiónoch SR u 126 darcov s „anti-HBc only“ HBV infekciou, pričom u žiadneho nebola HBV DNA dokázaná a výskyt OBI sa nepotvrdil [37].

ALT: E – elevácia, N – norma RR – opakovane reaktívny

skupiny: 1 – elevácia ALT a nereaktívne virologické parametre 2 – prekonaná HBV neaktívna 3 – aktívna HBV infekcia 4 – aktívna HCV infekcia

5 – nejasný 6 – zdravý

## Špecifická a senzitivita ALT pre aktívne hepatitídy

Senzitivita elevácie ALT pre aktívne hepatitídy HBV a HCV spolu bola 6,45 %, špecifická 69,14 %, pozitívna prediktívna hodnota 0,69 %, negatívna prediktívna hodnota bola 95,58 %. Výpočet bol limitovaný nezarátaním darcov 126 odberov s eleváciou ALT bez reaktivity virologických parametrov, ktorí sa nedostavili na pretestovanie a nemožno u nich vylúčiť diagnostické okno anti-HCV.

## Korelácia

Medzi všetkými korelovanými dátami bol lineárny typ závislosti. Nedokázali sme kladnú koreláciu v súbore ani v jednotlivých skupinách medzi ALT a hodnotou S/CO anti-HBc (Spearman  $r = -0,565$ ,  $p < 0,0001$ ) (graf 1), ALT a S/CO anti-HCV (Spearman  $r = -0,1046$ ,  $p = 0,0022$ ), graf 2, výsledok pri ALT a S/CO HBsAg nedosiahol štatistickú významnosť (Spearman  $r = -0,00968$ ,  $p = 0,77$ ). Kladná ale štatisticky nevýznamná korelácia ALT a S/CO anti-HCV bola zaznamenaná v skupine 5 odberov s aktívnou HCV infekciou (Spearman  $r = 0,4$ ,  $p = 0,51$ ).

## Porovnanie nákladov skriningových schém HCV infekcie

Food and Drug Administration (FDA – Úrad pre kontrolu potravín a liekov USA) odporúča na skrining HCV RNA u darcov krvi test COBAS AmpliScreen HCV 2.0™ (ROCHE Diagnostics, Hague Road, Indianapolis, USA), ktorým je možné testovať minipooly po 24 vzoriek [17]. Saudskoarabská štúdia vyčíslila náklady na jednu vzorku vyšetrenú týmto testom na 1,8 € [16]. Podľa údajov FDA by sa v našom súbore 61 214 odberov nachádzalo 82 s izolovanou HCV RNA reaktivitou [18]. Hodnotu transfúzných liekov vyrobených z jedného odberu sme vypočítali ako podiel ceny všetkých transfúzných liekov znehodnotených pre anti-HCV reaktivitu (10 558,94 €) a počtu odberov znehodnotených pre anti-HCV reaktivitu (87),

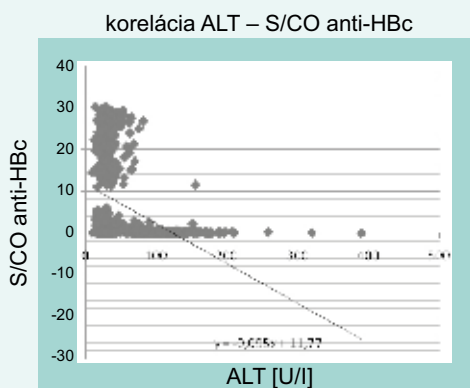
pričom predstavovala 121 €. V prípade 82 odberov s izolovanou HCV RNA reaktivitou by ich hodnota predstavovala 9 922 € (0,16 € na jeden odber). Túto hodnotu sme použili pre náš výpočet. Súčasná schéma anti-HCV + ALT bola v prepočte na 1 odber o 0,18 € drahšia ako anti-HCV + HCV RNA pre veľký počet znehodnotených odberov s izolovanou eleváciou ALT (825 TU v hodnote 41 388,89 €), tab. 3.

## Diskusia

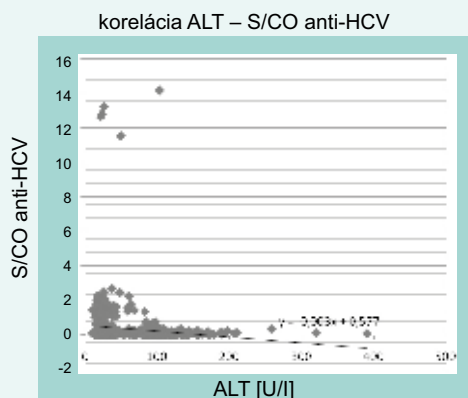
### Elevácia hodnoty ALT v súbore

Prevalencia elevácie ALT v našom súbore (0,69 %) je výrazne nižšia ako v iných štúdiách, v ktorých u darcov krvi dosahuje 14,5 % a 5,1 % [19,20]. Výsledky nie sú celkom porovnateľné, pretože ide o etnologicky odlišné skupiny a inú metodiku skriningu. Napriek tomu nízka prevalencia elevácie ALT v našom súbore svedčí o správnom výbere darcov a dobrom stave darcovskej populácie z titulu rizikových faktorov zvýšenej hodnoty ALT. Zo 61 214 odberov sme zaznamenali eleváciu ALT a aktívnu hepatitídu u 2 darcov krvi. Hodnoty ALT pri týchto odberoch dosahovali 103 U/l a 81 U/l, nepresahovali 10-násobok hornej hranice referenčných hodnôt, čo by bolo typické pre akútnu fázu hepatitíd. Obe infekcie sú pravdepodobne chronické a zachytiteľné sérologickými testami. Vysoké hodnoty ALT sme nezaznamenali ani v prípade ostatných 418 odberov s eleváciou  $[102,2 (93) \pm 1,6 \text{ U/l}]$ , najvyššia dosiahnutá hodnota bola 390 U/l. Darca spätne udával užívanie voľnopredajných anabolických steroidov, po poučení a kontrole bola u neho zaznamenaná normálna hodnota ALT aj virologických parametrov. Elevovaná hodnota ALT v našom darcovskom súbore nie je patognomická pre odbery s reaktivitou hepatitíd B a C, ani pre odbery s potvrdenou aktívnou infekciou, čo potvrdzujú aj práce viacerých autorov [8,9,11–13,15]. Hlavným prínosom skriningu ALT spolu s anti-HCV protilátkami je skrátenie sérologického okna HCV infekcie o približne 3 týždne.

Graf 1. Lineárna závislosť a korelácia hodnôt ALT a S/CO anti-HBc ( $n = 853$ )



Graf 2. Lineárna závislosť a korelácia hodnôt ALT a S/CO anti-HCV ( $n = 853$ )



**Tab. 3. Porovnanie nákladov pri súčasnej a navrhovanej skriningovej schéme HCV infekcie v Národnej transfúznej službe (NTS)**

| 1. súčasný skrining    | položky                                                               | cena           |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------|
| anti-HCV               | vyšetrenie anti-HCV Architect                                         | 5,74 €         |
|                        | znehodnotené transfúzne lieky pre reaktívne výsledky                  | 0,17 €         |
| ALT                    | vyšetrenie ALT Kuadro                                                 | 1,46 €         |
|                        | znehodnotené TL pre elevácie ALT                                      | 0,68 €         |
| spolu                  | v prepočte na 1 odber v súbore                                        | 8,05 €         |
|                        | v prepočte na všetky odbory v súbore                                  | 492 772,70 €   |
|                        | v prepočte na odbory na všetkých pracoviskách NTS za rok 2014         | 1 299 422,95 € |
|                        | v prepočte na všetky odbory na 1 pracovisku NTS za rok 2014 – priemer | 118 125,7 €    |
| 2. navrhovaný skrining | položky                                                               | cena           |
| anti-HCV               | vyšetrenie anti-HCV Architect                                         | 5,74 €         |
|                        | znehodnotené TL pre reaktívne výsledky                                | 0,17 €         |
| HCV RNA                | vyšetrenie HCV RNA Cobas AmpliScreen 1/24 vzoriek v minipool [16]     | 1,80 €         |
|                        | znehodnotené TL pre reaktívne výsledky [17,18]                        | 0,16 €         |
| spolu                  | v prepočte na 1 odber v súbore                                        | 7,87 €         |
|                        | v prepočte na všetky odbory v súbore                                  | 481 754,18 €   |
|                        | v prepočte na odbory na všetkých pracoviskách NTS za rok 2014         | 1 270 367,53 € |
|                        | v prepočte na všetky odbory na 1 pracovisku NTS za rok 2014 – priemer | 115 484,38 €   |
| <b>rozdiel (1–2)</b>   | <b>v prepočte na 1 odber v súbore</b>                                 | <b>0,18 €</b>  |
|                        | v prepočte na všetky odbory v súbore                                  | 11 018,52 €    |
|                        | v prepočte na odbory na všetkých pracoviskách NTS za rok 2014         | 29 055,42 €    |
|                        | v prepočte na všetky odbory na 1 pracovisku NTS za rok 2014 – priemer | 2 641,32 €     |

V súbore sme zaznamenali 413 odberov s eleváciou ALT bez reaktivity virologických parametrov, ktorých darcovia sa mohli nachádzať v sérologickom okne anti-HCV. Na pretestovanie pol roka po elevácii sa dostavili darcovia 287 odberov. Z nich sa v žiadnom odbere nevyskytla reaktivita anti-HCV (ani iných virologických parametrov), čím sme u nich vylúčili možnosť anti-HCV okna. Podľa Buscha et al bola v USA v roku 1995 pravdepodobnosť prenosu HCV infekcie v anti-HCV sérologickom okne transfúziou pri 3 z 1 000 000 odberov [8]. Alter uvádza prevalenciu anti-HCV protilátky v populácii USA v tom istom roku 1,8 % [21]. V našom súbore je prevalencia anti-HCV výrazne nižšia (0,01 %) a prenos HCV v sérologickom okne ešte menej pravdepodobný.

### Prevalencia hepatitíd B a C

Prevalencia markerov HBV infekcie v bežnej slovenskej populácii dosahuje pri HBsAg 1,2 % a anti-HBc 10,7 % [22]. Romano et al zaznamenali u talianskych darcov prevalenciu HBsAg 0,33 % a anti-HBc 8,62 % [23]. Hennig et al uvádzajú v nemeckej darcovskej populácii výskyt HBsAg 0,11 % a anti-HBc 1,52 % [24]. V našom súbore je výskyt markerov HBV ešte nižší (0,02 % a 0,3 %), čo svedčí o kvalitnom výbere darcov a účinnosti opatrení

na zvyšovanie hemovigilancie. Prevalencia HCV infekcie v našom súbore bola nižšia (0,14 %, 0,01 %) ako v staršej košickej štúdii. V rokoch 1993–1998 tu bolo vyšetrených 7 458 darcov s prvotným zachytom anti-HCV u 1,65 % a potvrdeným výskytom anti-HCV u 0,33 % [25]. Kalibatas et al uvádza prevalenciu anti-HCV u litovských darcov 0,53 %, u darcov v Európe sa udáva od 0,1 % do 0,6 % [26,27]. Nakoľko populácia darcov je výberová, neobsahuje skupiny obyvateľstva s vysokým rizikom infekčných hepatitíd, výskyt HBV a HCV infekcií je v nej nižší ako v bežnej populácii. V rokoch 1997–2002 bola prevalencia anti-HCV 1,52 %, HCV RNA sa potvrdila u 0,67 % vzoriek [27]. Opačný extrém predstavuje populácia užívateľov drog, kde bol zachyt anti-HCV v rokoch 2004–2008 v rozmedzí 34–78 % a HCV RNA 17–71 % [28].

### Korelácia

Cieľom výpočtu korelácie ALT a S/CO HBsAg, anti-HBc a anti-HCV bolo stanoviť mieru, akou sa infekcia hepatitídami B a C podieľa na elevácii ALT. Hodnota S/CO je priamo úmerná výške titra protilátok alebo antigénu, stopercentná pozitívna prediktívna hodnota pre hepatitídu sa však pozorovala až od vyšších hodnôt, ako



je cut-off stanovený pre potreby transfúznej medicíny (t.j.  $S/CO \geq 1$ ) [29–31]. Nízke hodnoty  $S/CO$  bývajú často nešpecificky reaktívne a konfirmáciou sa infekcia nepotvrdí. Z toho dôvodu by bolo vhodnejšie stanovovať koreláciu ALT s HBV DNA a HCV RNA, čo nebolo z ekonomických a technických dôvodov možné. V štúdiách stanovujúcich takúto koreláciu u darcov krvi však nebola potvrdená, rovnako ako tomu nebolo ani v našom súbore s hodnotami  $S/CO$  [32–35]. Infekcia HBV a HCV nie je príčinou elevácie ALT v našom ani iných darcovských súboroch. Odlišná situácia je u pacientov s potvrdenou HBV alebo HCV infekciou, kde hodnoty HBV DNA, HCV RNA (aj  $S/CO$ ) korelujú s ALT [29,33–36]. Rovnako v našom súbore sme pozorovali kladnú koreláciu anti-HCV s ALT miernej tesnosti v skupine 5 darcov krvi s potvrdenou HCV infekciou, výsledok však nedosiahol štatistickú významnosť.

## Záver

Elevácia ALT darcovskom súbore nebola patognomická pre hepatitídy B a C. Skrínigová schéma HCV v zložení anti-HCV + HCV RNA je viac cost-efektívna ako anti-HCV + ALT. Pri použití špecifického a bezpečnejšieho skrínigu HCV infekcie prostredníctvom anti-HCV + HCV RNA je parameter ALT obsolétny a mal by byť presunutý do ročnej preventívnej prehliadky darcov krvi u všeobecného lekára. K elevácii ALT by sa touto cestou pristupovalo ako k informácii o zdravotnom stave darcu, pričom so záverečným nálezom by sa hlásil na pracovisku NTS.

## Literatúra

1. Quaranta J, Reboulot B, Cassuto J. Hepatitídy. SOFA: Bratislava 1995. ISBN 8085752419.
2. Brecher ME (ed). AABB Technical Manual. 15<sup>th</sup> ed. American Association of Blood Banks: Bethesda, Md 2005. ISBN 9781563951961.
3. WHO. Screening Donated Blood for Transfusion-Transmissible Infections-Recommendations. World Health Organization: Geneva 2010. ISBN 978-9241547888.
4. Wedemeyer H, Pawlitsky JM, McHutchison J. Acute viral hepatitis. Chronic viral and autoimmune hepatitis. In: Goldman L, Schafer AI. Goldman's Cecil medicine. 24<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders: Philadelphia 2012: 966–978. ISBN 978-1437716047.
5. Národná transfúzna služba SR pracoviska Bratislava. Organizačná norma 21. Opatrenia na zabránenie prenosu infekcie krvou. Verzia číslo: 0, výtlačok číslo 5, platnosť od 2008.
6. Fábryová V, Cupaniková D, Grmanová L et al. Imunohematológia a transfúzna medicína pre prax. Grada Slovakia: Bratislava 2012. ISBN 978-80-247-4391-2.
7. Biceroglu SU, Turhan A, Doskaya AD et al. Probable hepatitis C virus transmission from a seronegative blood donor via cellular blood products. Blood Transfusion 2014; 12(Suppl 1): S69–S70.
8. Busch MP, Korelitz JJ, Kleinman SH et al. Declining value of alanine aminotransferase in screening of blood donors to prevent posttransfusion hepatitis B and C virus infection. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. Transfusion 1995; 35(11): 903–910.
9. Torezan-Filho MA, Alves VA, Neta CA et al. Clinical significance of elevated alanine aminotransferase in blood donors: a follow-up study. Liver Int 2004; 24(6): 575–581.
10. McCullough J. Transfusion Medicine. 3<sup>rd</sup> ed. Blackwell Publishing: Oxford 2011. ISBN 978-1-4443-3705-1.
11. Rossini A, Gazzola GB, Ravaggi A et al. Long-term follow-up of an infectivity in blood donors with hepatitis C antibodies and persistently normal alanine aminotransferase levels. Transfusion 1995; 35(2): 108–111.
12. Barna TK, Ozsvár Z, Szendrői V et al. Hepatitis C virus antibody in the serum of blood donors. Orv Hetil 1996; 137(10): 507–511.
13. Gonçalves Júnior FL, Stucchi RS, Papaioordanou PM et al. Elevated alanine aminotransferase (ALT) in blood donors: an assessment of the main associated conditions and its relationship to the development of hepatitis C. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1998; 40(4): 219–224.
14. Ščepkinová E, Svitek K. Príčina nešpecifickej (falošnej) reaktivity screeningového vyšetrenia protilátok proti core-antigénu vírusu hepatitídy B (anti-HBc). Interná medicína 2011; 11(Suppl): 26.
15. Ren FR, Wang JX, Huang Y et al. Hepatitis B virus nucleic acid testing in Chinese blood donors with normal and elevated alanine aminotransferase. Transfusion 2011; 51(12): 2588–2595.
16. Bamaga MS, Bokhari FF, Aboud AM et al. Nucleic acid amplification technology screening for hepatitis C virus and human immunodeficiency virus for blood donations. Saudi Med J 2006; 27(6): 781–787.
17. Roche Molecular Systems. Cobas AmpliScreen HCV Test, verzia 2.0. Roche: Indianapolis 2007. Dostupné z WWW: <<http://molecular.roche.com/assays/Pages/COBASAmpliScreenHCVTestv20.aspx>>.
18. FDA. Vaccines, Blood and Biologics. Dostupné z WWW: <<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/BloodDonorScreening/InfectiousDisease/ucm126581.htm>>. Citované 18.2.2015.
19. Papatheodoridis GV, Goulis J, Christodoulou D et al. High prevalence of elevated liver enzymes in blood donors: association with male gender and central adiposity. Eur J Gastroenterol Hepatol 2007; 19(4): 281–287.
20. Pourshams A, Malekzadeh R, Monavvari A et al. Prevalence and etiology of persistently elevated alanine aminotransferase levels in healthy Iranian blood donors. J Gastroenterol Hepatol 2005; 20(2): 229–233.
21. Alter MJ. Epidemiology of Hepatitis C. Hepatology 1997; 26: (3 Suppl 1): S62–S65.
22. Sláčíková M. Aktuálna problematika vírusovej hepatitídy typu A a typu B. Via pract 2006; 3(7–8): 351–355.
23. Romano L, Velati C, Cambié G et al. Hepatitis B virus infection among first-time blood donors in Italy: prevalence and correlates between serological pattern and occult infection. Blood Transfusion 2013; 11(2): 281–288.
24. Hennig H, Puchta I, Luhm J et al. Frequency and load of hepatitis B virus DNA in first-time blood donors with antibodies to hepatitis B core antigen. Blood 2002; 100(7): 2637–2641.
25. Hügecová D, Schréter I, Adamkovičová E et al. Hepatitis C Virus Infection and Blood Donors in Eastern Slovakia. XI. International Congress of Liver Diseases. Basel. Falk Symposium No 115 1999: 94 (abstract).
26. Kalibatas V, Kalibatiene L. The results of nucleic acid testing in remunerated and non-remunerated blood donors in Lithuania. Blood Transfusion 2014; 12(Suppl 1): S58–S62.
27. Kristian P, Mikas J, Schréter I. Epidemiológia hepatitídy C. Trendy v hepatológii 2010; 2(1): 12–17.
28. Gazdík K, Gazdík F, Kajaba I et al. Vývoj séroprevallencie hepatitídy C v rizikovej skupine drogov závislých jedincov v rokoch 2004–2008 na Slovensku. Vnitr Lék 2012; 58(3): 179–182.
29. Seo YS, Jung ES, Kim JH et al. Significance of Anti-HCV Signal-to-Cutoff Ratio in Predicting Hepatitis C Viremia. Korean J Intern Med 2009; 24(4): 302–308.
30. Rodella A, Galli C, Terlenghi L et al. Quantitative analysis of HBsAg, IgM anti-HBc and anti-HBc avidity in acute and chronic hepatitis B. J Clin Virol 2006; 37(3): 206–212.
31. Galli C, Orlandini E, Penzo L et al. What is the role of serology for the study of chronic hepatitis B virus infection in the age of molecular biology? J Med Virol 2008; 80(6): 974–979.
32. Behzad-Behbahani A, Mafi-Nejad A, Tabei SZ et al. Anti-HBc & HBV-DNA detection in blood donors negative for hepatitis B virus surface

antigen in reducing risk of transfusion associated HBV infection. Indian J Med Res 2006; 123(1): 37–42.

33. Nabuco LC, Villela-Nogueira CA, Perez RM et al. HBV-DNA levels in HBsAg-positive blood donors and its relationship with liver histology. J Clin Gastroenterol 2007; 41(2): 194–198.

34. Muñoz-Gómez R, García-Monzón C, García-Buey L et al. Hepatitis C virus infection in Spanish volunteer blood donors: HCV RNA analysis and liver disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 1996; 8(3): 273–277.

35. Ali N, Moiz B, Moatter T et al. Correlation of hepatitis C RNA and serum alanine aminotransferase in hepatitis B and C seronegative healthy blood donors. Indian J Pathol Microbiol 2010; 53(3): 480–485.

36. Balk M, Saydam G, Cengiz D et al. The Utility of anti-HCV S/CO Ratio, HCV-RNA and ALT Test in Predicting Viremia in anti-HCV Positive Patients. Turk J Biochem 2007; 32(2): 51–54.

37. Ščepkinová E, Gašparovič JJ. Eliminácia rizika prenosu vírusu hepatitídy B transfúziou vo fáze možnej okultnej HBV infekcie. Transfúze a hematologie dnes 2014; 20(2): 67–74.

**MUDr. Katarína Kusendová**

✉ kusendova.k@gmail.com

Národná transfúzna služba SR, Bratislava, Slovenská republika  
**www.ntssr.sk**

*Doručeno do redakce 17. 4. 2015*

*Přijato po recenzi 15. 8. 2015*