

# PREVALENCA PROTITELES ANTI-HTLV-I/II MED KRVODAJALCI V SLOVENIJI TER POMEN PRI PRESEJALNEM TESTIRANJU

## PREVALENCE OF ANTI-HTLV-I/II IN SLOVENIAN BLOOD DONORS AND THE IMPACT ON BLOOD SCREENING

Petra Jovanovič, Snežna Levičnik-Stežinar

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

---

### Izvleček

- Izhodišča** *Humana T-limfotropna virusa tipa I in II spadata med retroviruse. Večina ljudi, okuženih s HTLV-I/II so nosilci brez simptomov in imajo v krvi prisotna protitelesa vse življenje. Virus se lahko prenašata tudi s transfuzijo krvnih komponent. Eden od načinov za preprečitev prenosa okužbe z dajalca na prejemnika je presejalno testiranje odvzetih enot krvi in/ali celic, tkiv in organov. Izvajajo ga v deželah z visokim deležem prekuženosti in v nekaterih evropskih državah. Da bi ugotovili podatek o okužbah s HTLV-I/II v populaciji naših krvodajalcev, smo izvedli prevalenčno študijo in na podlagi pridobljenih rezultatov razmišljali o potrebi in smiselnosti uvedbe rutinskega presejalnega testiranja.*
- Metode** *Krvodajalce smo testirali sočasno z ostalimi presejalnimi testi tudi na prisotnost protiteles proti HTLV-I/II. Presejalno testiranje smo izvajali na napravi PRISM z reagenti Abbott PRISM HTLV-I/ HTLV-II Assay Kit. Vzorce, ki so bili po presejalnem testiranju odzivni, smo ponovno testirali v dvojniku z istim testom in nato še z drugim encimskim imunotestom Murex HTLV I+II (Abbott), nazadnje pa še s potrditvenim testom imunoblot INNO-LIA HTLV I/II Score (Innogenetics).*
- Rezultati** *Testirali smo 9398 vzorcev krvodajalcev in dobili 6 začetno reaktivnih vzorcev po presejalnem testiranju. Vsi začetno reaktivni vzorci so bili po testiranju z imunotestom Murex HTLV I+II nereaktivni. Po testiranju s testom imunoblot INNO-LIA HTLV I/II Score so bili rezultati za vseh 6 vzorcev negativni.*
- Zaključki** *V prevalenčni študiji ugotavljanja prisotnosti okužbe s HTLV-I/II med slovenskimi krvodajalci na vzorcu 9398 krvodajalcev nismo dobili potrjeno pozitivnih rezultatov. Rezultat je pričakovan in primerljiv z ostalimi evropskimi državami. V državah z nizko prevalenco, kot je Slovenija, je testiranje smotno le pri novih krvodajalcih, krvodajalcih iz endemičnih področij in/ali tistih krvodajalcih, ki so potovali v ta območja.*
- Ključne besede** *HTLV-I/II; presejalno testiranje; krvodajalec*

---

### Abstract

- Background** *Human T-lymphotropic viruses type I and II are retroviruses. People infected with HTLV-I/II are usually asymptomatic, lifelong antibodies carriers. Transfusion of blood components is one of the modes of virus transmissions. Thus, transmission can be prevented with screening of blood and/or cells, tissues, organs. Blood donor screening is performed in countries with high prevalence of HTLV-I/II and also in some European countries. The aim of our study was to determine the prevalence of HTLV-I/II infections in Slovenian blood donors screening and to make a decision about the implementation of blood donors screening.*

---

### Avtorica za dopisovanje / Corresponding author:

Petra Jovanovič, Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

---

Methods	<i>Collected blood donations were screened for anti-HTLV-I/II by modified ELISA (ChLIA) on the Prism testing system (Abbott). Initially reactive samples were additionally tested in duplicate and also with another enzyme immunoassay Murex HTLV I+II (Abbott). Confirmatory testing was performed with immunoblot test INNO-LIA HTLV I/II Score (Innogenetics).</i>
Results	<i>Out of 9398 screened units 6 samples were initially reactive. All 6 samples were non-reactive after testing with another enzyme immunoassay Murex HTLV I+II (Abbott) and negative in confirmatory testing with immunoblot test INNO-LIA HTLV I/II Score (Innogenetics).</i>
Conclusion	<i>In our prevalence study of HTLV-I/II infections in Slovenian blood donors population we got no confirmed positive result among 9398 blood donors. The yield is as expected and is similar to other European countries. In countries with a low HTLV-I/II infectious rate, such as Slovenia, only screening of new donors, donors from endemic areas and/or donors travelling to endemic areas is rational.</i>
<b>Key words</b>	<i>HTLV-I/II; screening; blood donor</i>

## Izhodišča

Humana T-limfotropna virusa tipa I in II (HTLV-I/HTLV-II) sta humana retrovirusa tipa C (družina *Retroviridae*, poddružina oncovirus) z ovojnico in dvojnovično RNA. Virusa napadeta T-limfocite CD4+ in CD8+. Ko virus vstopi v celico, z reverzno transkriptazo sintetizira molekule DNA, ki jih integrira v genom gostitelja. Tako nastali provirus se dalje namnožuje predvsem s klonsko ekspanzijo okuženih limfocitov. Genom virusa HTLV-I vsebuje 3 strukturne gene *gag*, *pol* in *env*, dva regulacijska gena *tax* in *rex* ter *LTRs* (long-terminal repeat sequences) regiji na obeh koncih. Genom virusa HTLV-II je v 60 % homologen, z genomom HTLV-I.<sup>1-3</sup>

Virusa se lahko prenašata s transfuzijo krvi in sicer predvsem s transfuzijo celičnih komponent krvi. Prenos virusov pa poteka še s spolnimi odnosi, z okuženimi iglami pri intravenskih uživalcih mamil in z matere na otroka preko materinega mleka, redkeje perinatalno.<sup>1-3</sup> Protitelesa se začno tvoriti v dveh mesecih po okužbi in so prisotna vse življenje. Sero-prevalenčne študije so pokazale, da prekuženost s HTLV-I narašča s starostjo in je bolj pogosta pri ženskah kot pri moških. Virus HTLV lahko povzroči različne bolezni (Razpr. 1). Obstaja 5 % verjetnosti za razvoj T-celične levkemije pri odraslih ali s HTLV-I povezane mielopatije (tropske spastične parapareze).<sup>1</sup> HTLV-I pa povezujejo tudi z infektivnim dermatitisom, uveitisom in nekaterimi drugimi boleznimi, ki se pojavljajo predvsem pri imunsko oslabljenih osebah.<sup>1-3</sup>

Virus HTLV-I je endemičen na Karibskem otočju, na jugozahodnem delu Japonske, v sub-saharski Afriki, Melaneziji in nekaterih predelih Irana, virus HTLV-II pa je prisoten predvsem med avtohtonimi prebivalci Srednje in Južne Amerike, pogosteje med intravenski uživalci drog v ZDA in Braziliji.<sup>1-3</sup>

Eden od načinov za preprečevanje prenosa okužbe z dajalca na prejemnika je presejalno testiranje odvzetih enot krvi in/ali celic, tkiv in organov. Presejalno testiranje krvodajalcev na virusa HTLV-I/II opravljajo v deželah z visokim deležem prekuženosti.

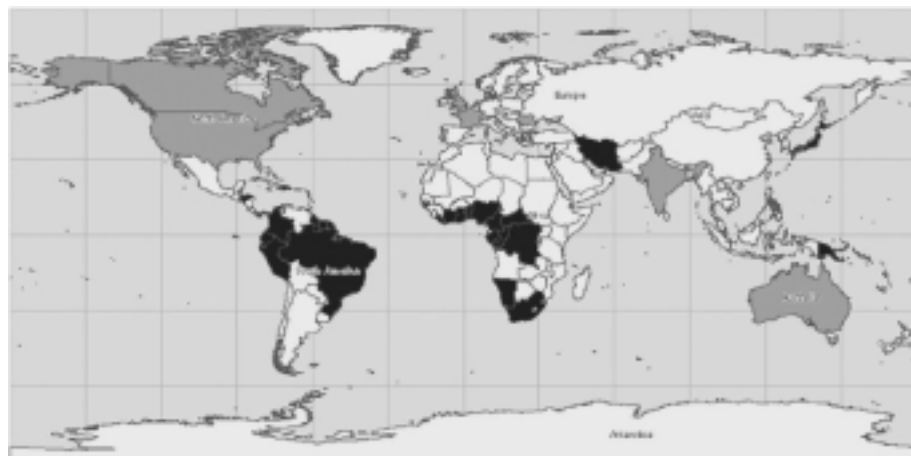
## Razpr. 1. Bolezni povezane z okužbo s HTLV-I.<sup>1</sup>

Table 1. Diseases related to the HTLV-I.<sup>1</sup>

Bolezen pri odraslih Diseases in elder	Povezanost Relation
T-celična levkemija odraslih T-cell leukemia in elder	++++
S HTLV-I povezana mielopatija/tropska spastična parapareza Myelopathy related to HTLV-I/tropical spastic paraparesis	++++
Uveitis (pogost na Japonskem) Uveitis (frequent in Japan)	++++
Infektivni dermatitis (redok) Infective dermatitis (rare)	+++
Poliomiozitis Polyomyositis	++
S HTLV-I povezan artritis Arthritis related to HTLV-I	++
Pulmonarni infiltrativni pneumonitis Pulmonar infiltrative pneumonitis	++
Sjögrenov sindrom Sjögren syndrome	+
Otroške bolezni Childhood diseases	
Infektivni dermatitis (pogost na Jamajki) Infective dermatitis (frequent in Jamaica)	++++
Tropska spastična parapareza/s HTLV-I povezana mielopatija (redko)/ Tropical spastic paraparesis myelopathy related to HTLV-I (rare)	++++
T-celična levkemija odraslih (zelo redko) T-cell leukemia in elder (very rare)	++++
Perzistentna limfadenopatija Persistent lymphadenopathy	+

++++ - dokazana povezava / proved relationship; +++ - verjetna povezava / probable relationship; ++ - manj verjetna povezava / less probable relationship; + - možna povezava / possible relationship

V državah z nizko prekuženostjo je zaradi majhnega izplesa testiranje nesmiselno in predrago. Kljub temu so v nekaterih evropskih državah uvedli presejalno testiranje krvodajalcev, bodisi rutinsko za vse odvzeme, večinoma pa le pri novih krvodajalcih, krvodajalcih iz endemičnih področij ali tistih krvodajalcih, ki so potovali v endemična področja. V Sloveniji glede na geografsko pozicijo pričakujemo izredno nizko, morda celo ničelno prevalenco okužb. Da bi pridobili podatek o okužbah s HTLV-I/II v populaciji na



- Za HTLV-I endemična območja - prevalenca med 1 in 5 %.  
For HTLV-I endemic areas - prevalence between 1 and 5 %.
- Države z nizko prevalenco (manj kot 1 %), večinoma zaradi migracij prebivalcev iz endemičnih območij.  
Countries with low prevalence (less than 1 %), mostly because of inhabitants' relocation from endemic areas.

Sl. 1. Geografski prikaz območij prevalence prekuženosti z virusom HTLV-I.<sup>1</sup>

Figure 1. Geographical view of the regions/areas with HTLV-I prevalence.<sup>1</sup>

ših krvodajalcev, smo izvedli prevalenčno študijo, da bi se na podlagi pridobljenih rezultatov lahko odločili o smiselnosti uvedbe rutinskega presejalnega testiranja.

## Metode

V obdobju od 7. 11. 2007 do 25. 1. 2008 smo testirali plazmo krvodajalcev na prisotnost protiteles proti virusoma HTLV-I/ HTLV-II. Testiranje smo izvajali na napravi PRISM z reagenti Abbott PRISM HTLV-I/HTLV-II Assay Kit. Gre za *in vitro* kemoluminiscentni test (ChLIA) za odkrivanje protiteles proti HTLV-I/HTLV-II v serumu ali plazmi. Test je namenjen presejalnemu testiranju krvodajalcev na HTLV-I/HTLV-II.

Priprava vzorcev: Kri krvodajalcev, odvzeto v epruvete z EDTA, smo pred testiranjem centrifugirali 15 minut na 3000 obratih.

Vzorci, ki so bili po presejalnem testiranju reaktivni, smo ponovno testirali v dvojniki z istim testom. Preostanek plazme smo shranili na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Reaktivne vzorce smo dodatno testirali z encimskim imunotestom Murex HTLV I+II (Abbott) v dvojniki in s potrditvenim imunoblot testom INNO-LIA HTLV I/II Score (Innogenetics) s 3 urno in 16 urno inkubacijo.

Podatke za statistično obdelavo smo pridobili iz informacijskih sistemov Prism Retest Server 3.0 (Abbott), iz katerega smo dobili podatke o rezultatih testiranja

za izbrano odvzeto enoto krvi in iz transfuzijskega informacijskega sistema DATEC, iz katerega smo dobili podatke o številki donacije, spolu, starosti dajalca in regiji iz katere izhaja krvodajalec.

## Rezultati

Testirali smo 9398 odvzetih enot krvi. Med testiranimi krvodajalci je bilo 30 % (2814) žensk. Testiranje je bilo opravljeno na enotah krvi, ki so bile odvzete na področju celotne države. Večji delež testiranih krvodajalcev izhaja iz Ljubljanske regije. Krvodajalci so osebe med 18. in 65. letom starosti.

Po presejalnem testiranju smo dobili 6 reaktivnih rezultatov. Potrditvena testiranja niso ugotovila prisotnosti protiteles anti-HTLV-I/II v nobenem od začetno reaktivnih vzorcev.

## Razpravljanje

Transfuzija je v preteklosti vključevala resno tveganje za prenos virusa HTLV-I v endemičnih območjih. Presejalno testiranje krvodajalcev v teh deželah je v veliki meri pripomoglo k preprečitvi širjenja okužbe.<sup>4,5</sup> Presejalno testiranje opravljajo tudi v ZDA in nekaterih evropskih državah (Razpr. 3). V večini slednjih opravljajo presejalno testiranje le na ciljnih skupinah, kot so novi krvodajalci, priseljenci iz endemičnih de-

Razpr. 2. Rezultati testiranja začetno reaktivnih vzorcev.

Table 2. The results of initially reactive samples.

Št. krvi No. of blood samples	Abbott PRISM (ChLIA) S/CO	Ponovitev testiranja Abbott PRISM (ChLIA) Abbott PRISM (ChLIA) repeated testing		Murex HTLV I + II (Abbott)		INNO-LIA HTLV I/II Score (Innogenetics)	
		I (S/CO)	II (S/CO)	I (S/CO)	II (S/CO)	3-urna inkubacija 3-hour incubation	16-urna inkubacija 16-hour incubation
1536672	1,77 +	1,51 +	1,49 +	0,20 -	0,22 -	±	neg
1557841	6,74 +	6,72 +	6,32 +	0,22 -	0,26 -	±	neg
1542061	1,45 +	1,26 +	1,40 +	0,18 -	0,29 -	±	neg
1518445	1,19 +	1,05 +	1,06 +	0,19 -	0,25 -	+	neg
1578934	1,14 +	0,09 -	1,06 +	0,21 -	0,25 -	±	neg
1543046	1,08 +	1,15 +	1,25 +	0,25 -	0,38 -	-	neg

## Razpr. 3. Prikaz prevalence okužb s HTLV-I/II pri krvodajalcih in izvajanje presejalnega testiranja v posameznih državah.

Table 3. Prevalence study of HTLV-I/II infections in blood donors and screening test procedures by individual countries.

Države/regije	Prevalenca HTLV-I/II na 100.000 donorjev	Izvajanje presejalnega testiranja krvodajalcev	Vir
Countries/regions	HTLV-I/II prevalence/100,000 donors	Screening test procedures in blood donors	Source
Anglija & Wales / England & Wales	0,9–5,1	od l. 2002 / from 2002	<sup>10</sup> S. Dougan et al., 2005
Škotska / Scotland	0,16–2,63	od l. 2002 / from 2002	<sup>11</sup> F. Davidson et al., 2006
Nizozemska / Holland	2	od l. 1991 / from 1991	<sup>12</sup> H. L. Zaaijer et al., 1994
Norveška / Norway	3	od l. 1991 / from 1991	<sup>13</sup> H. Stigum et al., 2000
Švedska / Sweden	2	od l. 1994 oz. l. 1995 / from y. 1994 and y. 1995 (samo novi krvodajalci / only new blood donors)	<sup>14</sup> E. Tynell et al., 1998
Danska / Denmark	2	od l. 1994 oz. 1996 / from y. 1994 and y. 1996 (novi krvodajalci in popotniki / new blood donors and travellers)	<sup>15</sup> C. Bohn-Christansen, 1995
Francija / France	5,6	od l. 1991 / from 1991	<sup>16</sup> J. Pillonel et al., 2005
Grčija / Greece	5,6	-	<sup>17</sup> P. M. Tseliou et al., 2003
Avstralija / Australia	0,3	od l. 1993 / from 1993	<sup>18</sup> M. N. Polizzotto et al., 2008
ZDA / USA	1–32,2	od l. 1988 / from 1988	<sup>19</sup> R. Y. Dodd et al., 2002
Brazilijska / Brasilia	346–560	od l. 1993 / from 1993	<sup>20</sup> B. Catalan-Soares et al., 2004
Japonska / Japan	1–1000	od l. 1986 / from 1986	<sup>1</sup> F. A. Proietti et al., 2005
Kitajska / China	13	-	<sup>21</sup> Y. Wang et al., 2005

žel ter osebe, ki so prišle iz endemičnih območij. Delež seropozitivnih krvodajalcev v Evropi sega od 0 do 0,005 %.

Med slovenskimi krvodajalci na vzorcu 9398 krvodajalcev nismo ugotovili okužbe. Rezultat je pričakovan in primerljiv z ostalimi evropskimi državami. Na virus HTLV-I/II pozitivni krvodajalci v evropskih državah so predvsem osebe, ki prihajajo iz endemičnih območij, imajo partnerje iz teh območij ali so potovali v endemične kraje.

Retrospektivne študije so pokazale, da se virus HTLV-I/II prenaša s transfuzijo celičnih komponent krvi, ne pa s plazmo. Verjetnost, da se bo prejemnik okužil s transfudiano krvjo, pozitivno na HTLV, je od 12,8 % do 44 %.<sup>6–8</sup> Poleg tega možnost prenosa virusa omejujejo tudi s časom hranjenja komponent krvi pred transfuzijo. Če se hranijo komponente krvi dlje, se manjša možnost prenosa virusa. Raziskave so pokazale, da pri komponentah krvi, ki so bile hranjene več kot 10 dni<sup>8</sup> oziroma več kot 14 dni,<sup>7</sup> ni prišlo do prenosa virusa. Podatki kažejo, da so za prenos virusa HTLV s transfuzijo potrebni viabilni T-limfociti, ki pa z izgubo sposobnosti aktiviranja ali proliferacije postanejo nekužni. S filtri za odstranjevanje levkocitov se zmanjša število levkocitov v posamezni donaciji za 3 log<sub>10</sub> do 4 log<sub>10</sub>, s tem pa se odstrani tudi virus. Vendar pa je pri virusnem bremenu večjem od 10<sup>8</sup> kopij/L odstranitvev pri filtraciji nepopolna.<sup>9</sup> Zgolj odstranjevanje levkocitov tako ne zagotavlja popolne zaščite pred prenosom HTLV s transfuzijo, zmanjša pa tveganje za prenos virusov HTLV-I/II v inficiranih enotah krvi, ki niso bile izločene s presejalnim testiranjem.

## Zaključki

Strokovnjaki, ki se ukvarjajo s preskrbo s krvjo, morajo zagotoviti varnost in učinkovitost krvi kot zdravila.

Izziv je, kako najti ustrezno ravnovesje med vedno bolj zahtevnimi izločitvenimi merili in testiranji ter vedno večjimi potrebami po krvi in njenih sestavinah ter vedno večjimi stroški. Eden od načinov za prilaganje stroškov in tveganje je racionalizacija presejalnega testiranja. To naj se izvaja le v področjih, kjer je delež prekuženega prebivalstva (in s tem tudi krvodajalcev) kritičen in zato tveganje za prenos bolezni dovolj veliko. Konsenza o kritični mejni vrednosti sicer še ni. Podatek o prekuženosti prebivalstva (in krvodajalcev) pa pridobimo le s prevalenčnimi študijami. V Sloveniji smo opravili raziskavo na približno 10 % populacije krvodajalcev in glede na to, da med njimi nismo odkrili nobenega primera okužbe s HTLV-I/II, menimo, da ne dosegamo kritične vrednosti za tveganje prenosa okužbe s krvjo. Presejalno testiranje bi bilo nesmiselno, saj stroški ne bi opravičili takoimenovanega skoraj »ničelnega tveganja«. Odrpna pa obstaja možnost uvedbe ciljanega presejalnega testiranja za krvodajalce z dejavniki tveganja za okužbo s HTLV-I/II.

## Literatura

- Proietti FA, Carneiro-Proietti ABF, Catalan-Soares BC, Murphy EL. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene* 2005; 24: 6058–68.
- Manns A, Hisada M, Grenade LL. Human T-lymphotropic virus type I infection. *Lancet* 1999; 353: 1951–8.
- Hollberg P, Hafler DA. Pathogenesis of diseases induced by human lymphotropic virus type I infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 1173–82.
- Inaba S, Okochi K, Sato H, Fukada K, Kinukawa N, Nakata H, et al. Efficacy of donor screening for HTLV-I and the natural history of transfusion-transmitted infection. *Transfusion* 1999; 39: 1104–10.
- Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The retrovirus epidemiology donor study. *N Engl J Med* 1996; 334: 1685–90.

6. Sullivan MT, Williams AE, Fang CT, Grandinetti T, Poesz BJ, Ehrlich GD. Transmission of human T-lymphotropic virus types I and II by blood transfusion. A retrospective study of recipients of blood components (1983 through 1988). The American Red Cross HTLV-I/II Collaborative Study Group. *Arch Intern Med* 1991; 151: 2043-8.
7. Kleinman S, Swansin P, Allain JP, Lee H. Transfusion transmission of human T-lymphotropic virus types I and II: serologic and polymerase chain reaction results in recipients identified through look-back investigations. *Transfusion* 1993; 33: 14-8.
8. Donegan E, Lee H, Operskalski EA, Shaw GM, Kleinman SH, Busch MP, et al. Transfusion transmission of retroviruses: human T-lymphotropic virus types I and II compared with human immunodeficiency virus type 1. *Transfusion* 1994; 34: 478-83.
9. Pennington J, et al. Persistence of HTLV-I in blood components after leukocyte depletion. *Blood* 2002; 100: 677-81.
10. Dougan S, Smith A, Tosswill J, Davison K, Zuckerman M, Taylor G. New diagnoses of HTLV infection in England and Wales: 2002-2004. *Euro Surveill* 2005; 10: 232-5.
11. Davidson F, Lycett C, Jarvis LM, Kerr D, Lumley S, Petrik J, et al. Detection of HTLV-I and HTLV-II in Scottish blood donor samples and archive donations. *Vox Sanguinis* 2006; 91: 231-6.
12. Zaaijer HL, Cuypers HT, Dudok de Wit C, Lelie PN. Results of 1-year screening of donors in The Netherlands for human T-lymphotropic virus (HTLV) type I: significance of Western blot patterns for confirmation of HTLV infection. *Transfusion* 1994; 34: 877-80.
13. Stigum H, Magnus P, Samdal HH, Nord E. Human T-cell lymphotropic virus testing of blood donors in Norway: a cost-effect model. *Internati J Epidemiol* 2000; 29: 1076-84.
14. Tynell E, Andersson S, Lithander E, Arneborn M, Blomberg J, Hansson HB, et al. Screening for human T cell leukaemia/lymphoma virus among blood donors in Sweden: cost effectiveness analysis. *BMJ* 1998; 316: 1417-22.
15. Bohn-Christansen C. Experience with one year of blood donor screening for HTLV-I/II in Denmark. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995; 10: 251.
16. Pillonel J, Le Marrec N, Girault A, David D, Laperche S. Epidemiological surveillance of blood donors and residual risk of blood-borne infections in France, 2001 to 2003. *Transfus Clin Biol* 2005; 12: 239-46.
17. Tseliou PM, Spanakis N, Spiliotakara A, Politis C, Legakis NJ, Tsakiris A. HTLV-I and -II in southwestern Greece. *Transfusion* 2003; 43: 1641-2.
18. Polizzotto MN, Wood EM, Ingham H, Keller. Australian Red Cross Blood Service Donor and Product Safety Team. Reducing the risk of transfusion-transmissible viral infection through blood donor selection: the Australian experience 2000 through 2006. *Transfusion* 2008; 48: 55-63.
19. Dodd RY, Notari IV EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 2002; 42: 975-9.
20. Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB de F, Proietti FA. Interdisciplinary HTLV Research Group. Heterogenous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad Saude Publica* 2005; 21: 926-31.
21. Wang Y, et al. Prevalence and partial sequence analysis of human T cell lymphotropic virus type I in China. *Journal of Medical Virology* 2005; 76: 613-8.