Bela Balint * Miroljub Trkuljić * Damir Grgičević

Krvlju prenosive bolesti
Hematogene transmisivne bolesti

- KRVLJU PRENOSIVE - TRANSMISIVNE BOLESTI PREDSTAVLJAJU VELIKU GRUPU INFEKTIVNIH BOLESTI ČIJI SE UZROČNICI NALAZE U KRVI DAVAOCA I PUTEM NJE MOGU SE PRENETI NA DRUGU OSOBU

- Kvalifikacija za davaoca krvi postala je dug i detaljan proces, moglo bi se reći „ **donorska inkvizicija“.** Ali da bi se zaštitio primalac od rizika transfuzije alogene krvi i davalac od povreda, kolekcija krvi zavisi od ovog sigurnosnog sistema i on treba da da odgovor na dva osnovna pitanja:
- **a)** da li će **krv uzeta od davaoca** u tom trenutku biti potencijalni rizik za **prenos bolesti primaocu,**
- **b)** da li će **donacija** od oko 450 ml. krvi u posmatranom trenutku, biti **štetna za davaoca krvi.**

NASTAVNI CILJEVI

- USLOVI ZA NASTAJANJE ZARAZE - BOLESTI
- BOLESTI KOJE SE PRENOSE PUTEM KRVI
- LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA UZROČNIKA
- MERE PREVENCIJE I ZAŠTITE

USLOVI ZA NASTAJANJE ZARAZE - INFEKCIJE

- **Sastav i funkcija krvi nisu potpuno poznati,** uprkos više decenijskom intenzivnom istraživanju, i dugom uspešnom transfuzijskom lečenju.
- U krvi se, uz krvne ćelije, proteine, lipide, mineralne materije, vode, mogu nalaziti i uzročnici raznih zaraznih i krvlju prenosivih bolesti. Neki od njih su poznati odavno: Treponema pallidum, Citomegalovirus, a neki su otkriveni poslednjih decenija.
- Samo su neki uzročnici zaraznih bolesti **veliki javno** – zdravstveni problem. To su: retrovirusi, virusi hepatitisa B i C. Većina njih je samo **sporadično** opasna ili nosi potencijalnu opasnost od zaraze, uzročnicima krvlju prenosivih bolesti u transfuzijskom lečenju, kao sto je virus zapadnog Nila, SARS, korona virusi.

- Transfuzija krvi ili produkata od krvi jedan je od načina prenošenja različitih infektivnih bolesti. Izazivači se mogu svrstati u tri sledeće grupe:
- **1. GRUPA**
- **VIRUSI :**
- Virusi uzročnici svih hepatitisa A,B,C, D, E
- Herpes virusi
- Retrovirusi
- Parvovirus B -19
- Virus Zapadnog Nila

2. GRUPA

- **BAKTERIJE:**
- Treponema pallidum - Spiroheta
- Staphylococcus epidermidis
- Staphylococcus aureus
- Salmonella
- Escherichia coli
- Pseudomonas aeruginosa
- Streptococus speciens

- **3. GRUPA** :

- **PARAZITI:**

- Plasmodium
- Toxoplasma gondii
- Leishmania
- Trypanosoma crusi
- Bolesti izazvane Prionima „ kravlje ludilo“

- Znanje o krvi je ograničeno. Isto tako su nedovoljna saznanja o uzročnicima zaraznih bolesti, koji su stalno ili prolazno prisutni u krvi. Uzročnici zaraznih bolesti mogu biti:

1. **stalno prisutni u krvi** (latentna infekcija, aktivna, hronična)
2. **prolazno prisutni u krvi** (viremije, bakterijemija)
3. **prisutni na koži davaoca ili bolesnika**
4. **prisutni na rukama osobe koja izvodi venepunkciju**
5. **prisutni u neposrednoj okolini,** kao što je vodeno kupatilo, radni stolovi, kateteri, kabine sa kontaminiranim opasnim materijama.

- Između zaraze i mjerlive pojave uzročnika, odnosno virusa ili virusnih markera, ili pak antitela kao imunološkog odgovora organizma na zarazu, postoji razdoblje, **dijagnostički prozor**, tokom kojeg nije moguće dokazati zarazu.
- Zbog toga kada je krv uzeta od davaoca u dijagnostičkom prozoru moguća je zaraza sa uzročnicima krvlju prenosivih bolesti uprkos pregledu i laboratorijskom testiranju davaoca krvi na te uzročnike.
- U nekim slučajevima mogu u krvi davaoca biti prisutni virusi i specifična antitela, onda ta specifična antitela neutraliziraju viruse. **Testovi su negativni.**

- Ipak transfuzijom uzrokovana zarazna bolest je **retka** pojava. Zašto je to tako?
- **Bolest je rezultat interakcije između koncentracije (broja patogenih uzročnika u krvi), vrste uzročnika, skladištenja, proizvodnja lekova, imunološkog statusa davaoca i bolesnika, i njihove otpornosti na zarazu ili bolest.**
- Za razvoj bolesti važne su:

1. **osobine bolesnika** koji je primio transfuziju, dob, opšte stanje, imununološka kompetentnost, težina osnovne bolesti
2. **osobine uzročnika** krvlju prenosive bolesti – virulentnost
3. **lekovi** kojima je lečen bolesnik

- Vrlo često zaraza uzrokovana transfuzijskim lečenjem ne postane **klinički manifestna** ili se ne prepozna. Simptomi često promaknu, jer je često osnovna bolest koja zahteva transfuzijsko lečenje dominantna, ili simptomi te osnovne bolesti prekrivaju simptome krvlju prenosivih bolesti.
- Bolesnici koji su primili transfuziju, često su lečeni antibioticima koji pomažu eliminaciju ili potpuno uklanjaju transfuzijom unesene štetne mikroorganizme.
- Osim ovoga na zaraznost komponenti i manifestaciju bolesti utiče i antimikrobno delovanje davaočeve krvi i /ili bolesnikove krvi.

- Primer takve infekcije je EBV, kojim je inficirano više od 90% odraslih osoba u svetu, ili citomegalovirus čija je prevalenca od 60 do 80% u svetu, pa nakon njihove transmisije bolest ne nastane.
- U krvi bolesnika koji je ranije zaražen, mogu se nalaziti uzročnici ili markeri krvlju prenosivih bolesti, te samo nijhov nalaz nije dovoljan dokaz da je infekcija izazvana transfuzijom.
- Uzročnik virus zapadnog Nila ima fazu viremije od 1 do 3 dana koja sledi nakon kratke inkubacije. Krv zaražene osobe (osoba može biti bez simptoma bolesti) u tom je razdoblju zarazna, kao i hemoprodukti koje su od nje proizvedeni. Transfuzija takvih komponenti može izazvati zarazu ako bolesnik nema u krvi antitela koja će to sprečiti.

- Međutim između zaraze i merljive pojave uzročnika, odnosno virusa ili virusnih markera ili pak antitela kao imunološkog odgovora organizma na zarazu, postoji razdoblje: **dijagnostički prozor** tokom kojeg **nije moguće dokazati zarazu.**
- I zbog toga kada je krv od davaoca uzeta u vreme dijagnostičkog prozora, moguća je zaraza ili infekcija sa uzročnicima krvlju prenosivih bolesti, uprkos pregledu i laboratorijskom testiranju davaoca na te uzročnike **(testovi negativni).** Zato je u transfuzijskom lečenju neophodan oprez i razmišljanje o transfuziji kao mogućem uzroku zaraze.
- Kao što je za svađu potrebno dvoje, isto tako i za **bolest** potrebni su **mikroorganizmi** i njegov **domaćin.**

- Pozornost javnosti najviše zaokupljaju zaraze krvlju prenosivih bolesti koje imaju nisku prevalenciju, dugu inkubaciju i letalan ishod. Odnos laika i velikog dela medicinskih radnika, nekritički i emocionalno je obojen prema zarazi sa HIV-om ili virusima hepatitisa i **ne temelji se na realnoj proceni rizika.** Mere koje se provode na suzbijanju ovih infekcija su emocionalno obojene, upravo zbog društvenog značaja, javnog mišljenja i neodgovarajuće percepcije su ne stručno utemeljene.

- **Rizik** je čoveku teško pojmljiv pojam i često se menja sa neposrednom opasnošću. **Stigma** koja prati određenu bolest uzrok je iracionalnog odnosa prema zarazi.

- Osobe zaražene sa HCV-om njih 20 -30% spontano će ili nakon lečenja eliminisati uzročnike zaraze.

- Život bolesnika zaraženog sa HIV-om, nakon rano započete terapije znatno je produžen. Radi navedenog, zaraza ovim virusima ne skraćuje znatno očekivanu životnu dob starijih bolesnika.
- Sa druge strane jedna komponenta koncentrovanih **trombocita zaražena bakterijama** može izazvati **sepsu,** posledice daleko veće , nego kod virusnih infekcija. No spomen bakterijske zaraze i sepse ne izaziva strah kod stanovništva kao spomen HIV-a ili hepatitisa. Iako je rizik od sepse i smrti znatno viši nego od virusnih infekcija, a posebno se to odnosi na akutne i teške bakterijske infekcije. Zbog stigme i krive percepcije koja ga prati bolesnik se više plaši infekcije virusima nego bakterijama.

- Veliki rizik takođe je rešavanje **zamene identiteta** u transfuzijskom lečenju, što uzrokuje više od 50% teških nuspojava i komplikacija .
- Prof. Dr. Damir Grgičević

Bakterijske zaraze - infekcije

I pored svega, **prenošenje bakterija** sa transfuzijama događa se i ostaje **glavna** komponenta morbiditeta i mortaliteta koji se povezuje sa infekcijama prenesenim transfuzijama.

- Bakterijska zaraza transfuzijama krvi i krvnim derivatima opisana je još 1839 god. Dugo se smatrala najvažnijim uzrokom bolesti prenosivih transfuzijama krvi i krvnih derivata. Uvođenjem preventivnih specifičnih mera smanjuju se virusne infekcije u transfuzijskoj medicini, no **učestalost bakterijske zaraze znatnije se ne menja.**
- **Bakterijska zaraza tako je postala jedna od najznačalnijih nuspojava transfuzijskog lečenja, i najznačajniji uzrok smrti.**
- **Trombocitne transfuzije** imaju znatno **veći** rizik od bakterijske zaraze nego **eritrocitne** transfuzije.

Sigurnost

- Uvođenje sterilnih plastičnih kesa – **zatvoren sistem** sprečava ulazak bakterija.
- Čuvanje komponenata krvi na **+4C** ima - sadrži **baktericidno** ili bakteriostatsko dejstvo za većinu bakterija.
- Neke zemlje uvele su **nacionalni sistem** za praćenje podataka o pojavi infekcija prenošenih transfuzijama.

- Prevalenca **bakterijske sepse** nakon transfuzija nije utvrđena, ali se smatra da se može razviti u 1/6 transfundovanih kontaminiranih jedinica.
- Rizik od smrti – 1:7500 do 1: 100 000

- Stopa bakterijske kontaminacije kod puliranih jedinica trombocita iznosi od 0,5% do 0,7%
- Kod jedinica trombocita od 0,04% do 10%
- Kod jedinica eritrocita od 0,002% do 1%

Kako sprečiti kontaminaciju

- Bolji skrining davaoca krvi
- Dobra dezinfekcija mesta uboda
- Prvi mlaz krvi
- Procesuiranje i skladištenje (sistem kesa)
- Detekcija bakterija
- Sistem za redukciju – inaktivaciju patogena

Klinički kriterijumi

- Prisustvo bilo kog navedenog novog znaka ili simptoma bolesti tokom 4h nakon transfuzije
- Temperatura veća od 39C , ili promena za 2C od vrednosti pre transfuzije
- Groznica – drhtavica
- Tahikardija veća od 120 u minuti ili promena od 40 otkucaja pre transfuzije
- Porast ili pad krvnog pritiska preko 30 mm Hg (sistolni)

- Transfuzije **bakterijama** kontaminiranih hemo-produkata mogu uzrokovati kod primaoca:

1. **kontaminaciju koja prolazi bez simptoma**
2. **prolaznu bakterijemiju**
3. **kliničke simptome sepse**
4. **endotoksični šok i smrt**

- Kontaminacija hemoprodukata **gram negativnim** bakterijama povećava opasnost od endotoksičnog šoka. Rizik zavisi od davaoca: **1**. ako ima kontaminaciju kože na mestu flebotomije, **2.** ili pak ima prolaznu bakterijemiju, **3**.ili je hemoprodukt kontaminiran tokom proizvodnje.

- Bakterje kontaminiraju derivat, a zbog **sobne temperature** i duge pripreme bolesnika za transfuziju, stvaraju se uslovi za njihovo brzo razmnožavanje.
- **Svako povišenje temperature više od 1C** tokom i nakon transfuzije treba da pobudi sumnju na bakterijsku zarazu. Dijagnoza se potvrđuje izolacijom bakterija iz krvnog derivata ili bolesnikove krvi. Transfundirani bolesnici često zbog osnovne bolesti imaju tresavicu i povišenu temperaturu pa se ovo zanemaruje.
- Opasnost od ove vrste infekcije imaju bolesnici sa poremećajem u imunitetu.
- **Nije definisano koje su bakterije i koliki mora biti njihov broj u hemoproduktu da bi nastala bakterijska zaraza**.

- Najveću opasnost za bakterijsku zarazu imaju hemoprodukti: **koncentrovani trombociti** bez obzira da li su pulirani ili uzeti sa separatora i **mononukleari – leukociti.**
- Uvođenje sterilnih plastičnih kesa – zatvoren sistem sprečava ulazak bakterija. Ali prilikom centrifufiranja i manipulacije sa kesama praveći koncentrovane trombocite, takođe njihovo skladištenje na temperaturi od +22+/- 2 C na tresilici pogoduje razvoju bakterija. **Znači propisana temperatura skladištenja pogoduje ubrzanom razvoju bakterija i to gram negativnih.**

- **Koncentrovani trombociti** se po svim pravilima i važećim procedurama skladište i čuvaju na električnoj tresilici **5 dana na temperaturi od +22C.**
- Produženje roka do 7 dana preporučuje se uz ispitivanje sterilnosti i redukciju kontaminacije.
- Neophodno je izvršiti po važećoj proceduri obradu kubitalne jame gde će se izvršiti punkcija, da bakterije koje su prisutne na koži odstranimo. Takođe uzimaju se uzorci trombocita prvi dan, te četvrti dan da se ispita sterilnost na mikrobiologiji.
- Ukoliko su nalazi sterilni može se izvršiti **produženje** roka na 7 dana.

IZAZIVAČI INFEKCIJE

- Coagulasa- negative Staphylococus (2-6C)
- Streptococus speciens
- Escherchia coli
- Enterobacter speciens
- Salmonela
- Yessinia enterocolitica – gram neg. (2 -6C)
- Klebsiela pneumonije

- Od ukupnog broja zaraženih trombocitnih hemoprodukata, 87% trombocitnih koncentrata kontaminirano je sa **aerobnim** bakterijama. Teške posledice nastaju posle infekcije sa **Staphilococcus epidermidis, Aureus, Corinebacterium, Klebsiela pneumonie, Streptokoki i gram negativni bacili.**
- Većina **aerobnih** bakterija otkriva se unutar **24h** od nasađivanja kulture, a za dokaz **anaerobne** kontaminacije potrebno je **96h.**
- Vreme koje je potrebno za dokazivanje zavisi o broju bakterija u hemoproduktu, i dan uzimanja uzorka. **Najveći broj mikroorganizama je drugi i treći dan od infekcije.**

- **LEUKOCITI – polimorfonukleari** dobijaju se iz Baffycoat ili putem separatora. Njihova proizvodnja zahteva komplikovanu proceduru, jer se u pojedinačnoj kesi nalazi jako mali broj leukocita. Za terapijsku dozu neophodno je najmanje 6 davalaca ili više, što zavisi od telesne težine bolesnika.
- Leukociti sa separatora su komotniji i **nose manji rizik,** kako od senzibilizacije, tako i od zaraze.
- Dobijeni na bilo koji način čuvaju se na temperaturi od +22C svega 24sata. Indikacija je sepsa, (izazvana gram negativnim bakterijama), agranulocitoza, rezistencija na antibiotike širokog spektra i posle citostatske terapije.

- **ERITROCITI:** Poslednjih 30 godina bakterijske infekcije uzrokovane **transfuzijom eritrocita, znatno su ređe.** To je sigurno posledica uvođenja jednokratnih plastičnih vrećica, te proizvodnja hemoprodukata **u zatvorenom sistemu, bez dodira sa spoljnjom sredinom.**
- Rizik od sepse sa transfuzijom eritrocita je znatno smanjena, ali vrlo **često ima težak tok** i visok mortalitet.
- Najčešći uzročnici bakterijske zaraze koncentrovanih eritrocita su **gram negativne bakterije,** koje rastu i razmnožavaju se na temperaturi **uskladištenja eritrocita a to je +4C.** Čuvanje komponenti na +4C ima baktericidno ili bakteriostasko dejstvo za većinu bakterija.

SIFILIS

Sifilis je venerično oboljenje koje prouzrokuje Treponema palidum. U određenim stadijumima bolesti, treponema se nalazi u krvi, pa se transmisivno može preneti na zdrave osobe. Osnovni put prenošenja je **venerični,** seksualni, a može i **neveneričnо** širenje putem krvi.

- Treponema pallidum ima fleksibilan, gram-negativan tip ćelijskog zida, sastavljen od peptidoglicinskog omotača i citoplazmatske membrane. Spoljni omotač sadrži **antigenske proteine** bakterija. Posle infekcije treponemom, ispoljavanje bolesti prolazi kroz tri faze:

- **primarni sifilis,** nakon prvog kontakta spiroheta dospeva u limfni sistem, ostavljajući leziju ulaska punu treponema
- **sekundarni sifilis,** primarna lezija zarasta, a javljaju se sekundarne promene po koži i mukoznim membranama gde postoji visok stepen infektivnosti, pošto je mesto puno spiroheta. U ovoj fazi je moguće neveneričnо širenje infekcije, jer se **uzročnik nalazi u krvi.**
- **tercijalni sifilis,** može da se pojavi nakon 5 do 40 godina od infekcije. Lezija se javlja u centralnom nervnom sistemu (CNS), ili u kardiovaskularnom sistemu, gde izaziva izrazita trajna oštećenja.

- Sifilis se može preneti i **kongenitalno.** Treponema prolazi kroz placentu i inficira fetus, što dovodi do smrti ploda ili se novorođenče rađa sa kongenitalnim sifilisom.
- **Serologija** predstavlja osnovni laboratorijski metod u dijagnostici sifilisa. Koriste se dve vrste testova: nespecifični i specifični .

- **Specifični testovi TPHA** – treponema pallidum hemaglutinacioni test, zatim fluorescentni test na prisustvo antitela protiv treponeme i enzimoimuni test-EIA koji koriste kao antigen treponemu, čime se **detektuju specifična antitela.**

  Nespecifični testovi su: VDRL, koristi se supstanca kadiolipidi za detekciju antitela na prisustvo Treponeme.

- Skladištenje krvi na temperaturi od + 4 do 6 C uglavnom se eliminiše mogućnost transmisije sifilisa transfuzijom. (nakon 48h dolazi do promene antigenskog omotača, ne izaziva infekciju .)

- Prvi slučaj transfuzijom prenetog sifilisa zabeležen je 1915god, ali do 1941god. publikovano je 138 slučajeva.
- Faktori rizika za prenos sifilisa su promiskuitetno ponašanje, naročito muški homoseksualni odnosi.
- Uvođenje i stalno poboljšavanje testova za rutinsko testiranje davalaca dovelo je do toga da se danas sifilis transfuzijom prenosi izuzetno retko.
- U Engleskoj i SAD imaju prijavljena 2 slučaja za poslednjih 30 godina.
- Bez obzira na pojedina mišljenja da bi trebalo izbaciti **testove na sifilis,** iako nije skupo testiranje, kao i prisustvo endemskih područja na našim prostorima, treba ga obavezno **zadržati.**

VIRUSNE INFEKCIJE

- Zdravstveni radnici izloženi su riziku od izlaganja različitim infekcijama, koje kod njih mogu izazvati bolest, ili se mogu preneti od njih na drugo osoblje ili bolesnike. Prevencija širenja infekcije često zahteva „ **prekid lanca infekcije“,** što znači **prekinuti normalni put prenosa infekcije.**

- **Hematogene transmisivne bolesti predstavljaju grupu infektivnih bolesti čiji uzročnici se nalaze u krvi i putem nje mogu se preneti na drugu osobu.** Uslovi za moguće prenošenje nekog od infektivnih uzročnika krvlju su:

- **prisustvo uzročnika u krvi** – plazmi ili krvnim ćelijama,
- **odsustvo kliničkih simptoma** karakterističnih za određenu bolest kod inficirana osobe ili davaoca krvi.

- Dali će do infekcije doći zavisi od **količine i koncentracije uzročnika**, a isto tako i **od stanja imunog sistema osobe** koja je bila u kontaktu sa inficiranom krvlju. Ovim putem mogu biti prenesene različite bolesti uzrokovane mikroorganizmima (bakterije, paraziti i virusi).
- Međutim najčešća su oboljenja izazvana virusima kao što su hepatitisi i AIDS, zbog čega treba maksimalno unaprediti sve mjere i postupke u cilju prevencije ili zaštite od mogućih infektivnih komplikacija osoblja zaposlenih u svim zdravstvenim ustanovama.

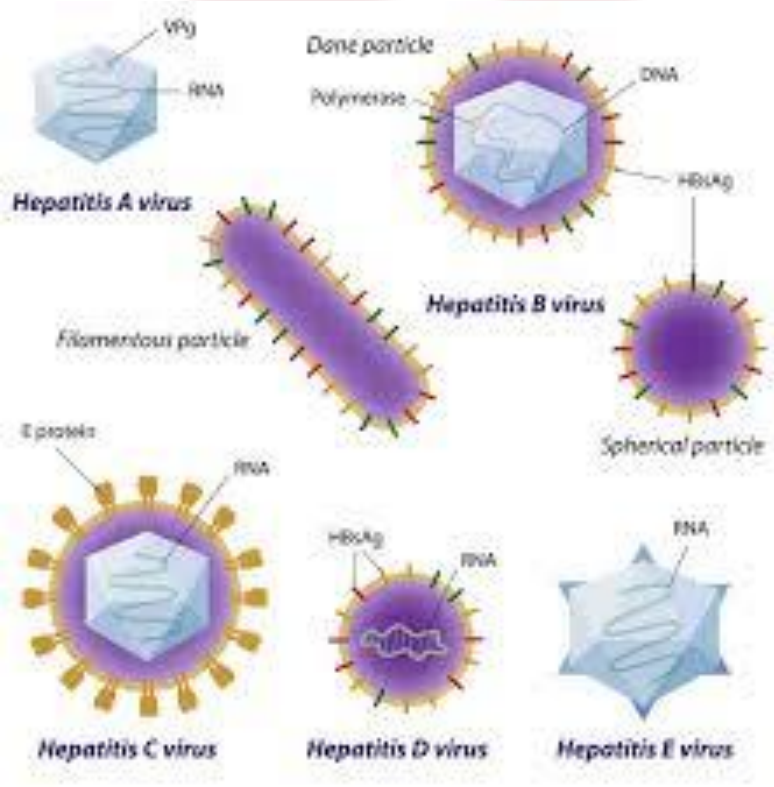
HEPATITISI

- Od mnogih infektivnih i neinfektivnih agenasa koji mogu da izazovu **inflamaciju jetre,** poznatu kao hepatitis, najčešći su **virusi.** Do sada je otkriveno 9 takvih virusa: dva su iz grupe herpes virusa, citomegalovirus, Epstein-Barov virus, i ostali hematotropni virusi.
- Jedna od njihovih karakteristika jeste **različita učestalost** u različitim **geografskim područjima** kao i različita učestalost prelaska oboljenja u **hronične oblike.** Godine 1947, Callum i saradnici su predložili da se poznati virusni hepatitisi označe kao **A - infektivni hepatitis** i **B – serumski** hepatitis. Kasnije nastaje druga podela koja deli ova oboljenja prema epidemiološkom značaju:

- **enteralna ili epidemijska vrsta**
- **parenteralna vrsta hepatitisa**

Virusi uzročnici hepatitisa

- Primarno hepatotropni virusi: HAV, HBV, HCV, HDV; HEV,
- Primarno nehepatotropni virusi: HSV1 i 2, CMV, EBV, HHV 6, Adenovirusi, Enterovirusi, Morbilli virus, Rubella virus, Flavivirusi, Filovirusi.....



HEPATITIS TIPA A

- Virusolika čestica ili HAV je **mali RNK virus – bez kapsule,** i pripada familiji picorna virusa.
- Infekcija HAV-om je relativno široko rasprostranjena u svetu, a stepen ekspozicije prema ovoj virusnoj infekciji varira u raznim delovima sveta, u zavisnosti od socijalno-ekonomskih uslova života i opšte zdravstvene prosvećenosti stanovništva.
- Period inkubacije HAV-om **iznosi 28 dana.** Prisustvo virusnih čestica je dokazano u **stolici, krvi i urinu.** Faza viremije je kratka i obično se javlja 25 do 28 dana pre pojave manifestacije bolesti. HAV se u stolici detektuje neposradno posle infekcije, sa svetlo obojenom stolicom i tamnom mokraćom.

- **Antitela anti-HAV klase IgM** su detektabilna u serumu osoba od **treće do sedme** nedelje bolesti i perzistiraju do 4 meseca posle infekcije. Antitela **IgG pružaju višegodišnju** imunost.
- Iako ima podataka o posttransfuzijskom hepatitisu izazvanim HAV, nakon transfuzije eritrocita ili plazme, zbog kratkog perioda viremije, ipak ovaj tip hepatitisa **veoma je reka** pojava.
- Inače , kod 50 – 60% dobrovoljnih davalaca krvi su prisutna antitela na ovu vrstu hepatitisa.
- Što se tiče inaktivacije virusa treba napomenuti da njegova ekspozicija **povišenoj temperaturi uništava virus.**
- Rastvarači – **deterdženti nisu efikasni,** jer virus nema omotač.

Hepatitis tip B

- **Izaziva HBV** virus koji pripada familiji hepadnaviridae. Blumberg je ovaj antigen identifikovao t.j označio kao površinski antigen – **HbsAg.**
- Glavni protein viriona označen je kao površinski antigen, koji stvaraju ćelije inficirane virusom. On sadrži lipidnu komponentu i tri polipeptida, ali ne i DNK, što znači da je to neinfektivna komponenta HBV-a.
- Plazmatska koncentracija ove komponente je obično znatno veća od koncentracije „ kompletne čestice“ HBV-a. S obzirom na to da je **HbsAg dobar imunogen, a nije infektivan,** upotrebljen je pri izradi vakcine protiv hepatitisa tipa B.

- Ispitivanje prisustva **HbsAg u serumu osoba se izvodi EIA** testovima, a pored toga može se dokazati u citoplazmi hepatocita pomoću imunoelektronskog mikroskopiranja.

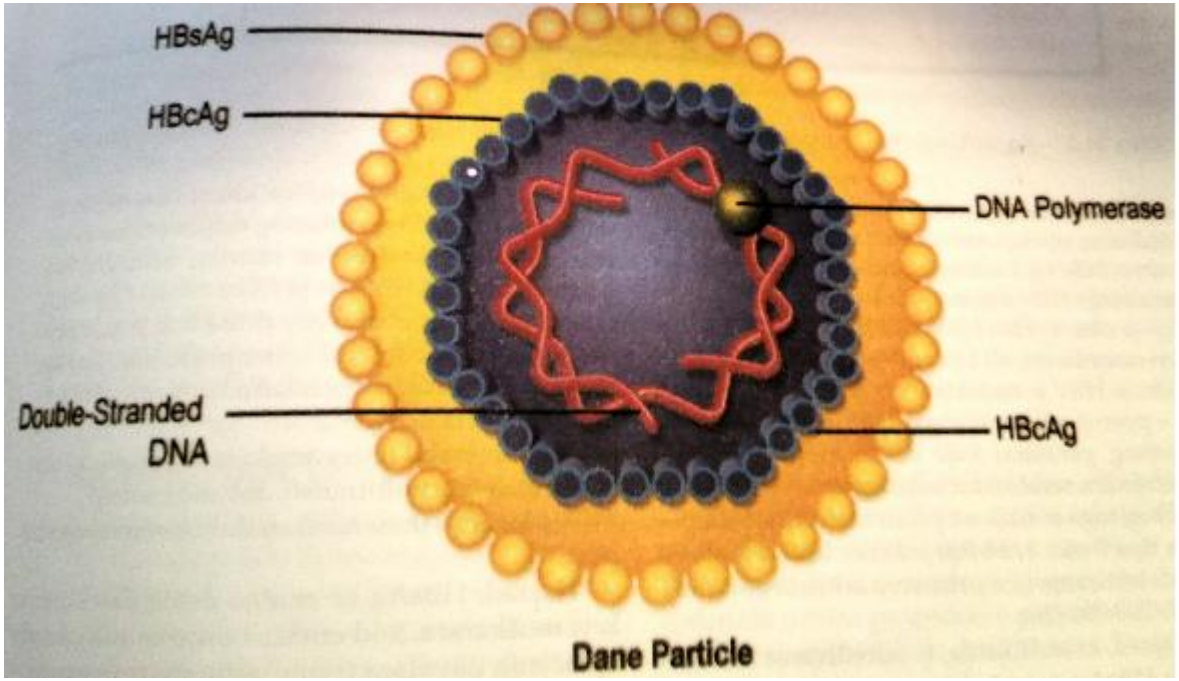
- Period **inkubacije** za hepatitis izazvan HBV-om traje oko **50-I80 dana.** Tokom ovog perijoda nema manifestnih, odnosno tipičnoh simptoma bolesti, ali virus može biti prisutan u krvi bolesnika, ili

- potencijalnih davalaca krvi. Početni simptomi infekcije HBV-om su **nespecifični:** muka, gađenje, povraćanje, anoreksija i artralgija, dok neke osobe navode „ gubitak želje za kafom i cigaretama“.

- Simptomi i znaci oboljenja, kao što su groznica, osip i žutica javljaju se već tokom akutne faze infekcije, ali njihova težina i trajanje je vrlo različito.

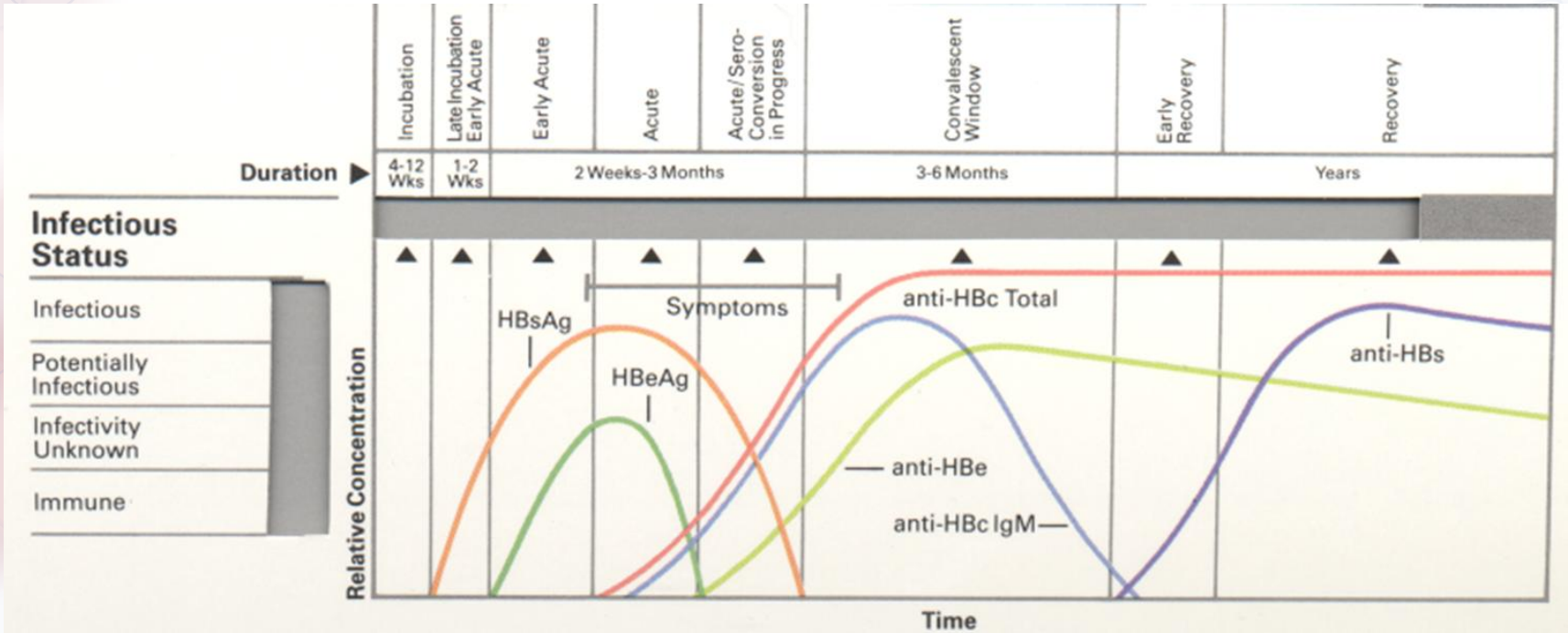
- Jako je izražena **žutica, tamna mokraća,** opšta slabost i bolovi u trbuhu. Izgleda da oštećenje jetre nije funkcija samo virulencije infektivnog agensa, već zavisi i od stanja imunog sistema bolesnika. Kod manjeg broja inficiranih osoba infekcija može da prođe asimptomatski, t.j, **bez izraženih simptoma.**

- **Laboratorijska dijagnoza: otkrivanje infekcije HBV-a podrazumjeva izvođenje specifičnih seroloških** testova kojima se dokazuje prisustvo različitih markera infekcije. Akutna infekcija se karakteriše pojavom **HbsAg-a**, HbeAg-a, i specifične DNK HBV-a, odnosno polimeraze DNK. Nakon toga u cirkulaciji inficiranih osoba pojavljuje se antitijelo **anti-HBc,** najpre klase IgM, a zatim IgG.



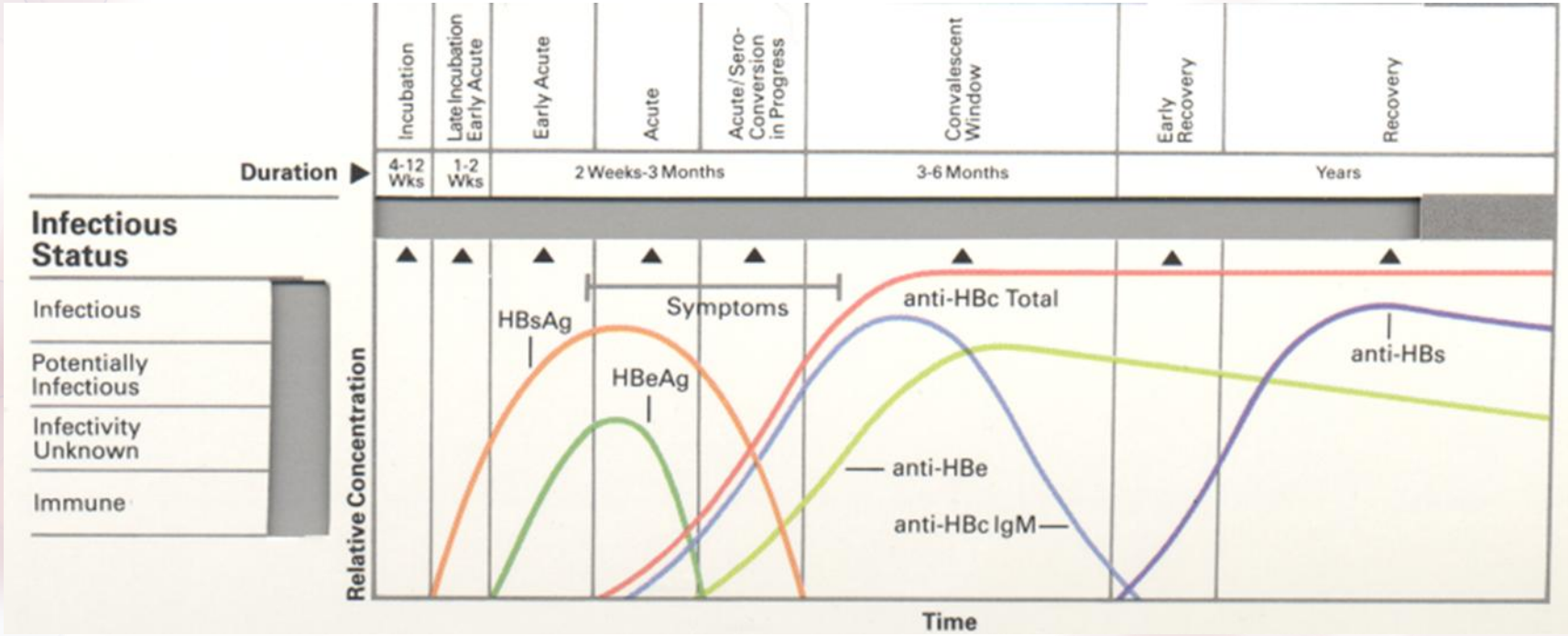
Hbs Ag

- prvi detektabilni Ag, već tokom inkubacije se detektuje, vrhunac tokom akutne faze
- znak je virusne replikacije
- javlja se tokom akutne infekcije i hronične repilkativne infekcije
- obavezan na testiranju za davaoce krvi



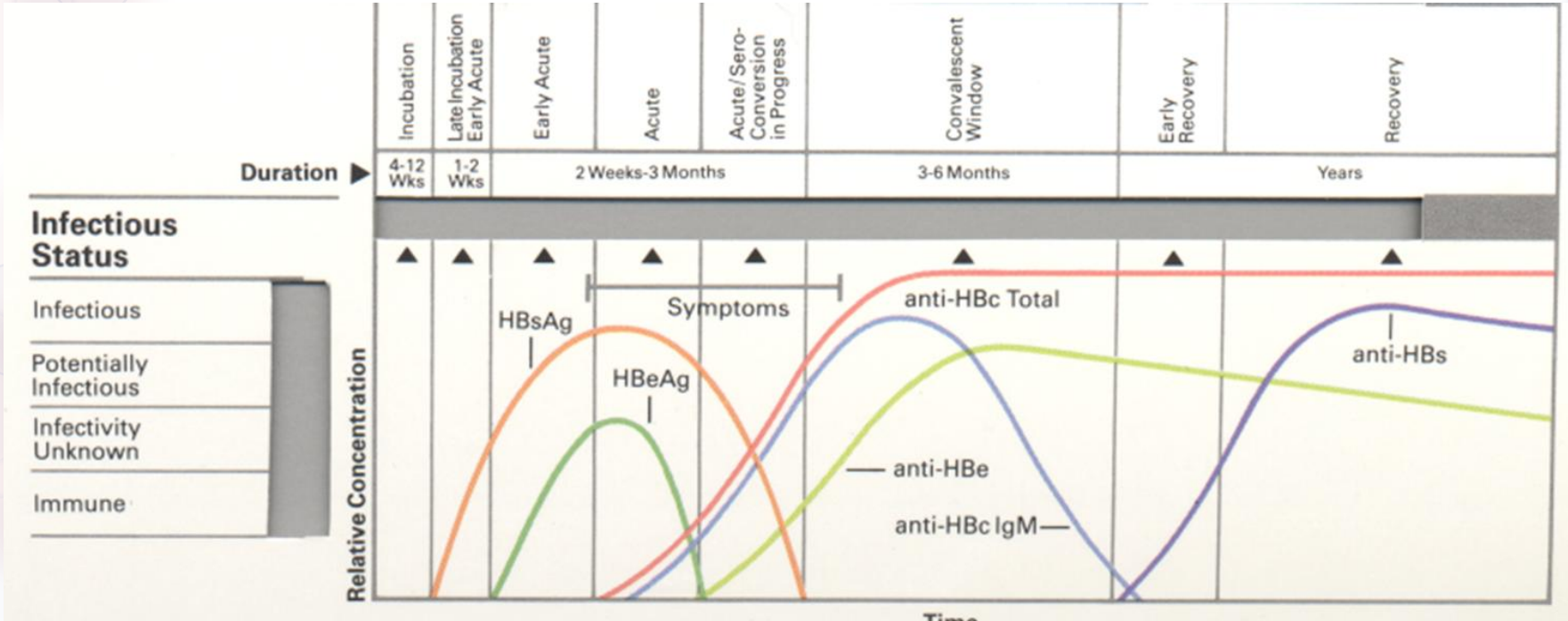
HBeAg

- javlja se ubrzo nakon HBsAg i traje paralelno s njim
- znak akutne infekcije
- kod bolesnika sa hroničnom infekcijom perzistira u serumu u replikativnoj fazi



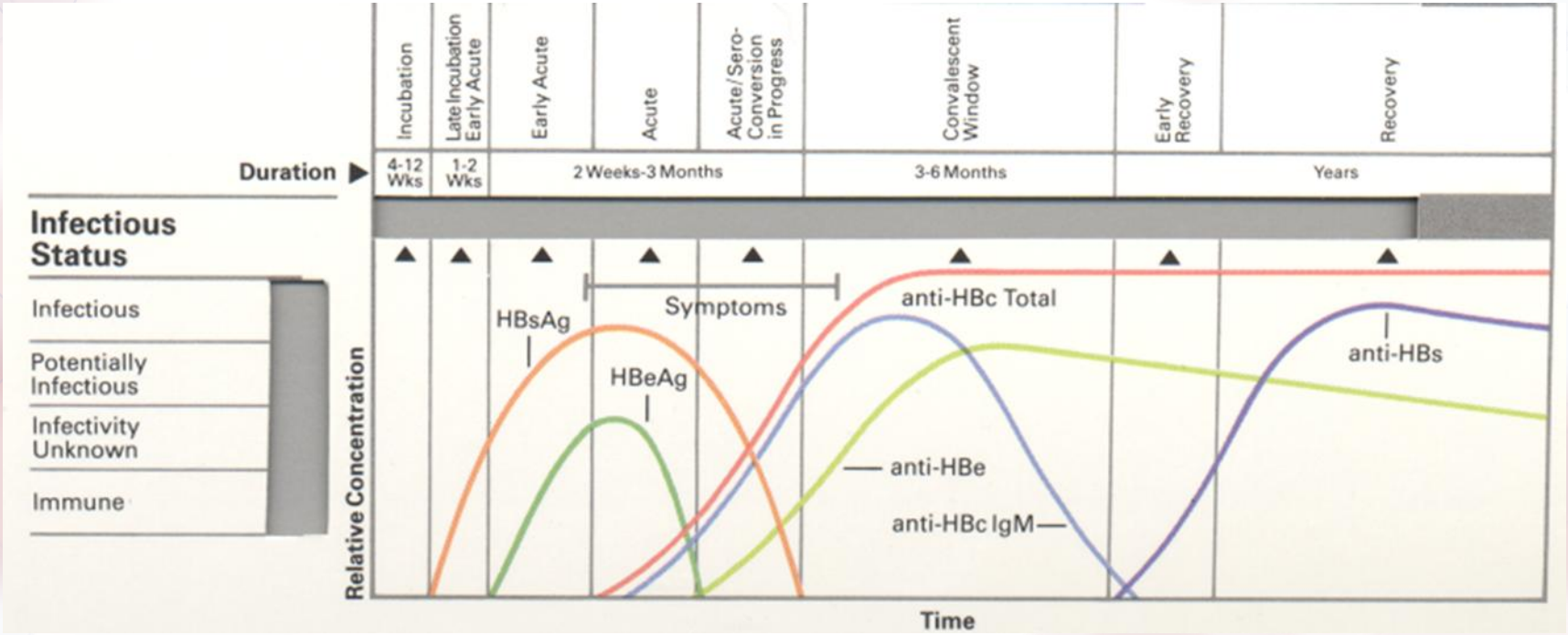
Anti-HBs antitijelo

- pojavljuju se nakon iščezavanja HBsAg i traju doživotno
- sama anti-HBs antitijela ukazuju na vakcinaciju
- anti-HBs antitijela zajedno sa anti-HBc IgG antitijelima znak preležane infekcije



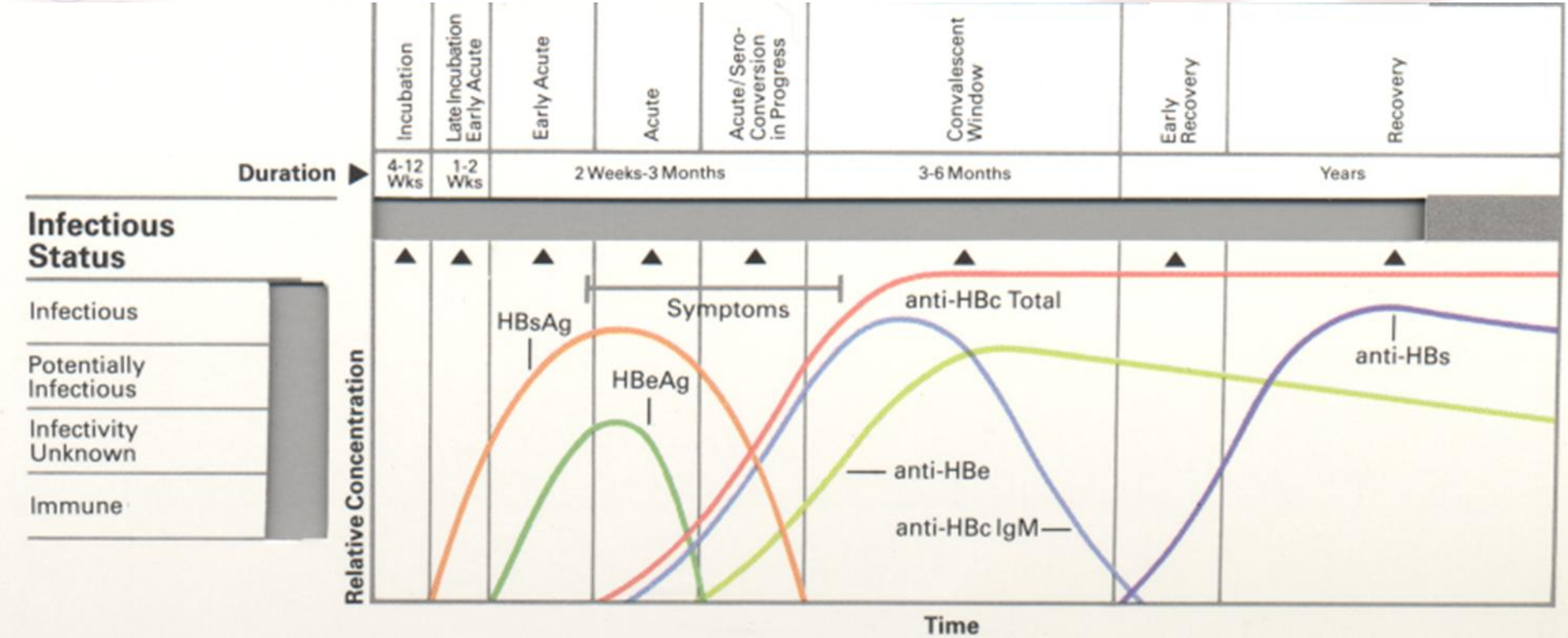
Anti-HBc antitijelo

- prvo detektabilno antitijelo
- IgM se javlja u periodu nakon nestanka HBsAg i pojave anti-HBs antitijela (period prozora)
- IgG se javlja tokom rekonvalescencije i perzistira tokom života (znak je prebolovane infekcije uz anti-HBs antitijelo)



Anti-HBe antitijelo

- javljaju se nakon iščezavanja HBeAg i ukazuje na povoljan tok infekcije
- perzistira godinama poslije infekcije i tokom hronične latentne infekcije



- Ispitivanje prisustva HBV- kod inficirane osobe mogu se dokazati sledeći markeri, koji se najčešće dokazuju EIT, **ELISA, sa kojim de dokazuju antigeni i antitela.**
- Površinski **HBsAg** ima brojne antigenske varijante i prvi se pojavljuje kod infekcije.
- U **centru** viriona nalazi se **core** antigen **HBcAg,** koji sadrži DNK polimerazu, on se ne može dokazati slobodan u serumu, već samo komponenta kompletnog virusa.
- Treći solubilan antigen je **HBeAg,** njegovo prisustvo ukazuje na visoku infektivnost osobe.
- Svaki od navedenih antigena može dovesti do stvaranja specifičnih antitela: **anti-HBs, anti-HBc, anti-Hbe.**

Virusni hepatitis tipa B je jedno od **najrasprostranjenijih** oboljenja i predstavlja socijalno-zdravstveni problem skoro svih zemalja svijeta.

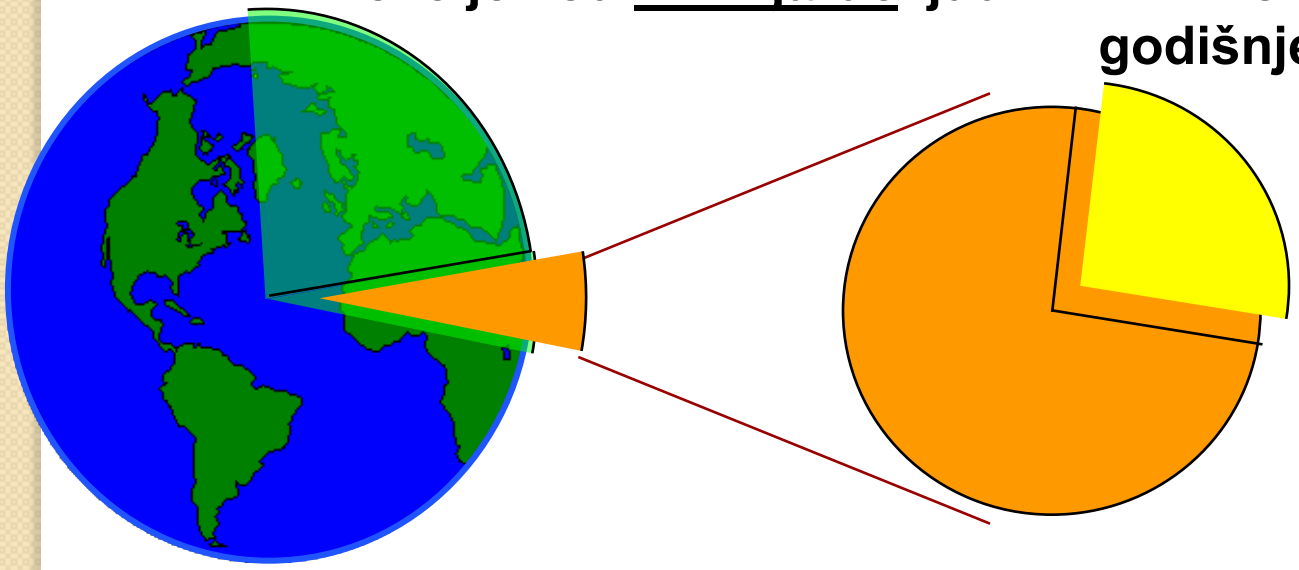
U Aziji i Sjevernoj Africi bolest uglavnom prenose majke nosioci HBV-a u perinatalnom periodu na novorođenčad – koja će se sa velikom verovatnoćom razviti u cirozu jetre. U zapadnim zemljama bolest prvenstveno zahvata omladinu, a najčešći putevi prenosa su:

- **parenteralni** – intravenski narkomani, zdravstveni radnici, multi-transfundovane osobe, hemofiličari
- **seksualni put** – hetero i homoseksualni put.

Broj oboljelih od hroničnog B hepatitisa

Dokaz prethodne HBV
Infekcije kod 2 milijarde ljudi

1-2 miliona smrtnih ishoda godišnje - ciroza ili HCC



Svjetska populacija: 7 milijardi

350–400 miliona ljudi boluje od hroničng B hepatitisa

Hepatitis tip C

- Dokazan je indirektnim putem 1989 godine u serumu obolelih od hroničnog hepatitisa. Ovde je bila prisutna antigenska determinanta označena kao klon 5-1-1 koja je reagovala sa specifičnim antitjelima nazvanim anti-HCV.

- Zahvaljujući postignutim rezultatima na polju molekularne biologije, tokom narednih godina bilo je moguće izdvojiti i analizirati odgovarajuće sekvence genoma ovog virusa. Njegov genom je linearna molekula jednolančane pozitivne RNK koja pokazuje genetičku heterogenost, kao rezultat mutacija koje se dešavaju tokom replikacije.

- Genom se sastoji od 6 genotipova , u okviru kojih postoji veliki broj podtipova.

- Danas je poznato da HCV virus pripada RNK virusima, familiji Flaviviridae. Njegov genom se sastoji od oko 94oo nukleotida koji kodiraju sintezu polipeptidnog lanca sačinjenog od oko 3 000 aminokiselina. Inače , genom HCV se sastoji od od jednog strukturnog i pet nestrukturnih regiona.

- Do sada **virus nije izolovan** u kulturi tkiva. HCV vjerovatno cirkuliše u serumu u koncentraciji između 10 i 5xlo-7 partikla.
- **Prva** generacija testova uvedena je 1990 godine i pokazala je izvesne nedostatke.
- 1992 godine uvedena je **druga** generacija testova kod koje su inkorporirana dva rekombinantna proteina, što je povećalo osjetlivost i specifičnost testova.

- **Treća** generacija testova , odobrena od strane Ureda za lijekove 1996 godine je u cijeloj Evropi, primijenila je epitope iz NS-5 regiona. Prednost se ogleda u tome **što se antitijela protiv** ovog regiona **javljaju u akutnoj fazi bolesti** a ponekad su prva prisutna u toku serokonverzije, a njihovo prisustvo u akutnoj fazi ukazuje na prelazak u hronični tok bolesti.

Prisustvo HCV u serumu predstavlja:

- prolaznu viremiju udruženu sa akutnim oporavkom od hepatitisa
- perzistentnu viremiju sa prelaskom u hroničnu fazu bolesti
- intermitentnu viremiju karakterističnu za početni gubitak HCV-a, ali sa ponovljenim javljanjem posle nekoliko meseci.

- Klinički tok: srednji inkubacioni perijod iznosi 5-12 nedelja, mada se sa većim inokulumom perijod inkubacije skraćuje na 4 nedelje. Tipičan klinički tok se ne razlkuje od ostalih hepatitisa, i nemože biti izdvojen
- **Vakcina** za zaštitu protiv infekcije HCV-om do **sada nije moguća,** i zahtjeva izvesno vreme da bi se proizvela. Pasivna zaštita, odnosno primena specifičnih **imunoglobulina sa visokim titrom** je, takođe u sadašnje vreme **nemoguća.**
- Zbog toga, prenošenje infekcije se može postići samo **SPREČAVANJEM IZLOŽENOSTI VIRUSU.** To može biti postignuto primjenom opštih higijenskih mjera: adekvatna lična higijena, obavezna upotreba zaštitne odjeće i RUKAVICA.
- Hepatitis tipa C se prenosi parenteralno; krv i krvni derivati, kontaminirane igle i brizgalice, posebno one koje razmenjuju narkomani, vertikalnom transmisijom i seksualnim putem. **Najpouzdanija prevencija hepatitisa je korišćenje materijala za jednokratnu upotrebu.**

Kliničkim nalazima, ili rutinskim biohemijskim testovima nije moguće postaviti dijagnozu ove bolesti, iako treba obratiti veliku pažnju na transaminaze: **SGOT i SGPT,** koji mogu biti prvi simptomi kod ove vrste hepatitisa.

Samo oko **25% osoba požuti,** što može trajati nekoliko dana do nekoliko meseci. Kao posledica preležanog hepatitisa javljaju se sekvele kao što su ciroza jetre ili hepatocelularni karcinom. Pruritus i steatorea su propratne pojave. Takođe i srednji gubitak u telesnoj težini. Opšta slabost organizma može potrajati duži period.

- Mada je mehanizam prenošenja HCV-a sličan HBV-u, postoje i neke značajne razlike:
- **1.** kod 43% bolesnika put prenošenja je **nedefinisan**
- **2.** bolesnici pripadaju grupi uživalaca intravenskih narkotika
- **3.**bolesnici su bili direktno eksponirani virusu
- **4.** bolesnik ima anamnestičke podatke da je primio transfuziju
- **5.** osobe pripadaju grupi zdravstvenih radnika

- Hepatitis C virus prisutan je skoro u **svim delovima** sveta. **Čovek je jedini rezervoar** virusa i izvor infekcije. Infekcija se prenosi parenteralno, kontakt sa krvi kao i kod HBV-a i HIV-a. S obzirom da se u 50% inficiranih ne može dokazati pripadanje rizičnim grupama, ispituju se i drugi putevi prenošenja, prvenstveno seksualni, pošto su virusne čestice dokazane u svim telesnim tečnostima.
- Prenosi se i vertikalnim putem od inficirane majke na bebu.
- HCV je osetliv na organske rastvarače, formalin, beta-propiolakton i UV zrake. Može zadržati infektivnost na temperaturi od 60C do 10h, a inaktivira se potpuno tek na **100C.**

Jedini pouzdan dijagnostički marker infekcije je testiranje na prisustvo HCV-RNK metodom PCR.

Danas se u rutinskoj dijagnostici hepatitisa tipa C izvodi dokazivanje antitela prema antigenu HCV, primenom Elisa testa ili enzimoimuni esej.

Anti-HCV antitela javljaju se kasnije nego kod ostalih vrsta virusnih hepatitisa.

Dijagnostički prozor kod ove infekcije je **izuzetno dug** i znatno se skraćuje testiranjem NAT- tehnologijom, to je testiranje pomoću nukleinskih kiselina.

Testiranje – skriningovanje uzoraka dobrovoljnih davalaca krvi na prisustvo anti-HCV antitela, i obavezno svaki put, zakonski je uvedeno od 1994 godine.

VIRUS HUMANE IMUNODEFICIJENCIJE

- Prije više od jedne decenije, mnogi su smatrali da je zahvaljujući vakcini i antibioticima, rat protiv infektivnih bolesti dobijen. Zaista, neke infektivne bolesti – ubice , na primer velike boginje, u potpunosti su savladane.

- U međuvremenu se medicina suočila sa potpuno novim infektivnim oboljenjima, kao što je AIDS, SIDA ili sindrom imunodeficijencije, čiji je uzročnik virus humane imunodeficijencije –HIV. Bolest je otkrivena 1979 godine , a HIV je izolovan iz ćelije inficiranog bolesnika tek 1983 godine. HIV pripada grupi humanih retrovirusa a porodici lentivirusa.

- **Evolucija bolesti je duga,** ponekad je potrebno **desetak godina** da prođe od vremena infekcije do manifestacije bolesti. Više činilaca utiče da li će se i kada bolest ispoljiti:

a) priroda virusa, potencijal i varjabilnost virusa
b) količina unetog virusa
c) imunološki status organizma
d) kao i verovatno drugi nepoznati činioci.

- Postoje osobe koje ostaju zdrave bez promena u imunološkom pogledu 10 i više godina od primarne infekcije HIV-om.

- **Primarna infekcija** manifestuje se: glavoboljom, u vidu eritematoznog raša, dijareje, gušobolje i generalizovane limfadeno-patije. Laboratorijski nalazi pokazuju: leukopeniju, anemiju, trombocitopeniju, atipične limfocite, povišenu aktivnost enzima jetre i hipergamaglobulinemiju.

- Tokom ranog perijoda infekcije detektuje se viremija u plazmi i prisustvo **anti-HIV specifičnih antitijela. Viremija** se otkriva detektovanjem **HIV RNK u plazmi.**

- Dijagnostikovanje bolesti je ostvareno 1981 godine. Prva epidemija AIDS-a izbila je 1979 u SAD. Do sada prisutna saopštenja pokazuju da je ova bolest prisutna u **cijelom** svijetu i da postoji stalni exponencijalni skok obolelih. Prva saopštenja su govorila da je bolest prisutna posebno u grupi homoseksualaca, bolesnika obolelih od hemofilije i starosedioca Haitija.
- Do juna 1995 godine bilo je prijavljeno **WHO** 1,17 miliona slučajeva AIDS-a, a smatra se da je stvaran broj oko 4,5 miliona ljudi. Procenjuje se da jo oko 18,5 miliona ljudi inficirano HIV-om.

Putevi prenošenja HIV infekcije su dobro poznati. Definisana su tri osnovna puta:

a) seksualni kontakt sa inficiranom osobom, bilo da je muškarac ili žena
b) primjena kontaminiranih igala, špriceva (intravenski uživaoci droga i višekratna upotreba instrumenata ili skalpela) kao i ritualna skarifikacija kože ili tetovaža,
c) sa inficirane majke na dijete (in utero, tokom porođaja i laktacijom)
d) transfuzijom krvi i /ili produkata od krvi.

Zdravstveni radnici mogu biti u povećanom riziku, ukoliko se ne pridržavaju osnovnih i specijalnih mera zaštite i prevencije.

- Dobro poznavanje epidemiologije i puteva prenošenja HIV-a određuje mere prevencije . U prevenciji ove bolesti značajne mere su sprečavanje prenošenja krvlju i tkivnim tekućinama.

- Korišćenjem zaštitnih rukavica različitih vrsta gde god postoji kontakt sa krvlju i potencijalno inficiranim tkivnim tekućinama, i prilikom odlaganja potrošnog materijala i oštrih predmeta.

- Temeljno pranje ruku sapunom i vodom, posebno posle kontakta sa ranama ili krvnim tečnostima. Korištenje zaštitne odeće kod procesa gde može doći do rasprskavanja krvi (zaštitne maske za stomatologe i prozirni štitnici).

- **Anti-HIV pozitivne osobe i osobe bolesne od side ne podležu posebnim merama izolacije, ali je obavezna prijava jednih i drugih.**

- Iako se ulažu veliki napori u iznalaženju vakcine protiv AIDS-a, do danas je zbog kompleknosti virusa, sve je ostalo na nivou eksperimenta.

REDOSLED UVOĐENJA TESTOVA U TRANSFUZIOLOGIJU

Testiranje	godina uvođenja
Lues	1947
HBsAg	1971
HIV – I	1985
HBc	1986
HTLV-I	1988
HCV	1990

ZARAZA CITOMEGALOVIRUSOM CMV

- **CMV** je poznat pod nazivom ljudski herpes virus 5. Inficira razne ćelije: epitelne, endotelne, leukocite, monocite, makrofage i CD34. Čest je uzročnik zaraze i bolesti kod čoveka. Nakon akutne zaraze nastaje stanje latencije sa povremenim reaktivacijama zaraze.
- Zaraza sa CMV važan je javno-zdravstveni problem, jer **uzrokuje intrauterinu zarazu, kongenitalne malformacije, te perinatalne infekcije.**
- Uz druge načine prenosa, može se prenositi i putem **transfuzije i transplantacijom.**
- Zaraženi bolesnik stvara anti-CMV antitela. Ispitivanjem prisutnosti antitela dokazuje se infekcija kod bolesnika i davaoca.

- Povezanost transfuzije i infekcije CMV prvi put je prijavljena 1960 god. Kliničke manifestacije bolesti variraju, mogu biti lokalne ili diseminovane, (retinitis, kolitis, gastritis, nefritis). Kao sindrom koji se sastojao od **groznice, limfocitoze i splenomegalije,** koji se ispoljavao 3 – 8 nedelja nakon operacije, kada je bila indikovana i realizovana transfuzija kod bolesnika.
- Efikasnost u redukciji transmisije CMV kod ovakvih bolesnika jeste davanje CMV negativnih hemoprodukata.
- Pošto uzročnik spada u DNK viruse infekcija se širi **vertikalno i horizontalno** (preko telesnih tečnosti, seksualnim kontaktom, transplantacijama).

- **Zaražene osobe su pozitivne i na CMV - DNA**. Prevalenca CMV-a u općoj populaciji iznosi oko **50%.** Zbog toga postoji relativno velik broj davaoca koji u svojim **leukocitima** imaju CMV – DNA i koji su zaraženi – inficirani.
- Transfuzija krvi može uzrokovati: novu infekciju i reaktivaciju virusa, tako da dolazi do reinfekcije.
- Prevencija transfuzijske zaraze provodi se **izdvajanjem leukocita, i/ili leukofiltracijom** napravljenih hemoprodukata, što zadovoljava potrebe transfuzijskog lečenja.
- Testiranje se ne obavlja rutinski, jedino za donatore za transplantaciju. Serološki rezultati testiranja ne pokazuju 100% sigurnost da neće doći do zaraze.
- Još nije rešeno niti prihvaćeno koji je najsigurniji način lečenja kod ove infekcije – bolesti.

ZARAZA EPSTEIN – BAROVIM VIRUSOM

- **EBV** je poznat pod nazivom ljudski herpes virus 4. Prevalenca u celom svetu sa EBV je **oko 90%.** Nakon primarne zaraze ćelija orofarinksa, sledi zaraza **limfocita B,** koji **doživotno** ostaju rezervoar virusa. Zaraza uzrokuje infektivnu mononukleozu.
- EBV se može preneti sa transfuzijom krvi i hemoproduktima. Ova infekcija može biti značajan **problem kod seronegativnih** pedijatrijskih bolesnika i imunosuprimiranih bolesnika nakon **transplantacije organa, osobito nakon transplantacije koštane srži.**
- Opasnost od zaraze sa EBV smanjuje se i **prevenira** sa **leukofiltracijom i izdvajanjem leukocita iz hemoprodukata.**

- Epstein-Barov virus je etiološki agens koji izaziva infektivnu mononukleozu, i udružen je sa različitim drugim bolestima. Bolest se karakteriše sa trijasom:
- a. groznica
- b. faringitis
- c. generalizovanu limfadenopatiju
- Stvaraju se antitela IgM, IgG na praktično sve EBV antig.
- Pojedinci koji prenose infekciju sa ovim virusom sadrže infektivan virus u svojoj pljuvački, kao posledicu njegove produkcije u **limfocitima B** orofarinksa.
- Opisani su EBV encefalitis, limfomi, limfoproliferativna bolest, kao i bolesnici koji su multitransfundovani, ili su pak primili transplantate organa ili MĆH.

ZARAZA WEST NILE VIRUSOM

- Uzočnik **groznice zapadnog Nila** je virus koji pripada familiji Flaviviridae, znači grupi virusa koji izazivaju **groznice** i **encefalitise** u različitim žarištima širom sveta.
- Virus se održava u prirodnom ciklusu, koji čine brojne vrste ptica koje retko obolevaju, ali su idealan rezervoar za komarce (tigrasti) iz porodice Culex, koji ostaju zaraženi doživotno, i **prenose infekciju na druge ptice ili sisare.**
- **Čovek i životinje slučajno se uključuju u lanac,** nakon uboda zaraženog komarca.
- Virus je odavno poznat, ali je privukao pažnju svetske javnosti 2002 god. tokom epidemije u SAD-u. U toj epidemiji umrla su 284 bolesnika. Nekoliko bolesnika je bilo zaraženo putem transfuzije, 122 je imalo meningoencefalitis.

- Epidemije: 1996 Rumunija, 1999 i 2000 Rusija, Grčka i Turska 2010 i 2011godine.
- **Bolest se javlja u toplim i vlažnim mesecima, od maja do oktobra.**
- Infekciju prati povišena telesna temperatura, i znaci opšte infekcije kao što su malaksalost, slabost, bolovi u mišićima i zglobovima.
- Neurološki simptomi nisu specifični, ali se mogu manifestovati u obliku meningitisa i encefalitisa. Znači **promena stanja svesti** različitog stepena: konvulzije, dezorijentacija, pospanost, stupor i koma.

Laboratorijsko dokazivanje infekcije:

- **Uzima se likvor i krv.** Dokazuje se prisustvo **specifičnih antitela klase IgM** u serumu ili likvoru, ili **porast titra IgG** antitela u serumu.
- Prognoza bolesti je relativno povoljna kod 80% bolesnika, a 1% bolesnika ima meningoencefalitis. Smrtni slučajevi javljaju se kod starijih osoba, i kod osoba sa hroničnim poremećajem zdravlja.
- **Specifična zaštita** (vakcina i imunoglobulini) protiv ove infekcije **ne postoji.**
- Ova bolest je pokazala nužnost obnavljanja upitnika na koja pitanja davaoci krvi trebaju iskreno odgovoriti .
- Brzo je omogućeno testiranje, ali ne i rutinski kod nas.

ZARAZA SARS CORONA VIRUSIMA

- Virus Sars – ozbiljni je **akutni respiratorni sindrom.**
- Svakih nekoliko godina pojavljuje se nova bolest koja se može preneti transfuzijama krvnih komponenti. Nova pretnja čovečanstvu zarazna je **bolest SARS** od koje je od decmbra 2002 god, do maja 2003 god, obolelo 8421 osoba i završilo letalno 784 bolesnika. 2003 godine izazvao epidemiju **atipične pneumonije** u Kini i Hong Kongu.
- Prenosi se od čoveka na čoveka, a može i putem transfuzije. Kada su u pitanju davaoci koji su u asimptomatskom stadijumu Influence trabalo bi ih odbijati od davanja krvi.
- Prema preporuci Švajcarskog crvenog krsta, krv ne bi trebalo uzimati od davaoca tokom **4 nedelje** od povratka iz SARS-om pogođenih zemalja.

ZARAZA PARAZITIMA

- Više raznih parazita može uzrokovati krvlju prenesenu bolest, no rizik zaraze parazitima u transfuzijskom lečenju je vrlo nizak. Dve infekcije su najznačajnije:

- **TOKSOPLAZMA GONDII**: infekcija, ili zaraza ljudi sa toksoplazmozom u **celom svetu je vrlo česta,** no ona malo kada uzrokuje klinički manifestnu bolest. Prokuženost u svetu varira od 3 do 75%.
- Bolest može biti akutna, hronična ili reaktivirana.
- T. Gondii može preživeti u tekućim i smtznutim hemoproduktima koji su uskladišteni na +4C do 50 dana.

Toksoplazma gondii je intracelularni parazit rasprostranjen širom sveta, koji je izazivač toksoplazmoze. U pravilu je rezultat reaktivacije latentne infekcije. **Rizik od zaraze tokspolazmozom, smanjuje se filtracijom i izdvajanjem leukocita iz komponenti.**

Većina bolesnika nije ugrožena osim ako osnovna bolest, nije poremecaj imuniteta.

Prenos infekcije je moguć kod transplantacije solitarnih organa i koštane srži.

Rutinsko ispitivanje davaoca krvi na toksoplazmozu se **ne sprovodi.**

MALARIJA

- Jedan dio razvoja Plazmodia malarie kod sisavaca i čoveka ***vezan je za eritrocite.*** Zbog toga je mogući prenos Pl. Malarie transfuzijama hemoprodukata proizvedenih od zaraženog davaoca.
- Transfuzijski uzrokovana malarija je veoma rijetka, a dešava se u krajevima gde je ona endemska bolest: tropska Afrika, Indija, Šri Lanka, Brazil.
- **Krv davoca se ne ispituje rutinski na malariju.** Ali osobe koje su prebolovale ovu bolest, tek **posle tri** godine nakon izlečenja ili prestanka uzimanja lekova mogu biti davaoci krvi.
- Kod nas postoji umerena opasnost od unosa infekcije sa turistima i pomorcima.

- Transmisija krvlju se dešava ili u zemljama gde malarija nije iskorenjena (tropska Afrika, Indija, Brazil), ili u razvijenim zemljama kada se donacije prikupljaju od putnika koji su putovali u gore navedene zemlje.
- Godišnja incidenca iznosi od 0,25 do 0,67 slučajeva na 1000 000 jedinica krvi . (ispitivana u SAD i Kanadi).
- Da migracija ima veliki uticaj na prenos malarije putem krvi vidi se iz podataka da je u Francuskoj od 1980 god. opisano više od 100 slučajeva transmisije malarije putem krvi.
- **Prvi slučaj malarije prenesene transfuzijom** opisan je **1911god.** A od tada imamo dokazano preko 3000 slučajeva.

Leishmania

- To je intracelularni parazit prisutan u tropskim i subtropskim regionima, kao i u jugoistočnoj Evropi. Prisustvo parazita u ćeliji, kao i sposobnost da preživi više od **25 dana na +4C,** čine prenos putem transfuzije mogućim, iako je opisan mali broj. To su uglavnom mala deca (novorođenčad i odojčad).
- Predpostavlja se da je oko 350 milijona ljudi svakodnevno izloženo ovom parazitu, i da se oko 2 miliona infekcije dogodi svake godine. Kod američkih vojnika u Iraku od 2003-2005 zabeleženo je preko 850 slučajeva Lajšmanioze.
- Pa se svi povratnici iz ove zemlje odbijaju od davanja krvi godinu dana.

ZARAZA PRIONIMA

- **Prioni** su proteinska infektivna čestica, koja izaziva posebne poremećaje CNS. To je novootkrivena klasa uzročnika transmisivnih bolesti, otpornih na standardne postupke inaktivacije konvencionalnih infektivnih uzročnika. Tu se uključuju i postupci koji mogu da modifikuju nukleinske kiseline.
- **Rezistentni su na temperaturu od +100C, na jonizujuće i ultravioletne zrake.**
- Prionska obolenja pripadaju neurodegenerativnim poremećajima, koja su **zajednička ljudima i životinjama.** To su posebna vrsta encefalopatija.

- Prioni mogu izazvati:
- Kuru – naziv po afričkom plemenu gde je registrovana
- Creutzfeldt- jakobovu bolest (CJD)
- Fatalnu familijarnu insomniju
- Imaju neke elemente virusa- filtracija, kao i elemente koje to nemaju. Nalazi se u svim višim kičmenjacima, za sada sa nepoznatom funkcijom.
- Većina obolelih od ove bolesti pojavljuje se sporadično sa izmenjenom formom, replikuje se i akumulira u mozgu. 10-15% slučajeva javlja se kao posledica neurohiruških operacija, posle transplantacije korneje ili tvrde moždanice.

- **Laboratorijska dijagnostika prionskih oboljenja za sada nije moguća.** Inkubacioni period je dugačak oko 25god.

- Posle epidemije Jakob – Creutzfeldove bolesti (krvlje ludilo) u Velikoj Britaniji, u mnogim se zemljama **trajno odbijaju** davaoci krvi koji su proveli više od 3 -6 meseci u Velikoj Britaniji u perijodu od 1980 do 1996 godine. Takođe se odbijaju osobe kao davaoci koji su u tom perijodu primali transfuziju krvi ili hemoprodukte.

- Takođe je doneta odluka u V. Britaniji da se **plazma uvozi** za terapijsku primenu kod najosetlivije grupe primalaca, a to su novorođenčad i deca do 16 godina

INFEKTIVNI AGENSI BOLESTI	RIZIK OD TRANSMISIJE TRANSFUZIJOM
HEPATITISI	
A	MALI
B	1/89000
C	1/22500
RETROVIRUSI	
HIV- 1	1/752000
HIV- 2	nepoznato
HTLV – 1,2	1/1316000

- CITOMEGALOVIRUS VARIJABILAN
- PARVOVIRUS NEPOZNATO

- LUES MALI
- MALARIJA 1/4000 000
- LAJMSKA BOLEST NIJE ZABELEŽENO

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA VIRUSNIH INFEKCIJA

- Laboratorijska dijagnostika odvija se na jedan od sledećih načina:
- **Vizuelizacija virusa pomoću elektronskog mikroskopa**
- **Detekcija virusnih antigena**
- **Detekcija virusnog genoma**
- **Serološka dijagnostika**

Izbor dijagnostičke procedure zavisi od tehničke opremljenosti laboratorije, kliničke slike bolesti i vrste dobijenog bolesničkog materijala.

Viremija i izlučivanje virusa predhode pojavi kliničkih znakova od 1do 3 dana, nešto duže kod hepatitisa i EBV, i obično, sem retkih izuzetaka, prestaju pre nastanka simptoma.

U generalizovanim infekcijama u obzir dolaze različiti materijali kao što su : likvor, sekreti, krv, stolica, koža, biopsije i slično.

Dijagnostika virusnih infekcija

- 1. **Virusološka** (direktna) dijagnostika je dokazivanje virusnih antigena.

- 2. **Serološka** (indirektna) dijagnostika je dokazivanje prisustva specifičnih antivirusnih antitela.

Osnovni pojmovi virusološke dijagnostike

- Laboratorijska dijagnostika virusnih infekcija obuhvata:
- **Uzimanje uzorka**
- **Transport do laboratorije**
- **Obradu uzorka**
- **Identifikacija virusnih antigena ili antitela**

- **VAŽNO**
- Pravilno, profesionalno tumačenje rezultata, posebno seroloških reakcija,
- Normalna virusna flora **NE POSTOJI !!!**

Ako nije moguće transportovati, **uzorak se može čuvati na +4C.** Za duže čuvanje, neophodno je **zamrzavanje od -30C.**

Normalna virusna flora za razliku od bakterija ne postoji, ali prisustvo virusa može biti i **asimptomatsko** i ne znači uvek etiološki faktor ispitivane bolesti.

Pojedini virusi mogu se kontinuirano izlučivati, ili nalaziti u telesnim tečnostima **dugo vremena posle infekcije:** HBV, adenovirusi.

Veliki oprez je potreban kod interpretacije seroloških rezultata. Kod klasičnih seroloških testova **četvorostruki** ili **viši titar antitela znak je akutne virusne infekcije,** ali mogu se porediti samo titrovi antitela dobijeni u **istoj vrsti testa.**

- Prema navedenim putevima prenosa transmisivnih hematogenih bolesti, najugroženiji su zdravstveni radnici koji profesionalno, **često dolaze u kontakt sa krvlju bolesnika ili tkivnim tekućinama bolesnika** i to naročito na odeljenjima za hroničnu hemodijalizu, onkologija, hematološke laboratorije, službe za transfuziju krvi, osoblje i štićenici ustanova sa specijalnim potrebama.

- Zdravstveni radnici bi trebali poštovati standardne mere zaštite za prevenciju infekcije, preporučene od strane Svetske zdravstvene organizacije WHO. Prema ovim standardnim merama zaštite, zdravstveni radnici bi trebali smatrati da su **krv i druge ljudske telesne tečnosti inficirane patogenim klicama.**

- Zdravstveni radnici moraju voditi računa da se zaštite u interakciji sa pacijentom, birajući u isto vreme, mere koje su primerene datoj situaciji i obezbeđujući da ne dođe do diskriminatornog ponašanja prema ljudima za koje se predpostavlja ili je potvrđeno da žive sa HIV infekcijom, hepatitisom ili luesom.
- **Neophodno je:**
- Da svi uzorci koji se uzimaju za laboratorijsko testiranje budu dobro zatvoreni odgovarajućim čepom.
- Pravilno etiketirani.
- Sve mrlje od krvi, nastale u toku rada što prije obrisati i dezinfikovati.
- Da punkter, ukoliko ima bilo kakve povrede na rukama predhodno zaštiti i stavi odgovarajuće rukavice.

- Rukavice stalno menjati, ili prati posle svake punkcije.
- Da se celokupan rad na uzimanju krvi odvija pod maksimalno aseptičnim uslovima.
- U svim fazama rada u laboratoriji zdravstveno osoblje mora nositi radne uniforme.
- Za pipetiranje koristiti automatske pipete.
- Pri centrifugiranju poklopac centrifuge se ne smije otvarati, dok se centrifuga ne zaustavi.
- U laboratorjama i drugim radnim prostorima se ne smije pušiti, pripremati i konzumirati hrana.
- Po završetku rada, sve radne površine i aparate mehanički očistiti i dezinfikovati.

SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA

Serološka dijagnostika virusnih infekcija zasniva se na dokazivanju **virusnih specifičnih antitela** u serumu inficirane osobe. Metode se mogu podeliti u 3 grupe:

1. Metode koje **mere sposobnost antitela** da u reakciji sa antigenom menjaju neke virusne funkcije. Tu spadaju RVK, reverzna pasivna hemaglutinacija, lateks-aglutinacija i imuna hemaglutinacija. Izvodlive su samo, ako je moguće meriti **vizuelizovati posledicu antigen-antitelo.**

2. Metode koje mere **sposobnost antitela da blokiraju** određene specifične virusne funkcije. Tu spadaju NT - neutralizacioni test i RIH – inhibicija hemaglutinacije. Ovi testovi spadaju u klasičnu serološku dijagnostiku, zasnivaju se na **porastu titra antitela** u dva uzorka seruma.

3. Metode **koje direktno mere interakciju antigen-antitelo**. U ovu grupu spadaju **EIA, RIA** S obzirom da mere jačinu reakcije spadaju u **specifične testove.** Baziraju sa na dokazivanju specifičnih antitela klase **IgM**, kao markera **sveže infekcije,** ili antitela klase **IgG,** kao markera **stare infekcije.** Uz pomoć monoklonskih antitela postiže se visoka specifičnost i osetlivost.

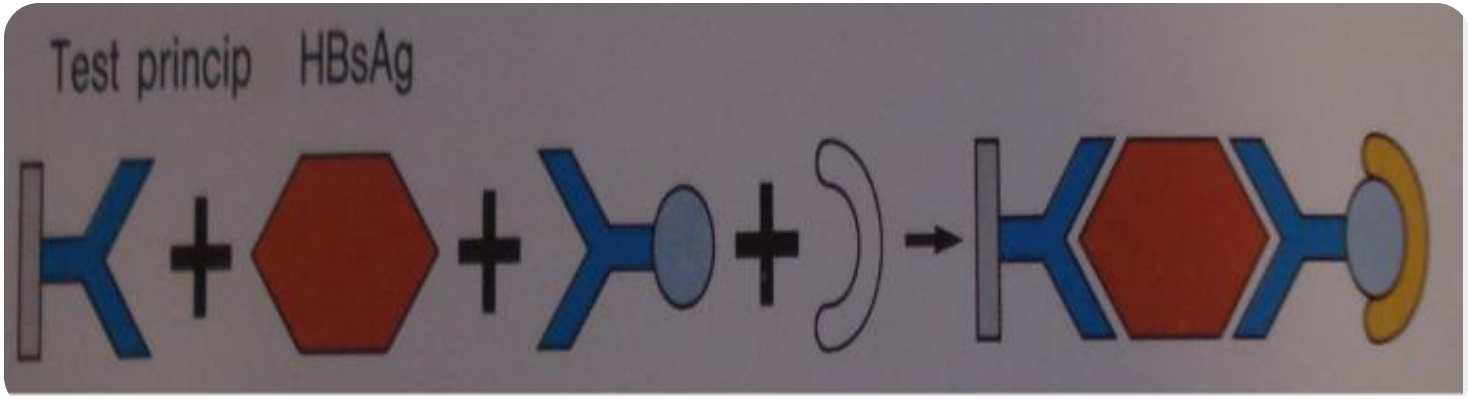
Antitela klase IgM pojavljuju se prvih nekoliko dana posle početka simptoma, dostižu najveću koncentraciju 7 do 10 dana, traju nekoliko nedelja, do nekoliko meseci, tako da **predstavljaju pokazatelj sveže infekcije.**

Karakteristike savremenih dijagnostičkih testova:

a) Visoka osetlivost
b) Visoka specifičnost
c) Brzo dobijanje rezultata
d) Istovremeno testiranje većeg broja uzoraka ELISA, RIA
e) Dobijanje dijagnoze iz jednog uzorka seruma
f) Mogućnost automatizacije ELISA, RIA

Testovi koji se obavljaju sa **obeleženim monoklonskim** antitelima su **blot tehnike,** omogućuju dokazivanje klase **antitela: IgM, IgG, IgA,** već prema određenim virusima ili njihovim pojedinim antigenima.

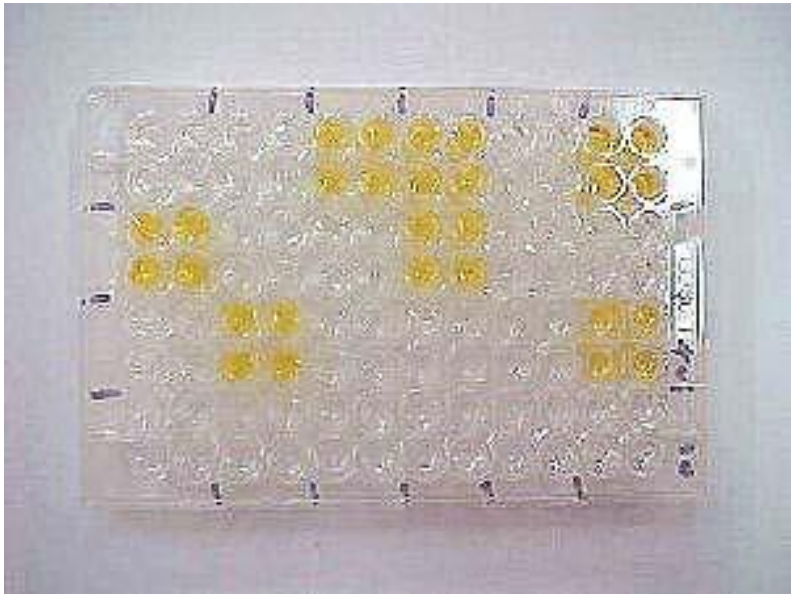
Najčešće se u virusološkoj dijagnostici upotrebljavaju **antitela obeležena enzimom – ELISA.** Ovako pripremljena antitela-konjugati, imaju duži rok trajanja, manji je postotak nespecifičnih reakcija, a njihovom modifikacijom postiže veoma visoka specifičnost i osetlivost.

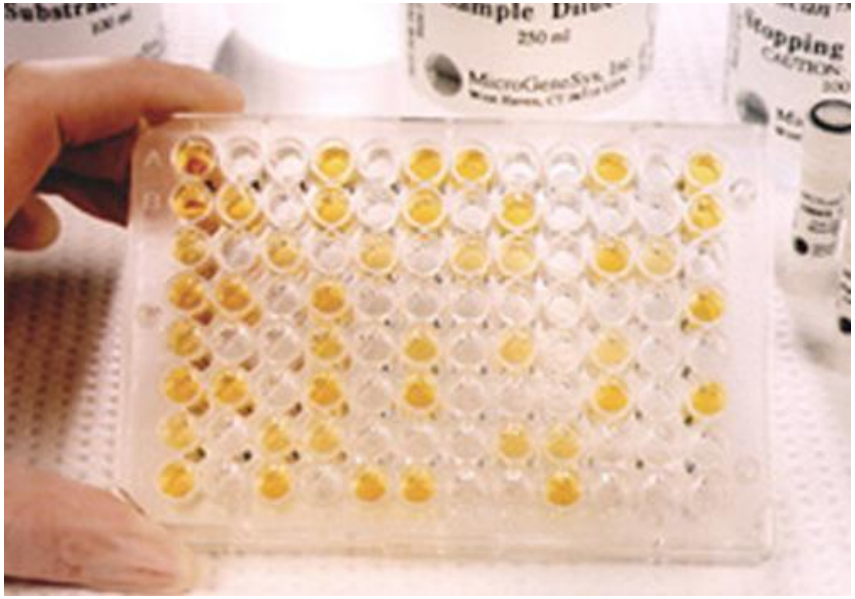


Najčešće je to indirektni metod i dvostruki sendvič, koristi se u komercijalnim standardizovanim setovima.

Posle svake faze u testu se vrši ispiranje puferom, tako da samo specifično vezani **Ag-At** ostaju u kompleksu vezani za određeni nosač. Reakcija se vizuelizuje dodavanjem hromogena – supstrata za enzim, koji u **razloženom obliku menja boju,** u našim testovima to je **žuta** boja. **Koja znači pozitivnu reakciju.**

Očitavanje se vrši spektrofotometrijski, a **moguća je kvalitativna** i **kvantitativna analiza.**




250 ml

Westren blod ili **IMUNOBLOT** takođe se koristi za potvrdu prisustva antitela, anti – HCV reaktivnosti, kao provera ili potvrdni test nakon pozitivnog testa ELISA ili reaktivnosti, odnosno postojanja antitela protiv virusnih proteina.

Sa ovim testom se određuje **serološki profil antitela,** antitela na pojedinačne virusne antigene. Western blot je **KVALITATIVANO dokazivanje specifičnih antitela,** najčešće se primenjuje kod **hepatitisa tipa C i Hiv infekcije**.

Radioimuni test RIA izvodi se po istim principima kao i ELISA, a postiže se ista ili veća osetlivost i specifičnost. Retko se primenjuje u rutinskoj dijagnostici zbog poznatih opasnosti pri radu sa radioaktivnim materijama, jer je marker **radioaktivni izotop,** bazira se na principu radioaktivnosti. Osetliv je **KVANTITATIVAN test.**

Primena ovog testa je kod dokazivanja anti – HCV antitela i anti – HIV antitela, ima veliki značaj za procenu kod terapije.

TESTIRANJE NUKLEINSKIH KISELINA

- Od otkrića DNK, pa do danas, molekularna biologija i genetika sa svojim dostignućima postale su prisutne u svim oblastima medicine. Molekulske tehnike su svoju primenu našle i u transfuziologiji. U ovoj grani medicine se koriste **u terapiji i dijagnostici.**
- **Od 1987god. počinje njeno korištenje za pretransfuzijsko testiranje jedinica krvi na transmisivne bolesti, za genotipizaciju antigena HLA sistema, antigena krvnogrupnih sistema i kliničku dijagnozu genetskih bolesti.**
- Od 1999god, počinje rutinsko testiranje u Japanu, u SAD, pa sledi Nemačka, Francuska, Španija, Italija.

NAT tehnologija

Najnoviji visoko osetliv metod, nazvan testiranje pomoću **nukleinskih kiselina NAT,** moguće je detektovati **direktno infektivni agens u krvi,** u vrlo maloj koncentraciji čak i pre nego što se stvore antitela.

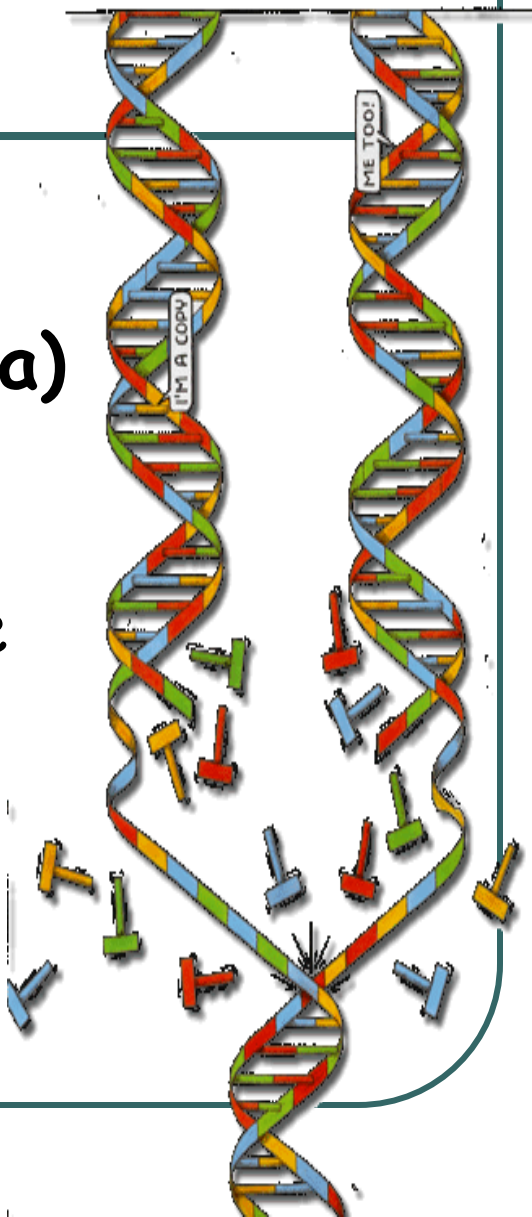
Nukleinske kiseline hibridiziraju se na poznatim i obeleženim **fragmentima DNK** , ranije radioizotopima koji je napušten, a sada se koristi **obeležavanje enzimima,** jer je izvođenje testa jednostavnije, jeftinije i bezopasnije.

Ovom tehnikom znatno se **skraćuje vreme** potrebno za identifikaciju virusa. Primenjuje se za dokazivanje virusa u **kliničkom materijalu** i za dokazivanje virusa u kulturi tkiva.

PCR – Polymerase chain reaction

(Reakcija lančanog umnožavanja)

PCR je postupak umnožavanja izabrane sekvence DNK koja je ograničena parom određenih prajmera.



LANČANA REAKCIJA POLIMERAZE

- Razvoj tehnologije rekombinantne DNK (rDNK)počinje **70ih godina 20 veka** otkrićem enzima, reverzne transkriptaze **(RNK- zavisne DNK polimeraze**) i grupe enzima, koji su nazvani restrikcione endonukleaze. Najčešće korišćeni metodi u dijagnostičke svrhe zasnivaju se na hibridizaciji nukleinskih kiselina.
- Hibridizacija označava formiranje stabilnog dupleksa između komplementarnih nizova nukleotidaputem sparivanja baza. Na taj način moguće je formiranje **hibrida DNK-DNK, DNK-RNK, i ređe RNK-RNK.**
- Prva primena ove tehnike odnosila se i na hibridizaciju DNK probe – koji je obeležen radioaktivnim fosforom.

- Pored navedenih prednosti, ponekad je količina dostupnog tkiva **isuviše mala** da bi se uradile neophodne analize gena, ili se radi o diskretnim promenama u genima koje je **teško tehnički detektovati.** Ovo je prevaziđeno sa **PCR** koja se definiše kao in vitro metod za produkciju velike količine specifičnog fragmenta DNK poznate dužine i sekvence iz male količine uzorka. Ono po čemu se razlikuje od ostalih polimeraza, jeste njegova stabilnost na visokim temperaturama **do 97C.**
- Ova osobina je važna, jer da bi se izvršila sinteza komplementarnog lanca, neophodno je da se predhodno DNK lanci razdvoje, a to se postiže zagrevanjem DNK od 92 – 96C.

Reakcija lančanog umnožavanja PCR

Umnožavanje gena – PCR tehnika je najnovija metoda za **direktnu detekciju virusnog** genoma u kliničkom materijalu. Zasniva se na in vitro umnožavanju DNK ili RNK, zahvaljujući sposobnosti enzima **polimeraze** da određeni, poznati segment DNK koristi kao **kalup** za **sintetisanje** komplementarnog segmenta.

Princip testa se odvija u tri ciklusa:

a)Denaturisanje dvolančane DNK temperatura 95-100C

b) Vezivanje prajmera –graničnika, temperatura 45-60C

c) Sinteza komplementarnog lanca, polimeraza mora da popuni praznine na lancima, počinje od početnog prajmera i ide duž čitave molekule DNK što se naziva **elongacija**.

d)Završna sinteza – 72C 5 -7 min završno delovanje polimer.

e) Hlađenje – reakcija će konačno biti ohlađena na +4C.

Denaturacija dvolančane DNK načešće se odvija pomoću zagrevanja na **95 do 100C,** kako bi se dva lanca koja su predhodno spojena sa vodonikovim vezama razdvojila. Na ovako disocirani lanac DNK veže se jednolančana sekvenca – amplimeri, **nukleotida-prajmer (graničnika).** Svaki prajmer je komplementaran jednom delu originalnog lanca DNK. Posle vezivanja prajmera **sintetiziraju** se novi identični lanci DNK.

Broj lanaca se udvostručuje posle svakog ciklusa,tako da nakon **30 ciklusa može nastati milion kopija.**

Jedan ciklus traje od **nekoliko sekundi do 3-5 min,** i obično se ponavlja 20-40 puta.

- Umnožene kopije traženog virusnog genoma mogu se dokazati pomoću različitih metoda.
- Ako je DNK umožena u dovoljnoj količini može se vizuelizovati u **elektroforezom u gelu.**
- **Konačna** identifikacija DNK može se postići samo tehnikom **hibridizacije.**
- **Kvantitativna PCR metoda se primenjuje u cilju kvantifikacije virusnih čestica u svrhu procene terapijskog efekta i prognoze ishoda bolesti.**

Dijagnostički PCR testovi

* **Hepatitis B monitor** je određivanje **DNK prisustva** virusa hepatitisa **B.** Osim dokazivanja samog virusa, može se izvršiti i **kvantifikacija titra** virusnih čestica u krvi ispitivane osobe, da se tačno odredi količina virusa u krvi, da se proceni uspeh terapije.

* **Detekcija** prisustva **virusne RNK** kod virusa hepatitisa **C.** Ovim testom može se utvrditi **prisustvo virusnih** čestica u serumu i pre **početka** imunog odgovora, u akutnoj fazi bolesti kada u **serumu još ne postoje anti-HCV** antitela u dovoljnom titru za dokazivanje, fenomen prozora.

* **Hepatitis C monitor**, **kvantitativno i kvalitativno** dokazivanje **prisustva** virusa hepatitisa C u serumu, a takođe određuje k**oličinu-titar** virusne RNK hepatitisa C u serumu inficirane osobe.

- I pored primene najsavremenijih testova, radi sprečavanja širenja transmisivnih bolesti, ostao je i dalje **određeni rizik** od prenošenja agensa virusnih bolesti u skriningovanim jedinicama krvi.
- Otkrivanje osoba inficiranih virusima, bakterijama kao i drugim transfuzijskim transmisivnim agensima i dalje predstavlja osnovni kriterijum kojim se danas može suprostaviti širenju ovih bolesti, tim pre što ne postoji **dovoljno efikasna antivirusna terapija.** U vezi sa tim razvijaju se i dalje brojni testovi visoke osetlivosti i specifičnosti.

* Testovi za skriningovanje davalaca krvi, pored specifičnosti i visoke osetljivosti, trebalo bi da budu jednostavni za izvođenje i maksimalno automatizovani kako bi se sprečila greška zbog subjektivnosti (faktor čovek) u očitavanju rezultata.

* Ipak, transmisija virusnih infekcija transfuzijom za sada **ne može biti u potpunosti sprečena zbog:**

* niskog nivoa markera koji su nedektabilni raspoloživim testovima – **fenomen prozora**

***odsustvo markera** infekcije u početnom stadijumu infek

*mogućnosti **laboratorijske greške** pri izvođenju testova.

ZAŠTITA ZDRAVSTVENIH RADNIKA KOD BOLESTI KOJE SE PRENOSE PUTEM KRVI

- Prema navedenim putevima prenosa transmisivnih hematogenih bolesti najugroženiji su zdravstveni radnici koji **profesionalno** često dolaze u kontakt sa krvlju bolesnika ili tkivnim tekućinama bolesnika i to naročito na odeljenjima za hroničnu hemodijalizu, onkologije, hematološke laboratorije, službe za transfuziju krvi, osoblje i štićenici ustanova sa posebnim potrebama.
- Uspešna **aktivna** prevencija u sklopu ovih bolesti postoji samo imunizacija **protiv hepatitisa tipa B** i obavezna je za sva lica koja su profesionalno izložena infekciji virusom hepatitisa.

- Vakcine koje su danas u upotrebi pripremaju se **tehnikom rekombinantne DNK.**
- Ona se aplikuje u tri doze, dok **nivo antitela** ne iznosi najmanje **100 i.j (10 i.j.)** sve dotle se smatra, da je zaštita nekompletna i potrebne su dodatne vakcinacije.
- Imajući u vidu težinu kliničke slike hepatitisa tipa B, ali i mogućnosti njegove evolucije u hronicitet u oko 4-5% bolesnika, uvek kada je to potrebno, treba primeniti hiperimuni imunoglobulin anti-HBV.
- Neophodno je da svaka akcidentelna inokulacija, rizična ekspozicija bude odmah prijavljena komisiji ili licu zaduženom za kontrolu ili prevenciju hepatitisa tipa B.

- Pre imunizacije neophodno je uraditi **test na HBS-Ag.**
- Za imunizaciju zdravih lica daju se tri doze vakcine za osobe koje su izložene visokom riziku infekcije.
- Vakcina se aplikuje intramuskularno u deltoidni mišić. Revakcinacija se vrši posle 12 meseci i obezbeđuje zaštitu više od pet godina.
- Nakon pet godina vrši se revakcinacija jednom dozom.
- Ukoliko se desi neko imunodeficijentno obolenje u međuvremenu, po pravilu je neophodno uraditi test **anti- HBS antitela.** Ukoliko je titar zadovoljavajući, nisu neophodne dodatne mere, ukoliko je titar nezadovoljavajući, neophodno je dodatna vakcinacija.

Prema preporukama SZO, to su sledeće grupe zdravstvenih radnika koje se trebaju redovno vakcinisati:

a) **osobe koje rade u centrima za hemodijalizu, hemofiliju**
b) **osobe koje su direktno angažovane na njezi bolesnika sa pozitivnim nosiocima infekcije hepatitisa B**
c) **laboratorijski radnici izloženi povećanom riziku od inficiranog materijala – službe za transfuziju**
d) **stomatolozi i njihovo pomoćno osoblje**

ostali zdravstveni radnici koji su često u kontaktu s krvlju i iglama i sistemima

a) **medicinski i ostali personal u ustanovama sa posebnim potrebama**
b) **osoblje na održavanju čistoće i odvoza smeća.**

Prevencija od ostalih hematogenih bolesti vrši se na uobičajen način:

1. **korišćenje zaštitnih rukavica različitih vrsta**
2. **temeljno pranje ruku sapunom i tekućom vodom**
3. **korišćenje zaštitne odeće, maske, štita- naočara**
4. **obavezna sterilizacija svih instrumenata kojima se izvode krvavi zahvati**
5. **sigurno odlaganje upotrebljenog materijala**
6. **odgovarajuće čišćenje i dezinfekcija medicinskih instrumenata**
7. **obavezna upotreba sterilnih šprica i igala**
8. **aktivno pronalaženje mogućih izvora zaraze**
9. **najpouzdanija prevencija je korišćenje materijala za jednokratnu upotrebu,**
10. **prije odstranjivanja, sav upotrebljeni materijal treba sakupljati u posebne plastične kese spaljivati ili autoklavirati.**

Preventivne mere koje mogu sprečiti ili svesti na najmanji stepen transmisije HBV na zdravstvene radnike i bolesnike koji se leče sa krvlju ili derivatima krvi su sledeće:

- **organizacione mjere** – formiranje komisija za transfuzijske – transmisivne bolesti u okviru koje su određena lica odgovorna za kontrolu i prevenciju hepatitisa tipa B i organizovana edukacija osoblja;
- **medicinske mjere** – skriningovanje i selekcija davalaca krvi specifičnim i što osjetlivijim testovima na prisustvo HbsAg i terapijska primjena samo HbsAg negativnih produkata.
- **opšte higijenske mjere –** adekvatna lična higijena, poboljšavanje higijenskih navika, upotreba zaštitne odeće, obuće i rukavica:
- **mjere specifične zaštite** – primjena vakcina i preparata standardnih i hiperimunih imunoglobulina;