

Piotr Grabarczyk, Ewa Brojer, Jerzy Windyga\*, Stanisław Łopaciuk\*,  
Anna Klukowska\*\*, Maria Mikulska

## MARKERY ZAKAŻENIA WIRUSAMI GBV-C/HGV I TTV U CHORYCH NA HEMOFILIĘ ORAZ U DAWCÓW KRWI W POLSCE

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie  
Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej

Kierownik: Ewa Brojer

\*Zakład Hemostazy i Zakrzepic

Kierownik: Jerzy Windyga

\*\* Dziecięcy Szpital Kliniczny w Warszawie, Oddział Hematologii

Kierownik: Michał Matysiak

*Wirusy TTV i GBV-C/HGV zostały odkryte w ostatnich latach ubiegłego stulecia u chorych z zapaleniem wątroby o niewyjaśnionej etiologii. W obecnej pracy przedstawiono wyniki badania markerów molekularnych (DNA TTV i RNA GBV-C/HGV) oraz serologicznych (anty-E2 GBV-C/HGV) zakażenia tymi wirusami u polskich dawców krwi oraz u chorych na hemofilię.*

*Słowa kluczowe: GBV-C/HGV, TTV, dawcy krwi, chorzy na hemofilię*

*Key words: GBV-C/HGV, TTV, blood donors, haemophilia patients*

### WSTĘP

W drugiej połowie lat 90-tych zeszłego stulecia odkryto dwa nowe wirusy – GBV-C/HGV i TTV, zaliczone odpowiednio do rodziny *Flaviviridae* oraz *Circoviridae*. Wzbudziły one duże zainteresowanie, ponieważ zostały pierwotnie zidentyfikowane u chorych z zapaleniem wątroby o nieznannej etiologii. Ich nazwy, *GB virus typ C* oraz *TT virus*, zostały utworzone od inicjałów chorych, u których zostały po raz pierwszy wykryte. W przypadku pierwszego wirusa nazwa jest rozszerzona o skrót HGV (od *hepatitis G virus*) (wciąż jeszcze stosowany w piśmiennictwie), nadany przez zespół badaczy, którzy wkrótce po odkrywcach, opisali wariant wirusa. Nazwa ta sugeruje jego związek z zapaleniem wątroby, co nie zostało dotychczas udowodnione. Zatem samodzielne stosowanie nazwy może mylnie sugerować patogenność wirusa (1-3). Badania na ten temat są jednak ciągle podejmowane, także w Polsce (4). Zwraca się szczególną uwagę na wysoki stopień polimorfizmu wirusa TTV i możliwy udział niektórych jego genotypów w patologii wątro-

by (5). Innym zagadnieniem podejmowanym przez badaczy jest ryzyko przeniesienia tych wirusów przez krew, a zwłaszcza ich podatność na procedury inaktywacji cząstek zakaźnych, jakie stosuje się w czasie produkcji preparatów krwiopochodnych, m.in. koncentratów czynników krzepnięcia, wykorzystywanych w leczeniu krwawień u chorych na hemofilię (6).

Hamowanie krwawień u chorych na hemofilię polega na uzupełnianiu czyli substytucji brakującego czynnika krzepnięcia, odpowiednio VIII w hemofilii A i IX w hemofilii B, poprzez dożylny wstrzyknięcie tego czynnika, wytworzonego z osocza dawców krwi. Stosowane obecnie koncentraty są poddawane różnorodnym procedurom inaktywacji wirusów przenoszonych przez krew (ogrzewanie, ultrafiltracja, metoda solvent/detergent itd.). Jednakże do początku lat 90-tych ubiegłego wieku zdecydowana większość chorych na hemofilię w Polsce otrzymywała wyłącznie osocze świeżo mrożone (FFP) i/lub krioprecypitat – preparaty niepoddawane procedurom inaktywacji cząstek zakaźnych.

Celem naszych badań była analiza wykrywalności wirusów GBV-C/HGV i TTV przy pomocy różnych metod u dawców krwi i u chorych na hemofilię, leczonych wyłącznie preparatami inaktywowanymi i takich, którzy w przeszłości byli leczeni preparatami niepoddawanymi procedurom inaktywacji. Występowanie GBV-C/HGV oceniono poprzez badania RNA wirusa i przeciwciał anti-GBV-C/HGV. W badaniach TTV, prowadzonych metodą PCR, położono nacisk na ocenę wpływu zastosowanych primerów na skuteczność wykrywania tego wirusa.

## MATERIAŁ

D a w c y. Badania wykonywano w próbkach surowicy pobieranych od dawców w latach 1998-2000. Zakażenie TTV zbadano u 200 dawców wielokrotnych w wieku 19-60 lat, zaś GBV-C/HGV u innych 219 dawców krwi (średnia wieku – 37,3; mediana 39 lat). U żadnego nie wykryto antygenu HBs, przeciwciał anti-HCV i anti-HIV, ani nie stwierdzono większej aktywności AIAT.

Chorzy na hemofilię. Badaniami objęto 122 chorych na ciężką postać hemofilii (aktywność VIII/IX poniżej 1% normy): 93 z hemofilią A i 29 z hemofilią B, średni wiek 32,6 roku; mediana 31,5 roku. Do połowy lat 90-tych leczenie substytucyjne chorych na hemofilię A opierało się na stosowaniu krioprecypitatu i osocza świeżo mrożonego, które nie były poddawane inaktywacji wirusów. Od 1990 roku wprowadzano stopniowo do leczenia inaktywowane koncentraty czynników krzepnięcia. Od 1995 r. chorzy na hemofilię A otrzymują wyłącznie liofilizowane koncentraty czynnika VIII, poddawane procedurom inaktywacji wirusów z zastosowaniem organicznego rozpuszczalnika i detergentu (S/D) lub ogrzewania. Do 1985 r. chorzy na hemofilię B byli leczeni wyłącznie świeżo mrożonym osoczem. Od tego roku FFP zaczęto zastępować liofilizowanym koncentratem czynnika IX krajowej produkcji (Biomed, Warszawa), który był poddawany pasteryzacji. Od 1990 część chorych na hemofilię B otrzymuje także inne koncentraty czynnika IX (inaktywowane metodą S/D, poddawane pasteryzacji i nanofiltracji).

Oddzielną grupę stanowiło 20 dzieci chorych na hemofilię A i B, leczonych wyłącznie koncentratami czynników krzepnięcia, inaktywowanymi metodą S/D oraz przez pasteryzację.

Wszyscy chorzy na hemofilię byli HIV negatywni.

## METODY

RNA GBV-C/HGV wykrywano metodą RT-PCR (polimerazową reakcją łańcuchową poprzedzoną odwrotną transkrypcją) z zastosowaniem primerów do konserwatywnego fragmentu genomu wirusa kodującego białko helikazy NS3 (7). Odwrotnej transkrypcji poddawano całość RNA wyizolowanego z 250  $\mu$ l surowicy metodą *Chomczyńskiego* i wsp. (8).

Przeciwciała anty-GBV-C/HGV skierowane do białka E2 wykrywano testem immunoenzymatycznym HGV CHOe2 EIA (dar firmy Ortho Diagnostics).

DNA TTV badano metodą PCR z zastosowaniem primerów do dwóch regionów wirusa: kodującego ORF1 (9) i niekodującego NC (10). Do amplifikacji brano 10  $\mu$ l DNA wyizolowanego z 200  $\mu$ l osocza zestawem QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany, objętość elucji 50  $\mu$ l).

Istotność statystyczną wyników oceniano testem chi kwadrat z odpowiednimi poprawkami, uwzględniającymi liczebność porównywanych prób. Analizę wykonywano w programie Excel.

## WYNIKI

Wyniki badania markerów zakażenia wirusa TTV u chorych na hemofilię i u dawców przedstawiono w tabeli I. We wszystkich grupach badanych DNA TTV wykrywano istotnie statystycznie częściej ( $p < 0.001$ ) z użyciem primerów do NC niż do ORF1. U wszystkich osób, u których otrzymano dodatnie wyniki badania primerami do ORF1, DNA TTV wykryto także primerami do NC. DNA TTV primerami do obszaru NC wykryto u wszystkich dorosłych chorych na hemofilię i u 94,7% chorych dzieci. Częstość tego wirusa u dawców wynosiła 78% i była statystycznie istotnie niższa niż u dorosłych chorych na hemofilię. Różnica częstości między dawcami a dziećmi chorymi na hemofilię, leczonymi wyłącznie koncentratami czynników krzepnięcia inaktywowanymi wirusologicznie, nie była istotna statystycznie.

Tabela I. Wykrywanie markerów zakażenia TTV u dawców krwi oraz u chorych na hemofilię  
Table I. Detection of TTV infection markers in blood donors and in haemophilia patients

Markery zakażenia			Częstość DNA TTV	
			Primerami do	
			ORF1	NC
			(1)	(2)
Chorzy na hemofilię	dorośli	(A)	43,5%	100%
	dzieci	(B)	15%	94,7%
Dawcy krwi		(C)	10%	78%

chi-kwadrat z poprawką Yatesa C1 vs C2  $\chi^2=187,04$ ;  $p < 0,001$ ; A1 vs A2  $\chi^2$  z poprawką Yates'a =85,19;  $p < 0,001$ ; B1 vs B2 dokładny test Fishera  $\chi^2=23,95$ ;  $p < 0,001$ ; A2 vs C2  $\chi^2$  z poprawką Yates'a=26,08;  $p < 0,001$ ); B2 vs c2  $\chi^2$  z poprawką Yates'a=1,96;  $p=0,1619$

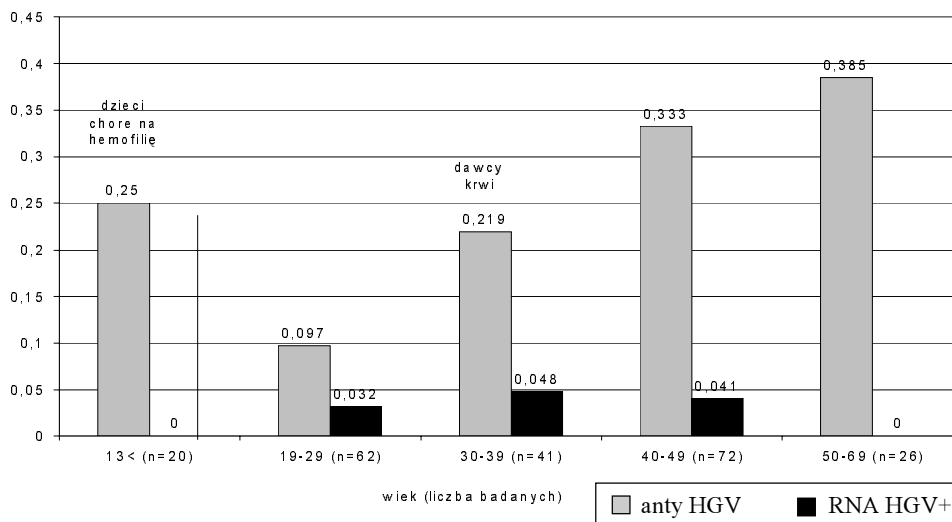
Tabela II. Wykrywanie markerów zakażenia GBV-C/HGV u dawców krwi oraz u chorych na hemofilię

Table II. Detection of TTV infection markers in blood donors and in haemophilia patients

Markery zakażenia			Częstość	
			GBV-C/HGV	
			RNA	Anty-E2
			(1)	(2)
Chorzy na hemofilię	dorośli	(A)	23,7%	37%
	dzieci	(B)	0%	25%
Dawcy krwi		(C)	3,7%	23,6%

test chi-kwadrat z poprawką Yatesa dla B1 vs C1  $\chi^2=0,01$ ;  $p=0,9054$ ; B2 vs C2  $\chi^2=0,04$ ;  $p=0,8472$ ); A1 vs C1:  $\chi^2=29,42$ ;  $p<0,001$ ; A2 vs C2  $\chi^2=5,82$ ;  $p=0,0159$ ); chi-kwadrat z poprawką Yatesa: A1 vs B1  $\chi^2=3,89$ ;  $p=0,0486$ ; A2 vs B2  $\chi^2=0,66$ ;  $p=0,4155$

Wyniki badania markerów zakażenia GBV-C/HGV (anty-E2 oraz RNA GBV-C/HGV) w grupie chorych na hemofilię i u dawców przedstawiono w tabeli II. RNA wirusa wykryto u 23,7% dorosłych chorych na hemofilię leczonych w przeszłości nieinaktywowanymi koncentratami. Częstość ta była statystycznie istotnie wyższa od częstości RNA wśród daw-



Różnice między grupami wiekowymi dawców: częstość anty-E2 HGVBV-C  $\chi^2=16,268$ ;  $p<0,001$ ; RNA HGVBV-C  $\chi^2=1,2823$ ;  $p>0,7$ . Dzieci chore na hemofilię vs najmłodszy dawcy anty-HGV/HGV-C – chi-kwadrat z poprawką Yatesa –  $\chi^2=1,88$ ;  $p=0,1704$

Ryc. 1. Częstość wykrywania markerów infekcji GBV-C/HGV w grupach wiekowych dawców krwi oraz u dzieci chorych na hemofilię

Fig. 1. The frequency of GBV-C/HGV infection markers in age groups of blood donors and in children with haemophilia

ców (3,7%) i dzieci chorych na hemofilię, wśród których nie wykazano obecności wirusa. Częstość wykrywania przeciwciał w badanych grupach nie różniła się statystycznie i wynosiła 23,6-37% (istotne różnice tylko między dawcami a dorosłymi chorymi). U wszystkich dawców i większości chorych na hemofilię, u których obecne były przeciwciała anti-E2, nie wykryto materiału genetycznego wirusa. Jedynie w surowicy 5 dorosłych chorych na hemofilię stwierdzono obecność obu markerów jednocześnie.

Na rycinie 1 przedstawiono częstość wykrywania RNA GBV-C/HGV i przeciwciał anti-E2 GBV-C/HGV w grupach wiekowych dawców krwi. Częstość wykrywania przeciwciał rosła od 9,7% w grupie wiekowej 19-29 lat do 38,5% wśród dawców powyżej 50 lat ( $pH > 0,05$ ). Odsetek osób, u których wykrywano RNA, nie różnił się istotnie między różnymi grupami wieku. U dzieci leczonych wyłącznie inaktywowanymi czynnikami krzepnięcia częstość wykrywania anti-E2 była większa niż u najmłodszych dawców krwi (19-29 lat) (25% vs 9,7%), jednak różnice te nie były istotne statystycznie.

### DYSKUSJA

Przedstawione wyniki potwierdzają istnienie związku leczenia krwią i preparatami krwio pochodnymi ze zwiększonym ryzykiem zakażenia wirusami GBV-C/HGV oraz TTV, bowiem częstość markerów zakażenia tymi wirusami jest większa u dorosłych chorych na hemofilię niż u dawców. Zarówno częstość przeciwciał do antygeny E2, jak i RNA GBV-C/HGV u dorosłych chorych na hemofilię w Polsce jest większa niż wśród chorych w Europie Zachodniej (9-18%) (11-14), a podobna jak w Japonii (do 20,9%) (15). Analogiczne obserwacje dotyczą HCV (16). Można to wiązać z faktem, że do leczenia chorych na hemofilię w Polsce i w Japonii później niż w krajach Europy Zachodniej wprowadzono do powszechnego użytku koncentraty inaktywowane (1985 r. vs 1995 r.).

Uzyskane przez nas wyniki wskazują na skuteczność obecnie stosowanych metod inaktywacji. U dzieci leczonych wyłącznie preparatami inaktywowanymi nie wykrywa się RNA GBV-C/HGV. Uważa się, że podobnie jak w przypadku HCV, w temperaturze 60°C następuje częściowa inaktywacja wirusa, zaś całkowita w trakcie inaktywacji typu „solvent – detergent” (11,12). W obniżeniu infekcyjności mogą mieć znaczenie przeciwciała neutralizujące. Nieinaktywowane preparaty IVIG, w których wykrywano zarówno RNA GBV-C/HGV, jak i anti-E2, nie przenosiły zakażenia GBV-C/HGV, choć mogły przenosić zakażenie HCV, mimo obecności przeciwciał anti-HCV (17-19).

W naszych badaniach przeciwciała anti-E2, wykryto u 1/4 dzieci chorych na hemofilię, a więc podobnie jak u dorosłych dawców krwi. Nie wiemy, czy wobec braku wykrywania RNA wirusa, wysoka częstość przeciwciał odzwierciedla wysoką częstość zakażeń tym wirusem w przeszłości, czy wynika jedynie z immunizacji cząsteczkami/antygenem wirusowym przenoszonym przez skutecznie inaktywowane preparaty antyhemofilowe, które nie są już zdolne do wywołania aktywnego procesu zakaźnego.

Podobnie jak w badaniach innych autorów, w obecnych badaniach DNA TTV (20-22) wykrywano częściej przy pomocy primerów do regionu NC niż ORF1. Te różnice w wykrywalności DNA TTV tłumaczy się różnym stopniem polimorfizmu regionów genomu wirusa, do których skierowane są stosowane primery. Obszar niekodujący genomu jest najbardziej konserwatywny. Fragment ORF1 jest znacząco polimorficzny (20,21,23).

Dotychczasowe badania TTV u chorych na hemofilię wykonywano z użyciem prime-

rów do ORF1. Ich wyniki podobnie jak wyniki naszych badań wykazywały brak lub niewielki wpływ obecnie stosowanych metod inaktywacji wirusów na infekcyjność TTV. Być może jest to związane z brakiem otoczki, podobnie jak w przypadku wirusa B19.

Wydaje się, że powszechność występowania GBV-C/HGV i TTV wśród osób zdrowych (np. dawców), którą potwierdzają również nasze badania, przemawia za brakiem ich patogenności. Ostatnie doniesienia wskazują jednak, że zakażenie nimi może mieć znaczenie kliniczne. Między innymi, obecnie uważa się, że zakażenie wirusem GBV-C/HGV moduluje przebieg zakażenia HIV (24). Wciąż wymaga wyjaśnienia znaczenie polimorfizmu wirusa TTV (5,23). Istotne różnice w czułości różnych primerów utrudniają jego wykrywanie, co powoduje, że ciągle jeszcze niewiele wiemy o znaczeniu klinicznym TTV.

### WNIOSKI

1. U polskich dawców krwi wykryto markery zakażenia wirusami GBV-C/HGV i TTV: u 3,2% RNA GBV-C/HGV, u 23,7% przeciwciała anti-E2, zaś DNA TTV stwierdzono u 78% z nich.

2. Chorzy na hemofilię w Polsce w przeszłości należeli do grupy zwiększonego ryzyka zakażenia GBV-C/HGV i TTV; wprowadzenie procedur inaktywacji wirusów w trakcie produkcji koncentratów czynników krzepnięcia znacznie ograniczyło ryzyko przeniesienia GBV-C/HGV, w mniejszym zaś stopniu TTV.

*P Grabarczyk, E Brojer, J Windyga, S Łopaciuk, A Klukowska, M Mikulska*

### GBV-C/HGV AND TTV INFECTION MARKERS IN POLISH BLOOD DONORS AND HAEMOPHILIA PATIENTS

#### SUMMARY

Viruses GBV-C/HGV and TTV were identified in patients with hepatitis of unknown etiology. **Aim** of our study was to assess the frequency of infection markers of these viruses in blood donors and haemophilia patients treated with virucidally activated and non inactivated blood products. **Material and methods.** TTV DNA (by PCR using primers to coding ORF1 and non-coding region NC) and GBV-C/HGV (RNA by RT-PCR and anti-E2 by EIA) were tested in blood donors (200 for TTV and 219 for GBV-C/HGV), 122 haemophilia patients treated in the past with non inactivated blood products and in 20 haemophilia children treated exclusively with inactivated clotting preparations.

**Results** RNA GBV-C/HGV were identified in 3,2%; 23,7% and in 0%, respectively blood donors, adult and children haemophilia patients. Antibody anti-E2 were found in 23,6%; 37% i 25% of studied groups respectively. DNA TTV was detected most frequently by NC than ORF1 primers: in 78% vs. 10% of blood donors, 100% vs 43,5% of adult haemophilia patients and in 95% vs. 15% young haemophiliacs.

**Conclusions** Haemophilia patients were at risk of GBV-C/HGV and TTV infection. Following implementation of viral inactivation methods in the process of clotting factor concentrates production, the risk for GBV-C/HGV transmission was significantly reduced and in less extant for TTV.

## PIŚMIENNICTWO

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Bioch Bioph Res Commun* 1997; 241:92-97.
2. Linnen J, Wages Jr. J, Zhang-Keck Z-Y, i in. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science* 1996; 271: 505-508.
3. Simons JN, Pilot-Matias TJ, Leary TP, Dawson GJ, Desai SM, Schlauder GG, Muerhoff AS, Erker JC, Buijk SL, Chalmers ML Van Sant CL, Mushahwar IK. Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *PNAS* 1995; 92: 3401-05.
4. Tomasiewicz K, Modrzewski R, Lyczak A, Polz-Dacewicz M, Rajtar B. TT wirus (TTV) – etiologic agent of acute hepatitis? *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska* 2004;59(2)539-42.
5. Biagini P, Gallian P, Cantaloube JF, Attoui H, de Micco P, de Lamballerie X. Distribution and genetic analysis of TTV and TTMV major phylogenetic groups in French blood donors. *J Med Virol* 2006; 78 (2): 298-304.
6. Kupfer B, Ruf T, Matz B, Nattermann J, Spengler U, Rockstroh JK, Brackmann HH, Blumel J, Tracke M, Kaiser R. Comparison of GB virus C, HIV, and HCV infection markers in hemophiliacs exposed to non-inactivated or inactivated factor concentrates. *J Clin Virol* 2005; 34(1):42-47.
7. Yoshida M, Okamoto H, Mishiro S. Detection of the GBV-C hepatitis virus genom in serum from patients with fulminant hepatitis of unknown aetiology. *Lancet* 1995; 346: 1131-1132.
8. Chomczyński P, Sacchi N. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162:156-159.
9. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Ukita M, Ikeda H, Iizuka H, Miyakawa Y, Mayumi M. Molecular cloning and characterisation of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepato Res* 1998; 10: 1-16.
10. Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Marked genomic heterogeneity and frequent mixed infection of TT virus demonstrated by PCR with primers from coding and non coding regions. *Virology* 1999; 259: 428-436
11. Jarvis LM, Davidson F, Hanley JP, Yap PL, Ludlam CA, Simmonds P. Infection with hepatitis G virus among recipients of plasma products. *Lancet* 1996; 348: 1352-1355.
12. De Filippi F, Colombo M, Rumi MG, Tradati F, Prati D, Zanella A, Mannucci PM. High rates of hepatitis G virus infection in multitransfused patients with hemophilia. *Blood* 1997; 90: 4634-4637.
13. Mauser-Bunschoten EP, Damen M, Zaaier HL, Sjerps M, Roosendaal G, Lelie PN, Cuypers TM, van den Berg HM. Hepatitis G virus RNA and hepatitis G virus-E2 antibodies in Dutch hemophilia patients in relation to transfusion history. *Blood* 1998; 92: 2164-2168.
14. Uhle C, Zimmermann R, Goeser T, Seelig R. Virus inactivation and prevalence of GBV-C in haemophiliacs. *Br J Haematol* 1997; 99: 837-838.
15. Toyoda H, Fukuda Y, Hayakawa T, Takamatsu J, Saito H, Okamoto H. GB Virus C/Hepatitis G virus isolates in Japanese haemophiliacs and their origin. *Thromb Haemost* 1998; 80: 242-5.
16. Brojer E, Grabarczyk P, Medyńska J, Mikulska K, Stefańska E, Szczepanik A, Windyga J. Analiza częstości markerów zakażenia i polimorfizmu wirusa HCV u chorych na ciężką hemofilię w Polsce. *Acta Haematol Pol* 2005; 36, Supl 2: 82.
17. Berger A, Doer HW, Scharrer I, Weber B. Follow-up of four HIV-infected individuals after administration of hepatitis C virus and GBV-C/hepatitis G virus contaminated intravenous immunoglobulin: evidence for HCV but not for GBV-C/HGV transmission. *J Med Virol* 1997; 53: 25-30.
18. Farshid M, Mitchell F, Biswas R, Ndimbie OK, Ding M. Prevalence of hepatitis G virus in hepatitis C virus (HCV) – infected patients and in HCV-contaminated intravenous immunoglobulin products. *J Viral Hepat* 1997; 4: 415-419.

19. Nübling CM, Gröner A, Löwer J. GB virus C/hepatitis G virus and intravenous immunoglobulins. *Vox Sang* 1998; 75: 189-192.
20. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, Yoshida N, Mishiro S. Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population in Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepato Res* 1998; 12: 233-239.
21. Abe K, Inami T, Asano K, Miyoshi C, Masaki N, Hayashi S, Ishikawa K-I, Takebe Y, Win KM, El-Zayadi AR, Han K-H, Zhang DY. TT virus infection is widespread in general populations from different geographic region. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2703-2705.
22. Simmonds P, Prescott LE, Logue C, Davidson F, Thomas AE, Ludlam CA. TT virus-part of the normal human flora? *J Infect Dis* 1999; 180: 1748-1749.
23. Grabarczyk P, Brojer E. The polymorphism of TT virus and frequency of detection with different primers in blood donors in Poland. *Vox Sang* 2002; 82: 177-181.
24. Xiang J, George SL, Wunschmann S, Chang Q, Klinzman D, Stapleton JT. Inhibition of HIV-1 replication by GB virus C infection through increases in RANRES, MIP-1alpha, MIP-1beta, and SDF-1. *Lancet* 2004; 363 (9426): 2040-2046.

Otrzymano: 04.05.2006 r.

**Adres autora:**

Dr Piotr Grabarczyk  
Pracownia Biologii Molekularnej  
Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii  
ul. Chocimska 5, Warszawa 00-957,  
e-mail: [pit@ihit.waw.pl](mailto:pit@ihit.waw.pl)  
tel. (0-22)849 36 51 wew 144