УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“- ШТИП

Факултет за медицински науки – Висока здравствена школа
Втор циклус на студии
Специјалистички студии – Специјализација за трансфузионист

Виктор Вереса

ДЕТЕКЦИЈА НА ТРАНСФУЗИСКИ ТРАНСМИСИВНИ ЗАБОЛУВАЊА ВО ИЗМИНАТИТЕ ДЕСЕТ ГОДИНИ ВО РЕГИОНАЛНИОТ ЦЕНТАР ЗА ТРАНСФУЗИОНА МЕДИЦИНА ВО ШТИП

СПЕЦИЈАЛИСТИЧКИ ТРУД

Штип, април 2012 год.

УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“- ШТИП

Факултет за медицински науки – Висока здравствена школа
Втор циклус на студии
Специјалистички студии – Специјализација за трансфузионист

Виктор Вереса

ДЕТЕКЦИЈА НА ТРАНСФУЗИСКИ ТРАНСМИСИВНИ ЗАБОЛУВАЊА ВО ИЗМИНАТИТЕ ДЕСЕТ ГОДИНИ ВО РЕГИОНАЛНИОТ ЦЕНТАР ЗА ТРАНСФУЗИОНА МЕДИЦИНА ВО ШТИП

СПЕЦИЈАЛИСТИЧКИ ТРУД

Штип, април 2012 год.

Комисија за оцена и одбрана

Ментор:	**проф. д-р Никола Камчев** **Факултет за медицински науки** **Висока здравствена школа**
Претседател:	**проф. д-р Никола Силјановски**
Член:	**проф. д-р Никола Камчев**
Член:	**виш предавач д-р Невенка Величкова**

Датум на одбрана:

БЛАГОДАРНОСТ

Чувствувам потреба искрено да му се заблагодарам на безрезервната поддршка на мојот ментор проф. д-р Никола Камчев, кој со својот професионализам и човечка големина ме водеше и ми помагаше во изработката на овој труд.

Благодарност им изразувам на сите оние кои на свој начин несебично дадоа свој придонес за да се создаде овој специјалистички труд.

Голема благодарност и на моето семејство, кое ме поддржуваше во изработката, а воедно и со голема позитивност ме следеше, ме храбреше и веруваше во моите успеси и амбиции.

Верувам дека овој труд ќе се најде меѓу големите трудови во научната област и ќе биде добар пример и поттик повеќе на идните генерации, зашто зад секој успешен труд стои успешен ментор.

Ви благодарам!

Наслов

Детекција на трансфузиски трансмисивни заболувања во изминатите десет години во Регионалниот центар за трансфузиона медицина во Штип

Апстракт

Обезбедувањето на сигурна трансфузија на крв и крвни деривати е од посебно значење за современата медицина, имајќи предвид дека одредени инфекции во организмот се пренесуваат токму преку крвта, нејзините клеточни концентрати и плазма компоненти. Од таа причина, утврдувањето на сигурна регулатива за начинот на земање на крв и нејзина контрола е важен императив и мотив за изработката на овој специјалистички труд.

Со сеопфатна статистичка анализа успеавме да ги детектираме најчестите инфекции што потенцијално можат да бидат пренесени на друг организам. Целосното елаборирање на резултатите од овој труд ја покажува процентуалната застапеност на HBsAg (1,32%), анти-HCV (0,45%), анти-HIV (0,003%) и Treponema pallidum (0,10%) кај крводарителската популација на досега утврдените трансфузиски трансмисивни заболувања, вулнерабилните групи на крводарители (возраст, пол, склоност кон одредени инфекции), степенот и ефикасноста на серолошката дијагностика применувана во Регионалниот центар за трансфузиона медицина во Штип во изминатите десет години и начинот на превентива и дополнителна едукација на населението за ширењето на трансфузиските трансмисивни заболувања.

Овие резултати (претходно нотирани) укажуваат на потребата од постојана серолошка дијагностика и задолжителното тестирање на секоја крвна единица со ELISA тестови со висока сензитивност и специфичност, како и преземање на соодветни превентивни мерки, со што би се намалиле последиците од поголем број на трансфузиски трансмисивни заболувања.

Клучни зборови: *трансфузија, крв, крводарители, детекција, сензитивност, специфичност.*

Title

Detection of transfusion transmissible diseases in the past 10 years in the Regional Center for transfusion medicine in Shtip

Abstract

Providing safe blood transfusion and blood derivates is of unique importance in contemporary medicine, taking into account that certain infections in the body are transmissible through the blood, its cell concentrates and plasma components. That is the reason why ascertainment of safe regulation for the way of taking the blood and its control is an important imperative and motive for preparation of this specialist's work.

With all-embracing statistical analysis we succeeded to detect the most often infections which potentially can be transmitted to another body. The entire elaboration of the results of this work shows the percentage presence of HBsAg (1,32%), anti-HCV (0,45%), anti-HIV (0,003%) and Treponema pallidum (0,10%) at blood donor population of the determined transfusion transmissible diseases so far, vulnerable groups of blood donors (age, sex, predisposition to certain infections), the degree and efficiency of serological diagnostics applied in Regional Center for transfusion medicine in Shtip in the past ten years and the way of prevention and additional education of people for spreading of transfusion transmissible diseases.

These results (previously noted) indicate the needs of continuous serological diagnosis and obligatory testing of every blood unit with ELISA tests with high sensitivity and specificity, as well as undertaking of appropriate preventive measures with which the consequences of higher number of transfusion transmissible diseases will be reduced.

Key words: *transfusion, blood, blood donors, detection, sensitivity, specificity.*

Крводарување

Да се биде хуман и непристрастен во денешни услови не е лесно. Во секој случај, изборот е наш, а патот по кој чекориме е тежок и трнлив.

Доброволното дарување на крв претставува израз на високи етички, хуманитарни, морални и патриотски вредности, но истовремено и граѓанска должност и обврска на секој човек. Човечката крв е лек кој единствено може да се обезбеди со дарување. Да се дарува крв и да се спаси животот на болниот и повредениот кого не го познаваме и кого веројатно никогаш нема да го запознаеме, е најубавото и најблагородно дело кое може да го исполни човекот.

Слика 1. Доброволни дарители на крв
Figure 1. Voluntarily blood donors

Смислата на нашиот живот треба да ја бараме не само во чинот на земањето, туку уште повеќе во чинот на давањето. Овој највисок чин на алтруизам и хуманост подразбира и чувство на општествена солидарност, а воедно и голема човечка особина која се

*нарекува **љубов**. Човекот ништо не подарува толку тешко како крв, затоа крвта е многу повеќе од симбол, таа е **живот**.*

Благодарение на изградената свест, хуманост и солидарност на многу наши сограѓани – крводарители, спасени се многу човечки животи.

„ЖИВОТОТ НИ ГО ВРАЌА САМО ТОА ШТО
ИМ ГО ДАВАМЕ НА ДРУГИТЕ”
Иво Андриќ

Содржина (Contents)

1. Вовед (Introduction) 9
   1.1. Хепатит Б тип 12
      1.1.1. Трансфузиска трансмисија 15
      1.1.2. Превенција 16
   1.2. Хепатит Ц тип 17
      1.2.1. Трансфузиска трансмисија 19
      1.2.2. Превенција 20
   1.3. Сида 21
      1.3.1. Трансфузиска трансмисија 24
      1.3.2. Серолошка детекција на HIV антитела 27
      1.3.3. Превенција 29
   1.4. Сифилис 30
      1.4.1. Трансфузиска трансмисија 32
      1.4.2. Превенција 33
2. Цел на специјалистичкиот труд (Purpose of the specialized labor) 34
3. Материјал и методи на работа (Materials and methods of work) 35
4. Резултати (Results) ………………………………………………….. 39
5. Дискусија (Discussion) 49
6. Заклучок (Conclusion) 61
7. Користена литература (References and used literature) ………. 62
8. Додаток (Accessories) …………………………………………….. 63

1. Вовед (Introduction)

Обезбедувањето на сигурна крв и крвни компоненти, како неопходен дел од современата терапија во сите гранки на медицината е проблем со кој се соочува службата за трансфузиологија. Трансфузијата на крв претставува трансплантација на течно ткиво или внесување на хуман-биолошки материјал, кој во организмот на примателот треба да преживее и да одигра битни биолошки функции. Поради зголемените потреби и индикации за трансфузија на крв, клеточни концентрати и плазма компоненти и поради можноста за пренесување на се поголем број трансфузиски трансмисивни заболувања, се зголемија и потребите од обезбедување на сигурна трансфузија на крв.

Сигурна крв е онаа крв која не содржи вируси, паразити, бактерии, ниту лекови, алкохол, хемиски и други супстанции кои можат да предизвикаат болест, опасност или повреди кај примателот.

Секоја година над 80 милиони крвни единици се собираат ширум светот, но само 20-30% од здравствените системи во светот обезбедуваат сигурна крв во доволни количини. Во светот околу тринаесет милиони крвни единици годишно не се тестираат на ХИВ (HIV) и хепатит Б и Ц (hepatitis B и C). Ова се случува во земјите во развој, околу 5% од ХИВ инфекциите се должат на трансфузија на ХИВ контаминирана крв. ХИВ инфекцијата добиена преку трансфузија на крв во скоро 100% од случаите има летален крај во текот на првата година.

Денес ризикот од добивање на трансмисивни болести преку трансфузија на крв и крвни компоненти драстично е редуциран благодарение на:

- построгата селекција на дарителите на крв, со исклучување на платените и со надомест дарители, како и на фамилијарните (кои се 10 пати поризични);
- со воведување на посензитивни методи за тестирање на крвта;
- со употреба на постапки за вирусна инактивација на агенсите во плазмата и крвните продукти.

Особено технолошкиот развој на медицинската опрема заедно со подобрување на скрининг техниките за детекција на маркери за инфективни болести значително го намалија ризикот од посттрансфузиски хепатити и ретровирусни инфекции. За жал, со нивна примена се уште не можат да се откријат сите дарители кои се инфективни во моментот на дарување на крв, тоа е во таканаречениот *„window” (прозорец) период* – период меѓу инфекцијата и сероконверзијата, кога може да се пропуштат инфицираните крвни примероци т.е. да се регистрираат како негативни и истите да се трансфундираат на примателите. За време на тој период, скрининг тестовите покажуваат отсуство на антигени и/или антитела. Неговото времетраење зависи од имунолошката реактивност на домаќинот и од видот на употребениот тест. Доколку е тестот поосетлив, поголема е неговата способност за скратување на периодот на прозорец.

Вирусите кои се пренесуваат со трансфузија на крв се делат на две групи:

- Вируси сврзани со плазмата - hepatitis B и делта агенс, hepatitis non-A, non–B од кои еден е hepatitis C, ретко и други вируси на хепатит, серумски parvovirusi B 19, HIV-1 и HIV-2 (последните можат да се пренесат и преку клетки);
- Вируси сврзани со клетките: Cytomegalovirus (CMV), Epstein – Baar вирус (EBV), HTLV-1 (Human T cell leukemia virus), HTLV-2 и HIV 1/2.

Денес покрај вирусните, во трансфузиски трансмисивни инфекции ги вбројуваме и: бактериски (сифилис) и паразитарни (маларија, шагасова болест - Chagas, Babesiosis, Leishmania tropica и Toxoplasma gondi).

Во Република Македонија секоја крвна единица задолжително се тестира за присуство на маркери за следниве трансфузиски – трансмисивни болести: хепатит тип Б - HBsAg, СИДА анти – HIV1/2, хепатит тип Ц анти-HCV и сифилис – TPHA.

Во трансфузиолошките и микробиолошките лаборатории, универзално се присутни два вида тестови: имуноензимски **ELISA** – Enzime Linked Imunosorbent Assay и **PCR** – Polymerase Chain Reaction.

Со ELISA техниките се откриваат некои од индикаторите на вирусната инфекција антигени или антитела и се базира на реакцијата антиген - антитело, а резултатот се одредува врз основа на промена на бојата на хромоген супстрат со присуство на ензим. „Window” периодот за трансфузиски-трансмисивните вируси кои рутински се испитуваат изнесува: за ХИВ – 22 дена до 3 месеци, хепатит Б – 4 до 10 недели и хепатит Ц – 56 дена.

PCR техниките се наменети за генетско испитување на ДНК (DNA)/ РНК (RNA) на вирусите и претставува голем дијагностички напредок. „Window” периодот базиран на NAT (Nukleid Acid Amplification Testing) методата изнесува: за ХИВ – 12 дена, хепатит Б – 6 до 15 дена и хепатит Ц – 10 дена.

Видот на тестовите и обемот на испитување зависат од специфичните потреби на секоја земја, односно од степенот на зафатеност на населението со некоја инфекција и од проценката на односот cost/benefit, кој е во директна врска со материјалните можности на земјата.

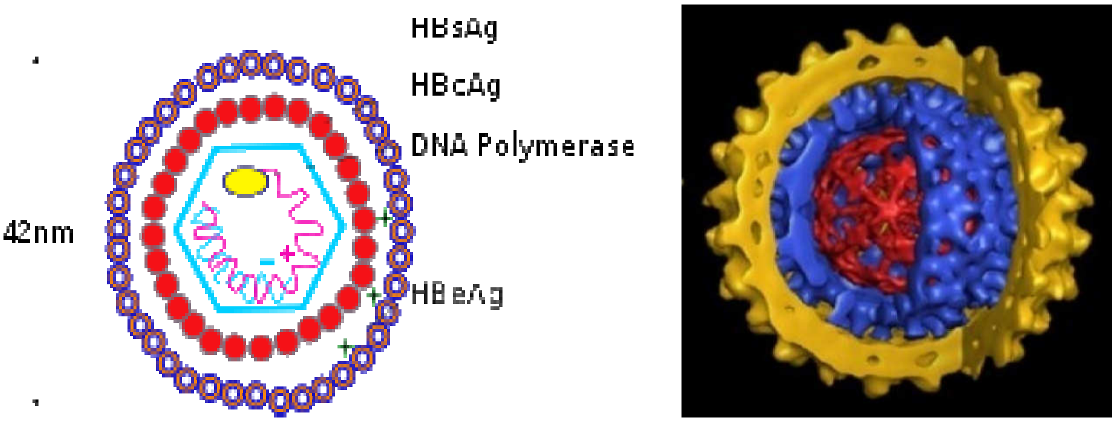
Во некои земји, зависно од расположливите средства и епидемиолошката состојба, крвта се тестира и на: антитело на хепатит Б (hepatitis B) core антиген, антитело на хуман Т – клеточен лимфотропен вирус (anti HTLV 1/2), NAT за HCV, HIV и вирусот на западен Нил (West Nile Virus) и ELISA тестот за антитела на Tripanosoma cruzi (шагасова болест - Chagas).

Институтот за трансфузиона медицина е одговорен за ефикасна и континуирана снабденост со крв, клеточни концентрати и плазма продукти во нашата држава, а наредните години таа треба да ја фокусира својата активност на подигнување на нивото на сигурност и воведување на систем за квалитет.

За постигнување на висок степен на сигурност на трансфундираната крв и крвни продукти потребни се: опременост на трансфузиолошките служби со современа апаратура, користење на високоспецифични и сензитивни тестови, добро обучени здравствени работници кои ќе работат со оваа проблематика и доволно финансиски средства наменети исклучиво за таа цел.

1.1. Хепатит тип Б (Hepatitis B type)

Хуманиот хепатит Б вирус (HBV) е релативно мал ДНК (DNA) вирус, кој припаѓа на фамилијата *Hepanda-viridae,* кои се со нагласено хепатотропно дејство. Инфицираните хепатоцити континуирано продуцираат вирус-специфични партикули, кои се акумулираат во крвта и можат да бидат неинфективни (без нуклеински киселини во себе) и инфективни честички (кои содржат ДНК/ DNA) и се нарекуваат Данеови партикли (со дијаметар 42-47 nm). Вирусот има надворешна обвивка и внатрешен капсид (јадро) кој содржи вирусна ДНК/ DNA. Главната компонента на обвивката е протеин означен како површински (surface) антиген на HBV или HbsAg (првобитно наречен „Австралија антиген”, откриен кај домородното население во Австралија). Тој содржи липидна компонента и три полипептиди, но не и ДНК/ DNA, што значи дека таа е неинфективна компонента на HBV. Под електронски микроскоп е видлив како честичка со големина од 22 nm во форма на топче.



Слика 2. Структура на вирус хепатит Б
Figure 2. Structure of Hepatitis B virus

Овој површински антиген има бројни антигенски „варијанти” меѓу кои најчесто е антигенот „а” (присутен е во структурата на сите честички на HBsAg). Другите два пара антигени „d, y и w, r” подлежат на мутации кои на крајот резултираат со создавање на поттипови: “adw, adr, ayw, и ayr”. Одредувањето на овие поттипови има епидемиолошко значење бидејќи HBsAg е добар имуноген, а не е инфективен. Тој има големо значење за испитување на доброволните дарители и други категории на населението (трудници, здравствени работници, наркомани, хомосексуалци) за евентуално носителство на HBV и за изработка на вакцина против хепатит тип Б.

Нуклеокапсидот се состои од протеинско јадро во кое се наоѓа т.н. *core antigen*, означен како HBcAg. Тој содржи ДНК/ DNA и соодветна DNA полимераза. HBcAg прв го докажал Almeida со соработниците, при лизирање на варионот со детергенти. HBcAg може да се детектира во јадрото, а понекогаш и во цитоплазмата на хепатоцитите со помош на IEM.

Третиот антиген е солубилен и означен како HBeAg и истиот се смета дека е продукт на катализа (цепење) на HBcAg. Неговото присуство во серумот укажува на фазата на активна репликација на вирусот, т.е. на висока инфективност на тоа лице.

Секој од овие споменати антигени може да доведе до создавање на соодветни антитела означени како анти-HBs, анти-HBc и анти-HBe, кои можат да се докажуваат во серумот на HBV носител. Антителата кон HBcAg припаѓаат кон имуноглобулините тип M и G (анти-HBc IgG и анти-HBc IgM). Делови на геномот на HBV кои слободно циркулираат се HBV DNA и DNA полимераза.

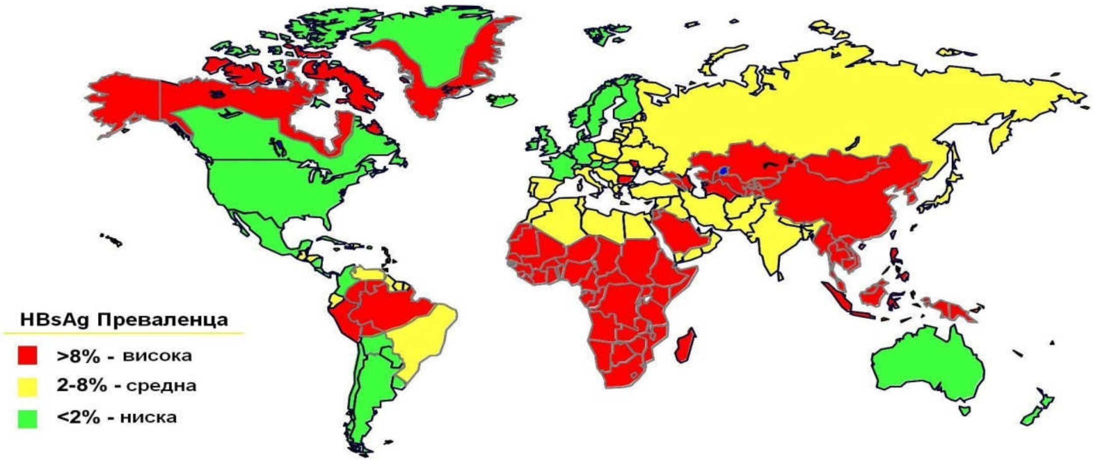
Сите споменати антигени и антитела се користат за откривање, дијагностицирање и следење на текот на HBV инфекцијата, како маркери кои ја идентификуваат оваа инфекција. Серумот кој содржи HBV DNA, DNA полимераза и HBeAg упатува на репликација на хепатит Б вирусот во домаќинот и инфективност на лицето кон околината. Серум кој содржи HBsAg не мора да содржи и комплетни вириони на HBV и тогаш тој е

неинфективен. Присуството на HBsAg во серумот е сигурен доказ за контакт со HBV.

HBV останува инфективен во серум на температура од 30 до 32°C до шест месеци, или 15 години ако истиот серум се замрзне на -20°C. Инфективноста на серумот во најголем дел се губи потполно на температура од 60°C во текот на четири часа, но со сигурност престанува на температура од 98°C по дваесет минути и со сува стерилизација на 160°C по еден час.

Вирусниот хепатит Б е едно од најраспространетите заболувања. Околу 360 милиони луѓе во светот се носители на HBV, а повеќе од еден милион годишно умираат од хепатит Б поради хепатална инсуфициенција (фулминантен хепатит, декомпензирана хепатална цироза или од карцином на црниот дроб).

Постојат зони со висока преваленција на HBV инфекција, земји во Азија, Африка, Јужна и Средна Америка, каде што до 20% од популацијата се хронично HBV инфицирани, земјите од средоземјето, некои делови од поранешниот СССР имаат средно-висока преваленција до 7%, а ниска преваленција до 1% имаат голем број земји во САД, Канада и некои земји од северозападна Европа.



Слика 3. ХБВ преваленца во светот
Figure 3. HBV prevalence in the world

Според соопштенијата на Институтот за трансфузиона медицина - Скопје, Оддел за трансмисивни заболувања, преваленцијата на HBsAg кај крводарителската популација во Република Македонија изнесува 1,3%, а во источниот дел на Република Македонија, според наши испитувања - 1,32%.

1.1.1. **Трансфузиска трансмисија (Transfusion transmission)**

Парентералниот начин на ширење на HBV инфекцијата преку крв и крвни деривати пред десетина години е еден од најважните патишта на ширење на инфекцијата и претставува сериозна посттрансфузиска компликација. Голема улога притоа играат асимптоматските хронични носители на HBsAg, како и болните во инкубација пред да се појават детектибилните маркери. Ризикот од пренесување на HBV инфекцијата е најголем при аплицирање на: целокупна крв, концентрирани фактори на коагулација, антитромбин III, фибронектин, алфа-1 антитрипсин, C1 инактиватор и др. Околу 2-10% од болните со хемофилија се HBsAg позитивни. Најмало можно количество плазма кое може да предизвика HBV инфекција изнесува 10^{-9}ml. Вирусот преживува и останува инфективен барем еден месец во крв чувана на собна температура или во фрижидер. Вирусот го нема во продукти третирани со топлина и хемикалии (натриум хипохлорид), како што е плазма протеинска фракција и топлински третиран албумин.

Посттрансфузискиот хепатит тип Б се уште претставува сериозен трансфузиолошки и здравствено-социјален проблем. Во Република Македонија нема официјални податоци за инциденцијата на посттрансфузискиот хепатит тип Б. Инциденцијата на посттрансфузиска појава на HBsAg кај болни од источниот дел на Република Македонија, хоспитализирани и лекувани во Клиничката болница во Штип, кои примиле HBsAg негативна целокупна крв, еритроцитни концентрати во адитивен раствор и свежа изогрупна плазма, изнесува 0,32%.

Најголема опасност за крвната безбедност се: неуспехот од тестирањето на крвниот примерок, крвна донација добиена во „window”

период (серолошки прозорец период за HBV е од 25 до 60 дена), недостаток на финансиски средства, давање крв за итни случаи во моменти кога не се располага со контролирана крв. Во вакви случаи потребно е да се трансфундира крв добиена од редовен, повеќекратен доброволен крводарител.

Ризикот од добивање PTH-B е линеарно пропорционален со бројот на трансфундираните крвни единици. Кај примателите на две трансфундирани HBsAg негативни крвни дози ризик од PTH-B постои кај 2,5%, кај приматели на пет дози околу 3%, а 6% кај приматели на повеќе од 15 крвни дози.

Голем ризик од добивање PTH-B носат крвни производи добиени од повеќе дарители. Особено, концентрирани препарати на F-VIII, F-IX, фибриноген и други коагулациски фактори, кои се добиват од плазма собрана од повеќе од 1.000 дарители, кај кои не се спроведува адекватна инактивација на присутните вируси.

Среден ризик носат препарати произведени од еден дарител. Такви се еритроцитните, тромбоцитните и леукоцитните концентрати, свежа изогрупна плазма и криопреципитатот.

Албуминот, гамаглобулинот и концентрираните фактори на коагулација кои подлежат на вирусна инактивација не ги пренесуваат вирусите на хепатит.

1.1.2. **Превенција (Prevention)**

За спречување на HBV инфекција се применуваат општи и специјални мерки. Во општите мерки се спроведува заштита од контакт со крв, плунка, пот и др. екскрети, употреба на стерилни инструменти, борба против наркоманија, заштита на членовите на фамилиите каде што има болни и носители на HBV, соодветна лична хигиена, употреба на заштитна облека и ракавици.

Специфична профилакса се спроведува со специфична вакцина која содржи HBsAg добиена со генетски инже183ринг или рекомбинантна

техника. Од пред неколку години, во нашата држава вакцината против хепатит тип Б се воведе во Националната програма за имунизација.

Постекспозиционалната имунопрофилакса се спроведува кај новороденi од HBsAg позитивна мајка со: серум (HBIG) и вакцина.

Селекција на доброволни дарители на крв и тестирање на секоја крвна единица за присуство на HBsAg.

Тераписка примена само на контролирана и HBsAg негативна целокупна крв, клеточни концентрати и плазма продукти.

1.2. Хепатит тип Ц (Hepatitis C type)

Во почетокот на седумдесеттите години беше воведено рутинско тестирање на даруваната крв, клеточни концентрати и плазма компоненти за присуство на HBsAg со специфични имунолошки методи. Набрзо беше утврдено дека се појавуваат голем број на посттрансфузиски хепатити кои се HBsAg негативни. Стана јасно дека постојат и други причинители кои предизвикуваат појава на посттрансфузиски хепатити.

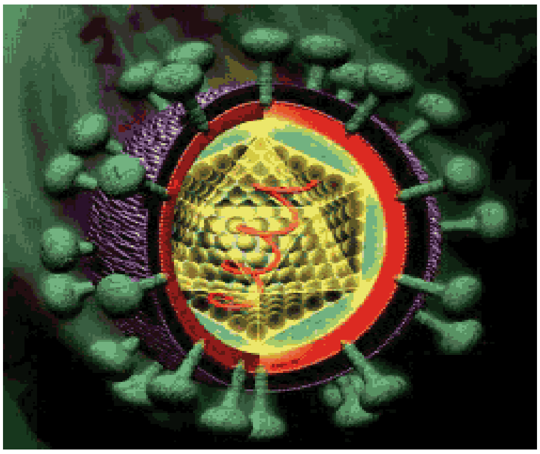
По воведувањето на рутинска употреба на осетливи тестови за откривање на хепатит А и хепатит Б во 1975 година, беше утврдено дека 90% од посттрансфузиските хепатити не се предизвикани ниту од хепатит А вирус, ниту од хепатит Б вирус, туку од посебен вирус наречен non-A, non-B.

Во 1978 година успешно беше пренесен хепатит non-A, non-B од болни со акутен и хроничен хепатит non-A, non-B на шимпанзо, со што се докажа постоење и на трет тип вирусен хепатит, а истовремено се создадоа услови за понатамошни испитувања.

Со генетски инженеринг е идентификуван и размножен дел од геномот на вирусот на посттрансфузискиот non-A, non-B hepatitis – HCV што овозможи серолошка дијагноза на хепатит Ц вирусната инфекција.

Хепатит Ц вирусот најпрво беше откриен и опишан во 1987 година, а во 1990 година се воведени и тестови за серолошко тестирање за присуство на HCV антитела кај крводарители и болни. Но, сепак,

останува еден дел од non-A, non-B хепатитите со непозната етиологија, како причина за мал број на посттрансфузиски хепатити и спорадична non-A, non-B инфекција.



Слика 4. Структура на вирус хепатит Ц
Figure 4. Structure of Hepatitis C virus

HCV е RNA вирус, од 30-60 nm во дијаметар, со липидна обвивка и ниска вирусна концентрација во серумот, помала од 10 RNA копии/м. Детектибилното количество на RNA изнесува од 102 до 103 копии. Геномот на HCV има 9.400 нуклеотиди кои кодираат прекурсор на HCV полипротеинот, кој има 3.000 или 3.011 аминокиселини. HCV полипротеинот има голем број антигенски детерминанти, епитопи, од кои некои се употребуваат како маркери на HCV инфекцијата. Припаѓа на фамилија флавовируси. Осетлив е на хлороформ и формалин, а температура од 60°C го убива за 10 часа.

Геномот на HCV може да се расчленува на: структурален дел, кодирајќи ги сите протеини што ја сочинуваат вирусната структура (јадро, обвивка) и неструктурален дел (N.S.), кодирајќи ги сите други протеини што се врзани со вирусот. Има и т.н. неразјаснета област (“untransladet region”, UTR) на петтиот крај на геномот што е високо зачувана. Во структуралниот дел има три протеини: gp33, gp70 и C22-3 (core или нуклеокапсиден протеин), а во неструктуралниот регион се идентификувани следниве протеини: c100-3, c33-c, c200 и 5-1-1. Генотипизацијата е важна за утврдување на тежината на црнодробното

заболување, како и утврдување на терапискиот ефект кај болни лекувани со интерферон.

1.2.1. Трансфузиска трансмисија (Transfusion transmission)

HCV се пренесува преку трансфузија на крв, клеточни концентрати и плазма компоненти. Повеќе од 1% од крвните единици можат да го содржат вирусот хепатит Ц. Помалку се ризични поединечните дози од целокупната крв, деплазмирани и измиени еритроцити, изогрупна свежа плазма, концентрати на тромбоцити и гранулоцити. Поризични се факторите на коагулација, универзална плазма и други препарати кои се подготвени од крв на голем број крводарители. Поради можноста за термичка обработка, главно се безбедни албумините и гамаглобулините. Сепак, со давање на големи дози на гамаглобулини кај агамаглобулинемични пациенти, интравенозно е пренесена вирусна Ц инфекција. Feri опишал висока преваленција на HCV антитела кај група болни третирани со криоглобулин. Инциденцијата на HCV инфекцијата кај овие болни изнесува 91%.

Платените крводарители носат 3,3 пати повисок ризик од појава на посттрансфузиски хепатит во споредба со доброволните дарители на крв. Елиминацијата на платените крводарители од секојдневната практика ја намалува инциденцијата од појава на трансфузиски асоциран хепатит, а ја зголемува сигурната трансфузија на целокупна крв, клеточни концентрати и плазма компоненти. Кај плазмата и нејзините деривати потребно е отстранување на вирусите со вирусна инактивација: пастеризација, биолошка, физичка и хемиска инактивација.

Дијагнозата на HCV инфекцијата се поставува врз основа на клиничката слика и лабораториски испитувања: биохемиски, серолошки, хистолошки и имунохистолошки.

Биохемиски испитувања: следење на серумските трансиминази (ALT, AST), алкална фосфатаза, GGT, билирубин и други.

Серолошки методи: скрининг тестови (RIA, EIA, ELISA HCV антитела тестови 1, 2, 3, генерација), конфирмативни тестови за HCV антитела, докажување на HCV RNA со PCR.

Хистолошка дијагноза (црнодробна биопсија)

Имунохистолошка дијагноза: докажување на HCV антиген во хепатоцитите, *in situ* детекција на HCV RNA, *in situ* хибридизација.

1.2.2. Превенција (Prevention)

Поради високата преваленција на HCV антитела кај крводарителите во нашата држава се наметнува потреба од задолжително тестирање на секоја крвна единица за присуство на HCV антитела, што денес е со закон утврдено и се очекува рапидно да се намали ризикот од трансмисија на HCV инфекција преку целокупна крв, клеточни концентрати и плазма компоненти.

Отстранување на крводарители кои припаѓаат на ризични групи. Потребно е плазмата и нејзините деривати да се подготват со претходно отстранување на вирусите со биолошка, физичка и хемиска инактивација и пастеризација, воведување на систем на хемовигилност, воведување на PCR на плазмата во Република Македонија.

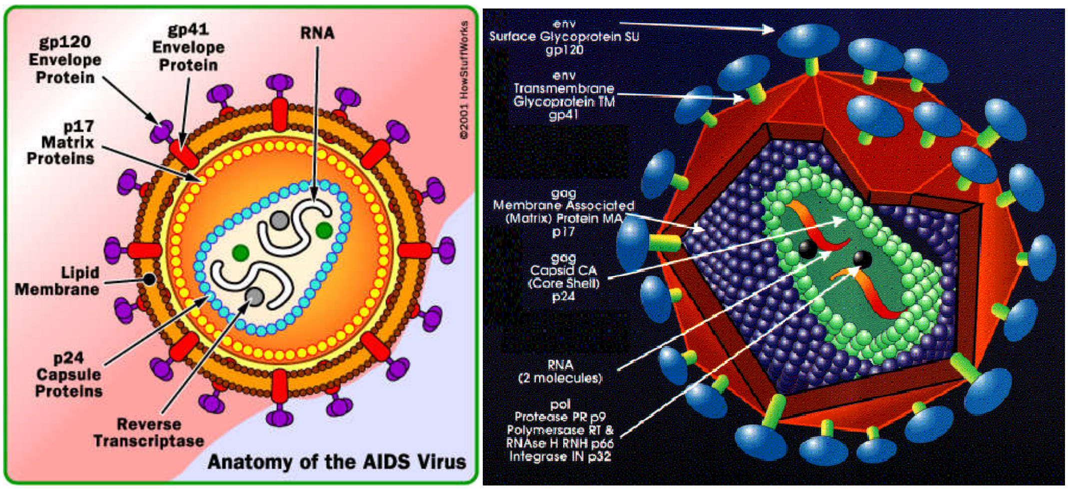
Постои потреба постојано да се следат и проверуваат резултатите од испитувањата за хепатит Ц во светот, со што на време би се применувале оние значајни сознанија кои вистински го унапредуваат спектарот на испитувањата и мерките за борба против посттрансфузискиот хепатит.

Вакцина за заштита против HCV инфекција до денес не е произведена. Пасивна заштита со примена на специфични имуноглобулини со висок титар не се применува. Поради ова спречувањето на преносот на HCV инфекција може да се спречи само со избегнување на контакт со вирусот.

1.3. СИДА (HIV)

ХИВ (HIV) е изолиран во 1983 година скоро истовремено од две екипи вирусолози од Франција и од САД. Во почетокот овој новооткриен вирус бил означуван со различни имиња (LAV, HTLV-III), но по предлог на Интернационалниот комитет за означување на вирусите е наречен HIV. Во 1986 година од болен во Западна Африка е изолиран сличен вирус на ХИВ-1 (HIV-1) и е наречен ХИВ-2 (HIV-2).

ХИВ-1 и ХИВ-2 се хумани ретровируси од потфамилијата *Lentiviridae* на фамилијата *Retroviridae*. Имаат сложена градба која се состои од јадро, обвивка на јадрото и надворешна липопротеинска обвивка.

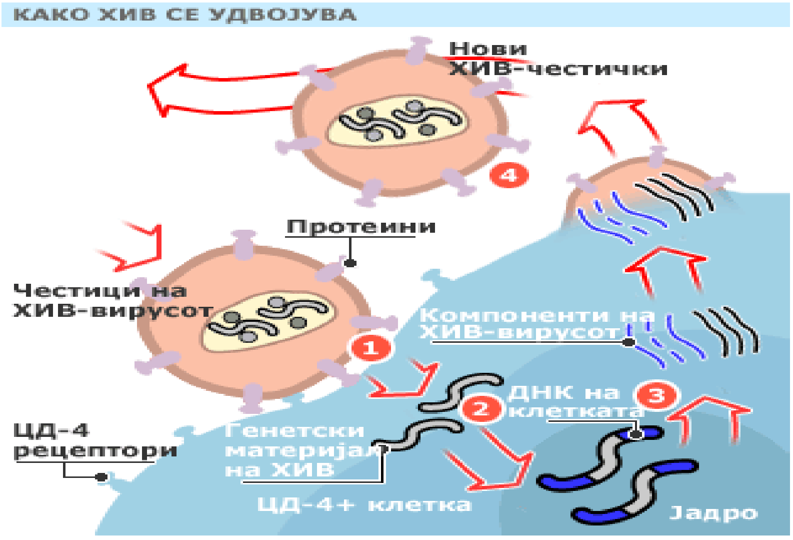


Слика 5. Структура на ХИВ
Figure 5. Structure of HIV

Во јадрото е сместен генетскиот материјал на вирусот кој се состои од двојно идентична нишка на РНК и реверзна транскриптаза-ензим на Temin, којшто овозможува вирусите да продуцираат ДНК која е комплементарна на вирусната РНК. Вака создадената ДНК може да се интегрира во ДНК на домаќинот. Во обвивката на јадрото се вклучени протеините: p24, p17 и p18, а во надворешната липопротеинска мембрана влегуваат: гликопротеините gp41 и gp120.

Вирусната честичка е со кружен облик, со големина од 100 до 120 nm во пречник и секоја носи до 80 глобуларни структури со заоблени врвови во облик на куки. Секоја кука носи по неколку молекули од

мембранскиот гликопротеин (gp120), кој има афинитет пред се за CD4 Ly, но и за моноцитите, макрофагите и микроглија клетките. Врзани за помалиот трансмембрански протеин gp41, молекулите на gp120 му овозможуваат на вирусот (кој претходно е закачен за рецептори на површината на T-Ly), фузија на неговата обвивка со клеточната мембрана. На тој начин внатрешната содржина на вирусот навлегува во клетката домаќин и се интегрира во нејзиниот геном, т.е. ХИВ се инкорпорира во ДНК на T-Ly. Со помош на специфичниот ензим реверзна транскриптаза настанува реплицирање на вирусот.



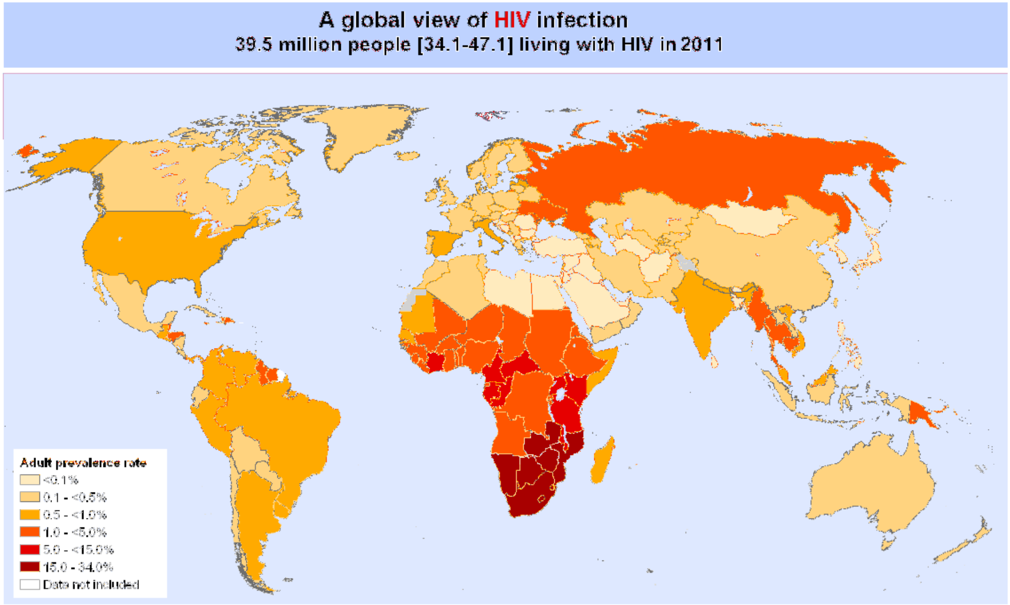
Слика 6. Репликација на вирусот ХИВ
Figure 6. Replication of HIV virus

Новосоздадените вириони доаѓаат до површината на T-Ly, формираат пупки кои прскаат и ослободените вируси напаѓаат нови клетки. Со тоа бројот на T-Ly се намалува, со што влијае на способноста (ефикасноста) на имуниот одговор на инфицираниот организам, односно имунитетот драстично се намалува.

ХИВ е отпорен на надворешна средина. Во влажна средина и на температура од 25°C преживува 15 дена. На собна температура ја губи инфективноста за 6 дена, а на температура од 56°C се инактивира за 15 минути. Осетлив е на вообичаени средства за дезинфекција и е отпорен на ултравиолетово зрачење и радијација.

ХИВ го има во високи концентрации во крвта и во спермата, а помалку во вагиналниот секрет, солзите, потта и мајчиното млеко.

Во 1981 година сидата за првпат предизвика внимание во медицинските кругови и кај населението. ХИВ-1 е раширен низ целиот свет. Денес, повеќе од триесет и девет милиони луѓе се болни од СИДА, и тој број постојано расте. Имено, светските експерти предупредуваат дека реалната бројка на болните и инфицираните со вирусот е далеку поголема од евидентираната.



Слика 7. ХИВ преваленца во светот
Figure 7. HIV prevalence in the world

Патот на ширење на ХИВ-1 и ХИВ-2 инфекцијата е сличен. Најчесто ХИВ-1/2 инфекцијата се добива преку: хетеросексуален и бисексуален контакт, преку нестерилни-контаминирани шприцови и игли кај интравенозни наркомани и повеќекратна употреба на инструменти или скалпели, при тетовирање и акупунктура, при трансфузија на контаминирана крв и крвни продукти, при трансплантација на органи и од инфицирана мајка на дете за време на бременоста, во текот на раѓањето или со доењето.

ХИВ-1 инфекцијата поуспешно и почесто се пренесува преку хомосексуален контакт во споредба со ХИВ-2 инфекцијата, која е

забележана само кај неколку случаи. Вертикалната трансмисија на ХИВ-1 инфекцијата од мајка на бебе изнесува околу 30%, а за ХИВ-2 околу 10%.

1.3.1. **Трансфузиска трансмисија (Transfusion transmission)**

Обезбедувањето на сигурна терапија со крв и крвни компоненти е загрозена по сознанието дека ХИВ инфекцијата може да се пренесе преку трансфузија со целокупна крв, клеточни концентрати и плазма компоненти. Ова доведе до промена во регулативата и начинот на земање на крв, како и нејзината контрола од страна на крвните банки.

Ризикот од добивање на ХИВ инфекција по пат на трансфузија со крв и крвни продукти зависи од:

1. Присуството на ХИВ антитела кај крводарителската популација во одреден географски регион;

2. Земањето крв од ризични групи на крводарители: наркомани, хомосексуалци, проститутки и слично;

3. Бројот на трансфудираните крвни единици или од бројот на крвните единици од кои е направен крвниот продукт или дериват;

4. Имунолошкиот статус на примателот, возраста, како и од други недефинирани кофактори кои водат кон прогресија на СИДА.

Испитувањата покажаа дека примателите на трансфузија можат да бидат заразени со СИДА многу побрзо ако примаат крвна трансфузија од крводарител кој развил СИДА набрзо по дарувањето на крв.

Можноста од трансмисија на СИДА преку трансфузија на крв беше потврдена кај хемофиличари во 1982 година, со развивање на *Pneumocystis Carinii Pneumonia* и појава на нов синдром сличен на оној кој беше виден кај хомосексуалците. Подоцна ист ваков синдром беше регистриран кај дете кое добило трансфузија од крводарител, кое по дарувањето на крв развило СИДА, со што трансмисијата на сидата била дефинитивно поврзана со трансфузијата. Испитувањата кои следувале ја потврдија можноста за трансмисија на СИДА преку трансфузија на крв.

Во 1984 година било докажано дека ХИВ-1 вирусот е причина за појава на СИДА, а во мај 1985 година започна рутинското тестирање на целокупната крв од крводарителите за присуство на анти-ХИВ-1. Задолжителното тестирање во Р. Македонија е воведено во 1988 година, а во редовно работење на Трасфузиолошката служба во Штип на 12 мај 1988 година.

Ризикот од трансмисија на ХИВ инфекција преку анти-HIV-1 позитивна крв е висок и изнесува од 70 до 90%. До започнувањето на тестирањето на секоја крвна единица за присуство на анти- HIV-1 во мај 1985 година, околу 12.000 пациенти во светот биле инфицирани преку трансфузија на крв.

Трансфузиски пренесен ХИВ-1 стана реткост откако се започна со доброволно отстранување на крводарителите со ризик од ХИВ-1 инфекција и со рутинско анти-ХИВ тестирање на сите крвни примероци. Континуираното спроведување во пракса на селективна крводарителска регрутација, крводарителска едукација и крводарителско тестирање, резултира со континуирано намалување на трансфузиско пренесување на ХИВ од година во година.

Трансмисија на ХИВ-1 може да настане и со плазма продукти. Плазма продуктите се изработуваат од пулирана плазма добиена од 2.000 до 30.000 дарители. Еден ХИВ позитивен дарител може да ја контаминира целата количина на плазма, доколку ХИВ-1 не е неутрализиран за време на производството со додатен топлински третман, ладен етанол или друг начин.

Пулираната плазма се преципитира и процесира во F-VIII концентрат кој се користи за третман на хемофилија А и во F-IX концентрат, за третман на хемофилија Б. Пред 1984 година овие концентрати не беа третирани со топлина, бидејќи со тоа се губи хемостатската активност. Како резултат на тоа, ХИВ не беше инактивиран поради што околу 80% од третираните пациенти со хемофилија А и околу 50% од третираните пациенти со хемофилија Б беа инфицирани со ХИВ.

Присуството на ХИВ антитела е многу почесто кај хемофиличари кои се лекувани со високопрочистени и концентрирани препарати на F-VIII добиени од стотици или илјадници дарители, во споредба со хемофиличари лекувани со криопреципитат, добиен од еден или неколку дарители.

ХИВ може да биде пренесен и преку трансплантација на сите органи кои содржат поголема количина крв или се високоваскуларизирани: бубрег, хепар, срце, панкреас, коскена срцевина и кожа.

Според информациите на СЗО, трансфузија на една единица ХИВ позитивна крв кај деца доведува до смрт по две години од примената трансфузија, а кај возрасни во текот на следните три до пет години.

„Window“ периодот претставува голем проблем во трансмисијата на ХИВ инфекцијата. Во овој период инфицираното лице е инфективно (заразно), но се уште нема или нема доволно висок титар на антитела, поради што со познатите тестови за скрининг на антитела не се добиваат позитивни резултати. „Window“ периодот во почетокот траел околу 45 дена, со воведување на новите тестови кои се многу почувствителни, овој период се намали на околу 25 дена и помалку.

Напорите за скратување на „window“ периодот почнаа со воведување на тестови со зголемена сензитивност од втора и трета генерација. За скратување на прозорец-периодот FDA (Food and Drag Administration), научниците препорачаат воведување на метод за откривање на специфично HIV-IgM антитело. Но и овие тестови покажале мала искористеност во раната детекција на инфекцијата со ХИВ.

Најдобар успех во скратувањето на „window“ периодот е постигнат со воведување на тестови за откривање на ХИВ-антиген, бидејќи присуството на антигенот се открива многу порано од создавањето на антителата. Сега ХИВ антигенемијата може да биде откриена и две недели по инфекцијата. Од тестовите за скратување на прозорец-периодот најзначаен во тестирањето на крвта од дарителите е ХИВ-1

p24 антиген ЕЛИСА тестот. Тој е лиценциран на 14 март 1996 година и е во употреба.

Развојот на серолошката дијагностика и понатаму напредува со уште почувствителни методи. Еден од нив е вирусна детекција на ХИВ-РНК со PCR (polymerase chain reaction - полимеразна верижна реакција) - метода. ХИВ-РНК во плазмата се открива околу пет дена порано од ХИВ-1 p24 антигенот, т.е. само 11 дена по инфекцијата, со што „window“ периодот се скратува на 10 дена. Високата сензитивност на оваа метода ќе ја зголеми безбедноста од трансмисија на инфекцијата со ХИВ за неколку пати. Оваа метода се уште не е прифатена во секојдневната практика за тестирање на големи серии од крвни примероци.

1.3.2. Серолошка детекција на ХИВ антитела (Serological detection of HIV antibodies)

Лабораториските тестови овозможуваат детекција на ХИВ антитела кај крводарители да се дијагностицира ХИВ инфекција и да се следи прогресијата на заболувањето кај лица инфицирани со ХИВ.

Најчесто употребувани типови на ХИВ тестови се:

а. ХИВ антитела тестови:

- HIV антитела EIA (enzyme immunoassay) или ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay),
- HIV антитела IFA (immunofluorescent assay),
- HIV антитела RIPA (radio immunoprecipitacion assay),
- HIV антитела Western blot.

б. Дополнителни тестови:

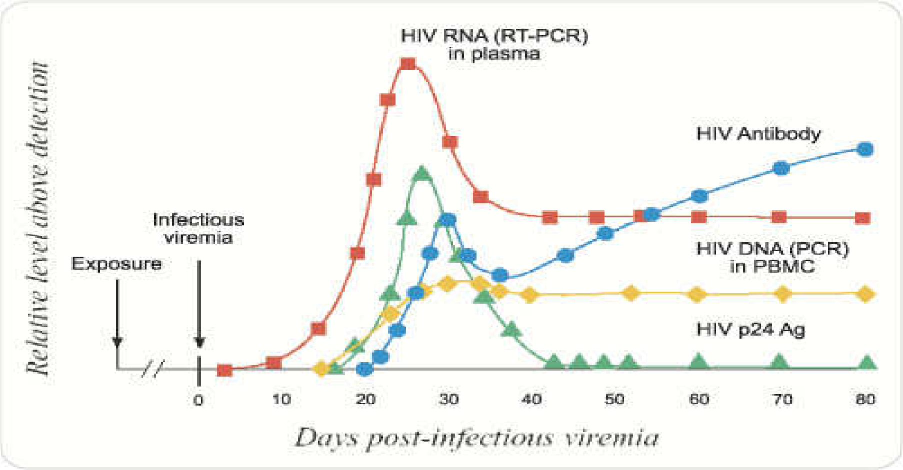
- HIV DNA PCR (polymerase chain reaction)
- HIV p24 antigen
- HIV culture
- HIV RNA
- bDNA (HIV branched chain DNA),
- NASBA (nucleic acid sequence-based amplification)

в. Тестови за детектирање на други телесни течности:

- HIV антитела EIA во урина,
- орални HIV антитела EIA,
- орални HIV антитела Western blot.

Најчесто употребувани скрининг тестови за детекција на ХИВ антитела се: анти-HIV-1 и анти-HIV-2, HIV-1 p24 и комбинираниот тест анти-HIV-1/2. Од потврдните е *Western blot* тестот. Во Службата за трансфузиологија во Штип се користат ЕЛИСА комбинираните HIV-1/2 антитела тестови од третата генерација. Средно време за развој на СИДА по трансфузија на крв изнесува 8,2 години за возрасни приматели на крв кои не се лекувани со никаква антивирусна терапија.

Сероконверзијата настанува од 2 до 4 недели или максимално до 12 недели од контактот со вирусот.



Слика 8. Серолошки одговор на инфекција со ХИВ
Figure 8. Serological response of infection with HIV

Во рок од неколку години кај 15-25% од инфицираните се развива генерализирана лимфоденопатија, а кај 5-15% се појавуваат клиничките симптоми на болеста.

Повеќе фактори влијаат врз развитокот на болеста: природата на вирусот, потенцијалот и варијабилноста на вирусот, имунолошкиот статус на организмот и многу други непознати или помалку познати фактори.

Примарната инфекција во 40-70% од болните води до симптоми слични на мононуклеозен синдром со главоболка, болки во грлото, еритематозен осип, генерализирана лимфоденопатија, намалување на телесната тежина, потење и малаксаност, слаб апетит, проливи кои траат долго. Поради уништената одбранбена способност на организмот, чести се опуртуни инфекции со *Pneumocystitis carinii pneumonia, Citomegalovirosis, Herpes simplex, Candidiasis, Aspergillosis* и манифестации во вид на Kaposi sarkom, Non-Hodgkin lymphoma, Burkitt lymphoma, M. Hodgkin, Leucosis Lymphatica chronica, Toxoplasmosis, Hepatocelluraen carcinom и др. Болеста завршува со смрт.

Од лабораториските наоди се присутни: анемија со леукопенија, тромбоцитопенија, атипични лимфоцити, покачени вредности на ALT и AST, хипергамаглобулинемија, бројот на CD4+ лимфоцити опаѓа поради што се менува односот CD4+/CD8+ во периферната крв.

1.3.3. Превенција (Prevention)

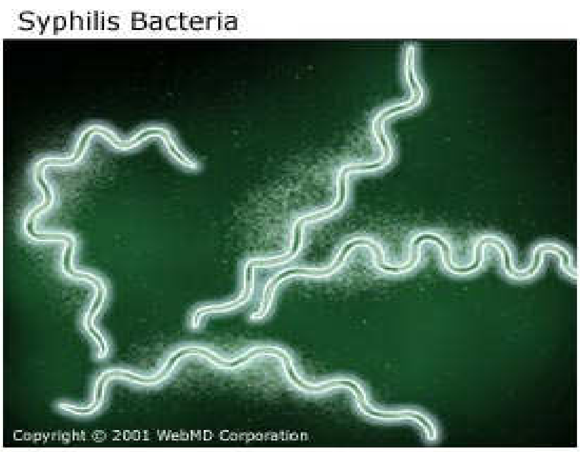
Превенцијата и контролата над сидата и другите трансфузиски трансмисивни заболувања се приоритет на СЗО, а стратегијата на превенцијата на сидата се темели на:

- едукација и широка информираност на целокупното население;
- воведување на поригорозна крводарителска селекција;
- контрола на крвта и крвните продукти за присуство на анти-HIV;
- рационално користење на крв, клеточни концентрати и плазма компоненти, со строго утврдени индикации и трансфузиска доктрина;
- инактивација на вируси и бактерии (Започнувајќи од 1984 година се користат повеќе методи за инактивација на вирусот. Обично се користат два процеса: еден топлински и најмалку уште еден вирус-инактивациски процес. Вака добиените концентрати се доста сигурни);
- користење на крвни супституенти;
- користење на стерилни игли и шприцови кај i.v. наркомани;

- промоција на одговорно сексуално однесување и задолжително користење на презерватив при сексуален однос, особено со непозната личност;
- користење на сопствен прибор за лична хигиена (четка за заби, прибор за бричење, ножички, нож и сл.);
- употреба на стерилни медицински инструменти;
- кампања против дрогата и контрола над неа;
- тетовирање, дупчење на уши и циркумцизија (сунетисување) да ги изведуваат стручни лица. Се уште не постојат услови за специфична имунопрофилакса.

1.4. Сифилис (Syphilis)

Сифилисот е тешка венерична болест позната повеќе од шест века, која се пренесува непосредно од човек на човек, првенствено по сексуален пат. Болеста ја предизвикува бактерија *Treponema pallidum*. Се работи за анаеробен паразит, осетлив на топлина. Надвор од организмот живее само неколку часа. *Treponema pallidum* е нежна и тенка спирална бактерија со должина од 10 до 15µ, која не преживува во крв одржувана на +4°C повеќе од 72 - 96 часа, но останува варијабилна дури и ако крвта се смрзне. Се дели на секои 30 - 35 часа.



Слика 9. Бактерија *трепонема палидум*

Figure 9. Bacteria *Treponema pallidum*

Сифилисот е проширен низ целиот свет. Годишната инциденција се движи околу 12.000.000 инфицирани болни. Во САД секоја година се регистрираат околу 30.000 нови случаи на сифилис.

Слика 10. *Трепонема палидум* преваленца во светот

Figure 10. *Treponema pallidum* prevalence in the world

Примарно сифилисот се шири преку директен контакт од лезиите од примарниот стадиум, кои се наоѓаат на кожата и мукозните мембрани и преку телесните течности: плунка, семена течност, крв, вагинален секрет, од инфицирани лица за време на сексуален контакт.

Трансмисија на сифилис е можна и преку убод со игли и шприцови контаминирани од инфицирани лица. Сифилисот може да се пренесе и конгенитално, трепонемата поминува низ плацентата по десеттата недела од бременоста и го инфицира фетусот што доведува до смрт на плодот или се раѓа новородено со конгенитален сифилис.

Трансмисијата на сифилисот најчесто е можна во текот на првата година од инфекцијата. Доколку инфекцијата се одржува повеќе од четири години, тогаш заболувањето ретко се пренесува.

1.4.1. Трансфузиска трансмисија (Transfusion transmission)

Трансмисија на сифилис преку крвни трансфузии е можна само ако спирохетата се наоѓа во крвта на дарителот и ако крвта се трансфундира во првите 72-96 часа од дарувањето. Сифилисот може да биде пренесен преку крвни компоненти чувани во фрижидер само неколку дена, или од тромбоцитни концентрати чувани на собна температура.

Поради докажаната можност од пренос на сифилис преку крвна трансфузија, тестирање на крв од дарители се врши повеќе од 50 години. Сите крвни единици се тестираат за присуство на оваа инфекција, но методата не е секогаш ефикасна за превенција на трансфузиски пренесен сифилис. Во средината на осумдесеттите години на минатиот век се појави иницијатива за прекинување на тестирање на крвта од дарителите за присуство на сифилис, поради тоа што беше утврдено дека спирохетите можат да останат варијабилни само 96 часа во крв чувана во фрижидери. Серолошкиот тест за сифилис е ретко позитивен додека спирохетите се во циркулацијата. Кај лица со примарен сифилис серолошките тестови кај 50% лица се негативни за време на спирохетемијата. Заради ова, сегашното тестирање веројатно не може да ги идентификува инфективните единици на крв.

Денес многу крвни компоненти, особено тромбоцитите, се чуваат на собна температура каде што нема можност спирохетата да биде инактивирана. Во Република Македонија секоја крвна единица се тестира за утврдување присуство на *Treponema pallidum* антитела.

Во трансфузиолошката пракса се користат неспецифични и специфични тестови.

Од неспецифичните тестови се употребува VDRL (Veneral Disease Research Laboratory), кој користи кардиолипин супстанца за детекција на *Treponema pallidum* антитела. Овој тест и флокулациониот Meinike тест се напуштени во работата на трансфузиолошките служби, поради добивање на висок процент на лажно позитивни резултати.

Од специфичните тестови се користат: *Teponema pallidum* хемаглутинациони тест (TPHA), потоа флуоресцентен тест за присуство на антитела против *Treponema pallidum* (FTA-ABS) и ензимски имуно-тест (EIA) кој ја користи *Treponema pallidum* како антиген за откривање на специфични антитела.

1.4.2. **Превенција (Prevention)**

Превенцијата на дарителите на крв се состои во земање целосна анамнеза околу постоење на венерични инфекции и ризично сексуално однесување. Серумските примероци од дарителите на крв и понатаму треба да се тестираат за да се превенира ризикот од оваа болест. Едукацијата на населението и примена на соодветни мерки за прекинување на трансмисијата преку сексуален пат се неопходно потребни.

2. Цел на специјалистичкиот труд
(Purpose of the specialized work)

Главната цел на специјалистичкиот труд е детекција на трансфузиските трансмисивни заболувања во изминатите десет години во Регионалниот центар за трансфузиона медицина во Штип.

Останатите потцели подразбираат утврдување на:

1. Процентуална застапеност на сите досега утврдени трансфузиски трансмисивни заболувања;
2. Најчестите ризици во трансфузијата со крв, кои претставуваат потенцијална опасност за ширење на одредени инфекции;
3. Степенот и ефикасноста на серолошката детекција применувана во Регионалниот центар за трансфузиона медицина во Штип, за детекција и за спречување на прогресијата од трансфузиски трансмисивни заболувања;
4. Мерки за превентивана и дополнителна едукација на дарителите на крв, како и персоналот кој работи во трансфузиолошките служби за ширењето на трансфузиските трансмисивни заболувања.

3. Материјал и методи на работа
(Material and methods for work)

За да ги добиеме резултатите и одговорот на прашањето формулирано како цел на овој труд, ги анализиравме податоците од дневниците за евиденција на доброволни дарители на крв, како и од лабораторијата за детекција на трансфузиски трансмисивни заболувања во Регионалниот центар за трансфузиона медицина во Штип.

Во испитувањето се опфатени податоци за 28.926 крводарувања во периодот од десет години (2002-2011 год.). Анализираните крводарители се поделени според возраст, пол, занимање и се тестирани на HBsAg, анти-HCV, анти-HIV антитела и антитела за *Treponema Pallidum* во лабораторијата за детекција на трансфузиски трансмисивни заболувања во Регионалниот центар за трансфузиона медицина во Штип.

Примероците од крв се земени во суви стерилни епрувети без антикоагуланс, непосредно по дарувањето на крв. Земените примероци од тестирањето се чувани на температура од околу +4°C, не повеќе од три дена.

Тестирањето на вирусните маркери е работено со имуно-ензимски тестови од ORGANON, SANOFI – PASTEUR, а од 2006 година на апаратот Dade Behring – BEP 2000 со имуно-ензимски тестови од фирмите SIEMENS и ORTHO за анти-HCV.

Слика 11. Апарат за детекција на ТТЗ – Даде Бехринг - Беп 2000
Figure 11. Apparatus for detektion of TTD – Dade Behring – Bep 2000

За тестирање на HBsAg е користен ELISA тестот Enzygnost 5,0 и 6,0. Тоа е имуно-ензимски тест за квалитативна детекција на хепатит Б антиген во серум и плазма. Се изведува со автоматски процесори, со тестирање на секој примерок поединечно. Тестот е базиран на метода во два чекори:

1. HBsAg содржан во примерокот реагира симултано со поликлоналните HBs антитела со кои се обложени вдлабнатините од микроплочата и со конјугат 1 (anti HBs/ biotin, сино обоен);

2. По отстранувањето на неврзаните реактанти, конјугат 2 (Streptavidin/POD, жолто обоен) реагира со конјугат 1.

Ензимската активност на врзаниот конјугат 2 е одредена со реакција со сина боја, а ензимската конверзија на хромогенот се завршува со додавање на раствор за запирање (жолто обоена реакција). Интензитетот на обојувањето е пропорционален со концентрацијата на антигенот во примерокот.

За тестирање на анти-HCV антитело се користи методата *Hepatitis C virus Encoded Antigen* со реагенс Ortho HCV 3.0 ELISA Test System with Enhanced SAVe. Тоа е квалитативен реагенс за детекција на антитела на хепатит Ц вирус во хуман серум или плазма. Три рекомбинантни антигени кои се користат во овој тест систем се: c22-3, c200 и NS5.

За тестирање на ХИВ 1/2/0 се користи реагенсот Enzygnost HIV Integral II, кој се базира на детерминација на HIV p24 антиген, антитело на ХИВ тип 1 и тип 2 (HIV 1, HIV 2), и антитело на ХИВ 1 (поттип 0) во хуман серум или плазма.

Тестирањата се изведувани според утврдена постапка и упатства дадени од производителот на тест реагенсите, а со задолжително поставување на позитивни и негативни контроли. Присуство или отсуство на антитела во анализираниот примерок се одредува со споредување на вредноста на апсорпција на секој примерок со Cut-off вредноста на анализата. Примероци чии апсорпциони вредности се поголеми или еднакви на Cut-off вредноста се дефинираат како *иницијално реактивни* и треба да бидат повторно тестирани во дупликат и потврдени со познат

конфирмативен тест. Примероци кои се негативни на двете повторени тестирања се сметаат за нереактивни, а ако се позитивни на едното или двете повторени тестирања се сметаат за повторно реактивни примероци.

Тестирањето на Syphilis антитело се работи со компетитивен еднофазен имуно-ензимски тест за квалитативна детекција на специфични антитела за *Treponema pallidum*, со реагенс Enzygnost Syphilis во хуман серум или плазма. Негативен резултат исклучува инфекција со сифилис со висок степен на сигурност. Позитивен резултат потврден со ретестирање значи дека се откриени Treponema Pallidum специфични антитела.

Постојат и други методи кои се користат во развиените земји, тие се многу скапи но за некој од нив треба да се размислува да се воведат за рутинска контрола на даруваната крв, бидејќи даваат точни резултати и го скратуваат „window“ периодот.

NASBA (nucleic acid sequence-based amplification) методата е тест за вирусна концентрација што не се употребува за рутинска дијагностика на ХИВ. Тестот ја мери количината на генетски материјал РНК (RNK) од ХИВ во крвта.

NASBA методата се заснова на заедничко дејствување на три ензими:

- AMV Реверзна транскриптаза за cDNK синтеза;
- RNase H: за деградација на RNK во хетеродуплексот RNK-DNK;
- T7 RNK полимераза: за синтеза на RNK од T 7 промоторот.

Формирањето на новосоздадени РНК молекули постојано се следи во апаратот со флуресцентна светлина со специфична молекуларна светлечка сонда на флуресцентен читач (автоматизирана анализа на податоци за кои читањето е осигурано со помош на соодветен софтвер – NucliSens Easy Q director). Од овој тест можат да се видат:

- промените на ХИВ инфекцијата;
- да се направи избор во терапијата;
- да се забележи како дејствува терапијата.

Ако не се прима високоактивна антиретровирусна терапија (HAART), количината на вирус треба да се мери на секои 3-4 месеци, ако се прима антиретровирусна терапија, мерењето на концентрацијата се прави пред да се започне со терапијата. Следно вирусно мерење се прави на 4-8 недели по започнувањето на терапијата за да се одреди реакцијата на организмот на терапијата. ХИВ нема да биде откриен во крвта ако третманот со терапијата е успешен.

Причини за кои не можете да го направите овој тест или резултатите можат да бидат неверодостојни, е ако лицето има друга инфекција, како што е пневмонија или е вакцинирано од грип во тој период.

NAT (Nucleus Acid Testing) методата се базира на полимеразна верижна реакција (Polymerase chain reaction). СЗО препорачува секогаш користење на лиценциран NAT тест.

MP-NAT и ID-NAT техниките се користат за откривање на западнонилски вирус (WNV). Овие техники директно го детектираат присуството на инфективен агенс во дарувањата крв, со засилување на нуклеинските низи специфични за вирусот. Употребата на овие техники овозможува поголем степен на осетливост и прецизност од рутинските тест методи (EIA).

Моќта на NAT е во неговата способност да го детектира присуството на инфективниот агенс со директно таргетирање на вирусно-геномските нуклеински киселини, отколку со индиректно тестирање за присуство на антитела.

NAT методата за крводарителите е се уште во рана фаза на развој. За работа со NAT метода е потребен персонал кој е едуциран за молекуларни биолошки техники, а исто така бара и опрема што се уште не е во употреба во лабораториите на банките за крв. Цената на секој NAT тест е приближно десет пати повеќе од најскапиот EIA тест. Но тоа не треба да биде причина во иднина оваа метода да биде вклучена во редовна употреба во лабораториите за ТТЗ при крвните банки.

4. Резултати (Results)

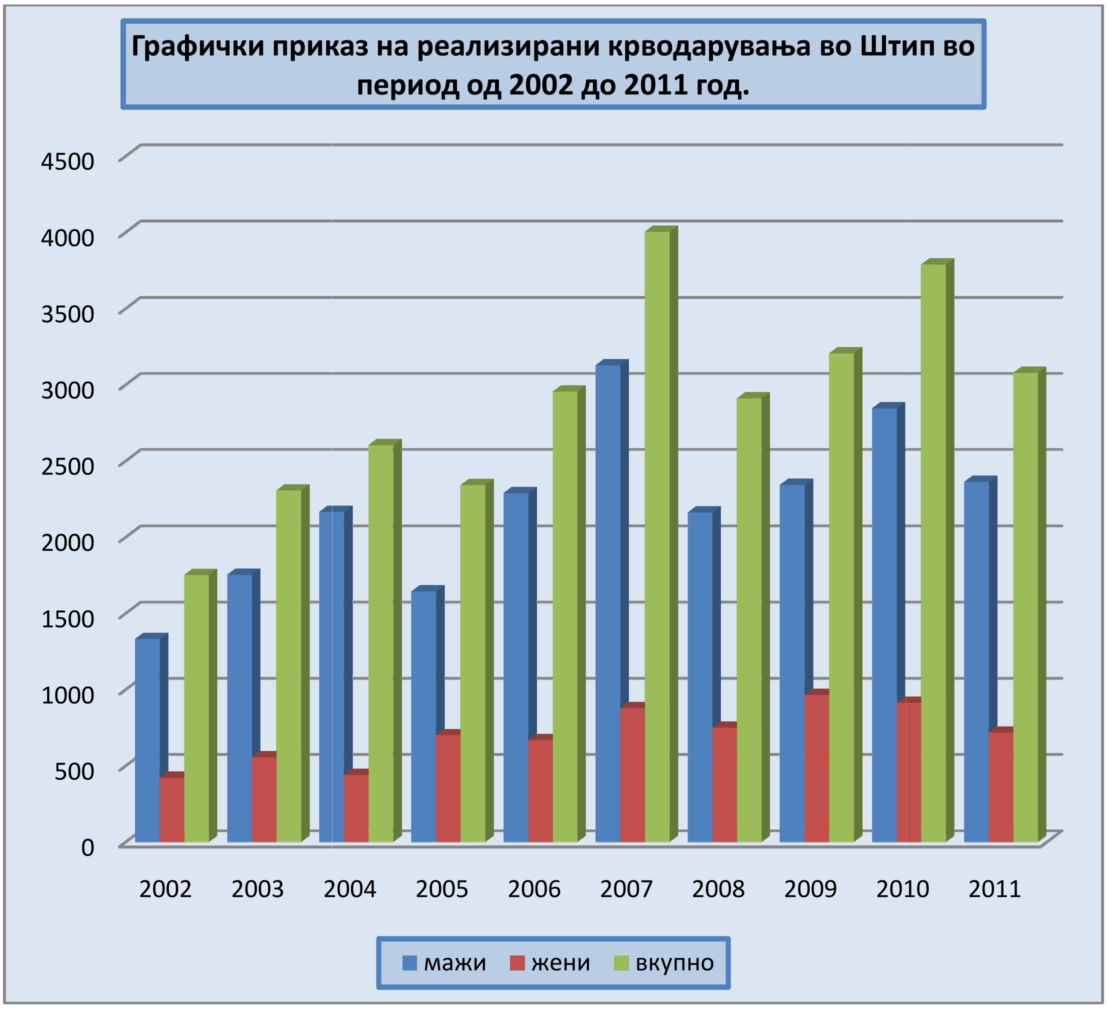
Резултатите се претставени табеларно и графички.

Добиените резултати од извршените анализи на податоците се споредени и со податоци на републичко ниво, како и со податоци од повеќе европски земји. Резултатите се прикажани на следниве табели и графикони.

Табела 1. Приказ на реализирани крводарувања во ИТМ Регионален центар – Штип во период од 2002 до 2011 година (жени, мажи, дарители по првпат и првократни дарители позитивни на трансфузиски трансмисивни заболувања).

Table 1. Review of realized blood donations in ITM Regional Center – Shtip in the period from 2002-2011 (women, men, blood donors who donated blood for the first time and multiple blood donors positive on some transfusion transmissible diseases).

Год на тестир	Вкупно дарувања	мажи	% мажи	жени	% жени	Дарители по I пат	%	Првократни дарители поз на ТТЗ	%
2002	1750	1330	76	420	24	405	23	16	3.95
2003	2304	1751	76	553	24	424	18	28	6.60
2004	2602	2164	83	438	17	529	20	20	6.42
2005	2340	1642	70	698	30	491	21	21	5.70
2006	2953	2287	77	666	23	583	20	20	3.43
2007	4002	3126	78	876	22	947	24	24	1.79
2008	2908	2160	74	748	26	737	25	25	1.49
2009	3204	2341	73	863	27	627	19	19	2.71
2010	3787	2843	75	911	25	965	25	25	1.76
2011	3076	2360	77	716	23	490	20	14	2.85
Вкупно	28926	22004	76	6922	24	6198	21	202	3.25



Од прикажаните резултати се гледа дека највисок број на дарувања се постигнати во 2007 година (4.002) од кои 78% се мажи, а 22% се жени, а најнизок во 2002 година (1.750) од кои 76% се мажи, а 24% се жени. Највисок процент на дарители по првпат се реализирани во 2008 и 2010 година 25%, а најнизок процент на дарители по првпат се реализирани во 2003 година 18%. Највисок процент на дарители позитивни на ТТЗ е во 2003 година 6,60%, а најнизок во 2008 година 1,49%.

Од вкупниот број на дарувања во овие десет години (28.926), 76% се мажи, а 24% се жени. Вкупно дарители по првпат се 6.198 или 21%, од кои првократни дарители позитивни на ТТЗ се вкупно 202 или 3.25%.

Табела 2. Застапеност на HBsAg кај единиците крв во периодот 2002 – 2011 година

Table 2. Representation of HBsAg of the blood units in the period from 2002-2011

Год на тестир	Вкупно дарувања	HBsAg нег.	HBsAg поз.	% на позитивни дарувања	До 21 год		До 30 год		До 45 год		Над 45 год		По I пат поз и фам	% поз дарувања по I пат
					м	ж	м	ж	м	ж	м	ж		
2002	1750	1725	25	1.44	5	4	2	2	11		1		10	0.57
2003	2304	2251	53	2.30	25	11	1	2	7	2	4	1	24	1.04
2004	2602	2546	56	2.15	24	6	7	1	10	1	5	2	22	0.84
2005	2340	2291	49	2.09	18	7	6	3	9	1	5		19	0.81
2006	2953	2917	36	1.21	15	5	5	1	5		3	2	16	0.54
2007	4002	3973	29	0.72	8	5	5	2	4		3	1	11	0.27
2008	2908	2879	29	0.99	9	6	6		4	2	1	1	10	0.34
2009	3204	3165	39	1.21	8	4	11	1	7	4	3	1	14	0.43
2010	3787	3752	35	0.92	7	5	7	4	9		3		13	0.34
2011	3076	3045	31	1.00	5	4	11	1	5	2	3		14	0.45
Вкупно	28926	28544	382	1.32	124	57	62	17	71	12	31	8	153	0.52

Од прикажаните резултати се гледа дека најголем процент на позитивни единици крв за HBsAg има во 2003 година 2,30%, а најмал во 2007 година 0,72%. Најголем процент на позитивни дарители по првпат и фамилијарни дарители е забележан во 2003 година 1,04%, а најмал во 2007 година 0,27%. Вкупно позитивни единици крв во периодот 2002-2011 година се 1,32%, а од вкупниот број на дарувања, процентот на позитивни единици крв кај дарители по првпат и фамилијарни дарители е 0,52%. Процентот на мажи позитивни од вкупниот број единици крв е 0,99%, а процентот на жени е 0,32%.

Табела 3. Застапеност на анти-HCV антитела кај единиците крв во периодот 2002 – 2011 година

Table 3. Representation of anti-HCV antibodies of the blood units in the period from 2002-2011

Год. на тестир.	Вкупно дарувања	HCV нег.	HCV поз.	% на позитивни дарувања	До 21 год.		До 30 год.		До 45 год.		Над 45 год.		По прв пат поз. и фам.	% поз. дарувања по прв пат
					м	ж	м	ж	м	ж	м	ж		
2002	1.750	1.740	10	0.57	2	1			4		3		6	0,34
2003	2.304	2.290	14	0.60	4	1	1		4		4		4	0,17
2004	2.602	2.572	30	1.15	7	4	10		5	1	2	1	12	0,46
2005	2.340	2.319	21	0.89	10	3		1	4	1	2		9	0,38
2006	2.953	2.941	12	0.40	6	2			3	1			4	0,13
2007	4.002	3.984	18	0.44	6	2	4		4		1	1	6	0,14
2008	2.908	2.904	4	0.13			2		2				1	0,03
2009	3.204	3.200	4	0.12		1	1		1		1		2	0,06
2010	3.787	3.771	16	0.42		3	5	1	5		2		3	0,07
2011	3.076	3.074	2	0.06			1	1						0
Вкупно	28.926	28.795	131	0.45	35	17	24	3	32	3	15	2	47	0.16

Од прикажаните резултати се гледа дека најголем процент на позитивни единици крв за анти-HCV антитела има во 2004 година 1,15%, а најмал во 2011 година 0,06%. Најголем процент на позитивни дарители по првпат и фамилијарни дарители е забележан во 2004 година 0,46%, а најмал во 2011 година 0%. Вкупно позитивни единици крв во периодот 2002-2011 година се 0.45%, а од вкупниот број на дарувања, процентот на позитивни единици крв кај дарители по првпат и фамилијарни дарители е 0,16%. Процентот на мажи позитивни од вкупниот број единици крв е 0,36%, а процентот на жени е 0,08%.

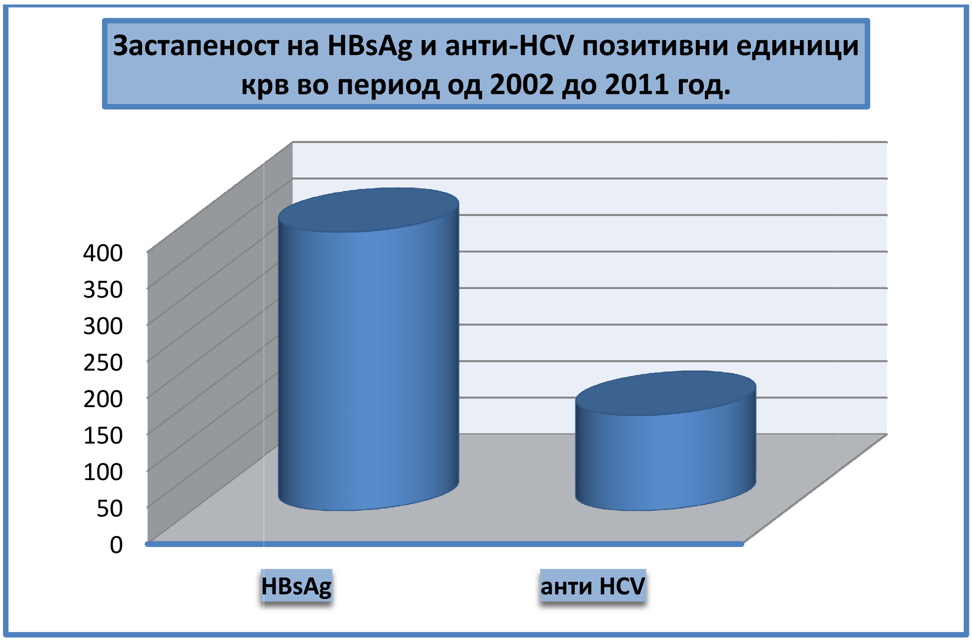
Според графичкиот приказ може да се согледа дека во периодот од 2002 до 2011 година, од вкупниот број на дарувани единици на крв, бројот на позитивни дарители за HBsAg е процентуално многу повисок во однос на позитивни дарители за анти-HCV антитела.

Табела 4. Инциденца на HBsAg и анти-HCV позитивни единици крв кај крводарители кои даруваат крв по првпат и кај повеќекратни дарители во периодот 2002 – 2011 година

Table 4. Incidence of HBsAg and anti-HCV positive blood units at blood donors who donated blood for the first time and multiple blood donors in the period from 2002-2011

Година на тестирање (2002-2011)	Број на испитани лица	HBsAg		Анти-HCV антитела	
		Позитивни дарители		Позитивни дарители	
		број	%	број	%
Дарители на крв по првпат	6.198	153	2.46	47	0.75
Дарители на крв кои дарувале повеќе пати	22.728	229	1.00	84	0.36
Вкупно	28.926	382	1.32	131	0.45

Од прикажаната табела се гледа дека највисок процент на позитивни единици на крв за HBsAg (2,46%) и за анти-HCV антитела (0,75%) има кај дарителите на крв кои даруваат по првпат.



Табела 5. Застапеност на анти-HIV антитела кај единиците крв во периодот 2002 – 2011 година

Table 5. Representation of anti-HCV antibodies of the blood units in the period from 2002-2011

Год. на тест.	Вкупно дарув.	Иниц. HIV поз.		HIV нег.	HIV поз.	% на поз. дарувања	До 21 год.		До 30 год.		До 45 год.		Над 45 год.		По првпат поз. и фам.	% поз. дарув. првпат
		1*	2*				м	ж	м	ж	м	ж	м	ж		
2002	1.750			1.750												0
2003	2.304			2.304												0
2004	2.602			2.602												0
2005	2.340	1	1	2.340									1			0
2006	2.953			2.953												0
2007	4.002			4.002												0
2008	2.908			2.908												0
2009	3.204	3	3	3.204			1			1	1					0
2010	3.787	2	1	3.786	1	0,03		1	1						1	0,03
2011	3.076	1	1	3.076		0			1							0
Вкуп.	28.926	7	6	28.925	1	0.003	1	1	2	1	1		1		1	0.003

1* иницијално позитивни
2* по втора и трета контрола решени негативно

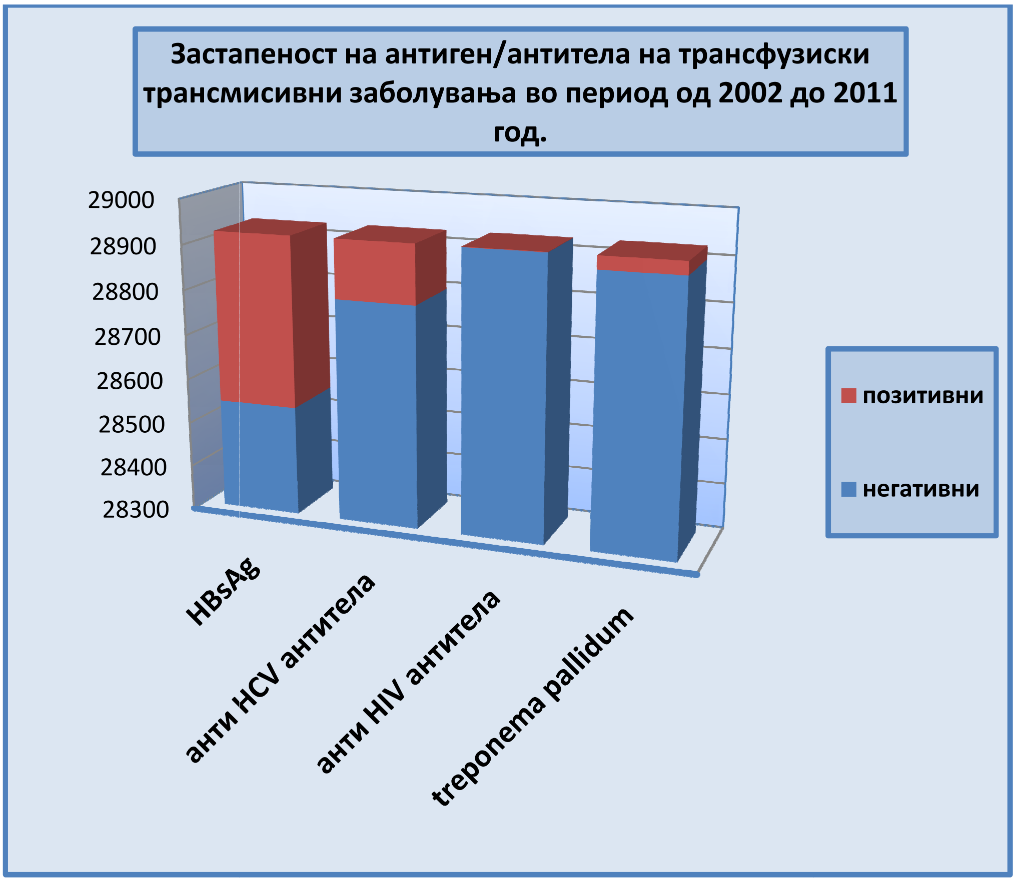
Од прикажаните резултати се гледа дека процентот на позитивни единици крв за анти-HIV антитела е исклучително мал, само еден случај во 2010 година што изнесува 0,03% од вкупниот број на дарувани единици крв. Најмногу иницијално-реактивни резултати (3) има во 2009 година, кои по второ и трето контролирање се решени негативно. Процентот на иницијално-позитивни резултати од вкупниот број единици крв за периодот 2002 – 2011 година е 0,02%, од кои само еден е решен позитивно во 2010 година.

Табела 6. Застапеност на антитела на *Treponema Pallidum* кај единиците крв во периодот 2002 – 2011 година

Table 6. Representation of antibodies of *Treponema Pallidum* of the blood units in the period from 2002-2011

Год на тестир.	Вкупно дарувања	TR нег.	TR поз.	% на позитивни дарувања	До 21 год.		До 30 год.		До 45 год.		Над 45 год.		По првпат поз. и фам.	% поз дарувања по првпат
					м	ж	м	ж	м	ж	м	ж		
2002	1.750	1.750	1	0.05					1					0
2003	2.304	2.304	2	0.08			1		1					0
2004	2.602	2.602	2	0.07			1			1			1	0.03
2005	2.340	2.336	4	0,17					1		1	2		0
2006	2.953	2.950	3	0,10					2		1			0
2007	4.002	3.997	5	0,12					3		2			0
2008	2.908	2.903	5	0,17					3	1		1		0
2009	3.204	3.200	4	0,12	1		1	1	1				1	0,03
2010	3.787	3.785	2	0,05			1		1					0
2011	3.076	3.075	1	0.03							1			0
Вкупно	28.926	28.897	29	0.10	1		4	1	13	2	5	3	2	0.006

Од прикажаните резултати се гледа дека најголем процент позитивни единици крв за антитела на *Treponema Pallidum* има во 2005 и 2008 година 0,17%, а најмал во 2011 година 0,03%. Позитивни единици крв од дарители по првпат има по еден во 2004 и 2009 година 0,03% од вкупниот број единици крв во периодот од 2002 до 2011 година. Процентот на мажи позитивни од вкупниот број единици крв е 0,07%, а процентот на жени е 0,02%.



Од прикажаните резултати на графиконот може да се види застапеноста на трансфузиски трансмисивни заболувања во периодот (2002 – 2011), кај дарителите на крв кои беа тестирани на HBsAg, анти-HCV, анти-HIV и *Treponema pallidum*.

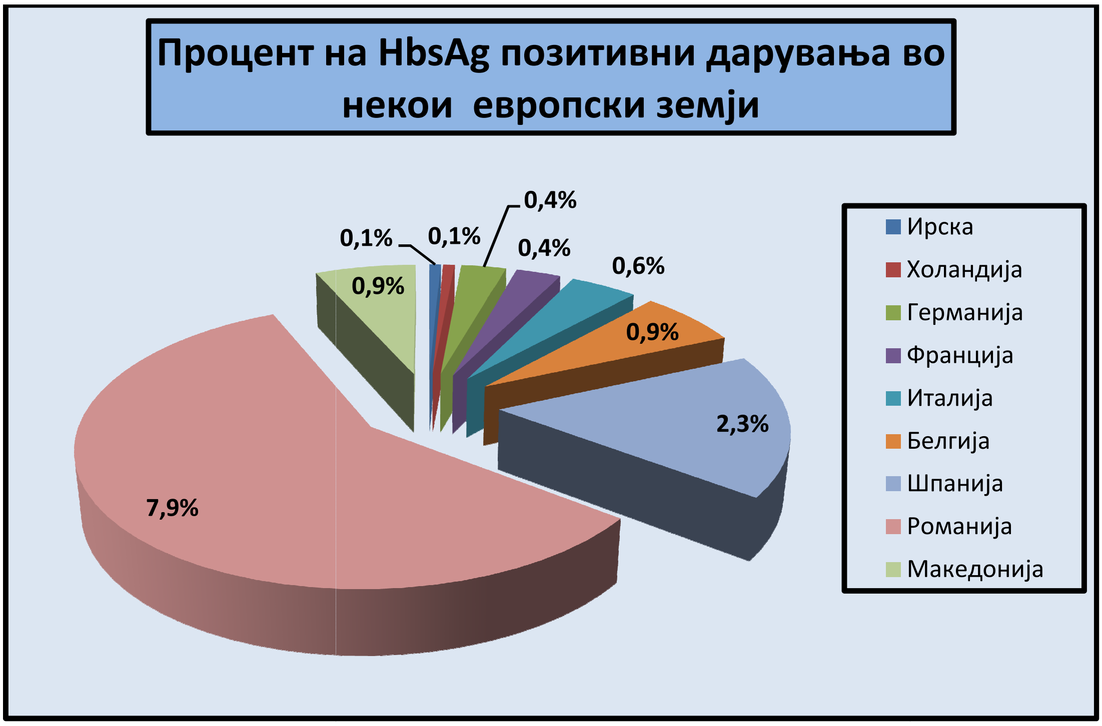
Од вкупниот број на крводарители (28.926) кои беа тестирани во РЦ за трансфузиона медицина – Штип во изминатите десет години се гледа дека најмногу се HBsAg позитивни крводарители, потоа анти-HCV антитела позитивни крводарители, па *Treponema pallidum* позитивни и на крајот, за среќа, само еден крводарител е анти-HIV антитела позитивен.

Табела 7. Застапеноста на HBsAg кај крводарители во некои европски земји

Table 7. Representation of HBsAg at blood donors in some European countries

Држава	Ирска	Холандија	Германија	Франција	Италија	Белгија	Шпанија	Романија	Македонија
% на HbsAg позитивни дарувања	**0.1**	**0.1**	**0.4**	**0.4**	**0.6**	**0.9**	**2.3**	**7.9**	**0.9**

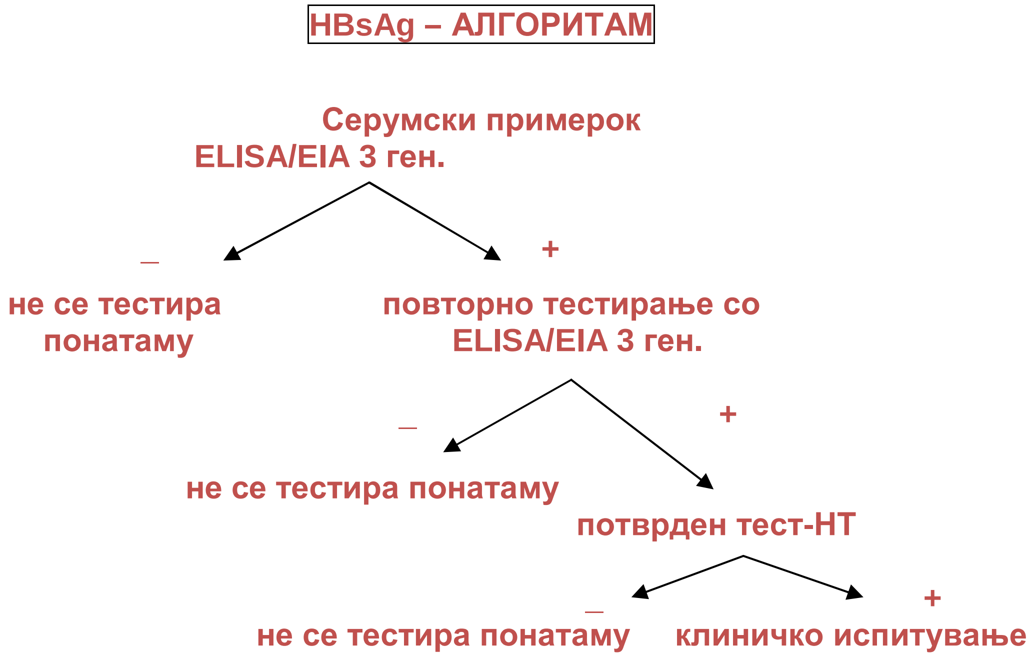
Од прикажаните резултати се гледа дека најголем процент на позитивни HBsAg крводарувања има во Романија 7,9%, а најмал во Холандија и во Ирска 0,1%.



5. Дискусија (Discussion)

Сите донации на целокупна крв, плазма или други компоненти се тестираат за присуство на HBsAg, со високосензитивни и специфични тестови, како што се RIA и EIA лиценциран од FDA. Алгоритмот за тестирање на HBs антигенемијата е прикажан на шема 1.

Шема 1.
Scheme 1.



1. Ако почетниот тест-резултат е нереактивен, тогаш тестираната крвна единица за присуство на HBsAg е негативна. Крвната единица може да биде трансфундирана или користена за добивање на крвни или плазма деривати, спроведувајќи ги сите останати препораки;

2. Ако почетниот тест-резултат е реактивен, тогаш се мисли дека крвната единица е почетно позитивна;

- Примерокот треба да биде ретестиран во дупликат уште еднаш користејќи тест-кит од истиот тип и од истиот производител, како што беше користен и за почетното тестирање;

- Ако повторните тест-резултати се нереактивни, тогаш крвната единица се смета за нереактивна и може да биде употребена. Крводарителот може повторно да дарува крв;

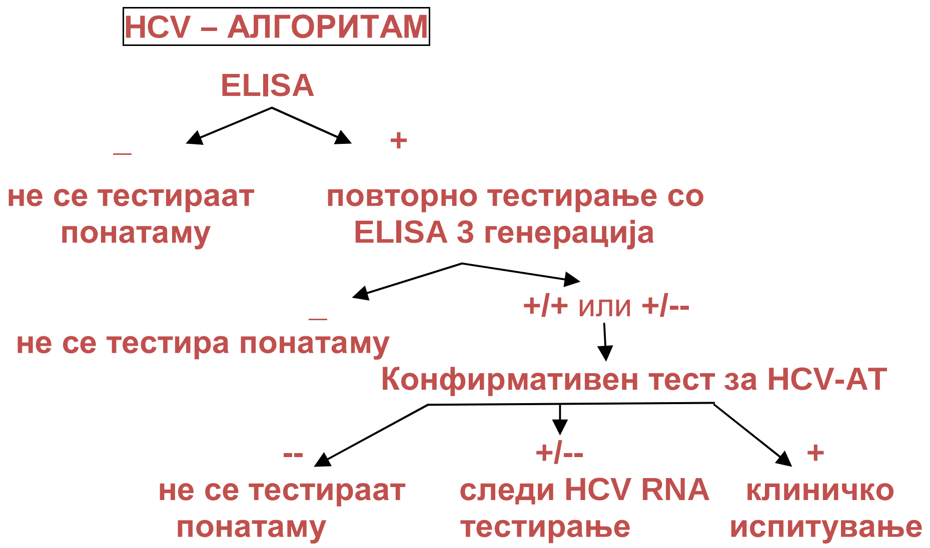
- Ако еден или два од повторените тестови се реактивни, резултатот се опишува како повторно реактивен и крвната единица не треба да биде трансфундирана или обработена во други продукти. Крводарителот со повторно реактивен резултат се отстранува со забелешка дека се препорачува резултатот да биде потврден со неутрализирачки тест, следејќи ги упатствата на производителот;

- Ако повторно реактивниот тест на HBsAg се потврди за позитивен со неутрализирачки тест или ако неутрализирачкиот тест не е направен, се препорачува отстранување на дарителот и негово понатамошно клиничко испитување.

- Со резултатите од тестирањето со писмена или усна презентација треба да биде запознаен дарителот и матичниот лекар, кој понатаму ќе го контролира и ќе направи клинички испитувања.

Алгоритмот за тестирање на HCV-антитела на дарители на крв е прикажан на шема 2.

Шема 2.
Scheme 2.



Присуство или отсуство на HCV антитела во анализираниот примерок се одредува со спроведување на вредноста на апсорпцијата на секој примерок со Cut-off вредноста на анализата:

1. Примероците со екстинција помала од Cut-off се сметаат за негативни за анти-HCV. Понатамошното тестирање не е потребно.

2. Примероците со екстинција поголема или еднаква на Cut-off се сметаат за почетно позитивни. Овие примероци треба да се повторат пред да се потврди конечно резултатот.

3. Почетно позитивните примероци, кои не реагираат на повторните тестирања, се сметаат за негативни на анти-HCV. Понатамошното тестирање не е потребно.

4. Почетно позитивните примероци кои се позитивни и при повторно тестирање се сметаат за позитивни на анти-HCV.

5. Негативните резултати не ја исклучуваат HCV инфекцијата.

Резултатите од анти-HCV тестирањата на примероците можат да бидат: позитивни, негативни и неодредени.

Позитивниот наод на HCV антитела во серумот првенствено упатува на имунолошки одговор, а не на активна виремија која може да значи акутна инфекција, завршно-акутна инфекција, хронично-активна или инактивна инфекција, но ако само еднаш се открие, и лажно позитивен наод. Следниве испитувања ќе потврдат дали се работи за лажно позитивни резултати:

- ако анамнезата исклучува ризик-фактори за HCV инфекцијата;
- ако има нормален физикален наод;
- ако има нормални вредности на хепатални ензими (ALT – испитани најмалку двапати во период од шест месеци);

Кај испитаните крводарители кај кои е добиен неодреден резултат, покрај повторното тестирање за HCV антитела од ELISA тест од друг производител, потребно е да се направи и тестирање на (HCV RNA) со PCR метода.

За добивање на сигурни резултати е потребно да се придржуваме на упатствата за работа. Секое отстапување од пропишаните упатства

може да доведе до погрешни резултати. Најдобри тестови се оние кои даваат точни или лажно-позитивни резултати, а најлоши се оние тестови кои даваат лажно-негативни резултати.

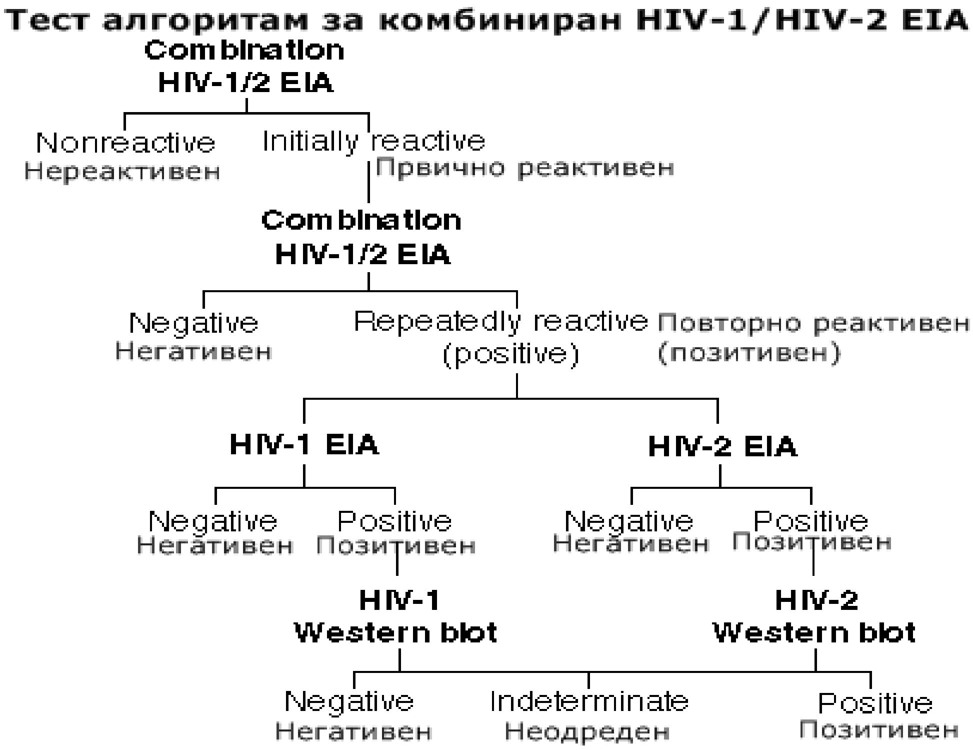
Најчести можни причини за појава на лажно-позитивни резултати се:

1. Користење на несоодветна и неисправна опрема;
2. Користење на ладни тестови или серумски примероци;
3. Употреба на плочи и реагенси од различни серии;
4. Употреба на веќе користени продолжетоци;
5. Користење на реагенси со поминат рок;
6. Несоодветен квалитет на дестилирана вода. Параметри какви што се pH и присуство на јони можат да влијаат на текот на реакцијата;
7. Несоодветен и нестручно обучен персонал.

Во зависност од присуството на одредени антитела во примерокот кој се испитува и нивната реакција со одредени антигенски компоненти од тест-лентите, доаѓа до обележување на одредени нивоа на лентите. Ако се присутни обоени ленти (реактивност кон антигени) со одредени комбинации и интензитет, тогаш лицето е позитивно за ХИВ антитела. Најмногу од институциите го следат CDC водичот кој бара реактивност со најмалку два од следниве антигени: p24, gr41, gr120/160 за серумскиот примерок да биде ХИВ антитела позитивен. Ленти кај кои отсуствуваат обележја укажуваат на отсуство на ХИВ антитела, односно негативен резултат.

Лабораториите кои користат лиценцирана комбинација на HIV-1/HIV-2 скрининг тест треба да го следат алгоритмот за тестирање препорачан од CDC и FDA прикажан на шема 3.

Шема 3.
Scheme 3



Ако е направено повторно тестирање со комбиниран тест за HIV-1/2 и резултатот е повторно позитивен, тогаш е потребно тестирање со поспецифичен тест за потврдување на присуство на антитела на HIV-1 или на HIV-2 како што следи:

1. Повторно позитивни примероци утврдени со комбиниран HIV-1/HIV-2 EIA тест треба да бидат тестирани за антитела на HIV-1 со лиценциран *Western blot* тест или со друг лиценциран тест суплементарен на Western blot HIV-1. Позитивните HIV-1 Western blot резултати потврдуваат присуство на антитела за ХИВ. Иако овој резултат не секогаш прави разлика меѓу антитела на HIV-1 и HIV-2, понатамошни тестирања не се потребни. Доколку постојат сомневања за инфекција со HIV-2, базирани врз епидемиолошки ризични фактори, тогаш е потребно дополнително тестирање за HIV-2.

2. Ако HIV-1 Western blot резултатот е негативен или неодреден, потребно е тестирање само со HIV-2 EIA за детекција на HIV-2. Ако HIV-1 Western blot резултатот е негативен и HIV-2 EIA, не е повторно

позитивен, примерокот најверојатно е негативен за HIV антитела. Ако HIV-1 Western bolt резултатот е неодреден, а HIV-2 EIA резултатот не е повторно позитивен примерокот треба да се смета за неодреден, а на лицето му се препорачува да направи повторни испитувања по шест месеци за да се исклучи можноста од рана инфекција со HIV-1, особено ако има присутни ризични фактори. Потребно е ваквите лица да ги редуцираат можните ризици за време на овие шест месеци. Ако HIV-1 имунофлоресцентниот метод (IFA) е употребен како суплементарен тест, позитивните и негативните IFA резултати треба да бидат интерпретирани на истиот начин како сличните резултати од Western blot тестот. Неодредените IFA резултати кои не можат да се вбројат ниту во позитивна ниту во негативна интерпретација треба да бидат тестирани со HIV-1 Western blot тест. Понатамошното тестирање и донесување заклучоци се детерминирани од резултатите добиени со Western blot.

3. Ако HIV-2 EIA е повторно позитивен треба да се направи HIV-2 суплементарен тест. Само оние серуми кои се повторно позитивни со комбиниран HIV-1/2 тест, негативни или неодредени со HIV-1 Western blot, и позитивни со лиценцирани HIV-2 EIA треба да се тестираат со суплементарен HIV-2 тест. Исклучок од ова правило се лица кои се HIV-1 Western blot позитивни, но имаат демографски ризик фактори за HIV-2 инфекција.

4. Ретестирањето на втор примерок треба да се направи за лица кои на првото тестирање имаат позитивни резултати со HIV-1 или HIV-2 Western blot.

Анализирани се податоци добиени по тестирање на 28.926 примероци од крводарители во изминатите десет години, како припадници на релативно здрава популација. Резултатите од испитувањето за HBsAg, анти-HCV, анти-HIV и антитела за *Treponema Pallidum* кај крводарителите беа прикажани илустративно на табелите и графиконите во претходното поглавје.

Во 2007 година бројот на собрани крвни единици е најголем и изнесува 4.002, а во последниве години се забележи намалување на

бројот на собрани крвни единици, што веројатно се должи на транзицијата во општеството што трае подолго време. Се зголеми бројот на невработени, стечајни работници и пензионери, а со тоа се намали и бројот на крводарители.

Застапеноста на HBsAg позитивни единици крв во ИТМ Регионален центар – Штип (2002-2011) е 1,32%, на анти-HCV е 0,45%, на анти-HIV е 0,003% и на антитела за *Treponema Pallidum* е 0,006%, а во периодот 2005 - 2011 година на ниво на Р. Македонија застапеноста на HBsAg е 0,54%, на анти-HCV е 0,19%, на анти-HIV е 0,06% и на антитела за *Treponema Pallidum* е 0,09%.

Од прикажаните резултати може да се види и разликата во застапеноста на HBsAg и анти-HCV кај крводарителската популација во РЦ за трансфузиона медицина во Штип. Направена е дескриптивна споредба на процентната застапеност кај позитивни крводарители и крводарители по првпат и фамилијарни крводарители.

По добивањето на позитивниот резултат на крводарителот на анти-HIV антитело, тој беше повторно повикан и притоа е констатирано дека се работи за маж на возраст од 24 години, кој одреден период бил на издржување затворска казна во КПУ „Идризово", каде што веројатно во тие услови бил инфициран. Немаме сигурен податок за тоа. Дарителот нема развиено клиничка слика за болеста. Позитивниот резултат е потврден во ИТМ – Скопје со Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) метода (имунолошко тестирање на микрочестички во два чекора) за квалитативно одредување на антитела на HIVp24 и антитела на човечкиот вирус на имунодефициенција тип 1 или тип 2 (HIV-1/HIV-2) во човечкиот серум или плазма на апаратот Abbott Diagnostics ARCHITECT 2000.

РЦ за трансфузиона медицина - Штип на сите иницијално реактивни дарители им упатува писмена покана на домашна адреса, повторно да се јават во службата. Кога ќе дојдат им се зема крв за повторно тестирање на ТТЗ, се советуваат и се упатуваат на

понатамошни испитувања во Одделението за инфективни болести во Штип.

Во нашата земја од вкупниот број дарувани единици крв, 90% се добиени од доброволни дарители, без надомест, додека останатите 10% се од фамилијарни дарители, кои се десет пати поризични и понесигурни од доброволните. Во ИТМ РЦ – Штип вкупно 96% од собраните единици крв се од доброволни дарители, а само 4% се фамилијарни дарители. Според препораките на СЗО и Советот на Европа, целата крв треба да се зема само од доброволни дарители. Статистичката анализа покажа дека постои значително помал процент на реактивност на резултатите од тестирањата за трансмисивни болести кај доброволните дарители во однос на фамилијарните дарители.

Ризикот од посттрансфузиска трансмисија е директно поврзан со употреба на крв и крвни продукти од крводарители кои даруваат крв по првпат, што може да се види и од резултатите на нашето истражување. Селекцијата на крводарителите е првиот чекор кон намалување на ризикот од трансмисија на инфективни агенси преку крв и крвни продукти, но зависи и од тоа дали се поставени правилни прашања на дарителите и дали се добиени искрени и вистински одговори.

Потребно е исклучување на крводарители со висок ризик за трансмисија на посттрансфузиски инфекции, крводарители кои прележале жолтица, дарители кои имале операција или примиле крв во последните шест месеци или се тетовирани во тој период или имале ризично сексуално однесување.

Во нашата студија дарители кои даруваат крв по првпат во голем дел се средношколци и студенти кои претставуваат и најголема опасност за пренесување на трансфузиски трансмисивни заболувања. Карактеристично за крводарителите кои даруваат по првпат е нивната возраст. Повеќе од 90% се на возраст од 18 до 21 година. Овој податок поттикнува интерес за понатамошно испитување и откривање на причините и ризик-факторите за висока преваленца на HBsAg и анти-HCV позитивни антитела кај оваа млада популациона група.

Според анализите на добиените резултати може да се заклучи дека Македонија спаѓа во земјите со ниска серопреваленција на HBsAg (во однос на Шпанија и на Романија), кога се работи за крводарителска популација. Во тие земји, независно од нивното јавно декларирање, се уште има платено крводарување. Кај нас процентот на застапеност на HBV и HCV кај дарителите би бил понизок кога би ги тестирале првократните дарители пред дарувањето (како што е случај во скандинавските земји).

Добиените резултати од застапеноста на HbsAg и анти-HCV во РЦ за трансфузиона медицина - Штип ќе ги споредиме со неколку трансфузиолошки служби во Република Македонија од периодот (2007-2009 год).

Штип – од вкупно 10.114 крвни единици: 97 (0,96%) се HBsAg позитивни; **Прилеп** – од вкупно 6.784 крвни единици: 112 (1,66%) се HBsAg позитивни; **Струмица** – од вкупно 4.603 крвни единици: 50 (1,10%) се HBsAg позитивни; **Воена болница - Скопје** – од вкупно 5.616 крвни единици: 48 (0,85%) се HBsAg позитивни; **Тетово** – од вкупно 6.341 крвна единица: 67 (1,04%) се HBsAg позитивни и во **Битола** – од вкупно 10.581 крвна единица: 35 (0,33%) се HBsAg позитивни.

Штип – од вкупно 10.114 крвни единици: 21 (0,18%) се анти-HCV позитивни; **Прилеп** – од вкупно 6.784 крвни единици: 44 (0,64%) се анти-HCV позитивни; **Струмица** – од вкупно 4.603 крвни единици: 27 (0,27%) се анти-HCV позитивни; **Воена болница - Скопје** – од вкупно 5.616 крвни единици: 2 (0,03%) се анти-HCV позитивни; **Тетово** – од вкупно 6.341 крвна единица: 25 (0,38%) се анти-HCV позитивни и во **Битола** – од вкупно 10.581 крвна единица: 35 (0,32%) се анти-HCV позитивни.

Застапеноста на HBsAg позитивни единици крв во РЦ за трансфузиона медицина - Штип е 0,96%, во Битола се бележи најнизок процент - 0,33%, а во Прилеп највисок - 1,66%. За анти-HCV антитела најниска е застапеноста во Воена болница во Скопје - 0,03%, а највисока во Прилеп - 0,64%, додека во Штип е 0,18%.

Во Службата за трансфузиологија во Воена болница- Скопје и РЦ во Битола тестирањата се работени на апарат „AXIM“; во Струмица во 2007 и 2008 година се работени со реагенси од „ABOTT” и „IMIX”, а во 2009 година се тестирани со „AXIM”, исто како и во Тетово. Во Прилеп се тестирани со реагенси од „ORGANON” и „ORTHO”.

Од прикажаните резултати се гледа дека постои разлика во застапеноста на HBsAg и анти-HCV антитела во прикажаните служби. Тоа делумно може да се објасни со разликата во користените тестови за анализа и со кој реагенс се работени.

За постигнување на висок степен на сигурност на трансфундираната крв и крвни продукти се потребни опременост на трансфузиолошките служби со современа апаратура, користење на високоспецифични и сензитивни тестови, добро обучени здравствени работници и доволно финансиски средства наменети исклучиво за таа цел.

Изборот на адекватен ELISA тест за прелиминарно тестирање на доброволни дарители на крв не е едноставна задача. Неопходно е при изборот на тестовите да се користат компаративни анализи на факторите кои влијаат на осетливоста и специфичноста.

- Осетливоста на плериминарниот тест е дефинирана со фреквенција на позитивни ELISA резултати добиени со тестирање на популација на вистински позитивни индивидуи.

- Специфичноста е својство на тестот неинфицирани ќесиња крв да ги означи како нереактивни. Вредностите на осетливост и специфичност декларирани од страна на производителот на тестот се движат меѓу 98,3% до 100% и од 99,2% до 100%. Иако овие вредности на прв поглед изгледаат многу импресивно во пракса е сосема поинаку. Тие во голема мера зависат од зачестеноста на инфективниот агенс во популацијата. Треба да се води сметка и за специфичноста, како би се намалил бројот на лажно реактивни резултати, не само заради економски причини (ќе се намали непотребното користење на скапи

потврдни тестови), туку и за да се избегне изложување на непотребен стрес за доброволните дарители.

Натамошното намалување на ризикот од болести преносливи со крв е преку воспоставување на многу строги индикации за правилна употреба на хомологна крв (донесен е Закон за безбедна крв) и во нудење на алтернативни форми на трансфузија – автологно дарување.

Во наредните години се очекува бројот на HBV инфекции да се намали, како резултат на спроведување на редовна вакцинација на новородените, почнувајќи од 2004 година. Вакцините се применуваат со техника на рекомбинантна DNA. Се аплицираат во три дози т.е. додека нивото на антитела не изнесува најмалку 100 единици. Пасивна имунизација против HBV се спроведува со специфичен хиперимун гамаглобулин кој содржи висок титар на анти-HBs антитела и голема заштитна моќ. Се дава профилактички кај лица кои биле изложени на можна инфекција (здравствени работници, новороденчиња родени од инфицирана мајка итн.).

Вакцина за заштита против инфекција со HCV до сега не е произведена. Превенција за пренос на HCV инфекција ќе се постигне со спречување на изложеност на вирусот и скрининг на дарителите на крв на присуство на анти-HCV антитела.

Голем број научноистражувачки центри во светот работат на откривање на вакцина против HIV, но заради комплексноста на вирусот се е останато на ниво на експеримент. Затоа, доброто познавање на епидемиологијата и патиштата на пренос на HIV инфекцијата ги одредува мерките на превенција.

Треба да се размислува во иднина за воведување редовна контрола на сите крвни единици со NAT метода за присуство на западнонилски вирус (WNV), бидејќи последните неколку години има значително појавување на болеста во Грција, Романија, Албанија и Израел. Преносител на болеста од човек на човек е тигрест комарец (Aedes albopictus mosquito), кој се смета за вектор на West Nile Virus (западнонилски вирус). Исто така, вирусот може да се пренесе и преку

дарувана крв, па затоа во иднина треба да се котролира секоја крвна единица.

6. Заклучок (Conclusion)

Резултатите од анализата за застапеност на HbsAg, анти-HCV антитела, анти-HIV и антитела на *Treponema Pallidum* кај крводарителите во ИТМ Регионален центар - Штип покажува низок процент на застапеност на трансфузиски трансмисивни заболувања.

Сигурна и безбедна крв и крвни компоненти се основа за современа трансфузиологија. За таа цел е потребно да се спроведат мерки за превенција од трансмисија на инфекциите со трансфузија на крв преку имплементација на стратегијата за сигурна крв и крвни компоненти во Р. Македонија, што значи голем чекор напред во обезбедувањето на доволни количини на сигурна крв.

Потребно е континуирано информирање на општата популација која е главен фактор за регрутирање на доброволни и неплатени т.е. безбедни крводарители. Со едукација на населението и дарителите се овозможува тие сами да се исклучат од дарување (доколку припаѓаат на некоја од ризичните групи). Задолжителна селекција на дарителите на крв, со детално земање на анамнестички податоци и преглед пред земање на крв (пополнување на прашалникот), како и висок приоритет во елиминација на фамилијарното дарување.

Неопходно е потребно зедолжително тестирање на секоја земена единица крв на трансмисивни маркери со високосензитивни и специфични тестови, редовно и континуирано снабдување на надлежните лаборатории со соодветни скрининг тестови и тестови за потврдување на реактивните примероци, усовршување и примена на методите за отстранување и инактивација на вирусите во крвните продукти, како и постојана едукација на здравствените работници кои работат во ИТМ и регионалните центри.

7. Користена литература (References and used literature)

1. Благоевска, М. *Актуелности во трансфузиологијата, Болести преносливи со трансфузија*, Македонска ризница - Куманово, 1997, стр.200, стр. 209-213.

2. Grgicevic, D., *Transfuziska medicina, Medicinska naklada*, Zagreb, 1995, стр.176.

3. Камчев, Н., Камчева, М., *Трансфузиски трансмисивни заболувања*, Народна библиотека, Штип, 2001, стр. 46, стр. 76-119, стр.181.

4. Камчев, Н., Камчева, М., *Трансфузиски аспекти на хепатитис Ц вирусна инфекција*, Народна библиотека, Штип, 2002, стр.165-172.

5. Стефановска, В., *Клеточни концентрати и плазма компоненти*, АД Младост, Кочани, 1997, стр.152.

6. Консензус за превенција, дијагностика, рационализирање на терапијата и мониторинг на пациентите со хепатитис Б и Ц во Р. Македонија, Македонска ризница, Куманово, 2004, стр.4, стр.11-26.

7. Интернет -

http://en.wikipedia.org/wiki/HIV

http://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C

http://en.wikipedia.org/wiki/HBsAg

http://www.zam.mk/index_2_files/hepatitis.pdf

http://www.infektivnaklinika.mk/pdf/Terapija_na_VH.pdf

http://www.moh-hsmp.gov.mk/fileadmin/user_upload/Dokazi/Hematologija.pdf

http://www.scribd.com/doc/

http://smk.mef.unizg.hr/dr/marinovic_b.pdf

http://www.liverdoctor.com/index.php?page=liver-problems&subpage=hepatitis-a-b-c

http://www.fzo.org.mk/WBStorage/Files/Infektivni%20i%20parazitski%20zabol uvanja.pdf

http://www.nvohepta.mk/HepatitisB.aspx?l=63

8. **Додаток (Accessories)**

БИДЕТЕ ДОБРОВОЛЕН ДАРИТЕЛ НА КРВ • BEVOLUNTARY BLOOD DONOR

ИНСТИТУТ ЗА ТРАНСФУЗИОНА МЕДИЦИНА
"Водњанска" 17, 1000 Скопје, Р.Македонија Тел: 02 3147-652; 3224-917; факс 02 3119-227
www.itm.org.mk

етикета за број на дар

ПРАШАЛНИК ЗА ДАРИТЕЛОТ НА КРВ /СОГЛАСНОСТ ЗА ДАРУВАЊЕ НА КРВ

Ве молиме на сите прашања да одговорите искрено, бидејќи истите се потребни за заштита на Вашето здравје, како и за максимална безбедност на лицето кое ја прима Вашата крв.
Установата за трансфузиона медицина гарантира за доверливоста на вашите податоци во текстот кој следи!

(Ве молиме обележете со X) **да не**

1. **Дали денес се чувствувате здрав-а?** ☐ ☐
2. **Дали последнава недела сте имале:** настинка, грип, болно грло, температура, инфекција? ☐ ☐
3. **Дали во последните 72 часа сте земале:** ☐ ☐
антибиотици, аспирин, стероиди, вакцина, вакцина против беснило (последната година), алкохол?
4. **Дали во последните 12 месеци сте имале:** тетовирање, дупчење на ушите, акупунктура, случајна повреда (убод) со игла или контакт на слузницата со туѓа крв? ☐ ☐
5. **Дали во последните 6 месеци сте имале било каква интервенција на забите?** ☐ ☐
6. **Дали во последните 3 месеци сте примиле серум?** ☐ ☐
7. **Дали во последните 12 месеци сте имале хируршки зафат или сте примале трансфузија?**
☐ голема операција ☐ мала операција ☐ трансфузија
8. **Дали боледувате или сте боледувале од некоја болест како:**
☐ туберкулоза
☐ ревматска грозница
☐ маларија
☐ срцеви болести, крвен притисок
☐ алергија
☐ астма, хроничен бронхит
☐ грчеви (конвулзии) или нервни болести
☐ шеќерна болест (инсулин зависна)
☐ малигни заболувања
☐ токсоплазмоза
☐ бруцелоза
☐ жолтица (Б/Ц)
☐ жолтило (во последната година)
☐ сексуално преносливи болести
9. **Дали се сомневате дека можеби сте заразени со:** ☐ ☐
маларија, сексуално преносива инфекција (сифилис, жолтица, ХИВ/СИДА)?
10. **Дали во последните 6 месеци сте забележале:**
необјасниво губење на тежината? ☐ ☐
повторувачки проливи? ☐ ☐
зголемени лимфни жлезди? ☐ ☐
лесно зголемена температура ☐ ☐
11. **Дали примате или сте примале дрога во вена?** ☐ ☐
12. **Дали сте имале сексуален однос без кондом со непостојан партнер?** ☐ ☐
13. **Дали во изминатите 12 месеци сте имале сексуални контакти со некој кој:** ☐ ☐
е ХИВ позитивен, имал жолтица, венски прима или примал дрога,
примал или прима пари или дрога за сексуален однос?
14. **Дали се сомневате дека во последно време сте консумирале месо, кое е заразено со кравско лудило?** ☐ ☐
15. **Само за жени:**
Дали сте бремени? ☐ ☐
Дали сте имале абортус во последните 3 месеци? ☐ ☐
Дали имате дете помало од 1 година? ☐ ☐
16. **Дали сте патувале/престојувале во странство последните 6 месеци?** ☐ ☐
Наведете каде:______________________________

Потврдувам дека:
Прашањата ги разбрав во целост. Свесен сум дека давањето на лажен одговор е сериозна работа и може да му наштети на примателот на крвта.
Разбрав дека:
а) Крводарувањето е доброволен чин, без присила и надомест.
б) Дарувањето на крв/крвни компоненти е медицинска постапка и дека со доброволното крводарување ги прифаќам можните ризици.
в) Мојата крв ќе биде тестирана на жолтица Б и Ц, ХИВ/СИДА, сифилис и други тестови потребни за обезбедување на сигурна крв.
г) Во случај резултатот од тестирањето да е позитивен, се согласувам да ми биде соопштен во доверливост и истиот да биде пријавен согласно Законот за заразни болести.
д) Се обврзувам да ги информирам во Институтот за трансфузиона медицина, во период од 24 часа, доколку после дарувањето одлучам мојата крв да не биде употребена за лекување.

Согласен сум доброволно да дарувам крв.

име и презиме на дарител	датум	потпис на доктор
______________	________	______________

Забелешки:

СИГУРНАТА КРВ ЗАПОЧНУВА СО ЗДРАВ ДАРИТЕЛ

Platereport / Results

Plate ID:	hbsag	Time:		OVER limit:	3.000
Operator:		Date:		Wavelengths:	450nm/650nm
Assay:	C:\BEP2000\Assaydefinitions\DB_HBsAg6-0.asy (A9E9)				

Kit	40517	060712
HBsAg 6.0 Conj1	4424	
HBsAg 6.0 Conj2	4425	
HBsAg 6.0 Neg	4426	
HBsAg 6.0 Pos	4427	
Chromogen TMB	4506	
Stopping solution POD	4504	
Washing solution POD		

Validation criteria

-0.0105<NCi<0.1505	-0.0105<0.008<0.1505
	-0.0105<0.007<0.1505
	-0.0105<0.007<0.1505
Valid(NC)>=2	3>=2
PCi>0.6995	1.37>0.6995
	1.442>0.6995
valid(PC)=2	2=2
NCi<(NC+0.05)	0.008<0.0573333
	0.007<0.0573333
	0.007<0.0573333
Valid(NC)>=2	3>=2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC1 0.008	1576 0.005	1584 0.005	1592 0.006	1600 0.005	1608 0.006						
B	NC2 0.007	1577 0.005	1585 0.004	1593 0.005	1601 0.004	1609 0.006						
C	NC3 0.007	1578 0.004	1586 0.005	1594 0.005	1602 0.007	1610 0.006						
D	PC1 1.370	1579 0.006	1587 0.006	1595 0.009	1603 0.011	pp1 0.006						
E	1572 0.010	1580 0.005	1588 0.011	1596 0.009	1604 0.005	pp2 0.055						
F	1573 0.005	1581 0.005	1589 0.004	1597 0.005	1605 0.005	PC2 1.442						
G	1574 0.005	1582 0.005	1590 0.005	1598 0.005	1606 0.005							
H	1575 0.004	1583 0.004	1591 0.004	1599 0.004	1607 0.005							

Qualitative Results

If 'Sample<NC+0.0495' Then Result:='-'
If 'Sample>NC+0.0495' Then Result:='+'
Default result := ?

Cutoff = (NC + 0.05) = 0.057

Combined Report

Results

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	s/co Ratio	Well Location	Flag
1572	0.010	-	0.17	E1	
1573	0.005	-	0.09	F1	

hbsag BEP2000 Version 1.23.4,BEP2000: Page 1 of 2

Број 1. Софтверски резултат за HBsAg

hbsag

1574	0.005	-	0.09	G1
1575	0.004	-	0.07	H1
1576	0.005	-	0.09	A2
1577	0.005	-	0.09	B2
1578	0.004	-	0.07	C2
1579	0.006	-	0.10	D2
1580	0.005	-	0.09	E2
1581	0.005	-	0.09	F2
1582	0.005	-	0.09	G2
1583	0.004	-	0.07	H2
1584	0.005	-	0.09	A3
1585	0.004	-	0.07	B3
1586	0.005	-	0.09	C3
1587	0.006	-	0.10	D3
1588	0.011	-	0.19	E3
1589	0.004	-	0.07	F3
1590	0.005	-	0.09	G3
1591	0.004	-	0.07	H3
1592	0.006	-	0.10	A4
1593	0.005	-	0.09	B4
1594	0.005	-	0.09	C4
1595	0.009	-	0.16	D4
1596	0.009	-	0.16	E4
1597	0.005	-	0.09	F4
1598	0.005	-	0.09	G4
1599	0.004	-	0.07	H4
1600	0.005	-	0.09	A5
1601	0.004	-	0.07	B5
1602	0.007	-	0.12	C5
1603	0.011	-	0.19	D5
1604	0.005	-	0.09	E5
1605	0.005	-	0.09	F5
1606	0.005	-	0.09	G5
1607	0.005	-	0.09	H5
1608	0.006	-	0.10	A6
1609	0.006	-	0.10	B6
1610	0.006	-	0.10	C6
pp1	0.006	-	0.10	D6
pp2	0.055	-	0.96	E6

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	s/co Ratio	Well Location	Flag
NC1	0.008	NC1	0.14	A1	
NC2	0.007	NC2	0.12	B1	
NC3	0.007	NC3	0.12	C1	

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	s/co Ratio	Well Location	Flag
PC1	1.370	PC1	23.90	D1	
PC2	1.442	PC2	25.15	F6	

09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Specimen Diluent (0014), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.3
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV neg. Control (8077), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.17
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV pos. Control (8076), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.18
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Conjugate (0011), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.4
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV substrate (0012), 9.4ml' manually assigned to posn. 12.5
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV stopping solution (0044), 2.4ml' manually assigned to posn. 9.9
09:27:06 <System>: Reagent 'Ortho HCV stopping solution' has been overfilled.
09:28:07 <System>: Reagent volume corrected.
11:19:43 <System>: System cover opened.
11:19:50 <System>: System cover closed.

BEP2000 Version 1.23.4 — BEP2000:
Printed on — Page 2 of 2

Број 2. Софтверски резултат за HbsAg

Printed on

Plate ID:	hcv	Time:		OVER limit:	3.000
Operator:		Date:		Wavelengths:	492nm/620nm
Assay:	C:\BEP2000\Assaydefinitions\Ortho HCV 3.0short.asy (3F59)				

Kit	EXE 201	300911
Ortho HCV Conjugate	0011	
Ortho HCV neg. Control	8077	
Ortho HCV pos. Control	8076	
Ortho HCV Specimen Diluent	0014	
Ortho HCV substrate	0012	
Ortho HCV stopping solution	0044	
Ortho Wash Buffer		

Validation criteria

B1>=-0.020	0.009>=-0.02
B1<0.0505	0.009<0.0505
NCi>-0.0055	0.003>-0.0055
	0.003>-0.0055
	0.003>-0.0055
valid(NC)>=2	3>=2
NCi<0.12005	0.003<0.12005
	0.003<0.12005
	0.003<0.12005
valid(NC)>=2	3>=2
PCi>NC+0.3305	0.616>0.3335
	0.822>0.3335
valid(PC)=2	2=2

Average blank = 0.009

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B1 0.009	1574 0.010	1582 0.046	1590 0.010	1598 0.011	1606 0.036						
B	NC1 0.012	1575 0.010	1583 0.009	1591 0.190	1599 0.010	1607 0.010						
C	NC2 0.012	1576 0.010	1584 0.010	1592 0.010	1600 0.023	1608 0.009						
D	NC3 0.012	1577 0.011	1585 0.010	1593 0.019	1601 0.011	1609 0.009						
E	PC1 0.625	1578 0.020	1586 0.011	1594 0.013	1602 0.010	1610 0.010						
F	PC2 0.831	1579 0.019	1587 0.015	1595 0.010	1603 0.011	pp1 0.011						
G	1572 0.011	1580 0.012	1588 0.013	1596 0.015	1604 0.009	pp2 0.010						
H	1573 0.008	1581 0.011	1589 0.020	1597 0.034	1605 0.011							

Qualitative Results

If 'Sample<((NC+0.330)*0.85)-0.0005' Then Result:='-'
If 'Sample>(NC+0.330)+0.0005' Then Result:='+'
Default result := ?

Cutoff = (NC+0.330) = 0.333
Retest range< = (NC+0.329) = 0.332
> = ((NC+0.330)*0.85) = 0.283

Combined Report

hcv BEP2000 Version 1.23.4,BEP2000: Page 1 of 2

Број 3. Софтверски резултат за анти-HCV

hcv

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	Well Location	Flag
1572	0.002	-	G1	
1573	-0.001	-	H1	
1574	0.001	-	A2	
1575	0.001	-	B2	
1576	0.001	-	C2	
1577	0.002	-	D2	
1578	0.011	-	E2	
1579	0.010	-	F2	
1580	0.003	-	G2	
1581	0.002	-	H2	
1582	0.037	-	A3	
1583	0.000	-	B3	
1584	0.001	-	C3	
1585	0.001	-	D3	
1586	0.002	-	E3	
1587	0.006	-	F3	
1588	0.004	-	G3	
1589	0.011	-	H3	
1590	0.001	-	A4	
1591	0.181	-	B4	
1592	0.001	-	C4	
1593	0.010	-	D4	
1594	0.004	-	E4	
1595	0.001	-	F4	
1596	0.006	-	G4	
1597	0.025	-	H4	
1598	0.002	-	A5	
1599	0.001	-	B5	
1600	0.014	-	C5	
1601	0.002	-	D5	
1602	0.001	-	E5	
1603	0.002	-	F5	
1604	0.000	-	G5	
1605	0.002	-	H5	
1606	0.027	-	A6	
1607	0.001	-	B6	
1608	0.000	-	C6	
1609	0.000	-	D6	
1610	0.001	-	E6	
pp1	0.002	-	F6	
pp2	0.001	-	G6	

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	Well Location	Flag
NC1	0.003	NC1	B1	
NC2	0.003	NC2	C1	
NC3	0.003	NC3	D1	

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	Well Location	Flag
PC1	0.616	PC1	E1	
PC2	0.822	PC2	F1	

09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Specimen Diluent (0014), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.3
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV neg. Control (8077), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.17
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV pos. Control (8076), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.18
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Conjugate (0011), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.4
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV substrate (0012), 9.4ml' manually assigned to posn. 12.5
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV stopping solution (0044), 2.4ml' manually assigned to posn. 9.9
09:27:06 <System>: Reagent 'Ortho HCV stopping solution' has been overfilled
09:28:07 <System>: Reagent volume corrected
11:19:43 <System>: System cover opened
11:19:50 <System>: System cover closed

BEP2000 Version 1.23.4
Printed on

BEP2000:
Page 2 of 2

Број 4. Софтверски резултат за анти-HCV

V.C. passed

Platereport / Results

Plate ID:	hiv	Time:		OVER limit:	3.000
Operator:		Date:		Wavelengths:	450nm/650nm
Assay:	C:\BEP2000\Assaydefinitions\DB_Integral-II.asy (A482)				

Removed wells: B6

Kit	40399	170512
HIV Integral II Samp Dil	4399	
HIV Integral II Neg	4398	
HIV Integral II Pos	4397	
HIV Integral II Conj 1	4395	
HIV Integral II Conj 2	4396	
Chromogen TMB	4506	
Stopping solution POD	4504	
Washing solution POD		

Validation criteria

0.500 <= PCi <= 2.6	0.5<=0.557<=2.6
	0.5<=0.671<=2.6
valid(PC)=2	2=2
-0.01<= NCi<= 0.2	-0.01<=0.02<=0.2
	-0.01<=0.025<=0.2
valid(NC)=2	2=2
NCi < ((PC*0.23)-0.0005)	0.02<0.14072
	0.025<0.14072
valid(NC)=2	2=2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC1 0.020	1577 0.014	1585 0.013	1593 0.011	1601 0.015	1609 0.012						
B	NC2 0.025	1578 0.015	1586 0.013	1594 0.015	1602 0.011	1610 0.013						
C	PC1 0.557	1579 0.011	1587 0.009	1595 0.011	1603 0.009	pp1 0.013						
D	1572 0.015	1580 0.011	1588 0.010	1596 0.011	1604 0.013	pp2 0.024						
E	1573 0.015	1581 0.011	1589 0.012	1597 0.014	1605 0.012	PC2 0.671						
F	1574 0.012	1582 0.015	1590 0.010	1598 0.010	1606 0.012							
G	1575 0.012	1583 0.012	1591 0.013	1599 0.012	1607 0.013							
H	1576 0.013	1584 0.014	1592 0.011	1600 0.010	1608 0.012							

Qualitative Results

If 'Sample<((PC*0.23)-0.0005)' Then Result:='-'
If 'Sample>=((PC*0.23)+0.0005)' Then Result:='+'
Default result := ?

cut off = (PC*0.23) = 0.141

Combined Report

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	Well Location	Flag
1572	0.015	-	D1	
1573	0.015	-	E1	
1574	0.012	-	F1	
1575	0.012	-	G1	

hiv BEP2000 Version 1.23.4,BEP2000: Page 1 of 2

Број 5. Софтверски резултат за анти-HIV

hiv

1576	0.013	-	H1	
1577	0.014	-	A2	
1578	0.015	-	B2	
1579	0.011	-	C2	
1580	0.011	-	D2	
1581	0.011	-	E2	
1582	0.015	-	F2	
1583	0.012	-	G2	
1584	0.014	-	H2	
1585	0.013	-	A3	
1586	0.013	-	B3	
1587	0.009	-	C3	
1588	0.010	-	D3	
1589	0.012	-	E3	
1590	0.010	-	F3	
1591	0.013	-	G3	
1592	0.011	-	H3	
1593	0.011	-	A4	
1594	0.015	-	B4	
1595	0.011	-	C4	
1596	0.011	-	D4	
1597	0.014	-	E4	
1598	0.010	-	F4	
1599	0.012	-	G4	
1600	0.010	-	H4	
1601	0.015	-	A5	
1602	0.011	-	B5	
1603	0.009	-	C5	
1604	0.013	-	D5	
1605	0.012	-	E5	
1606	0.012	-	F5	
1607	0.013	-	G5	
1608	0.012	-	H5	
1609	0.012	-	A6	
1610	0.013	*	B6	Clot detected
pp1	0.013	-	C6	
pp2	0.024	-	D6	

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	Well Location	Flag
NC1	0.020	NC1	A1	
NC2	0.025	NC2	B1	

Patient ID	O.D. Raw value	Evaluation	Well Location	Flag
PC1	0.557	PC1	C1	
PC2	0.671	PC2	E6	

09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Specimen Diluent (0014), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.3
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV neg. Control (8077), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.17
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV pos. Control (8076), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.18
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Conjugate (0011), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.4
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV substrate (0012), 9.4ml' manually assigned to posn. 12.5
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV stopping solution (0044), 2.4ml' manually assigned to posn. 9.9
09:27:06 <System>: Reagent 'Ortho HCV stopping solution' has been overfilled.
09:28:07 <System>: Reagent volume corrected.
09:47:36 hiv211011: Clot detected/Aspirate check failed in '1610'.
11:19:43 <System>: System cover opened.
11:19:50 <System>: System cover closed

BEP2000 Version 1.23.4
Printed on

BEP2000:
Page 2 of 2

Број 6. Софтверски резултат за анти-HIV

Platereport / Results

Plate ID:	syphilis	Time:		OVER limit:	3.000
Operator:		Date:		Wavelengths:	450nm/650nm
Assay:	C:\BEP2000\Assaydefinitions\DB_SYPH.asy (3DEC)				

Kit	40714	230912
Conjugate for Syphilis	3035	
Reference N for Syphilis	3037	
Reference P for Syphilis	3036	
Chromogen TMB	4506	
Stopping solution POD	4504	
Washing solution POD		

Validation criteria

0.6995<NCi<2.5005	0.6995<1.165<2.5005
	0.6995<1.027<2.5005
	0.6995<0.904<2.5005
	0.6995<0.932<2.5005
Valid(NC)>=3	4>=3
-0.0105<PCi<0.2005	-0.0105<0.037<0.2005
	-0.0105<0.037<0.2005
valid(PC)=2	2=2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC1 1.165	1575 1.301	1583 1.287	1591 1.344	1599 1.257	1607 1.328						
B	NC2 1.027	1576 1.254	1584 1.250	1592 1.290	1600 1.307	1608 1.318						
C	NC3 0.904	1577 1.281	1585 1.096	1593 1.187	1601 1.281	1609 1.339						
D	NC4 0.932	1578 1.255	1586 1.202	1594 1.338	1602 1.273	1610 1.418						
E	PC1 0.037	1579 1.231	1587 1.182	1595 1.296	1603 1.317	pp1 1.051						
F	1572 1.286	1580 1.234	1588 1.283	1596 1.278	1604 1.353	pp2 1.340						
G	1573 1.016	1581 1.228	1589 1.173	1597 1.425	1605 1.361	PC2 0.037						
H	1574 1.346	1582 1.313	1590 1.353	1598 1.394	1606 1.405							

Qualitative Results

If 'Sample>(NC*0.7)+0.0005' Then Result:='-'
If 'Sample<(NC*0.6)-0.0005' Then Result:='+'
Default result := ?

Cutoff = (NC*0.7) = 0.705
Retest range< = (NC*0.7) = 0.705
> = (NC*0.6) = 0.604

Combined Report

Results

Patient ID	O.D. Reader value	Evaluation	Well Location	Flag
1572	1.286	-	F1	
1573	1.016	-	G1	
1574	1.346	-	H1	
1575	1.301	-	A2	

syphilis BEP2000 Version 1.23.4,BEP2000: Page 1 of 2

Број 7. Софтверски резултат за Syphilis

syphilis

1576	1.254	-	B2
1577	1.281	-	C2
1578	1.255	-	D2
1579	1.231	-	E2
1580	1.234	-	F2
1581	1.228	-	G2
1582	1.313	-	H2
1583	1.287	-	A3
1584	1.250	-	B3
1585	1.096	-	C3
1586	1.202	-	D3
1587	1.182	-	E3
1588	1.283	-	F3
1589	1.173	-	G3
1590	1.353	-	H3
1591	1.344	-	A4
1592	1.290	-	B4
1593	1.187	-	C4
1594	1.338	-	D4
1595	1.296	-	E4
1596	1.278	-	F4
1597	1.425	-	G4
1598	1.394	-	H4
1599	1.257	-	A5
1600	1.307	-	B5
1601	1.281	-	C5
1602	1.273	-	D5
1603	1.317	-	E5
1604	1.353	-	F5
1605	1.361	-	G5
1606	1.405	-	H5
1607	1.328	-	A6
1608	1.318	-	B6
1609	1.339	-	C6
1610	1.418	-	D6
pp1	1.051	-	E6
pp2	1.340	-	F6

Patient ID	O.D. Reader value	Evaluation	Well Location	Flag
NC1	1.165	NC1	A1	
NC2	1.027	NC2	B1	
NC3	0.904	NC3	C1	
NC4	0.932	NC4	D1	

Patient ID	O.D. Reader value	Evaluation	Well Location	Flag
PC1	0.037	PC1	E1	
PC2	0.037	PC2	G6	

09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Specimen Diluent (0014), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.3
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV neg. Control (8077), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.17
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV pos. Control (8076), 0.1ml' manually assigned to posn. 6.18
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV Conjugate (0011), 10.2ml' manually assigned to posn. 12.4
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV substrate (0012), 9.4ml' manually assigned to posn. 12.5
09:25:46 <System>: 'Ortho HCV stopping solution (0044), 2.4ml' manually assigned to posn. 9.9
09:27:06 <System>: Reagent 'Ortho HCV stopping solution' has been overfilled.
09:28:07 <System>: Reagent volume corrected.
11:19:43 <System>: System cover opened.
11:19:50 <System>: System cover closed.

BEP2000 Version 1.23.4 BEP2000
Printed on Page 2 of 2

Број 8. Софтверски резултат за Syphilis

Виктор Вереса

Детекција на трансфузиски трансмисивни заболувања во изминатите десет години во Регионалниот центар за трансфузиона медицина во Штип

Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип