

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NINA GRABARIĆ (GOSARIĆ)

MAGISTRSKA NALOGA

PRIMERJAVA PRESEJALNEGA TESTIRANJA
KRVODAJALCEV NA OZNAČEVALCE POVZROČITELJEV OKUŽB
V SLOVENIJI IN NA HRVAŠKEM

A COMPARISON OF BLOOD DONORS SCREENING FOR MARKERS OF INFECTIVE
AGENTS IN SLOVENIA AND CROATIA

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NINA GRABARIĆ (GOSARIĆ)

MAGISTRSKA NALOGA

PRIMERJAVA PRESEJALNEGA TESTIRANJA
KRVODAJALCEV NA OZNAČEVALCE POVZROČITELJEV OKUŽB
V SLOVENIJI IN NA HRVAŠKEM

A COMPARISON OF BLOOD DONORS SCREENING FOR MARKERS OF INFECTIVE
AGENTS IN SLOVENIA AND CROATIA

Ljubljana, 2012

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju doc.dr. Matjažu Jerasu, mag. farm. za izkazano pomoč in strokovne nasvete pri opravljanju magistrske naloge.

Hvala tudi somentorici Snežni Levičnik Stezinar, dr. med., spec. transf. med. in mr.sc. Ivanki Mihaljević, mag. med. biohem. za nasvete in smernice, s katerimi sta mi olajšali izdelavo naloge.

Hvala tudi družini za vse spodbudne besede in pomoč med študijem.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo izdelala samostojno, pod mentorstvom doc. dr. Matjaža Jerasa, mag. farm. in somentorstvom Snežne Levičnik Stezinar, dr. med., spec. transf. med.

Ljubljana, januar 2012

Nina Grabarić

Komisija za zagovor:

1. Predsednik: izr. prof. dr. Vojko Kmetec
2. Mentor: doc.dr. Matjaž Jeras
3. Somentorica: Snežna Levičnik Stezinar, dr. med., spec. transf. med.
4. Članica: doc.dr. Lucija Peterlin Mašič

VSEBINA

SEZNAM OKRAJŠAV **I**

POGOSTO UPORABLJANI POJMI **III**

POVZETEK **VII**

I. UVOD **1**

1. KRVODAJALCI IN KRVODAJALSTVO	1
1.1. REPUBLIKA SLOVENIJA IN REPUBLIKA HRVAŠKA	2
1.1.2. ZGODOVINA KRVODAJALSTVA V REPUBLIKI SLOVENIJI	2
1.1.3. ZGODOVINA KRVODAJALSTVA V REPUBLIKI HRVAŠKI	3
1.2. VARNA KRI ZA BOLNIKA	3
1.2.1. VARNOST TRANSFUZIJE KRVI	4
1.2.2. TVEGANJA POVEZANA S TRANSFUZIJO KRVI	5
1.2.2.1. DIAGNOSTIČNO OKNO	7
1.2.2.2. VIRUSNE VARIANTE	7
1.2.2.3. SEROKONVERZIJA	7
1.2.3.4. TEHNIČNE IN/ALI ČLOVEŠKE NAPAKE	8
1.3. IZBIRA VARNIH KRVODAJALCEV	8
1.3.1. ZGODOVINA PRESEJALNIH TESTIRANJ KRVI KRVODAJALCEV	9
1.3.2. OBVEZNO PRESEJALNO TESTIRANJE ODVZETIH ENOT KRVI	10
1.3.3. HEPATITIS B	11
1.3.4. HEPATITIS C	13
1.3.5. HIV	14
1.3.6. TREPONEMA PALLIDUM	15
1.3.7. POMEN HBV, HCV, HIV IN TREPONEME PALLIDUM V TRANSFUZIJI--	17
1.4. ANALIZATORJI IN METODE, KI SE UPORABLJAJO ZA PRESEJALNO TESTIRANJE KRVI KRVODAJALCEV	17
1.4.1. AGLUTINACIJSKI TESTI	18
1.4.2. IMUNOKEMIJSKI ANALIZATORJI	18
1.4.3. IMUNOKEMIJSKI TESTI	19
1.4.4. MOLEKULARNA DIAGNOSTIKA	19
1.5. ALGORITMI TESTIRANJA ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRVI	21
1.6. RAVNANJE Z REAKTIVNO KRVJO IN POSTOPKI Z OKUŽENIMI KRVODAJALCI V RS IN V RH	21

1.6.1. SVETOVANJE -----	22
1.6.2. ARHIVIRANJE VZORCEV -----	22
1.6.3. KONTROLA KAKOVOSTI -----	23
1.7. PODROČNA ZAKONODAJA V RS -----	23
1.7.1. ORGANIZACIJA TRANSFUZIJSKE DEJAVNOSTI V RS -----	24
1.8. PODROČNA ZAKONODAJA V RH -----	25
1.8.1. ORGANIZACIJA TRANSFUZIJSKE DEJAVNOSTI V RH -----	25
II. NAMEN DELA -----	27
III. MATERIALI IN METODE -----	29
IV. REZULTATI IN INTERPRETACIJA -----	30
4.1. KRITERIJI ZA IZBIRO PRIMERNIH KRVODAJALCEV -----	30
4.2. PRIMERJAVA ŠTEVILA KRVODAJALCEV V RS IN RH OD LETA 1998 DO LETA 2010 -----	31
4.3. PRIMERJAVA ZGODOVINE UVAJANJA RAZLIČNIH PRESEJALNIH TESTIRANJ ODVZETE KRV V RS IN RH -----	32
4.4. PRIMERJAVA HRVAŠKE IN SLOVENSKE ZAKONODAJE GLEDE ORGANIZACIJE TRANSFUZIJSKE DEJAVNOSTI -----	33
4.5. PRIMERJAVA HRVAŠKE IN SLOVENSKE PODROČNE ZAKONODAJE GLEDE IZVAJANJA PRESEJALNIH TESTIRANJ ODVZETE KRV V RS IN RH -----	35
4.6. PRIMERJAVA ALGORITMOV ZA IZVAJANJE PRESEJALNIH TESTIRANJ KRVODAJALCEV V RS IN RH -----	36
4.7. PRIMERJAVA ALGORITMOV ZA IZVAJANJE POTRJEVALNIH TESTIRANJ KRVODAJALCEV V RS IN RH -----	37
4.8. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA REZULTATOV PRESEJALNIH TESTIRANJ ODVZETIH ENOT IN KOMPONENT KRV V RS IN RH -----	38
4.8.1. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S HBV NA 10 ⁵ ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRV V RS IN RH -----	40
4.8.2. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S HCV NA 10 ⁵ ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRV V RS IN RH -----	41
4.8.3. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S HIV NA 10 ⁵ ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRV V RS IN RH -----	42
4.8.4. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S TREPONEMO PALLIDUM NA 10 ⁵ ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRV V RS IN RH -----	44

V. RAZPRAVA	45
VI. SKLEPI	48
VII. LITERATURA	50
VIII. PRILOGE	53

SEZNAM SLIK:

Slika 1: Zgradba HBV

Slika 2: Zgradba HCV

Slika 3: Zgradba HIV

Slika 4: Treponema pallidum subsp. Pallidum

Slika 5: Palingova lestvica tveganja

SEZNAM PREGLEDNIC:

Preglednica I: Zoževanje diagnostičnega okna

Preglednica II: Kriteriji za izbiro krvodajalcev v RS in v RH

Preglednica III: Zgodovina presejalnih testiranj v RS in v RH

Preglednica IV: Potrditveni testi za dokazovanje HBV, HCV, HIV in T. Pallidum, ki se uporabljajo v RS in RH

Preglednica V: Rezultati presejalnega testiranja odvzetih enot krvi v RS (1998-2010)

Preglednica VI: Rezultati presejalnega testiranja odvzetih enot krvi v RH (1998-2010)

SEZNAM GRAFOV:

Graf 1: Delitev neželenih učinkov

Graf 2: Število krvodajalcev na 1.000 prebivalcev

Graf 3: Prevalenca HBV med krvodajalci v RS in RH / 10^5 odvzetih enot krvi

Graf 4: Prevalenca HCV med krvodajalci v RS in RH / 10^5 odvzetih enot krvi

Graf 5: Prevalenca HIV med krvodajalci v RS in RH / 10^5 odvzetih enot krvi

Graf 6: Prevalenca sifilisa med krvodajalci v RS in RH / 10^5 odvzetih enot krvi

SEZNAM PRILOG:

Priloga 1: Vprašalnik za krvodajalce, ki je v uporabi v RS

Priloga 2: Vprašalnik za krvodajalce, ki je v uporabi v RH

Priloga 3: Pravilniki, podrejeni Zakonu o preskrbi s krvjo (ZPKrv-1/Ur.l.RS št.104/2006)

Priloga 4: Pravilniki in Zakoni, na katerih temelji delo transfuzijskih enot v RH

Priloga 5: Algoritmi presejalnih testiranj za HBV, HCV, HIV in Treponeme pallidum v RS

Priloga 6: Algoritmi presejalnih testiranj za HBV, HCV, HIV in Treponeme pallidum v RH

SEZNAM OKRAJŠAV:

AIDS – sindrom pridobljene akutne imunske pomanjkljivosti (ang. Acquired Immune Deficiency Syndrome)

BIH – Bosna in Hercegovina

ChLIA – kemiluminiscentni imunski test (ang. Chemiluminescent immunoanassay)

CJB – Creutzfeld – Jakobova bolezen

EHN – Evropska mreža za hemovigilanco (ang. European Haemovigilance Network)

IHN – Mednarodna mreža za hemovigilanco (ang. International Haemovigilance Network),
ki je leta 2009 nastala iz EHN

EIA – encimskoimunski test (ang. Enzyme Immunoassay)

ELISA – encimskoimunski test (ang. Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay)

ES – Evropska skupnost

HBV – virus hepatitisa B (Hepatitis B Virus)

HBcAg – antigenski protein (ang. core antigen) jedrne ovojnice (nukleokapside) virusa
hepatitisa B (HBV)

HBeAg – antigenski protein, zunajcelična oblika HBcAg, ki kaže na aktivno delitev virusa
hepatitisa B; njegova prisotnost v krvi pa pomeni, da je oseba prenašalec virusa

HBsAg – površinski antigenski protein (ang. surface antigen) virusa hepatitisa B (HBV)

HCV – virus hepatitisa C (Hepatitis C Virus)

HIV – človeški virus imunske pomanjkljivosti (ang. Human Immunodeficiency Virus)

HZJZ – Hrvški zavod za javno zdravstvo (Hrvatski zavod za javno zdravstvo)

HZTM – Hrvški zavod za transfuzijsko medicino (Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu)

IR – začetno reaktiven vzorec (ang. Initially Reactive)

ISBT – Mednarodno združenje za področje transfuzije krvi (ang. International Society of
Blood Transfusion)

LCR – verižna reakcija z ligazo (ang. Ligase Chain Reaction)

NAT – testiranje na prisotnost virusnih nukleinskih kislin (ang. Nucleic Acid Testing)

NK – nukleinska kislina

NN – Narodne novine, Uradni list Republike Hrvaške

NR – nereaktiven rezultat testiranja (ang. Non Reactive)

PCR – verižna reakcija s polimerazo (ang. Polymerase Chain Reaction)

PK – prostovoljni krvodajalec

RH – Republika Hrvaška

RPR – hitri test plazemskega reagina (ang. Rapid Plasma Reagin) za določanje protiteles anti-T. pallidum

RR – ponovljeno reaktiven vzorec (ang. Repeatedly Reactive)

RS – Republika Slovenija

RSK – Razširjeni strokovni kolegij

SFRJ – Socialistična Federativna Republika Jugoslavija

SZO – Svetovna zdravstvena organizacija

TA – GVHD – ang. Transfusion-associated graft versus host disease

TMA – transkripcijska amplifikacija (ang. Transcription-Mediated Amplification)

TPHA (TPPA) – hemaglutinacijski test za dokaz protiteles anti-T. pallidum

TRALI – ang. Transfusion related acute lung injury

VDRL – venerološki raziskovalni laboratorij (ang. Venereal Diseases Research Laboratory);
flokulacijska metoda za dokazovanje protiteles anti-T pallidum

ZPKrv – Zakon o preskrbi s krvjo

ZTM – Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino

POGOSTO UPORABLJANI POJMI

ALGORITEM PRESEJALNEGA TESTIRANJA – dogovorjeno in s strani odgovorne osebe uradno potrjeno natančno delovno navodilo za koračno izvajanje postopkov, ki omogoča standardizirano, ponovljivo in kakovostno izvajanje delovnih nalog, z namenom določanja statusa odvzete enote krvi in samega krvodajalca.

ANALIZATOR – naprava, ki sama opravlja s programsko opremo voden in nadzorovan laboratorijski analizni proces, od zajemanja vzorcev do generiranja končnih rezultatov.

ARHIVIRANJE VZORCEV – shranjevanje vzorcev v zamrznjeni obliki, po končanem testiranju in je namenjeno morebitnim naknadnim dodatnim testiranjem.

AVTOMATIZACIJA – proces, pri katerem en ali več laboratorijskih aparatov izvaja veliko število analiz, ob le minimalnem sodelovanju laboratorijskega osebja; avtomatizacija laboratorijskih procesov se je začela v petdesetih letih prejšnjega stoletja, ko je Leonard Skeggs skonstruiral prvi pretočni analizator.

DOPOLNILNO TESTIRANJE – dodatno testiranje vzorcev RR, in sicer bodisi z enakovrednim testom drugega proizvajalca, potrditvenim testima ali ugotavljanjem dodatnih označevalcev povzročitelja okužbe ali z uporabo drugačnih metod.

HEMOVIGILANCA – niz predpisanih, organiziranih postopkov nadzora namenjenih ugotavljanju, spremljanju in poročanju o hudih neželenih ali nepričakovanih dogodkih ali reakcij tako pri krvodajalcih kot prejemnikih krvi oziroma komponent krvi, kakor tudi epidemiološkemu spremljanju krvodajalcev.

INCIDENCA – je stopnja na novo odkritih okužb v izbrani populaciji, in sicer znotraj definiranega časovnega obdobja; pri krvodajalcih je to število odkritih okužb med večkratnimi (rednimi) krvodajalci.

INICIALNO REAKTIVEN VZOREC (IR) – je vzorec krvi krvodajalca, ki je pokazal reaktivnost pri obveznem začetnem serološkem testu na povzročitelje s krvjo prenosljivih bolezni.

KOMPONENTA KRVI – zdravilna komponenta krvi (rdeče krvne celice, bele krvne celice, krvne ploščice, plazma), ki jo je mogoče iz krvi pripraviti z različnimi postopki.

KRVNI PRIPRAVEK – vsak zdravilni pripravek (komponenta ali zdravilo), ki izvira iz človeške krvi ali plazme.

NEŽELENI DOGODEK – je po definiciji IHN (Mednarodna mreža za hemovigilanco) dogodek, ki nastane, ko bolnik prejme komponento krvi, ki ni ustrezala vsem zahtevam za transfuzijo tega bolnika ali pa je bila namenjena drugemu bolniku.

NEŽELENI UČINEK – je po definiciji IHN neželeni odziv bolnika, povezan s transfuzijo krvi ali komponente krvi, ki je lahko posledica neželenega dogodka ali pa neželene interakcije med prejemnikom in transfundiranim biološko aktivnim krvnim pripravkom.

PONOVNO REAKTIVEN VZOREC (RR) – vzorec IR, ki je reaktiven tudi v ponovljenem testiranju; enote krvi oziroma komponent krvi, katerih vzorci so RR se ne smejo uporabiti za zdravljenje bolnikov, ne glede na rezultat potrditvenega testa, ampak se morajo ustrezno uničiti (npr. sežig).

POSTOPEK »LOOK BACK« – postopek preverjanja vzroka za nastanek resne škodljive reakcije pri prejemniku predhodno nereaktivnega (negativnega) krvnega pripravka krvodajalca, za katerega je bilo naknadno ugotovljeno, da se je pri njem pojavila reaktivnost na določene označevalce s krvjo prenosljivih bolezni.

POTRDITVENI TESTI – so tisti testi, s katerimi na drugačen način potrdimo prisotnost označevalcev, ki smo ih zaznali s presejalnim testom. S potrditvenim testiranjem pridobimo diagnostični pomen rezultata testiranja. Potrdilni test mora biti približno enako občutljiv kot presejalni test, vendar mora biti bolj specifičen.

PRESEJALNI TESTI – so izhodiščni testi za dokazovanje prisotnosti seroloških označevalcev povzročiteljev s krvjo prenosljivih bolezni, na podlagi katerih se odloča, ali se bo odvzeta enota krvi ali krvnih komponent transfundirala ali ne; tudi „screening testi“.

PREVALENCA – stopnja razširjenosti okužbe, ki jo, v izbrani populaciji, vključno s preteklimi in sedanjimi okužbami, identificiramo v določeni časovni točki ali v določenem časovnem obdobju; pri krvodajalcih predstavlja število odkritih okužb med novimi krvodajalci.

PROSTOVOLJNI KRVODAJALEC – skladno z definicijo Mednarodnega združenja za področje transfuzije krvi (ISBT), je to oseba, ki po svoji prosti volji daruje kri, plazmo ali krvne celice in za to ne prejema nikakršnega nadomestila, niti v obliki denarja, niti v kakršnikoli drugi obliki, ki bi se lahko štela kot nadomestek finančne kompenzacije.

RAZŠIRJENI STROKOVNI KOLEGIJ – najvišji strokovni posvetovalni organ Ministrstva za zdravje Republike Slovenije na posameznem področju zdravstva, ki usklajuje predloge klinik, strokovnih združenj in zbornic, visokošolskih in zdravstvenih zavodov ter posameznih strokovnjakov.

RETESTIRANJE VZORCA – ponovno testiranje vzorcev IR, ki se obvezno izvaja v dvojniku, in sicer z enakim testom kot prvič.

SEROLOŠKI OZNAČEVALCI BOLEZNI, PRENOSLJIVIH S KRVJO – so označevalci okužbe ali bolezni, ki jih določamo v plazmi ali serumu okuženih oseb; lahko so sestavni deli povzročitelja (antigeni, nukleinske kisline, encimi) ali pa protitelesa, ki se pojavijo po odzivu imunskega sistema na njihovo prisotnost v telesu.

SHRANJEVANJE VZORCEV – njihovo shranjevanje od prejema do konca testiranja oziroma do izdaje končnega izvida.

SISTEM KAKOVOSTI – skupek predpisov in navodil, ki natančno opredeljuje organizacijsko strukturo inštitucije ter njen celovit sistem zagotavljanja kakovosti, pri čemer določa odnose med načeli, procesi in pisnimi dokumenti, definira pooblastila in odgovornosti pri opravljanju delovnih nalog, opisuje način načrtovanja in upravljanja procesov, zagotavlja sledljivost in nadzor nad njimi in drugimi podpornimi aktivnostmi, določa načine ugotavljanja in ocenjevanja potreb po spremembah posameznih procesov in načine njihove izvedbe ter poti in pravila za zagotavljanje finančnih, materialnih in človeških virov, ki omogočajo kakovostno in nemoteno izvajanje dejavnosti.

SLEDENJE ZA NAZAJ (TRACE BACK) – postopek preverjanja poročila o resni škodljivi reakciji, nastali pri prejemniku določenega krvnega pripravka, z namenom, da bi identificirali darovalca, ki bi lahko bil možni povzročitelj takega stanja.

SVET EVROPE – najobsežnejša (47 držav) in najstarejša (od leta 1949) evropska institucija, katere temeljno načelo je pospeševanje sodelovanja med državami z namenom izboljšanja kakovosti življenja vseh Evropejcev.

TESTIRANJE NAT – testiranje za dokazovanje prisotnosti virusnih genomov, s katerim se bistveno zoži obdobje diagnostičnega okna.

V magistrski nalogi so določeni izrazi, npr. krvodajalec in bolnik, zapisani v moški slovnični obliki, pri čemer pa so uporabljeni povsem nevtrarno in veljajo enakovredno, tako za ženski kot moški spol!

POVZETEK

Transfuzijska medicina je pomemben segment zdravstvene dejavnosti, z osnovno nalogo zagotavljanja varne, kakovostne in zadostne količine krvi za bolnike. Še posebej pomembna je varnost, ki jo moramo zagotovljati pri zdravljenju s krvjo oziroma komponentami krvi, s čimer preprečujemo širjenje bolezni, ki se lahko prenašajo s krvjo. Pri tem je zelo pomemben že prvi korak, to je izbira primernih krvodajalcev, nato pa tudi način izvajanja presejalnega testiranja odvzetih enot in/ali komponent krvi na povzročitelje okužb.

V okviru magistrske naloge smo preučili, analizirali in primerjali organizacijo ter način delovanja transfuzijske dejavnosti na področju presejalnega testiranja krvodajalcev oziroma odvzetih enot in komponent krvi v dveh sosednjih državah, Republiki Sloveniji in Republiki Hrvaški, ki sta bili pred osamosvojitvijo leta 1991, del skupne države, Socialistične Federativne Republike Jugoslavije (SFRJ).

V prvem delu naloge smo se posvetili opisu tistega dela transfuzijske medicine, ki se ukvarja s krvodajalstvom in presejalnim testiranjem odvzete krvi in komponent krvi ter predstavitvi področne zakonodaje v obeh državah. V drugem delu pa smo pozornost namenili ugotavljanju razlik v organizaciji, zakonskih predpisih in načinih izvajanja presejalnega testiranja ter primerjavi statističnih epidemioloških podatkov v RS in RH.

S temeljito preučitvijo nacionalne zakonodaje in organizacije dela v obeh največjih državnih zavodih za transfuzijsko medicino smo ugotovili, da se način dela na področju transfuzijske dejavnosti v RS ne razlikuje bistveno od tistega v RH. Republika Hrvaška kot država, ki je tik pred vstopom v Evropsko skupnost (ES), je v fazi usklajevanja nacionalne zakonodaje z evropskimi zakonskimi normativi, kar je pogoj za njen vstop v ES. Na področju organizacije transfuzijske dejavnosti se je kot pomembna izkazala centralizacija, h kateri težita obe državi. Ta namreč omogoča strokovno poenoteno, transparentno, kakovostno in finančno učinkovito izvajanje dejavnosti. Osnovna razlika v načinu izvajanja presejalnih testiranj v RS in RH, ki smo jo ugotovili, je obvezno testiranje NAT vseh odvzetih enot in komponent krvi, ki se trenutno izvaja le v RS. Tak pristop izrazito povečuje varnost transfuzije krvi in komponent krvi, in sicer zaradi občutljivosti metode, ki znatno zoži diagnostično oziroma detekcijsko okno pri obveznem ugotavljanju prisotnosti virusov HBV, HCV in HIV. Najpomembnejše razlike v primerjanih epidemioloških podatkih za RS in RH izvirajo predvsem iz obdobja 90. let prejšnjega stoletja, ko je bilo v RH odkrito povečano število krvodajalcev s pozitivnimi testi na nekatere označevalce okužb (predvsem HBV in HCV), kar lahko povežemo z vojnimi razmerami in povečanim prilivom beguncev iz sosednje BIH, ki so se v tem času tudi nastanili na območju RH.

ABSTRACT

Transfusion medicine represents an important part of the health system as it deals with the procurement of safe, quality and sufficient amounts of blood and blood components for patients. Of special importance is safety that must be assured for the clinical use of blood or its components in order to prevent the spreading of blood transmitted infectious diseases. With this goal ahead, already the first step, i.e. the selection of „safe“ blood donors is of crucial importance and should be supported by performing highly sensible and effective screening tests for detecting potential presence of infectious agents in the collected blood and/or blood components.

The aim of our work was to study, analyze and compare the organization of transfusion medicine with the emphasis on the approaches and methods used for screening tests of donated blood and blood components in the two neighbouring countries, i.e. the Republic of Slovenia (RS) and the Republic of Croatia (RC), which were, until the proclamation of their independence in 1991, constitutive entities of the Socialist Federal Republic of Yugoslavia (SFRY).

The first part of our study was dedicated to the general description of those tasks of transfusion medicine that encompass blood donation and screening tests of donated blood and blood components and to introduction of national legislations regulating this field in both countries. In the second part of the study our attention was directed to the analysis of differences in legislation, organization, screen testing and epidemiological statistical data for blood and blood component donation between the RS and the RC. Following thorough investigation of the work being carried out by both biggest national centres for transfusion medicine, we found out that there are no major differences existing between them. Since the Republic of Croatia is in its final preparation for joining the European Union (EU) as a full member state, its legislation is currently being adjusted to the European legal standards, which is one of the conditions to be fulfilled in order to become a member of the EU. In the area of organization of the national transfusion service, its centralization has shown to be a very important issue in both countries. Namely, this approach enables professional, transparent, high quality and financially effective implementation of transfusion medicine. The current basic difference between screen testing in the RS and the RC is the mandatory NAT testing of all donated blood units and blood components that is only conducted in the RS.

This approach markedly increases safety of transfused blood and blood components, because the method is very sensitive and it narrows the window for detecting HIV, HBV and/or HCV infections. Major differences between the epidemiological data in the compared countries were found in the 90-ies of the past century, when increased numbers of blood donors with positive tests for markers of infective diseases (mostly HBV and HCV) were detected in the Republic of Croatia, which can be ascribed to the war and the increased number of refugees that fled from the neighbouring Bosnia and Herzegovina and actually settled in the territory of the Republic of Croatia.

I. UVOD

Transfuzijska medicina je del medicinske znanosti. Ukvarja se z zbiranjem, testiranjem, predelavo in shranjevanjem krvi in krvnih komponent, proizvodnjo zdravil iz krvi, zdravljenjem bolnikov s krvnimi pripravki ter diagnostiko določenih bolezni (1).

Že na začetku 17. stoletja je dozorela ideja, da bi bilo staro in slabo kri potrebno zamenjati z mlado, svežo in zdravo. Leta 1628 je angleški zdravnik Wiliam Harvey opisal cirkulacijo. Nekaj let pozneje pa je florentinski zdravnik Francisco Folli opisal transfuzijo krvi, vendar je nikoli ni izvedel. Christopher Wern je leta 1665 delal poskuse na psih in postavil tehnične osnove za transfuzijo krvi ter pri tem prišel do novih, pomembnih spoznanj v zvezi z izvajanjem tovrstnega zdravljenja. Zgodovina transfuzijskega zdravljenja kot ga poznamo danes se je pričela leta 1818, ko je James Blundell izvedel tako transfuzije avtologne kot alogenske krvi. Vse do leta 1900 so različni znanstveniki eksperimentirali s transfuzijami krvi, takrat pa je Karl Landsteiner s sodelavci odkril eritrocitne antigene ABO krvnega sistema in za svoje odkritje leta 1930 prejel Nobelovo nagrado (3). Do leta 1913, ko so zdravniki odkrili, da lahko z dodatkom natrijevega citrata preprečijo strjevanje krvi in s tem omogočijo njeno shranjevanje izven telesa, so se transfuzije krvi izvajale neposredno iz darovalca v bolnika. Končno je Albert Hustin leta 1914, kot prvi na svetu, izvedel transfuzijo, z natrijevim citratom konzervirane krvi (2, 3).

Transfuzija se je preko desetletij in stoletij vse bolj razvijala in danes predstavlja povsem običajno in varno obliko terapije, pri čemer pa ima, tako kot vsaka oblika zdravljenja, tudi neželene stranske učinke. Mednje sodijo: možnost prenosa bolezni, aloimunizacija in pojav drugih neželenih učinkov (4).

1. KRVODAJALCI IN KRVODAJALSTVO

Prostovoljni krvodajalci so naravno bogastvo vsake države. Njihova osnovna je altruizem. Kri darujejo povsem prostovoljno, anonimno in brezplačno, na temelju človekoljubja in solidarnosti (1). Trenutno je na svetu 62 držav, ki imajo nacionalne transfuzijske službe utemeljene na popolnoma prostovoljnem krvodajalstvu. V RS se vsako leto dan prostovoljnih krvodajalcev praznuje 4. junija, v RH pa 25. oktobra. Svetovni dan prostovoljnih krvodajalcev pa se obeležuje 14. junija (5).

1.1. REPUBLIKA SLOVENIJA IN REPUBLIKA HRVAŠKA

Republika Slovenija (RS) in Republika Hrvaška (RH) sta sosednji državi ki se nahajata v srednji oziroma jugovzhodni Evropi in sta obe mediteranski državi. Sta neodvisni, suvereni in demokratični državi, ki sta svojo neodvisnost razglasili leta 1991 in s tem izstopili iz SFRJ. Po popisu prebivalstva iz leta 2002 ima RS 1.964.036 prebivalcev, njena površina znaša 20.273 km², gostota poseljenosti pa 97 prebivalcev/km². Po popisu iz leta 2011, ki ga je objavil Državni zavod za statistiko RH, živi v državi 4.290.612 prebivalcev, njena površina znaša 56.542 km², gostota poseljenosti pa 76 prebivalcev/km². Obe državi sta članici Sveta Evrope. Republika Slovenija je od 1. maja 2004 polnopravna članica Evropske skupnosti (ES), medtem ko je RH od leta 2004 kandidatka za članstvo v ES, v katero naj bi predvidoma vstopila 1. julija leta 2013 (6, 7, 8).

1.1.2. ZGODOVINA KRVODAJALSTVA V REPUBLIKI SLOVENIJI

Prvo zabeleženo transfuzijo krvi je leta 1926 v Mariboru izvedel dr. A. Ramšak (2). Takoj po koncu 2. svetovne vojne, junija 1945 se je v Socialistični Republiki Sloveniji (SRS) začelo organizirano krvodajalstvo, saj je bil ustanovljen prvi Oddelek za transfuzijo krvi v Centralni vojaški bolnišnici v Ljubljani. Že naslednje leto pa je bil v okviru Medicinske fakultete v Ljubljani ustanovljen Zavod za transfuzijo krvi. Med letoma 1946 in 1959 so bili organizirani tudi ostali transfuzijski oddelki v večjih regionalnih bolnišnicah, v Mariboru, Celju, Izoli, Murski soboti, Ptuj, Slovenj Gradcu, Novi Gorici, Novem mestu in Trbovljah. Leta 1953 je organizacijo krvodajalstva v SRS prevzel Rdeči križ Slovenije. Leta 1956 je bil ustanovljen Zavod Socialistične Republike Slovenije za transfuzijo krvi. Nato se je do 80-tih let krvodajalstvo ves čas močno krepilo, v 90-tih pa je število aktivnih krvodajalcev izrazito upadlo. V tem obdobju so se namreč v RS s preходом v tržno gospodarstvo zgodile pomembne družbene spremembe, ki so vplivale tudi na krvodajalstvo, in sicer v smislu zmanjšane pripravljenost državljanov za brezplačno darovanje kri. Vendar pa je bil ta trend le prehodne narave. Leta 1998 se je Zavod za transfuzijo krvi preimenoval v Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino. Danes v RS prostovoljno in brezplačno daruje kri približno 5% vseh prebivalcev, kar Slovenijo uvršča v zgornji del evropskega povprečja (2, 9).

1.1.3. ZGODOVINA KRVODAJALSTVA V REPUBLIKI HRVAŠKI

Razvoj transfuzijske medicine na Hrvaškem ni veliko zaostajal za razvojem v svetu. Neposredne transfuzije iz darovalca v prejemnika so se po ustnem pričevanju opravljale že leta 1920, in sicer v Kraljevi državni porodnišnici v Zagrebu, prvo dokumentirano transfuzijo pa so opravili leta 1923, na zagrebški Ginekološki kliniki na Petrovi. V Zagrebu je bilo 16.4.1937 ustanovljeno "Udruženje davaoca krvi putem transfuzije teško bolesnim osobama" leta 1941 pa so njegov naziv spremenili v "Društvo davalaca krvi u Zagrebu". V času 2. svetovne vojne so bile na osvobojenem območju Hrvaške organizirane prve specializirane ekipe za določanje krvnih skupin in izvajanje transfuzij krvi, konec maja 1945 pa je bil ustanovljen »Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu«. Velik napredek je transfuzijska služba doživela v letih 1950 in 1951, ko se je začelo organizirano zbiranje krvodajalcev. Hrvaški Rdeči križ je začel postopno zbirati prostovoljne brezplačne krvodajalce. Prva masovna akcija prostovoljnega darovanja krvi pa je bila organizirana 25. oktobra 1953 v Sisku. Od takrat dalje Hrvaški Rdeči križ organizira krvodajalske akcije po načelih prostovoljnosti, anonimnosti, solidarnosti in brezplačnosti (3, 5, 9). Leta 2006 se je Rdečemu križu pri izvajanju programa zbiranja krvodajalcev pridružil tudi »Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu« (HZTM). V HZTM sicer letno zberejo 10% vseh darovanih enot krvi. V RH pa sicer daruje kri 3,8% prebivalcev.

1.2. VARNA KRI ZA BOLNIKE

Varna transfuzija krvi oziroma komponent krvi pomeni, da z njo pri prejemniku ne povzročimo neželenih posledic. Seveda pa tako kot pri vseh terapevtskih postopkih tudi v primeru transfuzije tveganje nikoli ne more biti nično, med drugim tudi zaradi možnosti pojava novih infektivnih virusnih in bakterijskih agensov ter prionov (26). Možnih povzročiteljev bolezni, ki se lahko prenesejo s krvjo je veliko, pri čemer pa seveda darovane krvi ne moremo testirati na vse. Zato so bili za testiranje racionalno izbrani le označevalci tistih s krvjo prenosljivih bolezni, ki so v splošni populaciji razmeroma pogoste oziroma imajo hude posledice, ki se lahko končajo celo s smrtjo (3, 28). Tako kot drugod v ES in svetu se tudi v RS in RH vsako odvzeto enoto krvi in komponente krvi testira na povzročitelje aidsa, hepatitisa B in C ter sifilisa. Metode testiranja, ki so v uporabi v obeh državah, so najodobnejše, licencirane po najstrožjih mednarodnih kriterijih in avtomatizirane (12, 29).

Ob tem pa se skuša možnost prenosa okužb s krvjo zmanjšati tudi na druge načine, in sicer z: zmanjševanjem števila homolognih oziroma povečevanjem števila avtolognih transfuzij, izbiranjem „varnih“ krvodajalcev in zagotavljanjem čim večje kakovosti pri odvzemu in predelavi krvi in njenih komponent. Pri uporabi krvnih pripravkov oziroma zdravil iz krvi pa veljajo visoki farmacevtski standardi, ki nam omogočajo, da lahko nemudoma ustavimo uporabo tistih, za katere sumimo, da bi morda lahko bili okuženi ali kakorkoli drugače škodili prejemnikom (30, 31).

1.2.1. VARNOST TRANSFUZIJE KRVİ

K varnosti transfuzijskega zdravljenja so pomembno prispevali predvsem naslednji trije dejavniki:

- 1.) sistem prostovoljnega in neplačanega krvodajalstva;
- 2.) razvoj in uporaba testov za odkrivanje povzročiteljev nalezljivih bolezni, ki se prenašajo s krvjo (avtomatizirani, računalniško vodeni procesi, stroga kontrola kakovosti);
- 3.) učinkovite metode za promocijo krvodajalstva, s pomočjo katerih pridobivamo ozaveščene in odgovorne oziroma »varne« krvodajalce (39).

Za „varnega“ štejemo vsakega prostovoljnega, neplačanega krvodajalca, ki v anamnezi nima nalezljivih bolezni, katerega življenjski stil ne predstavlja tveganja za pridobitev nalezljive bolezni in čigar laboratorijski testi na označevalce povzročiteljev bolezni, ki se prenašajo s krvjo, so negativni (39). Odvzeme krvi pri krvodajalcih, ki redno darujejo kri, smatramo za varnejše od tistih, odvzetih pri novih krvodajalcev. Tako v RS kot v RH imamo kar 89-90% večkratnih krvodajalcev.

O tem, kako pomembna je varnost transfuzije krvi za prejemnika, priča tudi dejstvo, da je v njeno zagotavljanje v RS in RH vključena cela vrsta institucij na državnem nivoju, in sicer:

- a) Državni organi: Državni zbor oziroma Sabor, ministrstvi za zdravje ter poverjeništa in drugi organi, ki sprejemajo zakone, predpise, standarde, priporočila, pravilnike in druge pravno zavezujoče akte o organizaciji transfuzijske dejavnosti ter vrsti in načinu testiranja krvi.
- b) Rdeči križ in nacionalna transfuzijska služba, ki sta odgovorna za redno in zadostno oskrbo zdravstva s krvjo in krvnimi pripravki, s pomočjo učinkovite promocije in načrtovanega

organiziranja krvodajalskih akcij.

- c) Različne organizacijske entitete, ki opravljajo transfuzijsko dejavnost in so ob polni odgovornosti dolžne dosledno izvajati določila obstoječih zakonskih aktov v praksi, kar pomeni, da morajo zagotoviti: vestno in pravilno jemanje krvi, ustrezno testiranje krvi in proizvodnjo varnih krvnih pripravkov ter redno obveščanje državnih nadzornih organov in javnosti o morebitnih težavah pri svojem delu.

Nenazadnje pa imajo tudi prostovoljni krvodajalci moralno obveznost, da pred vsakim darovanjem krvi podajo iskrene oziroma verodostojne pisne (anketa) in ustne (pregled pri zdravniku) odgovore na vprašanja o svojih življenjskih navadah in zdravstvenem stanju. Posamezniki so se namreč, skladno z moralno-etičnimi normami, dolžni izključiti iz postopka odvzema oziroma ne smejo darovati kri ali komponente krvi, če vedo ali sumijo, da bi uporaba njihove krvi lahko škodovala zdravju bolnikov (32).

Varnost transfuzije krvi oziroma komponent krvi povečujemo tudi z doslednim izvajanjem sistema hemovigilance, ki je obvezen za vse članice ES. Izraz hemovigilanca opredeljuje nacionalni sistem nadzora in alarmiranja vzdolž celotne transfuzijske verige, od vene krvodajalca, do vene prejemnika, s poudarkom na spremljanju učinkovitosti transfuzij krvi in krvnih pripravkov, beleženju morebitnih neželenih učinkov in poročanju o njih ter analizi rezultatov, na podlagi katere lahko ugotovimo pomanjkljivosti in jih učinkovito odpravimo (12, 28, 30, 33).

1.2.2. TVEGANJA POVEZANA S TRANSFUZIJO KRVİ

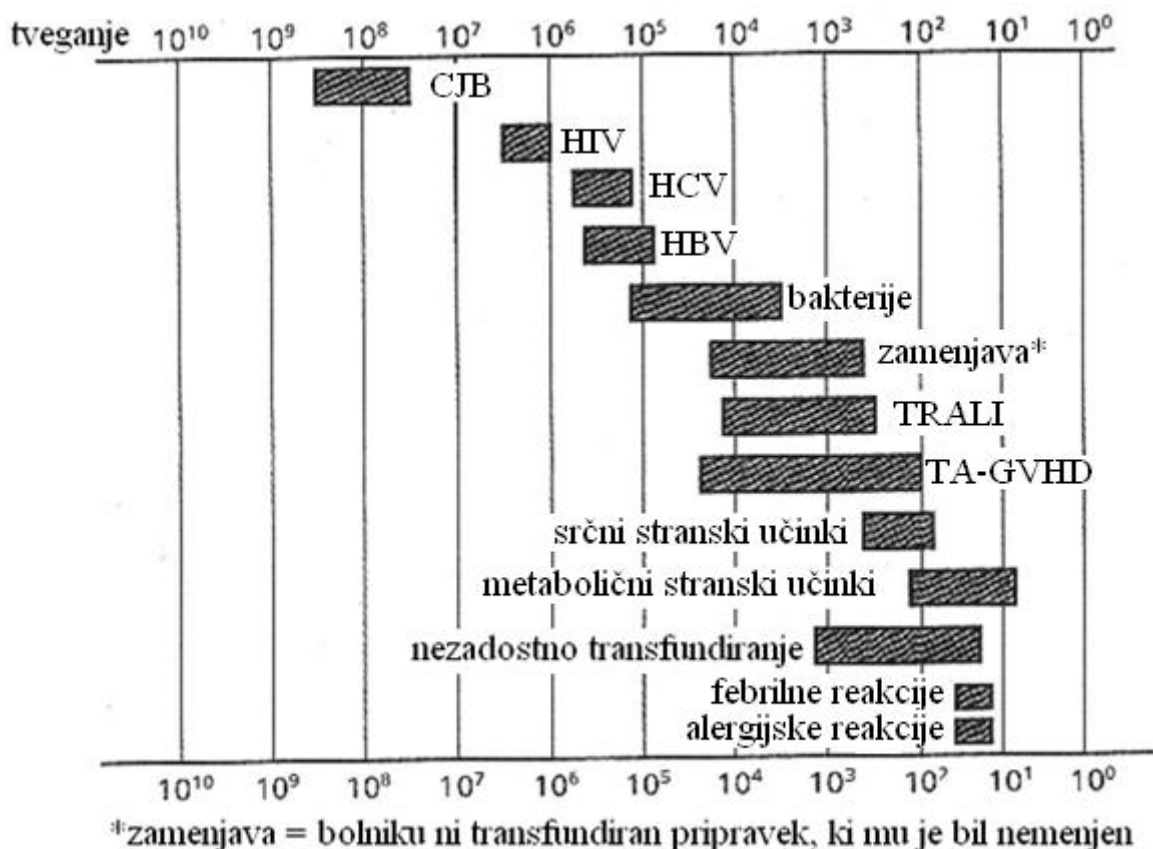
Danes poznamo številne neželene učinke, ki se lahko pojavijo med transfuzijskim zdravljenjem. Delimo jih glede na čas in način nastanka ter glede na povzročitelje, kot je to prikazano v Grafu 1.



Graf 1: Razdelitev neželenih učinkov glede na čas in način njihovega nastanka ter glede na povzročitelje (vzroke) (3)

Na pogostost s transfuzijo krvi ali komponent krvi prenesenih bolezni vplivata prevalenca bolezni med prebivalstvom in krvodajalcih ter obseg in kakovost presejalnega testiranja odvzetih enot in dolžine diagnostičnega okna (28, 32).

Tveganje za pojav vsakega posameznega neželenega učinka transfuzijskega zdravljenja lahko prikažemo na Palingovi lestvici (Slika 1).



Slika 1: Palingova lestvica tveganja (3)

Najpogostejši razlog za prenos bolezni s transfuzijo okužene krvi je t.i. diagnostično okno, znotraj katerega s testi, ki jih imamo na razpolago ne moremo ugotoviti prisotnosti povzročitelja. V veliko manj primerih pa so za to krive mutirane virusne variante, atipičnost protiteles in serokonverzija ter laboratorijske napake. Slednje so lahko posledica prisotnosti koncentracij preiskovanih protiteles, ki so pod nivojem zaznavnosti oziroma občutljivosti uporabljenega testa ter tehničnih in/ali človeških napak (28).

1.2.2.1. DIAGNOSTIČNO OKNO

Diagnostično okno predstavlja čas od okužbe do zmožnosti zaznave prisotnosti povzročitelja z razpoložljivimi laboratorijskimi diagnostičnimi metodami. Odvisno je od vrste povzročitelja, njegovih lastnosti in aktivnosti imunskega sistema gostitelja, vrste značilnega označevalca okužbe, ki ga določamo in občutljivosti diagnostične metode, ki jo v ta namen uporabljamo.

1.2.2.2. VIRUSNE VARIANTE

Zaradi možnosti nastanka mutacij v virusnem genomu in posledičnega nastanka različnih virusnih variant, obstaja možnost, da dobimo s serološkim testom negativen rezultat, čeprav je iskani virus dejansko prisoten v krvi krvodajalca.

Tipičen primer predstavljajo mutacije genoma HBV, ki jih opazimo v obliki specifičnih mutiranih genotipov. Pri tem so najpogostejše substitucije nukleotidov ter delecije v področjih regije pre-S ali kodirajoče regije S, oziroma v obeh, pri čemer pride do sprememb aminokislinskega zaporedja HBsAg (30). Razlog za omenjene mutacije je v tem, da virusi hepatitisa B pripadajo Orthohepadnavirusom, ki se replicirajo z reverzno transkripcijo, njihova polimeraza pa ne zmore popravljati napak, ki se pri tem pogosto dogajajo (26). Mutacije seveda povzročajo težave pri odkrivanju posledično spremenjenega HBsAg, oziroma so možen vzrok za lažno negativne rezultate (13). Razen motenj seroloških testov lahko mutirane genotipske variante HBV zmanjšujejo tudi občutljivost testov NAT, kar je odvisno od tega, kje se mutacije nahajajo.

1.2.2.3. SEROKONVERZIJA

V zgodnji fazi akutne okužbe lahko v krvi dokažemo le antigene povzročitelja (npr. HBsAg za HBV). Nekaj dni pozneje (odvisno od stanja imunskega sistema gostitelja, vrste in količine povzročitelja vnesenega v gostitelja, ...) pa se v krvi okužene osebe kot odgovor imunskega sistema gostitelja začnejo pojavljati tudi specifična protitelesa proti antigenom povzročitelja. V fazi t.i. serokonverzije, ko se začnejo pojavljati omenjena protitelesa, pa se količina antigenov zmanjša pod zaznavno raven. Ker so protitelesa v obdobju serokonverzije prisotna v zelo nizkih koncentracijah, ki so pogosto pod mejo detekcije, povzročitelja s serološkimi testi včasih ne moremo zaznati.

1.2.2.4. TEHNIČNE IN/ALI ČLOVEŠKE NAPAKE

Ponavadi se pri testiranju srečujemo s človeškimi napakami, ki so posledica utrujenosti, stresa in pomanjkanja pozornosti laboratorijskega osebja. Glede na obdobje nastanka, jih lahko razdelimo na predanalitične, analitične in postanalitične. Najpogostejše človeške napake so: napačna identifikacija krvodajalca, neprimerno odvzet vzorec za testiranje ter napake pri prepisovanju izvidov. Med najpogostejše tehnične napake pa sodijo: neprimerno opravljene kontrole pri testiranju in neustrezno umerjena oprema. Napake pri delu v laboratoriju še vedno obstajajo, avtomatizacija pri testiranju krvi krvodajalcev pa seveda znatno zmanjšuje njihovo pojavnost.

1.3. IZBIRA VARNIH KRVODAJALCEV

Prvi korak pri zagotavljanju transfuzije varne krvi je izbira primernih darovalcev v okviru sistema prostovoljnega, anonimnega in neplačanega krvodajalstva. Za to sta ključnega pomena vzgoja in izobraževanje tako obstoječih kot potencialnih prihodnjih krvodajalcev. Ti morajo biti ustrezno informirani o pomenu in nujnosti zagotavljanja varne krvi, o obvezni in verodostojni izpolnitvi vprašalnika pred vsakim odvzemom krvi ali komponente krvi, o pomenu anamneze ob pregledu pri zdravniku ter o zavedanju in moralno-etični odgovornosti glede samoizključitve iz postopka darovanja krvi (10, 11, 12, 44). Pri tem seveda predstavljajo osnovo ustrezna priporočila Sveta Evrope (12). Vsak krvodajalec mora imeti na razpolago izobraževalni material, ponavadi so to zloženke, s pomočjo katerih se seznani s procesom darovanja krvi ali komponent krvi in možnostmi prenosa bolezni s krvjo, poleg tega pa tudi z dejstvom, da je darovalec sam odgovoren za preprečitev prenosa bolezni in za posledični obseg testiranj (11, 12). Krvodajalec mora pred vsakim darovanjem obvezno izpolniti predpisani vprašalnik oziroma anketo. V okviru splošnega medicinskega pregleda, ki sledi, zdravnik pregleda njegove odgovore in z njim opravi pogovor ter se odloči, ali lahko tisti dan daruje kri ali ne. Pred vsakim darovanjem mora krvodajalec dati pisno soglasje za prostovoljno darovanje krvi ali komponent krvi in za njihovo namensko uporabo (11) (Priloga 1, Priloga 2).

V RS in RH obstajata enotna vprašalnika za krvodajalce, od katerih se vsak uporablja na celotnem teritoriju vsake od obeh držav (Priloga 1, Priloga 2). Podobne osnovne informacije in motivacijsko gradivo za krvodajalce pa izdajajo tudi Rdeči križ Slovenije in ZTM oziroma Hrvatski Crveni križ in HZTM (11, 43).

Tako v RH kot v RS lahko moški darujejo kri do 4-krat letno, z najmanj 3-mesečnim presledkom med darovanji, ženske pa do trikrat letno, s presledki med posameznimi darovanji, ki morajo trajati najmanj 4 mesece (10, 12, 44).

1.3.1. ZGODOVINA PRESEJALNIH TESTIRANJ KRVİ KRVODAJALCEV

Kot smo že omenili, je bil prvi test, ki so ga uporabili za izbiro primerne krvi za transfuzijo, namenjen ugotavljanju prisotnosti *T. Pallidum*, povzročiteljice sifilisa (10, 23, 24). Kmalu po Blumbergovem odkritju (leta 1965) takoimenovanega antigena (Ag) Avstralija oziroma površinskega antigena virusa hepatitisa B (HBsAg), so na začetku 70. let prejšnjega stoletja uvedli obvezno dokazovanje njegove morebitne prisotnosti pri vseh krvodajalcih (25). Teste I. generacije za dokazovanje HBsAg so uporabljali v prvih epidemioloških študijah, takoj po njegovem odkritju. Za testiranje odvzete krvi krvodajalcev pa so izdelali in uporabljali teste II. generacije, ki so temeljili na protismerni imunoelektroforezi, bili sicer 100% specifični, vendar pa malo občutljivi, saj so z njimi lahko zaznali okrog 1.000 ng HBsAg/mL krvi. Nekaj občutljivejši (20 ng HBsAg/mL) je bil test reverzne pasivne hemaglutinacije, ki ga je najprej zamenjala radioimunska, kasneje pa encimskoimunska metoda ter na koncu testi NAT (ang. Nucleic Acid Testing). Encimskoimunski test za določanje prisotnosti HBsAg so prvi opisali Engvall in Perlmann ter VanWeemen in Schuurs v letih 1971, 1976 in 1977. Od takrat do danes se njegova analitična specifičnost in senzitivnost nenehno izboljšujeta, saj lahko danes z njim določimo 0,05 ng HBsAg/mL krvi (26).

Podobno je potekal tudi razvoj testov za dokazovanje označevalcev okužbe s HCV. Te so v obvezno presejalno testiranje krvodajalcev uvedli na začetku 90. let prejšnjega stoletja. Z razvojem različnih analiznih laboratorijskih tehnologij se je povečevala njihova občutljivost, s tem pa se je vse bolj ožalo tudi diagnostično okno. Tako je razvoj testov EIA od 1., preko 2., 3. in 4. generacije, pomembno zožil diagnostično okno, in sicer z začetnih 150 na vsega 14 dni. Z današnjimi molekularno biološkimi testiranjmi NAT pa lahko HCV RNA v krvi krvodajalcev dokažemo že tretji do peti dan po okužbi (50).

Serološko dokazovanje protiteles anti-HIV so v presejalno testiranje krvodajalcev uvedli leta 1985. Na začetku so uporabljali teste ELISA. Z vpeljavo 2. generacije testov, ob uporabi rekombinantnih Ag HIV, pa se je občutljivost testiranja močno povečala. Testi tretje generacije za dokazovanje protiteles anti-HIV temeljijo na principu sendvič tehnike z uporabo ustreznega antigena in so seveda bolj občutljivi kot tisti iz prejšnje generacije. Četrta

generacija serološkega določanja okužbe s HIV temelji na kombiniranem dokazovanju Ag in protiteles v enem samem testnem postopku (27). Razvoj in uporaba vsake naslednje generacije testov sta torej pomembno prispevala k zoževanju diagnostičnega okna oziroma k zmanjševanju verjetnosti za prenos virusa s transfuzijo okužene krvi. Z uvedbo molekularno biološkega testiranja HIV z metodo NAT, pa se je še dodatno skrajšal čas, v katerem lahko po okužbi dokažemo prisotnost virusnih nukleinskih kislin v krvi že pet dni po okužbi (50). Preglednica I prikazuje, za koliko so se, z razvojem presejalnih testov za dokazovanje označevalcev okužb s HBV, HCV in HIV, skrčili časi diagnostičnih oken.

Preglednica I: Diagnostična okna različnih testov za dokazovanje označevalcev okužb s HBV, HCV in HIV, v dnevih (50, 51, 52)

VIRUS	EIA- Ab	EIA-Ag	MP- NAT*	ID-NAT**
HBV	87	36	28	15
HCV	65	14	5	3
HIV	19	15	7	5

* MP – NAT – mini pool

**ID – NAT – individual donations

Razlike v zgodovini razvoja presejalnih testiranj in uvajanju posameznih testov med RS in RH, smo podrobneje opisali v poglavju Rezultati.

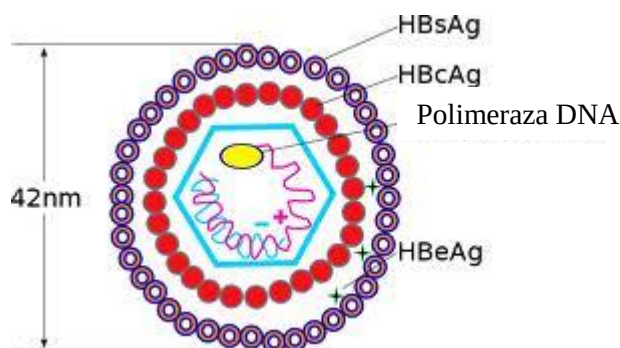
1.3.2. OBVEZNO PRESEJALNO TESTIRANJE ODVZETIH ENOT KRVİ

Kri je edinstveno tekoče tkivo, za katerega še ne poznamo prave oziroma celovite zamenjave, ki bi bila uporabna za transfuzijsko zdravljenje. Zavedati pa se moramo, da lahko s transfuzijami krvi oziroma krvnih pripravkov pri prejemniku povzročimo okužbe z virusi, bakterijami, protoziji in prioni, ki so v času darovanja lahko prisotni v krvi darovalca. Zato moramo vse odvzete enote krvi in komponent krvi pred njihovo uporabo obvezno testirati, na tiste povzročitelje bolezni, ki jih lahko z njimi prenesemo v bolnika. V ta namen ugotavljamo bodisi prisotnost njihovih antigenskih determinat (Ag) ali pa specifičnih protiteles, ki so v darovalcu nastala po imunskem odzivu nanje. Vsako odvzeto enoto oziroma komponento krvi, v RS in RH, skladno z zakonskimi zahtevami obvezno testiramo na viruse HBV, HCV in

HIV ter na *Treponema pallidum*, povzročiteljico sifilisa. Testiranje se v RS izvaja skladno s sprejetimi nacionalnimi algoritmi za presejalno testiranje krvi krvodajalcev in z laboratorijskimi metodami, ki jih določi oziroma potrdi Razširjeni strokovni kolegij (RSK) za transfuzijsko medicino pri Ministrstvu za zdravje Republike Slovenije (36). Enako velja tudi za RH, kjer pa nacionalne algoritme za presejalno testiranje krvi krvodajalcev in laboratorijske metode, ki jih v ta namen uporabljajo, določi »Odjel za lijekove i medicinske proizvode« pri »Ministarstvu zdravstva i socijalne skrbi«. Testiranja se izvajajo z visoko zmogljivimi avtomatiziranimi, računalniško vodenimi analiznimi sistemi, ki zagotavljajo popolno sledljivost uporabljenih reagentov, krvnih vzorcev in analiznih postopkov (43). V nadaljevanju bomo na kratko opisali prej omenjene povzročitelje ter potek in epidemiologijo bolezni, ki jih povzročajo.

1.3.3. HEPATITIS B

Infekcija z virusom hepatitisa B (HBV) je velik javnozdravstveni problem in eden od največjih vzrokov smrtnosti med vsemi nalezljivimi boleznimi. Na svetu, zaradi posledic nezdravljenega kroničnega hepatitisa B, namreč letno umre več kot pol milijona oseb. Približno tretjina svetovnega prebivalstva ima serodiagnostično potrjene historične ali aktualne infekcije s HBV, skoraj 400 milijonov ljudi pa je okuženih z njim (3, 15). Akutne simptome pri osebah, okuženih s HBV, opazimo po 45 ali več dneh po infekciji, kar je odvisno od virusne infektivnosti, kraja vstopa virusa v organizem in zdravstvenega, zlasti imunskega stanja okužene osebe (3). Znano je, da kar 10-15% nosilcev HBV razvije aktivni kronični hepatitis. Največje število okuženih oseb na svetu živi ali izvira iz jugovzhodne Azije, zlasti iz Kitajske in Tajske (13). Slika 2 prikazuje shematsko zgradbo HBV.



Slika 2: Shematski prikaz zgradbe HBV. Virus hepatitisa B je razmeroma majhen virus (42 nm) z ovojnico. Sestavljen je iz nukleokapside s premerom 27 nm, ki je zgrajena iz

virusne beljakovine HBcAg. Obdaja jo zunanja lipidna ovojnica, ki vsebuje površinski HBsAg. Prisotnost proteina HBeAg je znak aktivne delitve virusa v gostitelju, kar pomeni, da je ta kužen in lahko prenaša HBV na druge ljudi. Virus hepatitisa B je edini izmed človeških virusov, ki ima genom sestavljen iz deloma dvojnovijačne, deloma enovijačne DNA. Obe skupaj vsebujeta 3.200 nukleotidov (13).

Pogostost hepatitisa B v RS je ocenjena na manj kot 0,5%. Od leta 1983 je v Sloveniji obvezno cepljenje proti HBV za zdravstvene delavce in druge osebe, ki so v večji meri izpostavljene možnosti tovrstne okužbe. Leta 1988 so obvezno cepljenje razširili na novorojenčke kroničnih nosilk HBsAg in na spolne partnerje vseh odkritih nosilcev HBsAg, leta 1990 pa tudi na dijake in študente zdravstvenih šol ter na bolnike na kronični hemodializi. Od leta 1993 se cepijo intravenozni uživalci drog in bolniki s spolno prenosljivimi boleznimi, od leta 1998 pa v okviru obveznega programa zaščite pred infekcijo s HBV, tudi vsi šoloobvezni otroci, in sicer še pred vstopom v osnovno šolo (13).

Na Hrvaškem se je uvajanje obveznega cepljenja proti hepatitisu B za vse zdravstvene delavce začelo leta 1987 (14). Od leta 1991 pa se je v RH močno povečala pogostost infekcij s HBV. Vzrok za to je bilo veliko število vojnih beguncev iz sosednje Republike Bosne in Hercegovina (BIH), med katerimi je bil odstotek kroničnih prenašalcev HBV kar 2 do 3-krat večji kot v avtohtoni populaciji. K temu sta svoje dodala še porast narkomanije, gostejša naseljenost prebivalstva ter padec standarda, kar je bila vse posledica vojnih razmer v državi (15). Z letom 1999 so cepljenje proti hepatitisu B uvedli v koledar obveznih vakcinacij šoloobveznih otrok. Izvajajo ga v 6. razredu osnovne šole, pri čemer vsak otrok prejeme 3 odmerke cepiva (14). Ker je bilo leta 2006 uvedeno obvezno cepljenje za vse novorojenčke, bo vakcinacija šolskih otrok ukinjena leta 2017. Po uradnih podatkih Hrvaškega zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) se število prijavljenih primerov hepatitisa B od leta 2003 zmanjšuje, kar je tudi sicer splošni evropski trend. Po epidemioloških podatkih za RH, se odstotek prenašalcev HBV zadržuje pod 0,5%.

1.3.4. HEPATITIS C

Virus hepatitisa C je RNA virus iz družine flavi virusov. Odkrili so ga leta 1989 (16). Zanj so značilne številne mutacije, ki vodijo v nastanek številnih virusnih variant. Prav zaradi takšne raznolikosti HCV, proti njemu ni cepiva. Slika 3 prikazuje shematsko zgradbo HCV.



Slika 3: Shematski prikaz zgradbe HCV. Virus je okrogel, ima premer 50-60 nm in značilne površinske izrastke, ki spominjajo na bodice. Nukleokapsida, ki obdaja virusni genom, ima premer 33 nm, obkroža pa jo lipidna ovojnica, v katero so vgrajene površinske beljakovine. Genom HCV je pozitivno nabita enovijačna molekula RNA, sestavljena iz 9.600 nukleotidov (3).

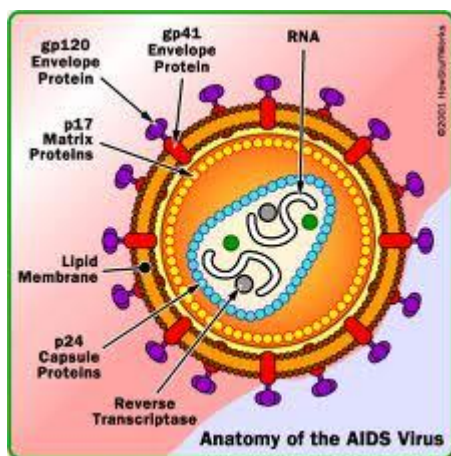
Po podatkih SZO je na svetu približno 170 milijonov ljudi kronično okuženih s HCV, od tega v zahodni Evropi približno 5 milijonov. Virus se prenaša izključno parenteralno, s transfuzijo, dializo in izmenjevanjem uporabljenih igel med narkomani ter s spolnimi odnosi (3, 13). Akutni hepatitis C je v več kot 80% primerov blaga ali celo asimptomatska bolezen. Glavni simptom je navadno nerazložljiva utrujenost, ki traja nekaj dni, drugi znaki bolezni pa so manj izraženi. Protitelesa proti HCV se pojavijo po 7 - 8 tednih po okužbi in navadno ostanejo prisotna celo življenje. Po akutnem hepatitisu C pride pri približno četrtini bolnikov do spontane izgube virusne RNA iz krvi in s tem do popolne ozdravitve. Pri preostalih treh četrtinah pa okužba preide v kronični hepatitis C. Približno 20% tovrstnih bolnikov v nadaljnjih dveh desetletjih razvije cirozo jeter, pri približno 2 - 8% teh pa se letno, kot dodatni zaplet kroničnega hepatitisa C, razvije karcinom jetrnih celic (13). Seroprevalenca okužbe s HCV, kar pomeni prisotnost protiteles anti-HCV, je v splošni populaciji severne Evrope 0,1%, v nekaterih afriških državah pa kar do 40%. V sredozemskih državah je ocenjena na 2%, v vzhodni Evropi na 0,4 - 5,5%, v ZDA na 1,8%, v Aziji pa na 3 - 4% (13). Pogostost hepatitisa C v RS je ocenjena na vrednost med 0,1% in 1,0%. Spremljanje hepatitisa C se je v

RH začelo leta 1992. Od takrat se je število odkritih bolnikov povečevalo vse do leta 2002, nato pa se je ustalilo in od leta 2007, po podatkih HZJZ začelo upadati. Danes je prevalenca HCV v splošni populaciji RH ocenjena na 1% – 2 % , incidenca pa na 0,006% (14, 17).

1.3.5. HIV

Končna oblika bolezni po okužbi s HIV je aids, ki je poleg malarije in tuberkuloze prevladajoči problem na področju javnega zdravja v svetu. Gre za eno od tistih nalezljivih bolezni, ki se brez ustreznega zdravljenja kmalu končajo s smrtjo. Do konca leta 2008 je tako zaradi aids-a umrlo že približno 25 milijonov ljudi (13).

Virus HIV je med vsemi človeškimi virusi genetsko najbolj raznolik. Poznamo dve osnovni vrsti virusa, in sicer HIV-1 (odkrit leta 1983) ter HIV- 2, (odkrit leta 1986). Čeprav imata oba veliko skupnih značilnosti, pa se kljub temu razlikujeta v pomembnih morfoloških lastnostih in v kliničnem poteku bolezni, ki jo povzročata. V primeru okužbe s HIV-2 je klinični potek bolezni znatno blažji kot po okužbi s HIV-1 (13). Slika 4 prikazuje shematsko zgradbo HIV.



Slika 4: Shematski prikaz HIV. Virus je značilen predstavnik retrovirusov srednje velikosti. Je okrogel in ima premer 80 - 100 nm. Njegova nukleokapsida je ikozaedrična, ima obliko valjastega stožca in je zgrajena iz virusne beljakovine p24. Virusno sredico obdaja dvoslojna lipidna ovojnica, ki izhaja iz celične membrane človeške celice, v kateri se je virus pomnoževal, neposredno pod njo pa se nahaja virusni matriks, zgrajen iz beljakovine p17. Znotraj kapside sta dve kopiji enovijačne RNA, od katerih vsaka vsebuje zapise za po 50-100 kopij virusnih encimov ter še dve molekuli t-RNA, ki izvirata iz gostiteljske celice (13).

V RS je s HIV okužena manj kot ena oseba na 1000 prebivalcev, a število okuženih iz leta v leto narašča. V obdobju zadnjih desetih let, od 2001 – 2010, je bilo prepoznanih 315 primerov okužbe s HIV, pri čemer samo v letu 2010 35. To pa je v primerjavi z večino držav ES še vedno razmeroma majhna številka (40).

V RH je bilo v zadnjih 10 letih registriranih povprečno 50 oseb na leto z aids-om, kar Hrvaško uvršča med države z nizko pogostostjo te bolezni. Med slednje namreč sodijo vse tiste, v katerih je letno število na novo obolelih za aids-om manjše od 4 na 10^6 prebivalcev.

Sočasno pa je v zadnjih letih naraslo število na novo odkritih oseb, okuženih s HIV, kar lahko delno pojasnimo z dejanskim povečanjem števila okužb, delno pa tudi z intenzivnejšim iskanjem okuženih v okviru ciljanih epidemioloških preiskav in v okviru sistema prostovoljnega, brezplačnega in anonimnega testiranja na HIV s svetovanjem, ki je prebivalcem dostopno v kar desetih mestih po državi. Od leta 1985, ko so ugotovili prve primere okužb s HIV pa do konca leta 2010, so na hrvaškem registrirali skupaj 862 s HIV okuženih oseb (41).

1.3.6. TREPONEMA PALLIDUM

Sifilis je bila prva s krvjo prenosljiva bolezen, za dokazovanje katere so uvedli obvezno testiranje krvi krvodajalcev. Bolezen povzroča spiroheta *Treponema pallidum* (TP), subspecies *Pallidum*, ki je patogena izključno za ljudi. Do uvedbe obveznega serološkega testiranja krvi krvodajalcev na povzročiteljico sifilisa in še preden so začeli s shranjevanjem krvi in komponent krvi pri 4 °C, so poročali o približno 200 bolnikih, ki so zboleli po transfuzijah okužene krvi. Po uvedbi obveznega testiranja leta 1950 pa sta bila opisana samo dva primera transfuzijske okužbe s *T. Pallidum*, in sicer leta 1969 v ZDA ter leta 1978 na Nizozemskem (3). Nevarnost prenosa sifilisa s transfuzijo krvi se zmanjšuje tudi zaradi shranjevanja odvzete krvi v posebnih plastičnih vrečkah, ki prepuščajo pline (ni anaerobnih pogojev) ter seveda zaradi uporabe antibiotikov pri samem zdravljenju transfundiranih bolnikov kakor tudi zaradi njihovega vnosa v telo s hrano, kar vse zmanjšuje preživetje in preprečuje razmnoževanje TP, ter zaradi pogojev hranjenja krvi in krvnih komponent (od +2 - +8 °C). Sifilis poteka kronično in se manifestira v treh stadijih: primarnem, sekundarnem in terciarnem. Povzročiteljica se prenaša s spolnimi stiki, intrauterino in lahko tudi s transfuzijo krvi oziroma komponent krvi. Od okužbe do pojava prvih simptomov mine 21 dni (42).

Slika 5 prikazuje posnetek *Treponeme Pallidum* prikazane s pomočjo mikroskopa s temnim poljem.



Slika 5: Mikroskopski posnetek *Treponeme pallidum* subspec. *Pallidum* (18). To je med 6 in 15 μm dolga in 0,10 – 0,18 μm široka bakterija, z zašiljenima koncema, med katerima je 6 – 14 spiralnih zavojev, ki so med seboj oddaljeni po 1 μm . *Treponeme* uvrščamo med po Gramu nedeločljive bakterije (19).

V Evropi naj bi se sifilis prvič pojavil v 15. stoletju, ko so ga prinesli mornarji z odprav po Ameriki. Konec 19. in na začetku 20. stoletja je bil eden izmed glavnih javnozdravstvenih problemov. Predvidevajo, da je bilo v tem času kar 10% celotne populacije Evrope in Združenih držav Amerike (ZDA) okužene s TP. Sredi 20. stoletja pa je sifilis z uvedbo penicilina v terapijo tako kot v drugih evropskih državah tudi na Hrvaškem postajal vse redkejša bolezen. Po podatkih HZJZ se v zadnjih desetih letih na Hrvaškem letno prijavi od 40 do 50 novo zbolelih oseb. Takšni trendi so opazni tudi v drugih državah zahodne Evrope, lahko pa jih pripišemo visoko rizičnim populacijskim skupinam (intravenozni odvisniki, homoseksualne in promiskuitetne osebe) (20).

Podobni podatki veljajo tudi za področje Slovenije, kjer je v 80. letih prejšnjega stoletja s pojavom HIV-a in posledično vse večjo ozaveščenostjo ljudi glede uporabe zaščite med spolnimi odnosi, prišlo do postopnega upadanja števila okuženih s sifilisom. Tako so leta 1980 zabeležili 40 infekcij kužnega sifilisa, pred tem pa leta 1979 74, 1978 65 in 1976 108 (21). V zadnjih letih opažamo, da je število okužb s sifilisom v RS zopet v porastu, in sicer predvsem v populaciji homoseksualcev. Še vedno pa velja zmotno prepričanje, da je sifilis izkoreninjen, zato zdravniki v ambulantah pogosto pozabljajo nanj. Leta 2008 smo v RS zabeležili 65 primerov zgodnjega sifilisa, kar v primerjavi z letom 2007 predstavlja kar 130-odstotno povečanje (22).

Omenjeno povečanje števila okuženih oseb v splošni populaciji pa se je odražalo tudi v porastu števila krvodajalcev, pri katerih je bil test na sifilis pozitiven, kar smo podrobneje prikazali v poglavju Rezultati.

1.3.7. POMEN HBV, HCV, HIV IN TREPONEME PALLIDUM V TRANSFUZIJI

Glede na to, da se HBV, HCV in HIV ter bakterija *Treponema pallidum* nahajajo v krvi okužene osebe, se ti povzročitelji lahko prenašajo s transfuzijo krvi ali krvne komponente. V preteklosti, ko se še niso izvajala presejalna testiranja, je transfuzija predstavljala resno tveganje za prenos virusov, kot so HBV, HCV in HIV ter bakterij, kot je *Treponema pallidum*.

Danes se v RS in RH ter v večini držav sveta izvajajo obvezna presejalna testiranja na HBV, HCV, HIV in *T. pallidum*. Z uvajanjem in izboljševanjem testov za presejalno testiranje krvi in krvnih komponent se je verjetnost prenosa okužb preko krvi močno zmanjšala, ampak še vedno obstaja (49). To tveganje je odvisno od različnih dejavnikov, kot so na primer prevalenca povzročiteljev v populaciji, občutljivost in specifičnost uporabljenega presejalnega testa, čas diagnostičnega okna, vrsta in način skladiščenja krvnega pripravka in dr. (27).

1.4. ANALIZATORJI IN METODE, KI SE UPORABLJAJO ZA PRESEJALNO TESTIRANJE KRVİ KRVODAJALCEV

Metoda, ki jo uporabljamo za presejalno testiranje mora biti specifična, visoko občutljiva in ponovljiva, enostavna in hitra, predvsem pa mora zagotavljati možnost avtomatizacije laboratorijskega analiznega postopka, s čimer lahko pomembno zmanjšamo verjetnost človeških napak. Za presejalno testiranje krvi krvodajalcev moramo uporabljati le certificirane (CE) teste, izvajati pa jih moramo v skladu z navodili proizvajalcev reagentov.

Diagnostične metode, ki so trenutno v uporabi, omogočajo zgodnje odkrivanje protiteles, antigenov in nukleinskih kislin virusov, bakterij in parazitov, ki povzročajo nalezljive bolezni in se lahko prenašajo s transfuzijskim zdravljenjem.

Kot smo že omenili, moramo obvezno presejalno testirati vse odvzete enote oziroma komponente krvi na morebitno prisotnost označevalcev HBV, HCV, HIV in *T. Pallidum*. V ta namen se uporabljajo različni aglutinacijski, imunokemijski in molekularno biološki testi.

1.4.1. AGLUTINACIJSKI TESTI

Test TPHA (ang. *Treponema pallidum haemagglutination assay*) je standardiziran laboratorijski postopek za ugotavljanje protiteles vrste IgG in IgM, ki specifično prepoznavajo antigene T. pallidum v serumu krvodajalca in temelji na aglutinaciji senzibiliziranih ovčjih eritrocitov. Gre za razmeroma enostavno reakcijo hemaglutinacije, s katero lahko testiramo veliko število vzorcev. Prednosti tega testa pred ostalimi primerljivimi so: njegova enostavnost, visoka specifičnost in občutljivost ter standardiziranost. Rezultat je reaktiven ozirom pozitiven, če do aglutinacije pride pri redčitvi 1:80 ali več. Njegova občutljivost je tolikšna, da lahko z njim zaznamo protitelesa že tretji dan po okužbi. Lažno pozitivni rezultati se lahko pojavijo pri približno 1% neokužene populacije, in sicer najpogosteje zaradi navzkrižne reakcije z *Borrelia burgdorferi*, avtoimunskih bolezni vezivnega tkiva, nekaterih virusnih okužb ter nosečnosti (19).

Test RPR (ang. *rapid plasma reagin*) je hitri orientacijski test, s katerim dokazujemo protilipidna protitelesa oziroma protitelesa proti T. pallidum, z uporabo netreponemskih, kardiolipinskih antigenov (27, 19). Je poceni, enostavno izvedljiv in ne zahteva veliko opreme. V glavnem se uporablja takrat, ko moramo hitro pregledati veliko število serumskih ali plazemskih vzorcev (presejalna testiranja). V bistvu gre za modificirani test VDRL (ang. Venereal Diseases Research Laboratory test), pri katerem zaradi lažjega odčitavanja v reakcijsko zmes dodajamo koščke lesnega oglja, ob katerih se tvorijo skupki (flokule) imunskih kompleksov, ki jih lahko zaznamo s prostim očesom.

1.4.2. IMUNOKEMIJSKI ANALIZATORJI

Z večino imunokemijskih analizatorjev merimo v reakciji nastalo kemiluminiscenco ali pa fluorescenco, kar zagotavlja visoko analitično občutljivost in velik razpon merljivih koncentracij, s tem pa zanesljivost meritev izrazito nizkih nivojev analitov v preiskovanih vzorcih. Kemiluminiscenca predstavlja del v reakciji nastale energije, ki se emitira v obliki elektromagnetnega sevanja. Tudi fluorescenca je elektromagnetno sevanje, ki ga oddajajo posebne snovi potem, ko jih ekscitiramo s svetlobo določene valovne dolžine. Pri tem je intenziteta oddane fluorescence proporcionalna koncentraciji snovi, ki smo jo ekscitirali (45). Fluometrija je približno 1.000-krat občutljivejša metoda od spektrofotometrije, vendar pa pri njeni uporabi predstavlja pomembno težavo naravna fluorescenca seruma.

1.4.3. IMUNOKEMIJSKI TESTI

Imunokemijski testi, ki se najpogosteje uporabljajo za presejalno testiranje krvodajalcev temeljijo na tehnikah EIA in ELISA.

Test EIA je metoda izbire za presejalno testiranje prisotnosti virusnih označevalcev v večini držav sveta. V splošnem gre za metodo, pri kateri je eden od reaktantov označen z encimom. Potem, ko poteče specifična imunokemijska reakcija, v reakcijsko zmes dodamo substrat in z njim določimo aktivnost prisotnega encima. Kot označevalni encimi se najpogosteje uporabljajo peroksidaza, alkalna fosfataza, lizozim in malatna dehidrogenaza, kot njihovi substrati pa snovi, ki jih pretvorijo v kromogene, fluorogene ali luminiscentne produkte. Na občutljivost te metode močno vpliva prav izbira substrata (45).

Test ELISA je biokemijska metoda, ki se uporablja za zaznavo in vrednotenje protiteles ali antigenov v preiskovanem vzorcu. Za določanje prvih je najprimernejša indirektna ELISA, medtem ko je neposredna ali sendvič ELISA prirejena za določanje antigenov. Pri obeh metodah je zadnje, v reakcijsko zmes dodano detekcijsko protitelo označeno z encimom, ki pretvori substrat v barvni produkt, katerega količina je proporcionalna količini prisotnih preiskovanih protiteles oziroma antigenov.

Testi ELISA in EIA so metodološko enaki, razlika je le v tem, da je pri testu ELISA trdna faza dno vdolbinice (jamice) mikrotitrne plošče, pri EIA pa se v ta namen uporabljajo različni trdni nosilci, npr. mikrokroglice.

1.4.4. MOLEKULARNA DIAGNOSTIKA

Eden od najučinkovitejših ukrepov za zagotavljanje varne krvi je zagotovo presejalno testiranje vseh odvzetih enot in komponent krvi namenjenih za transfuzijo, z laboratorijskimi testi, ki omogočajo neposredno določanje morebitne prisotnosti virusnega genoma. V RS se tovrstno molekularno biološko preverjanje krvnih vzorcev s testi NAT izvaja rutinsko, in sicer za izključevanje/dokazovanje okužb s HBV, HCV in HIV. S temi testi lahko sicer ugotavljamo morebitno prisotnost nukleinskih kislin (NK) virusov v različnih bioloških vzorcih, in sicer po njihovem predhodnem specifičnem pomnoževanju, za kar zadoščajo že zelo majhne količine izhodnega virusnega genoma. Specifična tarčna zaporedja v virusni

DNA ali RNA pomnožujemo s pomočjo ustreznih encimov, in sicer do take mere, da jih lahko nato na različne načine zaznamo (1). Čeprav obstajajo različne metode NAT, pa imajo vse tri skupne korake:

1. pripravo vzorca, ki vključuje koncentriranje in osamitev virusa;
2. pomnoževanje tarčne DNA ali RNA, ki ga izvedemo na različne načine, npr. z verižno reakcijo s polimerazo – PCR (ang. Polymerase Chain Reaction), reakcijo PCR v realnem času – RT-PCR (ang. Real-Time PCR), transkripcijsko amplifikacijo – TMA (ang. Transcription Mediated Amplification) ali verižno reakcijo z ligazo – LCR (ang. Ligase Chain Reaction)
3. detekcijo pomnoženega produkta s pomočjo kolorimetrije, kemiluminiscence ali fluorescence.

V transfuzijski medicini se za specifično pomnoževanje virusnih NK uporabljata predvsem metodi PCR in TMA.

a) Verižna reakcija s polimerazo -PCR

Reakcija PCR je podobna naravnemu podvajanju NK in poteka v treh osnovnih korakih:

1. korak: denaturacija s toploto, ki loči dvoverižne NK v dve komplementarni enojni verigi.
2. korak: prileganje oligonukleotidnih začetnikov na točno določeno komplementarno nukleotidno sekvenco v enoverižni NK.
3. korak: podaljševanje, pripeti oligonukleotidni začetniki vežejo in aktivirajo polimerazo, ki začne podvojevati sekvence NK (23).

b) Transkripcijska amplifikacija TMA

Za njeno izvedbo sta potrebna dva encima, in sicer reverzna transkriptaza in polimeraza RNA. Najprej z dodatkom detergenta liziramo virus, tako da ta sprosti svojo NK. Dodani specifični oligonukleotidi hibridizirajo tarčne virusne molekule NK, ki jih predhodno pripnemo na magnetne kroglice in jih v umetnem magnetnem polju ločimo od plazme. Pred amplifikacijo dodajamo reagente za denaturacijo, ki porušijo sekundarno strukturo virusne NK. Nato s pomočjo reverzne transkriptaze sintetiziramo kopije virusne NK. Sledi transkripcija s polimerazo RNK, ki nam omogoča, da iz dvojnovijačne molekule virusne DNK pripravimo amplikone RNK. Vzorec virusne DNK označimo z akridinijevim estrom (AE) in z njim hibridiziramo komplementarne tarčne amplikone RNA. Z dodatkom reagenta razgradimo vse

molekule AE na nehibridiziranih probah, medtem ko ostanejo tiste, s katerimi so označene hibridizirane, nedotaknjene. Na koncu dodamo še reagente za detekcijo, s katerimi izzovemo kemiluminiscenco in s tem potrdimo prisotnost iskane virusne NK (1).

1.5. ALGORITMI TESTIRANJA ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRVİ

Transfuzijska dejavnost je kompleksna, saj je sestavljena iz niza postopkov, ki potekajo vse od vene krvodajalca pa do vene bolnika. Praviloma so urejeni v tri osnovne sklope, in sicer: algoritem odvzema, algoritem testiranja in predelave ter algoritem aplikacije enot oziroma komponent krvi.

Tako v RS kot v RH so omenjeni algoritmi izdelani na osnovi področne zakonodaje, ki je usklajena z aktualnimi evropskimi predpisi in standardi. Za področje presejalnega in, kadar je to potrebno tudi potrditvenega testiranja odvzetih enot in komponent krvi, so izdelani algoritmi za vsakega povzročitelja s krvjo prenosljivih bolezni posebej. Slovenski nacionalni algoritmi za obvezno presejalno testiranje krvi krvodajalcev na hepatitis B, hepatitis C, HIV in sifilis so predstavljeni v Prilogi 5, hrvaški pa v Prilogi 6.

1.6. RAVNANJE Z REAKTIVNO KRVJO IN POSTOPKI Z OKUŽENIMI KRVODAJALCI V RS IN V RH

Vsaka enota darovane krvi ali komponente krvi se v RS in RH obvezno testira na označevalce okužb s HBV, HCV, HIV in *Treponema pallidum*.

Presejalna in potrditvena testiranja se opravljajo skladno z algoritmi, katerih podlage so zapisane v področnih zakonih in pravilnikih. V primeru pozitivnih potrditvenih testov moramo o tem obvestiti krvodajalca, saj je njegova temeljna pravica, da je obveščen o svojem zdravstvenem stanju. Poleg tega se, skladno z zakonodajo, vsakega okuženega krvodajalca obvezno prijavi pristojni epidemiološki službi. Pozitivni rezultati testiranja se vnesejo tudi v register krvodajalcev, testira pa se tudi vzorec enote ali komponente krvi prejšnjega odvzema. V primeru suma, da je bila okužena kri iz prejšnjega odvzema transfundirana, se ugotovi, kdo je bil prejemnik, ki se ga nato tudi obvezno testira. Nobena enota ali komponenta krvi, v kateri je bila potrjena prisotnost povzročitelja nalezljive bolezni, se ne sme uporabiti za transfuzijsko zdravljenje in se mora obvezno uničiti (32).

1.6.1. SVETOVANJE

Posvetovalnice za krvodajalce so namenjene svetovanju po darovanju krvi, v prvi vrsti seveda tistim, pri katerih je bila dokazana reaktivnost na označevalce prenosljivih bolezni. V ZTM in v HZTM so bile ustanovljene, z namenom nudenja kakovostnejše zdravstvene zaščite okuženim krvodajalcem. Tistega krvodajalca, pri katerem je bila s potrjevalnim testiranjem ugotovljena reaktivnost na določenega povzročitelja s krvjo prenosljivih bolezni, se vpiše v register in se ga obvezno obvesti o laboratorijskih rezultatih. Tak krvodajalec ima pravico vedeti, kaj to pomeni za njegovo zdravje, zato ga povabijo na pogovor z zdravnikom v posvetovalnico, kjer se mu pojasni izvide, razloži posledice in nudi vsa dodatna navodila. Praviloma se krvodajalce o izvidu obvešča pisno, v obliki priporočenega pisma, v primeru okužbe s HIV pa jim izvide praviloma izročijo osebno ob sočasnem svetovanju. Vsebina pisnega obvestila je odvisna od vrste testiranja in od dobljenega rezultata. V vsakem primeru pa vsebuje informacije in pojasnila o: vrstah opravljenih testov in dobljenih rezultatih, možnih razlogih za njihovo dejansko ali lažno pozitivnost, posledicah rezultatov testiranja za krvodajalca, njegovo družino oziroma osebe, s katerimi živi, možnostih nadaljnjega darovanja krvi, terminu ponovnega testiranja ter tem, na koga in kdaj naj se obrne za dodatna pojasnila, nadaljnje testiranje in zdravljenje (32). Vsi rezultati testiranj so zdravniška tajnost, s čimer je zagotovljeno varovanje občutljivih osebnih podatkov (30, 35).

1.6.2. ARHIVIRANJE VZORCEV

Arhiviranje vzorcev ima pomembno vlogo pri sledenju že transfundiranih enot krvi in krvnih pripravkov („trace back“) in tistih, ki so temu namenjeni („look back“), kar je nujno za zagotavljanje ustrezne varnosti transfuzijskih postopkov.

Vsi vzorci odvzete krvi oziroma komponent krvi za homologno in avtologno transfuzijo se v RH arhivirajo ob njihovem odvzemu za presejalno serološko testiranje. Shrani se po 1 ml vzorca (serum/plazma), in sicer v zamrzovalniku pri -16°C , za 3 leta. Ob potrditvenem testiranju pa se enak volumen vzorca seruma/plazme shrani v zamrzovalniku pri -16°C za dve leti.

V RS se vzorec plazme vsakega krvodajalca, ki je bil uporabljen za transfuzijsko preiskavo, potem, ko se ta opravi, prav tako shrani v volumnu $2 \times 1,0$ ml, (1 ml plazme iz epruvete, iz katere sme izvedli serološko presejalno testiranje in 1 ml plazme iz epruvete iz katere smo izvedli NAT presejalno testiranje) in sicer pri temperaturi od -20°C do -30°C , za obdobje petih let (36).

1.6.3. KONTROLA KAKOVOSTI

Vsaka organizacijska enota, ki opravlja transfuzijsko dejavnost, mora imeti vzpostavljen delujoč sistem zagotavljanja in nadzora kakovosti. Ta zagotavlja popolno sledljivost in nadzor nad postopki: izbire krvodajalcev, odvzemov enot oziroma komponent krvi, njihove predelave, laboratorijskega testiranja, shranjevanja, izdaje, vračanja neuporabljenih krvnih pripravkov in transporta. Poleg tega z njim obvladujemo vse morebitne spremembe na področju priprave, shranjevanja in izdaje krvnih pripravkov, uporabe diagnostičnih sredstev, dokumentacije, aparatov, metod dela, obvladovanja napak, nezgod in usklajevanja vsakega posameznega delovnega procesa z zakonodajo. Za zagotavljanje in izvajanje sistema kakovosti je potrebno tudi dosledno vodenje predpisane dokumentacije, ki jo delimo na tisto notranjega (poslovnik, priročniki kakovosti, postopki za zagotavljanje kakovosti, delovna navodila, algoritmi, načrti in poročila) in zunanjega porekla (zakoni, pravilniki, predpisi, standardi, normativi in navodila). Razen tega je za kakovost laboratorijskih testiranj pomembna tudi validacija uporabljenih postopkov, predpisana kakovost reagentov (certifikati CE) ter izvajanje notranjega in zunanjega nadzora kakovosti. Vsi transfuzijski laboratoriji v RS in RH so vključeni v nacionalni in mednarodni shemi obveznega zunanjega nadzora kakovosti predtransfuzijskih oz. transfuzijskih in presejalnih testiranj (37). To shemo vodi v RS ZTM s svojim referenčnim laboratorijem, ki zbira in analizira podatke in o njih poroča, medtem ko v RH zunanji nadzor kakovosti na nacionalnem nivoju izvaja HZTM. Sicer pa je nadzorni organ, ki ugotavlja skladnost opravljanja nalog na področju transfuzijske medicine in podeljuje dovoljenja za delo v RS Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP), na Hrvaškem pa je to "Agencija za lijekove i medicinske proizvode". Njen ustanovitelj je Republika Hrvaška, njena pooblastila in delokrog na področju zdravil ter medicinskih in homeopatskih izdelkov pa je določen z Zakonom o zdravilih ("Narodne novine", št. 71/07, 45/09. in 124/11). Nadzor dela Agencije pa skladno z zakonom izvaja "Ministrstvo zdravstva i socijalne skrbi".

1.7. PODROČNA ZAKONODAJA V RS

Evropska skupnost je sprejela več direktiv, ki natančno opredeljujejo vse postopke, potrebne za organizacijo, izvajanje in nadzor na področju transfuzijske medicine. Vse države članice ES jih morajo v predpisanem časovnem okviru ustrezno prenesti v nacionalno zakonodajo. V RS imamo Zakon o preskrbi s krvjo (ZPKrv, Ur. list RS, št. 104/2006), ki opredeljuje delo na

področju zdravljenja s krvjo in ureja standarde kakovosti in varnosti pri preskrbi prebivalstva s krvjo in krvnimi pripravki, v skladu z Direktivo 2002/98/ES Evropskega parlamenta. Podrejeni so mu različni podzakonski akti - pravilniki, ki smo jih navedli v Prilogi 3. Republika Slovenija, kot članica Sveta Evrope dosledno upošteva tudi Priporočila o pripravi, uporabi in zagotavljanju kakovosti komponent krvi Sveta Evrope, ki jih ta dopolnjuje in izdaja vsako leto, in ki imajo status podzakonskih aktov. Vsebujejo merila za izbiro krvodajalcev, določila za presejalna in druga testiranja krvi in krvnih pripravkov, za pripravo komponent krvi in druge postopke, ki se izvajajo v sklopu transfuzijske dejavnosti.

1.7.1. ORGANIZACIJA TRANSFUZIJSKE DEJAVNOSTI V RS

Za izvajanje dejavnosti transfuzijske medicine je v RS organizirana nacionalna transfuzijska služba. Pred uveljavitvijo ZPKrv so jo sestavljali ZTM in deset oddelkov za transfuzijsko medicino, ki so bili del regionalnih splošnih bolnišnic (Maribor, Celje, Izola, Jesenice, Murska Sobota, Nova Gorica, Novo mesto, Ptuj, Slovenj Gradec in Trbovlje). Ker pa je ZPKrv, skladno z evropskimi direktivami postavil visoke standarde kakovosti in varnosti ter na osnovi pozitivnih izkušenj centralizacije dejavnosti na področju transfuzijske medicine v večini najnaprednejših članic ES, se je večina nekdanjih transfuzijskih oddelkov, ki sicer še vedno delujejo v prostorih splošnih bolnišnic (SB), organizacijsko priključila ZTM (Novo mesto, Trbovlje, Slovenj Gradec, Izola, Jesenice in Nova Gorica). Ker ZPKrv to dopušča pa sta nekdanja transfuzijska oddelka v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor in SB Celje pridobili status samostojnih transfuzijskih centrov. Mariborski transfuzijski center pa je nato v svojo organizacijsko strukturo vključil tudi transfuzijska oddelka SB Ptuj in SB Murska Sobota (38).

V RS je presejalno testiranje NAT vse odvzete krvi in komponent krvi na prisotnost HBV, HCV in HIV centralizirano in se za celotno državo izvaja v posebnem laboratoriju na ZTM. Vzorci iz cele Slovenije dnevno prihajajo na ZTM, kjer jih nato testirajo v popoldanskem in večernem času, naslednje jutro pa rezultate po elektronski poti pošljejo vsem izvornim odvzemnim mestom, kjer jih nato vpišejo v protokole posameznih donacij (39).

Vse organizacijske entitete, ki v RS opravljajo transfuzijsko dejavnost, uporabljajo enoten računalniški informacijski sistem, ki omogoča zbiranje in obdelavo podatkov, tako na lokalni kot državni ravni, registracijo trajno ali začasno zavrženih krvodajalcev ter zajemanje in analizo epidemioloških podatkov o tistih krvodajalcih, pri katerih je bil ugotovljen pozitiven

rezultat testiranja na označevalce s krvjo prenosljivih bolezni. Sistem omogoča sledenje vsake odvzete enote oziroma komponente krvi, od krvodajalca do prejemnika in v obratni smeri (30, 35). V okviru zagotavljanja celovitega sistema kakovosti je bil uveden tudi enoten sistem obravnave napak in neželenih dogodkov (incidentov) ter pritožb in odpoklica komponent krvi.

1.8. PODROČNA ZAKONODAJA V RH

Vse transfuzijske ustanove in oddelki, ki odvzemajo kri ali krvne sestavine in proizvajajo krvne pripravke, morajo poslovati po zakonskih predpisih ter upoštevati: medicinske standarde, standarde kakovosti, Pravilnik o dobri proizvodni praksi, Pravilnik o dobri laboratorijski praksi in zahteve ostalih sistemov kakovosti. Vsaka proizvodna transfuzijska ustanova mora imeti vzpostavljen sistem zagotavljanja kakovosti (3). Poleg upoštevanja področnih zakonov morajo transfuzijske ustanove v RH kot državi članici Sveta Evrope, delovati tudi v skladu s Priporočili za pripravo, uporabo in zagotavljanje kakovosti krvnih pripravkov Sveta Evrope (Council of Europe Publishing, Strausbourg), ki jih omenjena institucija izda vsako leto. Z vstopom Republike Hrvaške v ES bo morala RH sprejeti zahteve in priporočila zadevnih evropskih Direktiv, na čemer se že intenzivno dela. Tako je Zakon o krvi in krvnih pripravkih ("NN" 79/2006) že prevzel nekatera določila Direktive 2002/98/ES Evropskega parlamenta in Sveta, z dne 27. januarja 2003, o določitvi standardov kakovosti in varnosti za zbiranje, preskušanje, predelavo, shranjevanje in razdeljevanje človeške krvi in komponent krvi ter o spremembi Direktive 2001/83/ES, obstaja pa tudi že Predlog zakona o spremembah in dopolnitvah obstoječega Zakona o krvi in krvnih pripravkih (Zagreb, september 2011), s katerim se izpolnjujejo prevzete obveznosti v postopku pogajanj za vstop RH v ES in se nadaljujejo nadaljnja usklajevanja področne zakonodaje z zadevnim pravnim redom ES (36). Na področju zagotavljanja kakovosti krvi je pripravljen tudi osnutek Zakona o preskrbi s krvjo, ki je v celoti usklajen z zahtevami Direktiv ES, ki se nanašajo na transfuzijsko dejavnost (Direktiva 2002/98/ES in Direktiva 2001/83/ES).

1.8.1. ORGANIZACIJA TRANSFUZIJSKE DEJAVNOSTI V RH

Organizacija laboratorijev za transfuzijsko medicino na Hrvaškem temelji na Zakonu o zdravstvenem varstvu ("Zakon o zdravstvenoj zaščiti"). Po tem zakonu opravljajo transfuzijsko dejavnost na Hrvaškem en Republiški zavod - HZTM (Zagreb), trije regionalni zavodi (Split, Osijek in Rijeka) in nekaj bolnišničnih krvnih bank. Njihovo število se je z leti spreminjalo. Do maja 2008 je bila transfuzijska služba v Republiki Hrvaški sestavljena iz 21

transfuzijskih enot, ki so odvezemale kri prostovoljnim krvodajalcem, jo testirale, pripravljale krvne pripravke ter opravljale tudi dejavnost bolnišnične transfuzijske medicine, medtem ko je preostalih 13 organizacijskih entitet opravljalo samo dejavnost bolnišnične transfuzijske medicine. Sledila je reforma, v okviru katere so izvedli združevanje oziroma delno centralizacijo na področju odvzema krvi in proizvodnje krvnih pripravkov, pri čemer so se manjše transfuzijske enote priključile k večjim. Tako so se k HZTM priključile transfuzijske enote Bjelovar, Karlovac, Koprivnica, Nova Gradiška, Ogulin in Sisak, k regionalnemu zavodu Split Šibenik, k tistemu v Osijeku pa Našice, Virovitica in Vinkovci. Transfuzijski enoti Varaždin pa se je pridružila tista iz Čakovca. Posledično je prišlo tudi do sprememb na področju serološkega testiranja odvzetih enot krvi, tako da se ta opravljajo samo še v HZTM, Kliničnem bolnišničnem centru (KBC) Split, KBC Osijek, KBC Rijeka in v splošni bolnišnici v Dubrovniku. Transfuzijske enote v Slavonskem Brodu, Puli, Varaždinu in Zadru lahko odvezemajo in predelujejo kri, ne smejo pa je testirati, zato pošiljajo vzorce krvi krvodajalcev v regionalne ustanove (centre), ki so pooblašcene za izvajanje tovrstnih preiskav.

Hrvaški zavod za transfuzijsko medicino (HZTM) je vodilna zdravstvena ustanova na področju transfuzijske dejavnosti v RH. Transfuzijska dejavnost v RH obsega: popularizacijo in organizacijo krvodajalstva; zbiranje krvi in plazme za predelavo; predelavo plazme; testiranje krvi; zagotavljanje zadostne količine krvi in komponent krvi ter pripravkov oziroma zdravil, izdelanih iz krvi, za pokrivanje nacionalnih potreb; zagotavljanje kakovosti krvnih pripravkov; distribucijo; različna diagnostična testiranja in terapevtske postopke; kontrolo in nadzor transfuzijskega zdravljenja; zbiranje in shranjevanje matičnih celic; tipizacijo tkiv za potrebe transplantacijskih programov ter svetovanje v klinični medicini. Razen HZTM opravljajo omenjene dejavnosti tudi enote transfuzijske medicine v bolnišnicah.

Hrvaški zavod za transfuzijsko medicino in Hrvaški Rdeči križ na podlagi posebnih pogodb izvajata oglaševanje oziroma popularizacijo krvodajalstva, načrtovanje potreb po zdravilih, izdelanih iz krvi in seveda organizacijo krvodajalskih akcij.

Hrvaški zavod za transfuzijsko medicino narekuje in usklajuje izvajanje standardov za zbiranje krvi, laboratorijska testiranja, pripravo, shranjevanje, izdajo in transport krvnih pripravkov in zdravil, izdelanih iz krvi ter njihovo klinično uporabo. Predlaga tudi program ukrepov zdravstvenega varstva s področja svojega dela, zbira podatke za letne analize opravljenega dela na področju transfuzijske dejavnosti v RH, jih analizira in izsledke posreduje področnemu ministrstvu ter poleg tega proizvaja tudi infuzijske raztopine in medicinske izdelke za enokratno uporabo (46).

II. NAMEN DELA

Okužbe s povzročitelji bolezni, ki se prenašajo s krvjo in med katere sodijo različne bakterije, predvsem *Treponema pallidum*, virusi hepatitisa B in C in še posebej HIV, so vzrok za najhujše neželene učinke transfuzijskega zdravljenja. Tovrstno nevarnost lahko izdatno zmanjšamo s skrbnim izborom »varnih« krvodajalcev in učinkovitim laboratorijskim testiranjem oziroma dokazovanjem morebitne prisotnosti omenjenih patogenih povzročiteljev bolezni v krvnih pripravkih. Namen našega dela je:

1. Opisati in primerjati načina izbire krvodajalcev v RS in RH.
2. Opisati in primerjati zgodovino presejalnih testiranj krvi in komponent krvi v obeh državah.
3. Preučiti in primerjati nacionalni področni zakonodaji, algoritme testiranj in laboratorijske metode, ki so v uporabi v RS in RH ter na podlagi izsledkov opisati in komentirati obstoječe razlike v načinih odkrivanja potencialnih okužb krvodajalcev.
4. Zbrati, urediti, prikazati in primerjati epidemiološke rezultate presejalnih testiranj krvi in komponent krvi v RS in RH, v obdobju od leta 1998 do leta 2010.

HIPOTEZE:

Na podlagi preučevanja organizacije in izvajanja transfuzijske dejavnosti v RS in RH ter na osnovi podatkov, objavljenih v različnih strokovnih publikacijah, lahko oblikujemo naslednje delovne hipoteze:

1. Med centralizacijo nacionalne transfuzijske dejavnosti in kakovostjo presejalnega testiranja obstaja neposredna povezanost.
2. Glede na razlike v organizaciji transfuzijske dejavnosti v RS in RH predvidevamo, da obstajajo tudi razlike v presejalnem testiranju odvzete krvi in komponent krvi med obema sosednjima državama.
3. Predvidevamo tudi, da bomo v določenem časovnem obdobju ugotovili razlike v epidemioloških podatkih o številu okuženih krvodajalcev v RS in RH.

Na podlagi oblikovanih hipotez želimo ugotoviti, ali so posamezne organizacijske ali tehnične rešitve presejalnih testiranj v neki državi so boljše, ter jih uporabiti kot model za izboljševanje presejalnih testiranj v drugi državi.

III. MATERIALI IN METODE

V okviru magistrske naloge smo primerjali načine presejalnega testiranja krvodajalcev na označevalce povzročiteljev okužb, ki se prenašajo s krvjo, v RS in RH. V ta namen smo zbrali podatke tako na obeh vodilnih nacionalnih transfuzijskih zavodih, ZTM in HZTM, kot tudi iz številnih člankov in drugih oblik strokovne literature, ki obravnavajo pomen transfuzije varne krvi in ključno vlogo presejalnega testiranja kot orodja za njeno zagotavljanje.

Podrobno smo preučili tudi kriterije in vprašalnike, ki jih v RS pripravlja in izdaja ZTM, v RH pa HZTM. Te morajo krvodajalci obvezno izpolniti pred vsakim odvzemom krvi in predstavljajo pomemben uvodni korak pri izbiri primernih oziroma varnih darovalcev krvi in komponent krvi.

Da bi dobili vpogled v stanje krvodajalstva v RS in RH, smo zbrali in primerjali podatke o številu vseh krvodajalcev, ki so v obeh državah darovali kri v obdobju med letoma 1998 in 2010. Pridobili smo jih od obeh osrednjih nacionalnih zavodov za transfuzijsko medicino, ZTM in HZTM.

Na podlagi podatkov iz strokovne literature in letnih poročil ZTM in HZTM, smo pripravili tudi primerjalni zgodovinski pregled uvajanja posameznih vrst testov v nacionalni shemi presejalnega testiranja.

Prav tako smo med seboj primerjali algoritme, ki so jih izdelali na ZTM in HZTM, in na osnovi katerih se izvajajo obvezna presejalna testiranja vseh odvzetih enot in komponent krvi v obeh državah.

Preučili in primerjali smo tudi področni zakonodaji, ki urejata področje preskrbe s krvjo in krvnimi pripravki v obeh državah; vir podatkov: Uradni list Republike Slovenije in Narodne novine Republike Hrvatske.

Iz letnih poročil ZTM in HZTM smo zbrali epidemiološke podatke o številu okuženih krvodajalcev za obdobje med letoma 1998 in 2010, ki temeljijo na rezultatih testiranja vse darovane krvi v RS in RH. Rezultate smo statistično obdelali z računalniškim programom Excel in grafično prikazali prevalence okuženosti s HBV, HCV, HIV in sifilisom med krvodajalci obeh držav.

IV. REZULTATI IN INTERPRETACIJA

4.1. KRITERIJI ZA IZBIRO PRIMERNIH KRVODAJALCEV

Prvi korak pri presejanju potencialnih krvodajalcev je izbira tistih z dobrim zdravstvenim stanjem in takimi življenjskimi navadami, ki izpolnjujejo kriterije, po katerih lahko pristopijo k darovanju krvi. Pri izbiri primernih krvodajalcev ima osrednjo vlogo zdravnik, ki pregleda izpolnjeni vprašalnik vsakega od njih, opravi zdravstveni pregled in individualni pogovor ter se na koncu odloči, ali lahko posameznik pristopi k prostovoljnemu darovanju krvi ali ne. Osnovni kriteriji za izbiro primernih krvodajalcev, ki veljajo v RS in RH, so prikazani v Preglednici II.

Preglednica II: Kriteriji za izbiro krvodajalcev v RS in RH

KRITERIJ	RS	RH
STAROST	18-65 let	18-65 let
TELESNA TEŽA	≥ 50 kg	> 55 kg
VREDNOST Hb	ŽENSKE ≥ 120 g/l MOŠKI ≥ 135 g/l	ŽENSKE ≥ 125 g/l MOŠKI ≥ 135 g/l
TEL. TEMPERATURA	manj kot 37 °C	manj kot 37 °C
KRVNI PRITISK	sistolični 100-180 mmHg diastolični do 100 mmHg	sistolični 90-180 mmHg diastolični 50-110 mmHg
SRČNI UTRIP	50-100/min	50-110/min

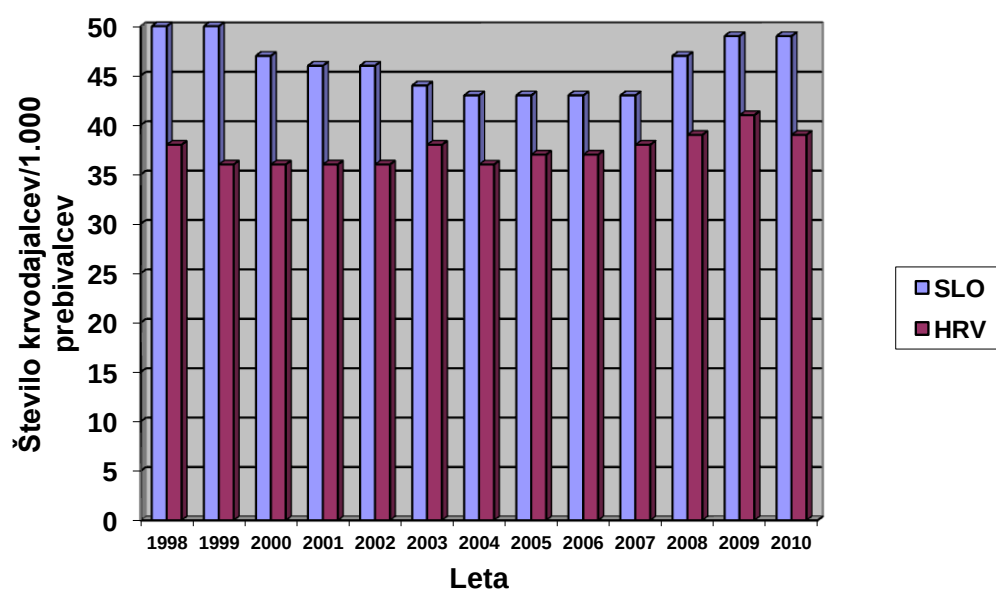
Ugotovimo lahko, da med nacionalnimi kriteriji ni nobenih bistvenih razlik. Dejstvo je, da sta obe državi članici Sveta Evrope in kot takšni v celoti upoštevata aktualna Priporočila Sveta Evrope, ki vsebujejo tudi osnovne kriterije za izbiro primernih krvodajalcev.

Vprašalnik za krvodajalce, ki se uporablja v RS v celoti predstavljamo v Prilogi 1, tistega, ki je v uporabi v RH pa v Prilogi 2. Vprašalnik, namenjen krvodajalcem vsebuje ciljana vprašanja, ki terjajo odgovore, na osnovi katerih lahko iz nadaljnega postopka izločimo vse tiste osebe, ki so se v preteklosti vedle oziroma se vedejo rizično, npr.: odvisnike od alkohola ali mamil, med njimi še posebej tiste, ki so si mamila vbrizgavale v žile; osebe, katerih spolne navade predstavljajo povečano tveganje za pridobitev bolezni, ki se lahko prenašajo s krvjo ter tiste, ki imajo katero od, za krvodajalstvo kontraindiciranih, kroničnih ali nalezljivih bolezni (srčne bolezni, alergije, rak, virusna zlatenica, malarija in podobno). S primerjavo nabora in vrste vprašanj v vprašalnikih za krvodajalce, ki so v uporabi v obeh državah smo ugotovili, da se med seboj praktično ne razikujejo (glejte Prilogi 1 in 2).

4.2. PRIMERJAVA ŠTEVILA KRVODAJALCEV V RS IN RH OD LETA 1998 DO LETA 2010

V Republiki Sloveniji izvedejo okoli 94.000 odvzemov krvi letno, kar zadošča za pokritje potreb slovenskega zdravstva. Potrebe po krvi oziroma komponentah krvi v RS terjajo približno 300 učinkovitih krvodajalcev na dan skozi celo leto oziroma okoli 400 krvodajalcev na vsak organiziran odvzemni dan. Odstotek odvzetih enot krvi na leto, glede na število prebivalcev, je v RS 5%, v RH pa 4%, kar obe državi uvršča v evropsko povprečje.

V RH je okoli 94.000 registriranih krvodajalcev, ki letno darujejo 160.000 - 170.000 enot krvi. Graf 2 prikazuje razlike v številu krvodajalcev v RS in RH na 1.000 prebivalcev, in sicer v obdobju med letoma 1998 in 2010.



Graf 2: Prikaz števila krvodajalcev na 1.000 prebivalcev, po posameznih letih

Ugotovimo lahko, da je bilo v vseh 13 letih (1998-2010) število krvodajalcev/1.000 prebivalcev v RS večje kot v RH. To bi lahko bila posledica intenzivnejše oziroma uspešnejše promocije krvodajalstva, ki temelji na vzgoji in izobraževanju obstoječih in potencialnih krvodajalcev ter na informiranosti ljudi o pomenu darovanja varne krvi. Poleg tega pa lahko na število krvodajalcev pomembno vplivajo socialno-ekonomske razmere in stopnja moralno-etičnega zavedanja, da lahko posamezniki z darovanjem krvi pomagamo ogroženim soljudem. Po podatkih SZO naj bi bilo idealno število 50 krvodajalcev/1.000 prebivalcev, s čimer bi lahko vsaka država v vsakem trenutku v celoti pokrila potrebe po krvi in krvnih pripravkih (15). To pa je cilj, ki ga lahko dosežemo le z ustrezno vzgojo in izobraževanjem ter vzpostavljanjem vrednot pri mladih in zdravih ljudeh.

4.3. PRIMERJAVA ZGODOVINE UVAJANJA RAZLIČNIH PRESEJALNIH TESTIRANJ ODVZETE KRVİ V RS IN RH

Različni presejalni testi so se v obeh državah uvajali glede na strokovno presojo, povezano z lokalnimi epidemiološkimi razmerami, njihovo dostopnost, učinkovitost, in seveda ceno. Glede na to, da sta imeli obe sosednji državi kot konstitutivni republiki SFRJ, v takratnem obdobju približno enake socialno-ekonomske in epidemiološke razmere, sta v približno enakih časovnih obdobjih začeli uvajati posamezne teste za presejalno testiranje krvodajalcev. Do večjih razlik v razvoju presejalnega testiranja med RS in RH je prišlo šele v novejšem času, in sicer po marcu 2000, ko so v RS kot obvezni presejalni test za dokazovanje HCV uvedli NAT/PCR oziroma od leta 2007 dalje, ko so za dokazovanje RNA HIV, RNA HCV in DNA HBV začeli uporabljati postopek NAT/TMA, medtem ko v RH omenjenih metod še ne uporabljajo. V Preglednici III so navedene letnice uvedbe posameznih testov za presejalno testiranje odvzete krvi na prisotnost HBV, HCV, HIV in *Treponema pallidum*, v RS in RH.

REPUBLIKA HRVAŠKA			REPUBLIKA SLOVENIJA	
BOLEZEN	OZNAČEVALEC	LETO	OZNAČEVALEC	LETO
SIFILIS	Anti-Treponema pallidum HA	1958	Anti-Treponema pallidum HA TP-EIA	1960 1998
HEPATITIS B	HBsAg EIA	1973	HBsAg EIA HBV NAT/TMA	1970 2007
HEPATITIS C	Anti-HCV Ab EIA HCV Ag HCV Ag/Ab	1992 2001 2004	Anti-HCV Ab EIA, HCV NAT/PCR HCV NAT/TMA	1993 2000 2007
AIDS/HIV	Anti-HIV Anti-HIV 1/2 Ab EIA in Ag p24	1986 2003	Anti HIV Ab Anti-HIV 1/2 Ab EIA in Ag p24 HIV NAT/TMA	1986 2004 2007

Preglednica III: Letnice uvedbe posameznih vrst presejalnih testiranj odvzetih enot krvi in komponent krvi v RS in RH.

4.4. PRIMERJAVA HRVAŠKE IN SLOVENSKE PODROČNE ZAKONODAJE GLEDE ORGANIZACIJE TRANSFUZIJSKE DEJAVNOSTI

Ker se je centralizacija oziroma poenotenje transfuzijske dejavnosti v več državah, članicah ES izkazala kot zelo dober model, ki omogoča transparentnost poslovanja ter celovito zagotavljanje varnosti in kakovosti krvi, komponent krvi oziroma krvnih pripravkov, ob dokazano pozitivnih ekonomskih učinkih, je prav usklajevanje nacionalne zakonodaje z evropsko v novih članicah ES pomemben trenutek, ki omogoča izvedbo tovrstnih organizacijskih sprememb.

V RS so si strokovnjaki ZTM, kot vodilne ustanove na področju transfuzijske dejavnosti, prizadevali, da bi se centralizacija izvedla v celoti. Žal pa je zaradi različnih političnih in lokalnih interesov zakonodajalec popustil in v ZPKrv-1 predvidel več možnih samostojnih organizacijskih entitet, s čimer ni bilo možno v celoti izvesti centralizacije dejavnosti. Tako ZPKrv-1 navaja naslednje možne izvajalce transfuzijske dejavnosti v RS:

- »Transfuzijski zavod«, ki je samostojni javni zavod, odgovoren za zbiranje, testiranje in predelavo krvi in krvnih pripravkov, ne glede na predvideni namen uporabe, ter za njihovo predelavo, shranjevanje, razdeljevanje in zdravljenje, kadar so namenjeni za transfuzijo.
- »Transfuzijski center«, ki je organizacijska enota v bolnišnici, in je odgovoren za zbiranje krvi, testiranje in predelavo zbrane krvi v krvne komponente in njihovo shranjevanje. Izvaja predtransfuzijsko testiranje in bolnišnične transfuzijske dejavnosti ter bolnišnice in druge porabnike oziroma porabnice (v nadaljnjem besedilu: porabnik) oskrbuje s krvjo in krvnimi komponentami.
- »Transfuzijski oddelek«, ki je lahko organizacijska enota samostojnega javnega transfuzijskega zavoda ali transfuzijskega centra v območni bolnišnici, ki zbira, shranjuje in razdeljuje kri in krvne pripravke ter opravlja predtransfuzijsko testiranje in bolnišnične transfuzijske dejavnosti;
- »Bolnišnična krvna banka«, ki je organizacijska enota bolnišnice, shranjuje in razdeljuje kri ter krvne komponente in opravlja predtransfuzijsko testiranje ter bolnišnične transfuzijske dejavnosti. Je pod strokovnim nadzorom transfuzijskega zavoda ali transfuzijskega centra.

Kljub temu pa je ZTM uspel v svojo organizacijsko shemo vključiti večino transfuzijskih oddelkov (Novo mesto, Trbovlje, Slovenj Gradec, Izola in Jesenice), kar pomeni, da je bila centralizacija dejavnosti izvedena v veliki meri, saj sta edina obstoječa transfuzijska centra v RS v SB Celje in UKC Maribor, tretji, v SB Dr. Franca Derganca Nova Gorica pa naj bi bil v fazi formiranja. Transfuzijski center v UKC Maribor ima v svojo organizacijsko shemo vključena transfuzijska oddelka v SB Ptuj in SB Murska Sobota. Ker so pogoji poslovanja samostojnega javnega zavoda (ZTM) in obeh transfuzijskih centrov, ki sta organizacijski enoti bolnišnic drugačni in ker je zaradi tega različno tudi nabavljanje oziroma posodabljanje infrastrukture in opreme ter njena izkoriščenost (glede na število krvodajalcev) pa je seveda takšna situacija strokovno in ekonomsko neracionalna in še posebej v sedanjem času nesprejemljiva. Ne glede na to pa v RS uspešno zagotavljamo kakovostno in varno kri, saj se vse odvzete enote krvi in komponente krvi testirajo s postopki NAT centralizirano, v specializiranem molekularno biološkem laboratoriju ZTM.

Strokovnjaki s področja transfuzijske dejavnosti v RH, si tako kot njihovi slovenski kolegi, prizadevajo za kar se da celovito organizacijsko centralizacijo, pri tem pa moramo ugotoviti, da specifična zemljepisna oblika Hrvaške ter stanje njenih cestnih in drugih povezav, ne omogočajo izvedbe reorganizacije z zelo obsežno stopnjo prerazporejanja in združevanja dejavnosti, po zgledu številnih evropskih držav. Zato centralizirane organiziranosti transfuzijske dejavnosti v drugih državah ne moremo tako enostavno prenesti na Hrvaško. Reorganizacija transfuzijske dejavnosti v RH je proces, ki se je začel s predlogi dveh skupin avtorjev, ki so nastali v letih 1996, 1998 in 2002, z namenom harmonizacije tega področja s tistim v večini držav ES. Danes je ta proces še vedno živ in se kontinuirano izvaja (12). Skladno s »Pravilnik o prostoru, stručnim radnicima i medicinsko-tehničkoj opremi za obavljanje djelatnosti planiranja, prikupljanja i testiranja krvi te proizvodnje, čuvanja, raspodjele, odnosno izdavanja krvnih pripravaka«, se pooblašćene zdravstvene ustanove na področju transfuzijske medicine, glede na obseg dejavnosti, ki jih opravljajo, delijo na:

- »Subregionalne transfuzijske centre«, ki so organizacijske enote v bolnišnicah, v katerih se zbira kri ter proizvajajo krvni pripravki, izvajajo imunohematološka testiranja vzorcev krvi, shranjujejo, izdajajo in razvrščajo enote krvi in krvni pripravki tudi za druge, pripadajoče bolnišnične transfuzijske organizacijske enote, in sicer v skladu z nacionalno mrežo transfuzijske dejavnosti in z navodili Ministrstva za zdravje in socialno skrb.

- »Regionalne transfuzijske centre«, ki so prav tako organizacijske transfuzijske enote v bolnišnicah, z nalogo da zbirajo kri, proizvajajo krvne pripravke izvajajo imunohematološka in obvezna testiranja vzorcev krvi krvodajalcev na označevalce povzročiteljev s krvjo prenosljivih bolezni, vse do ravni NAT, poleg tega pa tudi shranjujejo, izdajajo in razdeljujejo kri in krvne pripravke na regionalni ravni, skladno z nacionalno mrežo transfuzijske dejavnosti in navodili resornega ministrstva.
- »Hrvaški zavod za transfuzijsko medicino«, ki je vodilna zdravstvena ustanova za področje transfuzijske medicine v RH in katere poslanstvo je, da izvaja obvezna testiranja krvodajalcev na označevalce povzročiteljev s krvjo prenosljivih bolezni in na ostale s krvjo prenosljive bolezni z najsodobnejšimi tehnikami, poleg tega pa seveda tudi vse, v prejšnjih dveh alinejah navedene naloge in dodatne storitve, ki so opredeljene v Zakonu o zdravstvenem varstvu (»Narodne novine«, št. 150/08 in 155/09).

Tako kot v RS so tudi v RH vsi transfuzijski centri, z izjemo HZTM (v RS ZTM), manjši od primerljivih v državah ES. Z nadaljnjim izboljševanjem infrastrukture ter z ustrezno strokovno in politično voljo pa bo v prihodnosti nedvomno mogoče racionalneje organizirati transfuzijsko službo, še toliko bolj, ker centralizacijo narekujejo tudi razmere, ki so nastale zaradi globalne ekonomske oziroma finančne krize.

4.5. PRIMERJAVA HRVAŠKE IN SLOVENSKE PODROČNE ZAKONODAJE GLEDE IZVAJANJA PRESEJALNIH TESTIRANJ ODVZETE KRVI

Čeprav sta RS in RH članici Sveta Evrope in morata zato v svojih nacionalnih zakonodajah dosledno upoštevati Direktive in Standarde, ki jih ta sprejema, pa kljub temu obstajajo določene razlike v področnih zakonih obeh držav. Zakonodaja RS, ki je polnopravna članica ES je v celoti usklajena z zakonodajo ES. Tako Zakon o preskrbi s krvjo (ZPKrv-1, Ur. list RS št. 104/2006) temelji na Direktivi 2002/98/ES in Evropskega parlamenta ter Sveta, z dne 17. januarja 2003, za določitev standardov kakovosti in varnosti za zbiranje oziroma odvzem, testiranje, predelavo, shranjevanje in distribucijo človeške krvi in sestavin krvi ter Direktive 2001/83/ES s dopolnitvami. V RH, ki je v zaključni fazi priprav na vstop v ES, pa so v teku spremembe in dopolnila »Zakona o krvi i krvnim pripravcima« (NN 79/2006) ter s tem prilagajanje evropskim Direktivam. Tako je bil septembra 2011 izdan Predlog za spremembe in dopolnila omenjenega zakona, s katerim se nacionalni standardi za kakovost in varnost

krvnih pripravkov usklajujejo z določili Direktive 2002/98/ES in Evropskega parlamenta ter Sveta za določitev standardov kakovosti in varnosti za zbiranje oziroma odvzem, testiranje, predelavo, shranjevanje in distribucijo človeške krvi in sestavin krvi ter Direktive 2001/83/ES, Direktive 2004/33/ES s dopolnitvami, z dne 22. marca 2004, o izvajanju Direktive 2002/98/ES Evropskega parlamenta in Sveta glede nekaterih tehničnih zahtev za kri in komponente krvi, Direktive Komisije 2005/61/ES, z dne 30. septembra 2005, o izvajanju Direktive Evropskega parlamenta in Sveta 2002/98/ES glede zahtev po sledljivosti in obveščanju o hudih neželenih reakcijah in dogodkih in Direktive Komisije 2005/62/ES, z dne 30. septembra 2005, o izvajanju Direktive Evropskega parlamenta in Sveta 2002/98/ES glede standardov in specifikacij Skupnosti v zvezi s sistemom kakovosti za transfuzijske ustanove (43). Z uvedbo predlaganih sprememb bo RH izpolnila del svojih obveznosti, ki izhajajo iz pristopnih pogajanj in svojo zakonodajo za področje transfuzijske dejavnosti uskladila z obstoječim pravnim redom ES.

4.6. PRIMERJAVA ALGORITMOV ZA IZVAJANJE PRESEJALNIH TESTIRANJ

KRVODAJALCEV V RS IN RH

Že v uvodnem delu naloge smo zapisali, da so v RS in RH v uporabi nacionalni algoritmi za izvajanje presejalnih testiranj krvodajalcev, ki so izdelani na podlagi področne zakonodaje, usklajene z aktualnimi evropskimi predpisi in standardi. Slovenski nacionalni algoritmi za obvezno presejalno testiranje krvi krvodajalcev na HBV, HCV, HIV in TP so predstavljeni v Prilogi 5, hrvaški pa v Prilogi 6. Med omenjenimi algoritmi praktično ni razlik, saj v obeh državah po dobljenem reaktivnem rezultatu začetnega presejalnega testiranja (IR) tako enoto krvi zadržijo in testiranje vzorca se ponovi v dvojniku. Če so rezultati ponovljenega testiranja v dvojniku nereaktivni (NR/NR), se kri izda kot primerna, v kolikor pa so bodisi R/NR, R/R ali NR/R, pa se obvezno izvedejo potrjevalna testiranja, pri čemer se kri zadrži, dokler ne dobimo rezultatov potrjevalnih testiranj. Postopki nadaljnjih testiranj v primeru R/NR, R/R ali NR/R rezultatov so prikazani v točki 4.7. V kolikor je rezultat inicialnega presejalnega testiranja nereaktiven (INR), pa se kri seveda takoj sprosti za izdajo.

Razlika v presejalnih testiranjih med RS in RH je v tem, da se v RS poleg serološkega presejalnega testiranja izvaja tudi obvezno presejalno testiranje na prisotnost virusnih označevalcev s postopki NAT, medtem ko se v RH kot obvezno še vedno izvaja le serološko presejalno testiranje krvi krvodajalcev.

4.7. PRIMERJAVA ALGORITMOV ZA IZVAJANJE POTRJEVALNIH TESTIRANJ KRVODAJALCEV V RS IN RH

V primeru, ko so rezultati presejalnih testiranj R/NR, R/R ali NR/R, se obvezno izvajajo potrjevalna testiranja, doza krvi ali komponenta krvi pa se uniči. V Preglednici IV. so prikazani potrditveni testi, ki se uporabljajo v RS in RH za potrjevanje prisotnosti HBV, HCV, HIV in T. Pallidum v odvzeti krvi krvodajalcev.

	RS/TEST	RH/TEST
HBV	HBsAg alternativni test, Nevtralizacijski test HBsAg Ob poz (+) rezultatu→še vsi ostali serološki označevalci Upoštevanje rezultata HBV DNA	HBsAg alternativni test, Nevtralizacijski test HBsAg, Anti HBc, HBeAg HBV DNA
HCV	Anti HCV alternativni test Imunoblot test (INNO-LIA HCV) Upoštevanje rezultata HCV RNA	Anti HCV alternativni test Anti HCV imunoblot test HCV RNA
HIV	HIV Ag-Ab alternativni test INNO-LIA HIV HIV Ag test Anti HIV 1/2/0 Upoštevanje rezultata HIV RNA	HIV Ag-Ab alternativni test Anti HIV ½, HIV Ag test Anti HIV ½ imunoblot test HIV RNA test
T. Pallidum	Anti TP EIA alternativni test TPPA RPR (po presoji zdravnika) INNO-LIA sifilis (po presoji zdravnika)	Anti TP EIA alternativni test Anti TP imunoblot test TPPA RPR

Preglednica IV.: Potrditveni testi za dokazovanje HBV, HCV, HIV in T. Pallidum, ki se uporabljajo v RS in RH

V primeru negativnega potrditvenega testa kri uničimo krvodajalca pa ne obveščamo o rezultatih testiranja. Če so rezultati potrditvenih testiranj nejasni, darovano dozo krvi uničimo, darovalca pa pokličemo na kontrolni odvzem krvi. V primeru pozitivnega potrditvenega testa darovano dozo krvi uničimo, darovalca krvi pa trajno zavrne in obvestimo o rezultatih testiranja ter mu svetujemo. O pozitivnem rezultatu potrditvenega testiranja obvestimo tudi epidemiološko službo.

4.8. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA REZULTATOV PRESEJALNIH TESTIRANJ ODVZETIH ENOT IN KOMPONENT KRVİ V RS IN RH

V Preglednici V smo zbrali kronološke podatke, ki prikazujejo število potrjeno pozitivnih vzorcev med vsemi odvzetimi enotami krvi oziroma komponentami krvi, obvezno testiranih na prisotnost označevalcev HBV, HCV, HIV in sifilisa, v RS. Prikazana je tudi prevalenca okužb z omenjenimi povzročitelji na 10^5 odvzetih enot oziroma komponent krvi. Preglednica VI pa vsebuje istovrstne kronološke podatke za RH.

Preglednica V: Rezultati presejalnega testiranja odvzetih enot in komponent krvi ter prevalenca okužb s HBV, HCV, HIV in *Treponema pallidum* v RS, od leta 1998 do 2010.

Vir podatkov: letna poročila ZTM.

RS	Skupaj	Število potrjeno poz. enot				Prevalenca/ 10^5 enot krvi			
Leto	Število enot	HBV	HCV	HIV	sifilis	HBV	HCV	HIV	sifilis
1998	98.569	28	16	1	17	28	16	1,0	14
1999	97.939	26	12	1	24	27	12	1,0	22
2000	92.526	22	11	0	13	24	12	0,0	13
2001	91.221	17	10	0	12	19	11	0,0	11
2002	89.934	15	8	3	7	17	9	3,3	7
2003	86.697	20	10	0	7	23	12	0,0	8
2004	84.684	20	1	2	6	24	1	2,4	8
2005	85.344	12	4	2	9	14	4	2,4	8
2006	84.882	15	6	0	7	18	7	0,0	8
2007	84.586	12	9	1	8	14	9	1,0	8
2008	91.737	11	4	0	8	12	4	0,0	8
2009	95.856	11	2	0	13	11	2	0,0	11
2010	96.637	11	1	2	14	11	1	2,1	13
Skupaj	1.180.612	220	94	12	145				

Preglednica VI: Rezultati presejalnega testiranja odvzetih enot in komponent krvi ter prevalenca okužb s HBV, HCV, HIV in *Treponema pallidum* v RH, od leta 1998 do 2010.

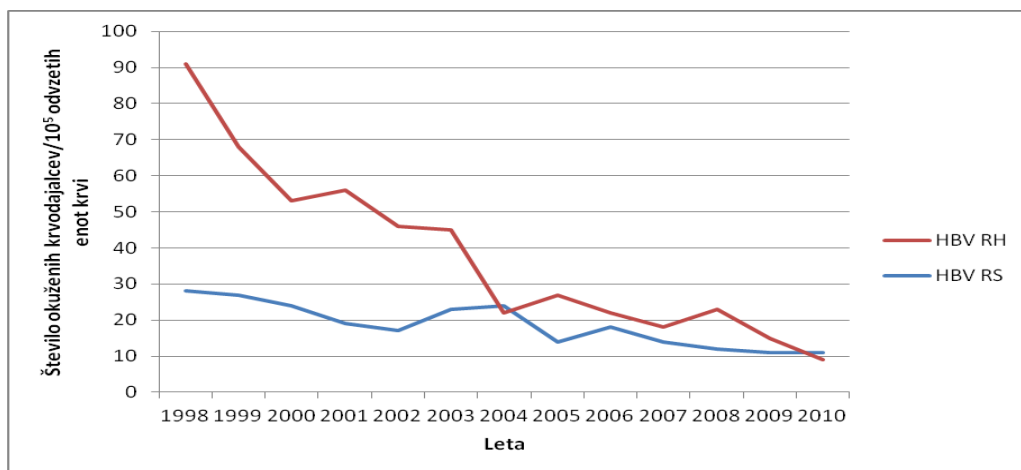
Vir podatkov: letna poročila HZTM.

RH	Skupaj	Število potrjeno poz. enot				Prevalenca/10⁵ enot krvi			
Leto	Število enot	HBV	HCV	HIV	sifilis	HBV	HCV	HIV	sifilis
1998	160.936	146	79	2	10	91	49	1,2	6
1999	156.322	106	72	3	14	68	46	1,9	9
2000	155.884	82	65	1	20	53	42	0,6	13
2001	154.147	87	43	2	21	56	28	1,3	14
2002	155.088	72	25	0	27	46	16	0,0	17
2003	161.161	72	23	6	14	45	14	3,7	9
2004	155.454	34	16	4	18	22	10	2,6	12
2005	157.532	42	13	3	24	27	8	1,9	15
2006	156.992	34	16	1	14	22	10	0,6	9
2007	161.195	29	19	1	18	18	12	0,6	11
2008	167.863	39	11	5	12	23	7	3,0	7
2009	176.570	27	12	1	22	15	7	0,6	13
2010	168.959	15	12	0	7	9	7	0,0	4
Skupaj	1.413.516	785	406	29	221				

Na podlagi prikazanih rezultatov v Preglednicah V in VI smo v nadaljevanju primerjali letne prevalence okužb krvodajalcev s HBV, HCV, HIV in *T. pallidum* na 10⁵ odvzetih enot krvi oziroma komponent krvi, v RS in RH, v obdobju od leta 1998 do leta 2010.

4.8.1. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S HBV NA 10^5 ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRV V RS IN RH

Hepatitis B je tako v RS kot v RH najpogostejša med vsemi nalezljivimi boleznimi, katerih povzročitelje dokazujemo v vseh enotah krvi oziroma komponentah krvi, odvzetih za namen transfuzije. Graf 3 prikazuje spreminjanje prevalece s HBV dokazano okuženih krvodajalcev, na 10^5 odvzetih enot krvi oziroma komponent krvi v obeh državah, v časovnem obdobju od leta 1998 do 2010.

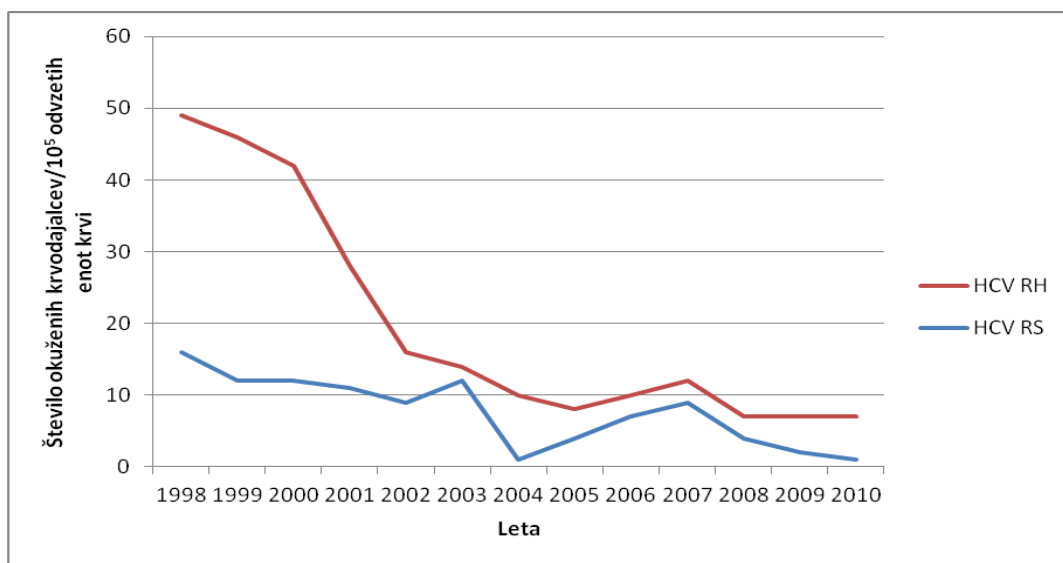


Graf 3: Kronološka primerjava prevalenc okužbe s HBV na 10^5 enot odvzete krvi in komponent krvi v RS (modra krivulja) in RH (rdeča krivulja).

Ugotovimo lahko, da se število s HBV okuženih krvodajalcev v RS tekom vseh 13 let ni bistveno spreminjalo in se je gibalo med 28 in 11/ 10^5 odvzetih enot krvi. V RH pa je bila prevalenca s HBV okuženih krvodajalcev bistveno drugačna, saj je bila do leta 2001 večja od 50, nato pa se je z leti postopno zmanjševala in se je leta 2010 zmanjšala na vsega 9 primerov/ 10^5 odvzetih enot krvi. Veliko število HBV pozitivnih krvodajalcev v 90. letih je nedvomno posledica prihoda velikega števila beguncev iz BIH, ki so nato med potekom vojne, nekateri od njih pa tudi po njej, bivali na ozemlju RH. Poleg tega pa sta na ta pojav vplivala tudi povečanje gostote naseljenosti in izrazit padec življenjskega standarda, do katerega je prišlo zaradi vojnih razmer v državi. K zmanjševanju števila s HBV okuženih krvodajalcev je tako v RS kot RH veliko prispevalo obvezno cepljenje rizičnih skupin prebivalstva in pa šolskih otrok proti hepatitisu B. Nenazadnje pa na zmanjševanje števila HBV pozitivnih krvodajalcev pomembno vplivajo tudi izobraževanje ter verodostojno izpolnjevanje vprašalnikov, natančnejše anamneze in podrobnejši zdravniški pregledi krvodajalcev pred odvzemi krvi, ki omogočajo zavračanje oseb z rizičnim obnašanjem oziroma vseh tistih, za katere upravičeno domnevamo, da bi lahko bili okuženi.

4.8.2. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S HCV NA 10^5 ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRVI V RS IN RH

Ker je HCV poleg HIV najnevarnejši povzročitelj s krvjo prenosljivih nalezljivih bolezni, je presejalno testiranje vseh odvzetih enot krvi oziroma komponent krvi na označevalce njegove prisotnosti izjemno pomembno. Graf 4 prikazuje spreminjanje prevalenc s HCV dokazano okuženih krvodajalcev, na 10^5 odvzetih enot krvi oziroma komponent krvi v RS in RH, in sicer v časovnem intervalu od leta 1998 do 2010.



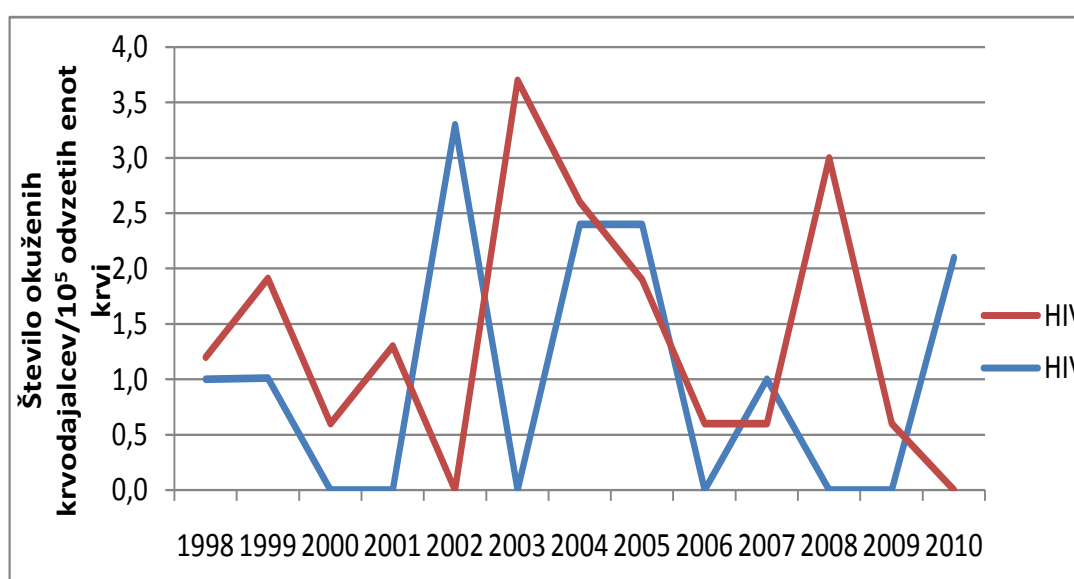
Graf 4: Kronološka primerjava prevalenc okužbe s HCV na 10^5 enot odvzete krvi in komponent krvi v RS (modra krivulja) in RH (rdeča krivulja).

Iz prikazanih podatkov je razvidno, da je bilo konec 90. let v obeh primerjanih državah odkrito večje število s HCV okuženih krvodajalcev, nato pa se je njihovo število močno zmanjšalo. Majhno število na novo odkritih primerov v zadnjih nekaj letih lahko pripišemo tako dejstvu, da so bile osebe, pri katerih je bila v 90. letih, ko je bilo uvedeno obvezno testiranje in kasneje okužba potrjena, trajno zavrnjene kot krvodajalci kot tudi razlogom, ki smo jih navedli že v prejšnjem poglavju (4.8.1.).

Vse do leta 2001 je bila prevalenca s HCV okuženih krvodajalcev v RH znatno večja kot v RS, kar lahko pripišemo enakim razlogom kot v primeru okužbe s HBV. Po tem obdobju pa se je število HCV pozitivnih krvodajalcev v RH ustalilo in se sedaj letno v obeh primerjanih državah giblje nekje med 1 do 7 primerov/ 10^5 odvzetih enot krvi oziroma komponent krvi.

4.8.3. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S HIV NA 10^5 ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRVI V RS IN RH

Aids je med nalezljivimi, z nezaščitnimi spolnimi odnosi in krvjo prenosljivimi boleznimi, poglavitvni svetovni javnozdravstveni problem. Do konca leta 2008 je namreč zaradi tega umrlo že približno 25 milijonov ljudi (30). Zato je seveda obvezno presejalno testiranje krvodajalcev na označevalce okužbe s HIV nujno potrebno. Graf 5 prikazuje spreminjanje prevalence s HIV dokazano okuženih krvodajalcev, na 10^5 odvzetih enot krvi oziroma komponent krvi v RS in RH, in sicer v časovnem intervalu od leta 1998 do 2010.



Graf 5: Kronološka primerjava prevalenc okužbe s HIV na 10^5 enot odvzete krvi in komponent krvi v RS (modra krivulja) in RH (rdeča krivulja)

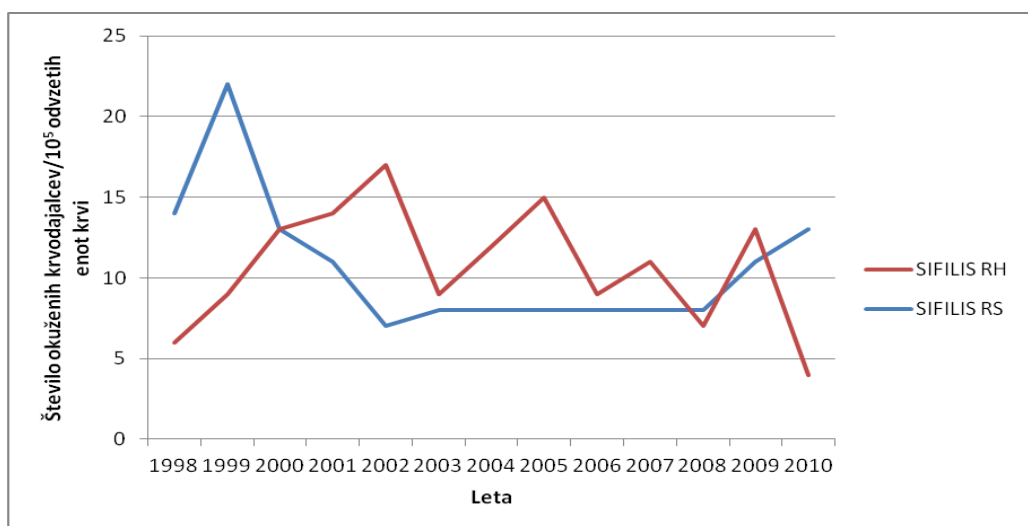
Glede na to, da je število s HIV okuženih oseb med prebivalstvom obeh primerjanih sosednjih držav razmeroma majhno, kar pomeni manj kot 1 okužba na 1.000 prebivalcev, je posledično majhna tudi prevalenca HIV pozitivnih krvodajalcev. Zaradi vedno večje zavesti in odgovornosti krvodajalcev, ki sta posledici njihovega vse bolj pozitivnega odnosa do zdravega in odgovornega življenjskega stila ter dobre informiranosti in pridobivanja podrobnih informacij in anamnez (vprašalniki, pogovori z zdravnikom), ostaja število s HIV okuženih posameznikov med njimi majhno. Ker je za večino oseb, ki so okužene s HIV, značilen tvegan način življenja, ki je posledica intravenoznega uživanja prepovedanih drog, z izmenjevanjem rabljenih injekcijskih igel, istospolne usmerjenosti ali izrazite promiskuitete

ter nezaščitenih spolnih odnosov z osebami iz držav z visokim deležem okuženega prebivalstva ali s tistimi iz omenjenih rizičnih skupin, jih lahko že na podlagi izpolnjenega vprašalnika in usmerjenega pogovora oziroma pridobljene anamneze, odklonimo oziroma zavrnemo kot krvodajalce. Število s HIV okuženih krvodajalcev je v zadnjih nekaj letih, tako v RS kot v RH, upadlo tudi zaradi uvedbe sistema brezplačnega in anonimnega svetovanja in testiranja na okužbo s HIV, s čimer se je bistveno zmanjšalo prijavljanje tistih posameznikov za darovanje krvi, katerih edini motiv je bilo hitro, anonimno in brezplačno testiranje.

4.8.4. KRONOLOŠKA PRIMERJAVA PREVALENC OKUŽBE KRVODAJALCEV S TREPONEMO PALLIDUM NA 10^5 ODVZETIH ENOT OZIROMA KOMPONENT KRV I V RS IN RH

Čeprav se o testiranju krvodajalcev na sifilis trenutno veliko razpravlja, pri čemer številni strokovnjaki menijo, da bi ga lahko tudi opustili, pa ga v RS in RH, tako kot tudi v večini evropskih držav, še vedno izvajamo, saj je od konca prejšnjega stoletja okužba s *Treponemo pallidum* v porastu, in sicer predvsem na Irskem, v Veliki Britaniji, na Nizozemskem in v Rusiji (3). Po podatkih HZJZ (Hrvatski zavod za javno zdravstvo), od leta 2004, tudi v RH, opažamo porast števila oseb s sifilisom. Testiranje je nedvomno koristno tudi zato, ker je reaktiven rezultat lahko pokazatelj tveganega življenjskega sloga posameznika oziroma možnosti njegove okuženosti tudi z drugimi spolno prenosljivimi boleznimi.

Graf 6 prikazuje spreminjanje števila krvodajalcev z dokazanim sifilisom, na 10^5 odvzetih enot krvi oziroma komponent krvi v RS in RH, in sicer v časovnem intervalu od leta 1998 do 2010.



Graf 6: Kronološka primerjava prevalenc okužbe s *Treponemo pallidum* na 10^5 enot odvzete krvi in komponent krvi v RS (modra krivulja) in RH (rdeča krivulja).

Kljub temu, da je število oseb z diagnosticiranim sifilisom med prebivalci RS in RH razmeroma majhno, pa s presejalnim testiranjem krvodajalcev, na 10^5 odvzetih enot krvi, povprečno odkrijemo med 10 do 15 okuženih s *Treponemo pallidum* na leto. To si lahko razlagamo z dejstvom, da osebe, ki imajo sifilis, tega pogosto sploh ne vedo, in sicer zaradi zanemarjanja simptomov v primarnem stadiju bolezni in pogoste uporabe antibiotikov, ki lahko ublažijo njen potek.

V. RAZPRAVA

Vsaka ekonomsko in socialno razvita država skuša na svoj način in v skladu s svojimi zmožnostmi zagotoviti čim varnejšo kri in krvne pripravke za svoje državljane ter tako kar najbolj zmanjšati število s transfuzijo prenesenih nalezljivih bolezni. Ker pa nobeno laboratorijsko testiranje ni stoddostno zanesljivo, se moramo zavedati, da absolutno varne krvi oziroma krvnih pripravkov ni možno zagotoviti. Prav tako tudi ne moremo odvzete krvi testirati na morebitno prisotnost vseh potencialno nevarnih povzročiteljev različnih bolezni, ki se lahko prenesejo s krvjo. Za varnost krvi, komponent krvi in krvnih pripravkov pa so poleg uporabe naprednih, občutljivih in zanesljivih postopkov testiranja krvi pomembni tudi ustrezni zakoni in podzakonski akti, standardi kakovosti in drugi predpisi ter priporočila in algoritmi, ki celovito urejajo zbiranje, testiranje, shranjevanje in razdeljevanje krvi in komponent krvi ter proizvodnjo krvnih pripravkov, namenjenih za zdravljenje. Z njihovim doslednim izvajanjem zagotavljamo, da so kri in komponente krvi, namenjene transfuzijskemu zdravljenju čim varnejše, z najmanjšim možnim tveganjem za prenos okužb, še posebej tistih s HIV in HCV. Varnost pri transfuziji krvi, komponent krvi in krvnih pripravkov se je izrazito povečala tudi z uvedbo sistema hemovigilance, ki omogoča spremljanje pojava neželenih dogodkov na nacionalnem nivoju ter hitro reagiranje in odpravljanje sistemskih pomanjkljivosti znotraj transfuzijske dejavnosti. Za normalno delovanje sistema je seveda potrebno ustrezno financiranje, sicer pa sta ključna tudi nenehno izobraževanje izvajalcev transfuzijske dejavnosti, ter zdravstvenih delavcev in sodelavcev ter seveda tudi krvodajalcev. Za slednje je izjemno pomembno, da so zdravi, dobro informirani, predani zdravemu življenjskemu slogu ter moralno in etično visoko motivirani.

V nalogi smo primerjali organizacijo in izvajanje obveznega presejalnega testiranja krvi in komponent krvi krvodajalcev v RS in RH. Prvi korak pri presejanju potencialnih krvodajalcev je zagotovo izbira tistih z dobrim zdravstvenim stanjem in življenjskimi navadami, ki ustrezajo kriterijem za neoviran pristop k darovanju krvi. Pričakovano smo ugotovili, da na tem področju v nacionalnih kriterijih ni nobenih bistvenih razlik. Dejstvo je namreč, da sta obe državi članici Sveta Evrope in morata kot takšni v celoti upoštevati aktualna Priporočila Sveta Evrope, ki vsebujejo tudi osnovne kriterije za izbiro varnih krvodajalcev. Poleg tega se primernost krvodajalcev ugotavlja tudi s pomočjo anketnih vprašalnikov. S primerjavo nabora in vrste vprašanj v vprašalnikih za krvodajalce, ki so v uporabi v obeh državah, smo ugotovili,

da se ti med seboj praktično ne razlikujejo (Prilogi 1 in 2) .

Pri izdelavi naloge smo prišli tudi do spoznanja, da v organizaciji in izvajanju presejalnih testiranj v RS in RH v preteklosti ni bilo večjih razlik. Na začetku razvoja transfuzijske dejavnosti sta imeli obe sosednji, danes suvereni državi, ki sta bili pred osamosvojitvijo leta 1991 del SFRJ, namreč približno enake pogoje za razvoj in za uvajanje presejalnih testov. V novejši zgodovini, po njuni osamosvojitvi in dolgotrajni domovinski vojni v RH, ki jo je močno osiromašila ter zavrla njen razvoj in napredek, pa so se pojavile tudi razlike na področju uvajanja presejalnih testov krvodajalcev. Tako se v RS v okviru obveznega presejalnega testiranja vseh odvzetih enot krvi in komponent krvi na označevalce okužb s HBV, HCV in HIV, že od leta 2007 naprej izvaja trenutno najobčutljivejše testiranje NAT, ki pa ga RH še ni uspela uvrstiti v nabor svojih obveznih presejalnih testov. Razen omenjene pa nismo zasledili nobenih drugih omembe vrednih razlik v osnovnih nacionalnih algoritmi namenjenih izvajanju seroloških presejalnih testiranj krvi krvodajalcev.

Čeprav sta RS in RH članici Sveta Evrope in morata zato, kot smo že omenili, v svojih nacionalnih zakonodajah dosledno upoštevati direktive in standarde, ki jih ta sprejema vsako leto, pa obstajajo na področju presejalnih testiranj določene razlike, ki smo jih zasledili v primerjanih nacionalnih področnih zakonskih predpisih. Zakonodaja RS, ki je od leta 2004 polnopravna članica ES, je v celoti usklajena z njeno zakonodajo, medtem ko so v RH, ki je v zaključni fazi priprav na vstop v ES, v teku pomembne spremembe obstoječega Zakona o krvi in krvnih pripravkih (NN 79/2006), s katerimi bo dosežena zahtevana prilagoditev evropskim področnim Direktivam.

Ker se je centralizacija oziroma poenotenje transfuzijske dejavnosti v več državah članicah ES izkazala za strokovno in ekonomsko zelo učinkovit model, si jo strokovnjaki na področju transfuzijske dejavnosti v obeh državah, preko postopkov reorganizacije, prizadevajo vzpostaviti v čim večjem možnem obsegu. Pri tem pa so zaradi različnih ovir (politični in lokalni interesi, geografske danosti, infrastrukturne pomanjkljivosti, itd.) pogosto le delno uspešni, kar pomeni, da se tovrstnih sprememb ne bo dalo izvesti brez trdne politične podpore.

Na področju krvodajalstva smo v spremljanem obdobju od leta 1998 do leta 2010, ugotovili razlike v številu krvodajalcev, saj je bilo v vseh 13 zaporednih letih letno število krvodajalcev/1.000 prebivalcev v RS večje kot v RH. To bi lahko bila posledica intenzivnejše oziroma uspešnejše promocije krvodajalstva, ki temelji na vzgoji in izobraževanju obstoječih in potencialnih novih krvodajalcev ter na splošni informiranosti oziroma zavedanju ljudi o pomenu darovanja varne krvi. Poleg tega pa na število krvodajalcev zelo pomembno vplivajo tudi socialno-ekonomske razmere in privzgojena oziroma tradicionalna stopnja moralno-etičnega zavedanja o tem, da lahko posamezniki z darovanjem krvi pomagamo reševati življenje ljudi.

Največje razlike v številu tistih krvodajalcev v RS in RH, ki so bili pozitivni na HBV, HCV, HIV ali *Treponema pallidum*, smo ugotovili ob koncu devetdesetih let prejšnjega stoletja. V RH je bilo to povojno obdobje, v katerem se je, v primerjavi z RS, ki tako obsežnih težav ni imela, zaradi velikega števila priseljenih beguncev, večje lokalne gostote prebivalstva in padca življenjskega standarda, v splošni populaciji ter seveda posledično tudi med krvodajalci, precej povečalo število oseb, okuženih z omenjenimi povzročitelji s krvjo prenosljivih bolezni. Po letu 2004, pa nismo več opazili večjih razlik v številu okuženih krvodajalcev, odkritih v obeh državah.

VI. SKLEPI

S primerjavo organizacije transfuzijske dejavnosti in presejalnega testiranja odvzetih enot krvi in komponent krvi v RS in RH smo preverili naše hipoteze in pri tem prišli do naslednjih sklepov:

1. Med centralizacijo transfuzijske dejavnosti in kakovostjo presejalnega testiranja obstaja neposredna povezanost.

Centralizacija transfuzijske dejavnosti in kakovost presejalnega testiranja sta med seboj tesno povezani, kar smo ugotovili na podlagi objavljenih podatkov evrposkih držav, ki so ta proces že dosledno izpeljale in informacij, pridobljenih na ZTM in HZTM, osrednjih vodilnih transfuzijskih ustanov v RS in RH, ki izvedeta največji del presejalnih testiranj enot odvzete krvi in komponent krvi v obeh državah. Proces centralizacije zagotavlja enovit pristop k izvajanju presejalnega testiranja krvi, v za to posebej zadolženih laboratorijih, in sicer ob uporabi enakih algoritmov, testov in opreme oziroma analizatorjev. S tem so zagotovljeni racionalizacija, celovita kakovost, organizacijska in finančna optimizacija, uvajanja najnovejših visoko zmogljivih tehnologij z visoko stopnjo izkoriščenosti ter nenazadnje tudi nenehno usmerjeno izobraževanje oziroma specializacija osebja, ki to testiranje izvaja. Prav zato si predstavniki stroke, torej transfuzijske medicine, v RS in RH, močno prizadevajo za čim večjo stopnjo centralizacije transfuzijske dejavnosti, kar pa se žal prepogosto ne obravnava kot strokovno, pač pa kot politično vprašanje, to pa seveda ni racionalno.

2. Glede na razlike v organizaciji transfuzijske dejavnosti v RS in RH predvidevamo, da obstajajo tudi razlike v presejalnem testiranju odvzete krvi in komponent krvi med obema sosednjima državama.

Najpomembnejša razlika med organizacijami transfuzijskih dejavnosti v RS in RH je izvajanje centraliziranega presejalnega testiranja vse odvzete krvi in komponent krvi s postopki NAT v RS. Dejstvo je, da so tovrstne analize precej občutljivejše od testov EIA, ki so trenutno v uporabi v RH, saj zagotavljajo znatno zoženje diagnostičnih oken za zaznavo prisotnosti HBV, HCV in HIV ter tako zvišujejo varnost transfuzijskega zdravljenja.

3. Predvidevamo tudi, da bomo v določenem časovnem obdobju ugotovili razlike v epidemioloških podatkih o številu okuženih krvodajalcev v RS in RH.

Razlike v epidemioloških podatkih o številu okuženih krvodajalcev na 10^5 odvzetih enot krvi oziroma krvnih komponent v RS in RH so bile v primeru HBV najbolj izrazite v obdobju od 1998 – 2004, v primeru HCV od leta 1998 - 2003 in v primeru sifilisa od 1998 – 2008. Pripišemo jih lahko pomembnim socialno-ekonomskim razlikam, ki so nastale zaradi posledic večletnih vojnih razmer v regiji, predvsem pa zaradi dotoka velikega števila beguncev iz sosednje BIH ter njihovega bivanja v RH.

VII. LITERATURA

1. Levičnik Stezinar S., Testiranje krvodajalcev s tehniko NAT v Sloveniji, Zbornik strokovnih prispevkov 8. podiplomskega seminarja Zdravljenje s krvjo, Portorož, 2007, 93-97
2. Jeras M., Zgodovinski pregled razvoja transfuzijske medicine ter transplantacije organov in tkiv, izročki 1. predavanja, LBMAG 2010/2011
3. Grgičević D. in sod., Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi, Medicinska naklada, Zagreb, 2006
4. <http://www.crvenikriz-zg.hr/Stranica.aspx?kat=3> (Dostopano 20.08.2011)
5. Rožman P., Preventivni ukrepi za izboljšanje varnosti transfuzije in virtualni transfuzijski laboratorij, Zdrav vestn 2002; 71: 245-9
6. Šehić D. i Šehić D., Atlas Europe, Monde Neuf, 69-70, 90-91, 2005
7. <http://hr.wikipedia.org/wiki/slovenija>, (Dostopano 28.09.2011)
8. <http://hr.wikipedia.org/wiki/hrvatska> (Dostopano 28.09.2011)
9. Syphilis - nova stara bolest (epidemija 2003-2004), Hrvatski časopis za javno zdravstvo, Zagreb, Vol. 2, št.8, 07.10.2006
10. [http://www.zdrastvena.info./vsznj/category/2letnik-transfuzijska medicina/](http://www.zdrastvena.info./vsznj/category/2letnik-transfuzijska%20medicina/), (Dostopano 15.07.2011)
11. Zakon o krvi i krvnim pripravcima, Narodne novine, Zagreb, lipanj 2006, Čl.26-32
12. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components, European Committee, 16th edition
13. Poljak M., Petrovac M., Medicinska virologija, Medicinski razgledi, 84-101, 221-235, 2011
14. Ropac D. in sod., Epidemiologija zaraznih bolesti, Medicinska naklada; Zagreb 2003
15. Palmović D., Virusni hepatitis, Školska knjiga, Zagreb 2004
16. Kocijančič A., Mrevlje A., Štajer D., Interna medicina, tretja izdaja, 578-585, Ljubljana 2005
17. Dorić A., Grahovac B., Hepatitis C u transfuzijskoj medicini, Medicina 2007, 43:150-154
18. http://www.glowm.com/?p=glowm.cml/section_view&articleid=30, (Dostopano 27.11.2011)
19. Marinović B., Određivanje prisutnosti bakterije treponema pallidum u bolesnika s primarnim stadijem ranog sifilisa i u kasnom latentnom sifilisu, Doktorska disertacija, 40-42, Zagreb 2003

20. Marinović B., Lipozenčić J., Lakoš Jukić I., Sifilis danas, MEDICUS 2009. Vol. 18, No. 1, 107 – 110
21. M. Vegan, Socialno psihološki vidiki veneričnih bolezni, Obzornik zdravstvene nege, 268-273
22. Haris Topčič V., Mlakar B., Spregledani primeri sifilisa, Zdravniški vestnik, december 2009, 777-781
23. Kozjek G., Bizjak M., Marinko A., seminarska naloga pri predmetu biomedicinska analitika, Ugotavljanje vpliva zamrzovanja in temperature na potek PCR reakcije, ter določanje učinkovitosti dekontaminacije pri PCR reakciji, 3-7, Ljubljana, 2009
24. Vrhovšek J., Tržno–komunikacijski program za krvodajalstvo, diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Ekonomska fakulteta, 2005, 2-4
25. Zavod za transfuziju krvi SRH Zagreb 1945-1975, Zavod za transfuziju krvi SRH, Zagreb, 1975, 7-12
26. Libek V., Apsolutno bezbedna transfuzija - utopija ili stvarnost?, Bilt Transfuziol 2008;54:5-10, Zemun
27. John A. J. Barbara, Fiona A.M. Regan, Marcela C. Contreras, Transfusion Microbiology, Cambridge University Press, 2008
28. Kramar I., Neželeni učinki transfuzijskega zdravljenja, Zbornik strokovnih prispevkov 8. podiplomskega seminarja Zdravljenje s krvjo, Portorož, 2007, 23-28
29. In Vitro Diagnostic Medical device Directive 98/79/EC, 27 October 1998
30. Pravilnik o hemovigilanci, Uradni list RS, št. 9/2007
31. Pravilnik o osiguranju kvalitete krvi i krvnih pripravaka u zdravstvenim ustanovama, Narodne novine 80/07
32. <http://www.hztm.hr/hr/content/2/darivanje-krvi/15/o-krvi/> (Dostopano 20.08.2011)
33. Zakon o preskrbi s krvjo, Uradni list RS, Ljubljana, 2006, Uradni list RS, 29.01.2007, Čl.3, Čl.9
35. Levičnik Stezinar S. Hemovigilanca: postopki za nadzor okužb pri krvodajalcih, postopki za nadzor potransfuzijskih okužb. Ljubljana: Zavod RS za transfuzijsko medicino; 2005.
36. Pravilnik o obveznem testiranju krvi in komponent krvi, Ur. List RS, 9/2007, ČL. 3, ČL. 9
37. Pravilnik o transfuzijskih preiskavah in postopkih ob transfuziji, Uradni list RS, 29.01.2007, čl.12

38. Breskvar M., Telemedicina-zdravje na daljavo, Slovensko društvo za medicinsko informatiko, Ptuj 28. in 29. januar 2010
39. Jukić I., Pleša- Golubović V. in sod., Promidžba i organizacija akcija dobrovoljnog davalatstva krvi, Standardi koje je potrebno održavati u uzimanju krvi, 37-43, Zagreb, 2001
40. Klavs I, Kustec T, Kastelic Z. Okužba s HIV v Sloveniji v letu 2010. Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja, 2011.
42. Polanda Lasica V., Martinović D., Lovrić D., Lenz Đ., Sifilis kao rizik transfuzijskog liječenja, Hrvatski časopis za javno zdravstvo, Vol. 3, št. 10, 07.04.2007
43. Prijedlog Zakona o izmjenama i dopunama zakona o krvi i krvnim pripravcima, Zagreb, september 2011
44. Pravilnik o strokovno medicinskih pogojih za odvoz krvi, Uradni list RS, št. 9/2007
45. Čvorišćec D. in Čepelka I., Štrausova Medicinska biokemija, Automatizacija i informatizacija u laboratoriju, 19-29, Medicinska naklada, Zagreb 2009
46. Zakon o zdravstvenoj zaštiti, Hrvatski sabor, Zagreb, 15.12.2008, ČL. 102-104
47. <http://www.ordinacija.hr/zdravlje/preventiva/dr-irena-jukic-dobrovoljni-darivatelji-krvi-pravi-su-nesebicni-junaci/> (Dostupno 25.09.2011)
48. Hrvatsko društvo za hematologiju i transfuzijsku medicinu, Prijedlog reorganizacije transfuzijske djelatnosti u Hrvatskoj
49. Balint B., Transfuziologija, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 2004
50. Weusten J, Vermuelen M, van Drimmelen H, Lelie N. Refinement of a viral transmission risk model for blood donations in seroconversion window phase screened by nucleic acid testing in different pool sizes and repeat test algorithms. Transfusion 2011;51:203-215
51. Busch PM, Glynn SA, Stramer SL, Strong MD, Caglioti S, Wright DJ et al. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. Transfusion 2005; 45:254-264
52. Assal A., Barlet V., Deschaseaux M., Dupont I., Gallian P., Guitton C. et al. Comparison of the analytical and operational performance of two viral nucleic acid test blood screening systems: Procleix Tigris and cobas s 201. 2009 Feb; 49(2):289-300
53. Pravilnik o standardih in tehničnih zahtevah sistema kakovosti za transfuzijsko dejavnost Ur.l 9/2007

VIII. PRILOGE:

Priloga 1 : Vprašalnik za krvodajalce, ki je v uporabi v RS

Vprašalnik za krvodajalce

Spoštovana krvodajalka in krvodajalec. Prosimo vas, da preberete priloženo zloženko in potem odgovorite na vprašanja v vprašalniku. Vprašanja zastavljamo zaradi varovanja vašega zdravja in hkrati zdravja prejemnikov vaše krvi. Zaupnost vaših odgovorov je zagotovljena.

Odgovarjajte tako, da prečrtate ustrezen kvadrater. DA NE

- ☐ Ali se počutite zdravi?
- ☐ Ali ste imeli v zadnjem času nepojasnjeno vročino?
- ☐ Ali ste bili v zadnjih 4 tednih cepljeni?
- ☐ Ali redno jemljete zdravila oziroma ste v zadnjem času jemali kakršnakoli zdravila? (Napišite katera.....)

- ☐ Ali ste v zadnjih 5 dneh jemali Aspirin ali zdravilo z acetilsalicilno kislino?

Ali ste v zadnjih 12 mesecih:

- ☐ dobili transfuzijo, prestali operacijo ali zahtevne medicinske preiskave,
- ☐ opravili prebadanje kože, tetoviranje ali akupunkturo,
- ☐ se zbadli z medicinsko iglo ali prišli v stik s tujo krvjo,
- ☐ bili noseči? (odgovorijo ženske)

Ali so vam povedali, da je kdo v vaši družini imel Creutzfeldt – Jakobovo bolezen ali katero drugo prenosljivo degenerativno možgansko obolenje?

- ☐ da ☐ ne

Ali so vam presadili možgansko ovojnico ali očesno roženico, oziroma ste bili zdravljeni z rastnimi hormoni človeškega izvora?

- ☐ da ☐ ne

Ali ste bili rojeni , živeli ali zadnja tri leta potovali v kraje izven Evrope, kjer je povečano tveganje za nalezljive in tropske bolezni? (Napišite kje)

Ali ste v družini oziroma v službi izpostavljeni virusni zlatenici (hepatitisu)?

- ☐ da ☐ ne

Ali ste kdaj imeli:

- ☐ virusno zlatenico, malarijo, tuberkulozo, revmatično mrzlico,
- ☐ srčne bolezni in visok ali nizek krvni tlak,
- ☐ alergijo (astmo...),
- ☐ božjastni napad ali bolezni živčnega sistema,
- ☐ kronične bolezni (sladkorno bolezen, raka, rano na želodcu ali dvanajstniku, luskavico....),
- ☐ spolno prenosljive bolezni?

Ali ste prebrali zloženko o aids-u in hepatitisu in jo razumeli?

· da ne

Ali ste v zadnjih 12 mesecih imeli spolne stike z:

- osebo, ki je HIV pozitivna ali ima virusno zlatenico (hepatitis),
- osebo, ki si vbrizgava drogo,
- osebo, ki za spolne odnose prejema plačilo ali droge,
- moškim, ki je imel spolne odnose z drugim moškim?

Ali ste kdajkoli:

- si vbrizgavali drogo?
- prejeli za spolni odnos denarno plačilo ali drogo?
- imeli spolne odnose z drugim moškim? (odgovorijo moški)

Ali so vas v preteklosti kdaj zavrnil kot krvodajalca?

· da ne

Ali opravljate nevaren poklic oziroma imate nevarne konjičke (npr. poklicni voznik, delo na višini, potapljanje....)?

· da ne

Dovoljujem, da opravite z zakonom predpisane teste na krvi (hepatitis B, hepatitis C, HIV, sifilis) in me o pozitivnem rezultatu zaupno obvestite. Strinjam se, da se podatki zbirajo, vodijo in uporabljajo za namene krvodajalstva skladno z Zakonom o varstvu osebnih podatkov (Uradni list RS, št. 59-2792/1999)

Priloga 2 : Vprašalnik za krvodajalce, ki je v uporabi v RH

SPOŠTOVANI KRVODAJALEC!

☐ Obvsakem dajanju krvi vzamemo vzorec Vaše krvi, ki ga testiramo na prisotnost povzročiteljev s krvjo prenosljivih bolezni: hepatitis B, hepatitis C, HIV in sifilis.

☐ Nekater osebe zaradi svojega socialnega vedenja pripadajo skupinam s povečanim tveganjem za okužbo s krvjo nalezljivimi boleznimi, zato ne smejo nikoli dajati krvi.

☐ Prosimo Vas, preberite vprašalnik na hrbtni strani in zdravniku odgovorite na navedena vprašanja. Zdravnik bo vaše odgovore zapisal v vprašalnik.

☐ Vprašalnik je sestavljen za ohranjanje Vašega zdrava in zaradi varnosti transfuzijskega zdravljenja bolnikov, Vaši odgovori pa so zdravniška tajnost.

Osebe s povečanim tveganjem obolelosti za s krvjo prenosljivimi boleznimi so:

- odvisniki od alkohola ali mamil
- osebe, ki so si vbrizgale mamilo
- osebe, ki jih njihovo spolno vedenje vodi v visoko tveganje obolelosti za nalezljivimi boleznimi, ki se lahko prenašajo s krvjo
- osebe, katerim plačujejo spolni odnos z denarjem ali mamili
- osebe, ki so HIV pozitivne
- osebe, ki so med letoma 1980 in 1996 več kot 6 mesecev bivale v Veliki Britaniji

Če sumite ali se prepoznate kot pripadnik ene izmed navedenih skupin, Vas prosimo, da ne dajete krvi.

Poiščite nasvet pri prisotnem zdravniku ali pridite v Svetovalnico za krvodajalce.

VPRAŠALNIK ZA KRVODAJALCE

DA NE

1. Se prepoznate v katerikoli izmed navedenih skupina ljudi s povečanim tveganjem?
2. Ste imeli v zadnjih 12 mesecih spolni stik z osebo s povečanim tveganjem?
3. Ste sedaj zdravi?
4. Ste že dajali kri?
5. So vas kadarkoli zavrnili na krvodajalski akciji in zakaj?
6. Ste imeli pred kratkim nerazložljivo vročino, izgubo telesne teže, povečane bezgavke?
7. Ste bili v zadnjih 4 letih cepljeni?
8. Ste v zadnjih 4 tednih jemali kakšna zdravila, vključno z aspirinom (tablete, injekcije, svečke)? Katere?
9. Ste kadarkoli jemali naslednja zdravila: Accutane, Tegison, Neotigason, Proscar, Propecia, Avodart?
10. Ste bili v zadnjih 7 dneh na kakršnemkoli stomatološkem ali lažjem kirurškem posegu?
11. Ste kadarkoli prejeli človeški rastni hormon?
12. Ste kadarkoli imeli transplantirano tkivo/organ (npr. roženica, trda možganska ovojnica)?
13. Je kdo v vaši družini imel ali ima Creutzfeld-Jakobovo bolezen?
14. Ste se rodili ali živeli in/ali potovali v tropske države?
15. Ste v zadnjih 6 mesecih:
 - prejeli transfuzijo krvi, bili operirani ?
 - bili na akupunkturi, se tetovirali, luknjali uho ali katerikoli drugi del telesa?
 - zbadli z medicinsko iglo ali bili v stiku s tujo krvjo?
 - bili na endoskopskem pregledu (artroskopiji, gastroskopiji, laparoskopiji,...)?
 - bili v stiku z bolnikom z virusnim hepatitisom B
 - (samo za ženske) bile noseče, imele prekinjenonosečnost ali ste rodile?
16. Ste kadarkoli imeli:
 - virusno zlatenico, tuberkulozo, malarijo, revmatsko vročico, mononukleozo?

- bolezni srca in ožilja, ledvic, previsok ali prenizek krvni pritisk?

- težjo obliko alergije, astmo?
- kožne bolezni, izpuščaje, akne?
- psihične ali nevrološke bolezni, epilepsijo?
- nagnjenost h krvavenju, krvne bolezni?
- diabetes, bolezni ščitnice, maligno bolezen (tumor, karcinom)?
- spolno prenosljivo bolezen?

17. Ali opravljate nevarna dela: delo na višini, v globini, upravljanje z letalom, alpinizem?

- Vsa vprašanja so mi bila razložena in so mi razumljiva. Moji odgovori so iskreni.
- Obveščen sem o postopku jemanja krvi in možnih posledicah za moje zdrave ter o tem, da lahko kadarkoli prekličem privolitev za dajanje krvi.
- Seznanjen sem z informacijami na temo aidsa in drugih s krvjo prenosljivih bolezni.
- Seznanjen sem z možnostjo postavljanja dodatnih vprašaj kadarkoli.
- V primeru, če se v roku 48 ur od dajanja krvi pojavijo kakršnikoli znaki bolezni, sem zaprosen, da o tem obvestim transfuzijsko službo.
- Ne štejem se za osebo s povečanim tveganjem za s krvjo prenosljive nalezljive bolezni
- Seznanjen sem s tem, da bom obveščen v primeru reaktivnih rezultatov testiranja.

Podpis zdravnika: Podpis krvodajalca: _____

☐ ☐ Podatki o krvodajalcu, navedeni na tem listu, so zaščiteni z zakonom, pooblaščen zdravstvena ustanova pa se zavezuje, da bo z njimi ravnala v skladu z zakonom.

Priloga 3: Pravilniki, podrejeni Zakonu o preskrbi s krvjo, Ur.l.RS št.104/2006

1. Pravilnik o načinu dela Strokovnega sveta za preskrbo s krvjo, krvnimi pripravki in zdravili iz krvi
Ur.l. RS, št. 39/2002
2. Pravilnik o skladiščenju, oddaji, prevozu in odstranjevanju neuporabljene krvi in krvnih pripravkov
Ur.l. RS, št. 100/2002
3. Pravilnik o vsebini vodene dokumentacije o uporabi krvi, krvnih pripravkov in zdravil iz krvi, vključno z biotehnološkimi nadomestki za kri
Ur.l. RS, št. 70/2003, 9/2007
4. Pravilnik o pogojih za organiziranje in izvajanje krvodajalskih akcij
Ur.l. RS, št. 92/2003
5. Pravilnik o pogojih za pridobivanje lastne krvi, zbiranje posameznih vrst celic in krvne plazme
Ur.l. RS, št. 118/2003
6. Pravilnik o strokovno medicinskih pogojih za odvzem krvi
Ur.l. RS, št. 9/2007
7. Pravilnik o obveznem testiranju krvi in komponent krvi
Ur.l. RS, št. 9/2007
8. Pravilnik o zbiranju, pripravi, shranjevanju, razdeljevanju in prevozu krvi in komponent krvi
Ur.l. RS, št. 9/2007
9. Pravilnik o transfuzijskih preiskavah in postopkih ob transfuziji
Ur.l. RS, št. 9/2007
10. Pravilnik o hemovigilanci
Ur.l. RS, št. 9/2007
11. Pravilnik o standardih in tehničnih zahtevah sistema kakovosti za transfuzijsko dejavnost
Ur.l. RS, št. 9/2007
12. Pravilnik o načinu in obliki dostopa do dokumentacije
Ur.l. RS, št. 9/2007
13. Pravilnik o postopku izdaje in preklica dovoljenja za opravljanje dejavnosti preskrbe s krvjo
Ur.l. RS, št. 6/2008
14. Pravilnik o pogojih za opravljanje dejavnosti preskrbe s krvjo
Ur.l. RS, št. 6/2008
15. Pravilnik o metodologiji za določitev cene krvi in krvnih pripravkov
Ur.l. RS, št. 24/2009
16. Pravilnik o spremembah in dopolnitvah Pravilnika o strokovno medicinskih pogojih za odvzem krvi
Ur.l. RS, št. 107/2009
17. Pravilnik o spremembah in dopolnitvah Pravilnika o zbiranju, pripravi, shranjevanju, razdeljevanju in prevozu krvi in komponent krvi
Ur.l. RS, št. 58/2011

Priloga 4: Pravilniki in Zakoni na katerih temelji delo transfuzijskih enot v RH

Zakon o krvi i krvnim pripravcima

(NN 79/06),

Pravilnik o sustavu sljedljivosti krvnih pripravaka i praćenju ozbiljnih štetnih događaja i ozbiljnih štetnih reakcija

(NN 63/07),

Pravilnik o posebnim tehničkim zahtjevima za krv i krvne pripravke

(NN 80/07)

Pravilnik o osiguranju kvalitete krvi i krvnih pripravaka u zdravstvenim ustanovama

(NN 80/07)

Osnovna mreža transfuzijske djelatnosti za krv i krvne pripravke

(NN 115/07)

Pravilnik o izmjeni i dopuni Pravilnika o sustavu sljedljivosti krvnih pripravaka i praćenju ozbiljnih štetnih događaja i ozbiljnih štetnih reakcija

(NN 18/09)

Pravilnik o izmjeni i dopuni Pravilnika o osiguranju kvalitete krvi i krvnih pripravaka u zdravstvenim ustanovama

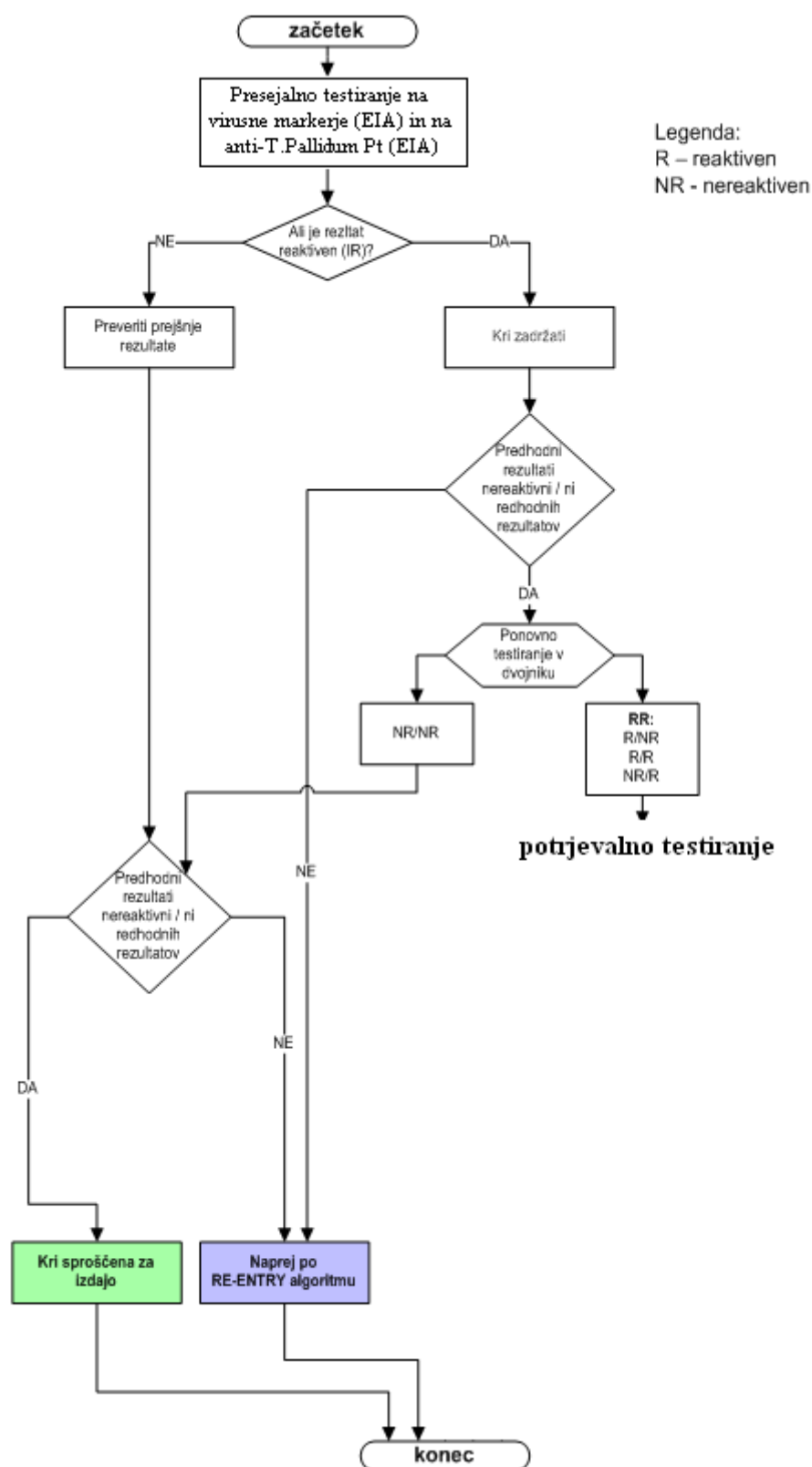
(NN 18/09)

Zakon o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti (NN br. 43/09)

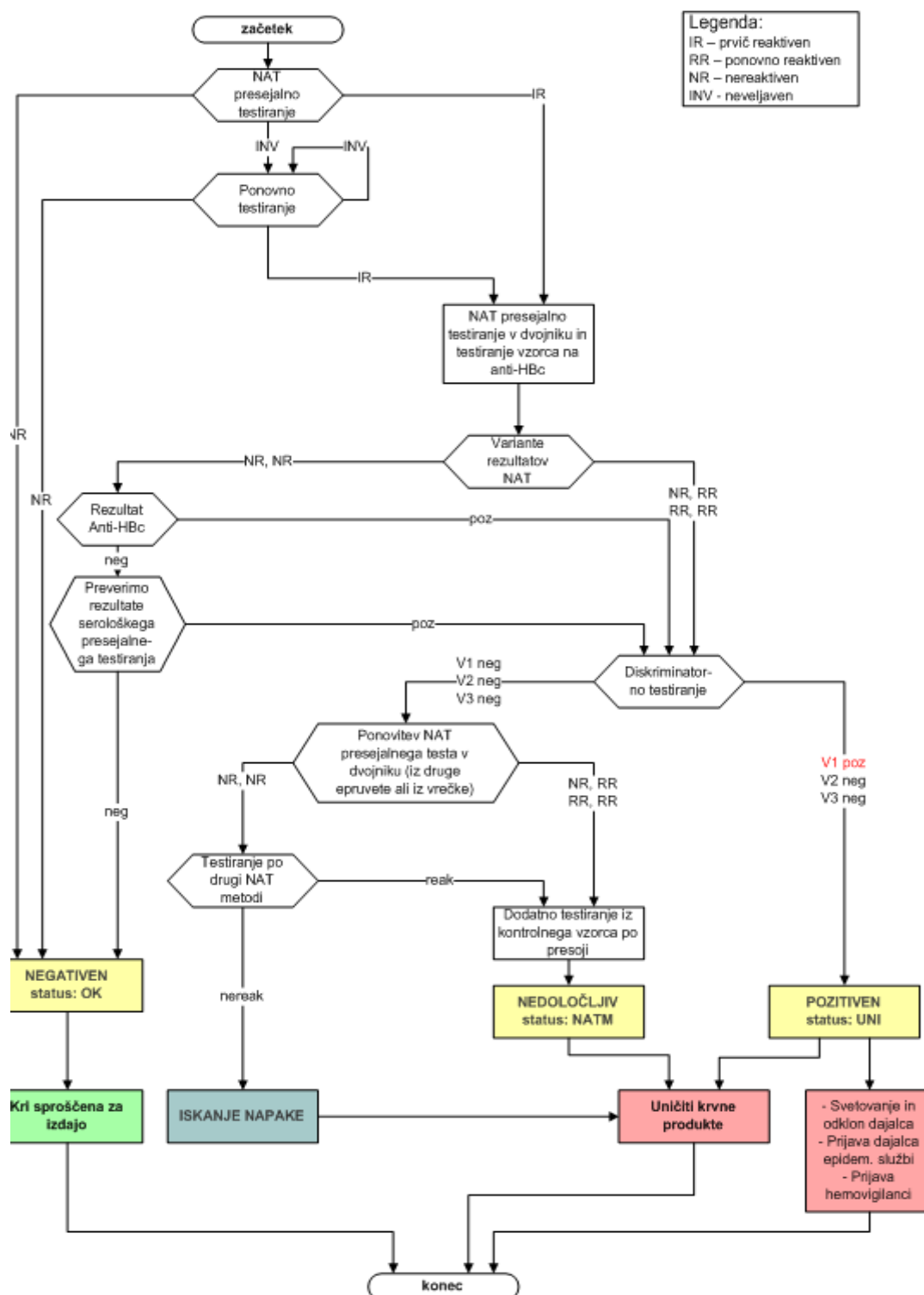
Zakon o zdravstvenoj zaštiti (15.12. 2008)

Pravilnik o dobroj proizvođačkoj praksi (NN br. 40/2005)

A) Algoritem serološkega presejalnega testiranja



B) Algoritem NAT presejalnega testiranja



Priloga 6: Algoritmi presejalnih testiranj za HBV, HCV, HIV in Treponeme pallidum v RH.

