



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Немања Боровчанин

**Социодемографски профил зависника од опијата који су у повећаном
ризику од инфекције HBV, HCV, HIV, Treponema pallidum, Cryptococcus
neoformans, Pneumocystis carini и WNV**

Докторска дисертација

Ментор: др сци. мед. Елизабета Ристановић, редовни професор

Крагујевац, 2019. године

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I Аутор</i>	
Име и презиме: Немања Боровчанин	
Датум и место рођења: 01.12.1974. године, Пожаревац	
Садашње запослење: Институт за трансфузиологију и хемобиологију, Војномедицинска академија, Београд	
<i>II Докторска дисертација</i>	
Наслов: Социодемографски профил зависника од опијата који су у повећаном ризику од инфекције HBV, HCV, HIV, Treponema pallidum, Cryptococcus neoformans, Pneumocystis carini и WNV	
Број страница: 126	
Број слика: 7	
Број библиографских података: 132	
Установа и место где је рад израђен: Клинички центар Крагујевац, Крагујевац и Војномедицинска академија, Београд	
Научна област (УДК): Медицинске науке	
Ментор: проф. др Елизабета Ристановић	
<i>III Оцена и одбрана</i>	
Датум пријаве теме: 09.02.2018. године	
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-353/16 од 17.05.2018. године	
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: 1. проф. др Бела Балинт, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије, Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина - Хематологија, председник, 2. проф. др Предраг Чановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, члан, 3. проф. др Мирјана Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Психијатрија, члан.	
Комисија за оцену и одбрану докторске/уметничке дисертације: 1. проф. др Бела Балинт, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије, Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина - Хематологија, председник, 2. проф. др Предраг Чановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, члан, 3. проф. др Иван Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан.	
Датум одбране дисертације:	

САЖЕТАК

Увод. Зависници од опијата представљају високоризичну групу због међусобних инфекција крвно-преносивим болестима, вертикалне трансмисије патогена, као и због могућности да буду потенцијални доноси крви (нарочито као плаћени даваоци).

Циљ. Циљ нашег истраживања био је одређивање социо-демографског профила 99 зависника од опијата Шумадијског округа лечених у Клиничком центру Крагујевац супституционом терапијом метадоном и бупренорфином, као и одређивање преваленце инфекција крвно-преносивим патогенима: вирус хепатитиса тип Б, вирус хепатитиса тип Ц, вирус стечене имунодефицијенције (HBV, HCV, HIV) и сифилис (*Treponema pallidum*), као и *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и вирус Западног Нила (West Nile Virus – WNV).

Метод: Испитаници су одговарали на питања из Помпиду упитника и подаци из овог упитника су коришћени за анализу основних социо-демографских карактеристика. Сви узорци су тестирани коришћењем ELISA (Enzyme – Linked ImmunoSorbent Assay)/CIA (Chemiluminescent Immuno – Assay) тестова за вирус хепатитиса тип Б, вирус хепатитиса тип Ц, вирус стечене имунодефицијенције (HBV, HCV, HIV) и сифилис (*Treponema pallidum*), као и коришћењем PCR (Polymerase Chain Reaction) за HBV, HCV, HIV, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и вирус Западног Нила (West Nile Virus – WNV).

Резултати: Највећи број испитаника је био мушког пола (81,8 %), старости 32 (19 – 57) године, 99 % је живело у граду, незапослених је било 58,6 %, са завршеном средњом школом 67,7 %, а корисника неадекватне примене игала 34,3 %. Нетестираних на HBV је 39,4 %, на HCV 36,4 %, HIV 28,3 %, а само њих 4 (4 %) је примило вакцину против HBV. Што се тиче анализа на присуство HBV инфекције, ELISA/CIA и PCR негативних је било

66, HBV ELISA/CIA и PCR позитивних је било 19, HBV ELISA/CIA-негативних / PCR-позитивних 12 и HBV ELISA/CIA-позитивних / PCR-негативних 2 испитаника. Тестирање на HCV инфекцију је показало следеће: ELISA/CIA и PCR негативних испитаника је било 15, HCV ELISA/CIA и PCR позитивних је било 58, HCV ELISA/CIA-негативних / PCR-позитивних 11, а HCV ELISA/CIA-позитивних / PCR-негативних 15. Сви испитаници су били негативни на HIV (ELISA/CIA и PCR тестирање), као и на патогене опортунистичких инфекција (*Cryptococcus neoformans*; *Pneumocystis carini*; PCR тестирање) и на присуство WNV (PCR тестирање). Један испитаник је био позитиван на сифилис (ELISA тестирање).

Закључак: Наши резултати су показали да је позитивност на присуство патогена крвно-преносивих болести HBV и HCV висока у испитиваној групи зависника од опијата и износи 33,4 % и 84,8 %. Препорука би била да они буду периодично тестирани на присуство HBV, HCV и HIV, комплементарним ELISA/CIA и PCR тестовима, обзиром на изванредан степен дискрепанце у добијеним резултатима серолошког и молекуларног тестирања.

Кључне речи: зависници од опијата, крвно-преносиви патогени, HBV, HCV, HIV

ABSTRACT

Background/Aim. Intravenous drug users (IDUs) are still a high risk-group for cross-reacting blood-borne infections, for vertical pathogen transmission, as well as for potentially blood/plasma donation (particularly as "payed" donors). The aim of our study was to establish the profile of opiate addict and prevalence of blood-borne pathogens – Hepatitis B virus (HBV), Hepatitis C virus (HCV), Human Immunodeficiency Virus (HIV), *Treponema pallidum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* and West Nile Virus – WNV among 99 patients on substitution therapy with methadone and buprenorphine from Shumadia District.

Methods. The Treatment Demand Indicator (TDI) of Pompidou-questionnaire was used to assess the history of drug abuse and risk behavior. All blood samples were tested for HBV, HCV, HIV and *Treponema pallidum* by Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) or Chemiluminescent Immuno-Assay (CIA). Investigations were also performed for HBV, HCV, HIV, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* and West Nile Virus – WNV by molecular testing – Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

Results. The majority of patients were male (81.8 %), median age 32 (19 – 57) years, lived in a city (99 %), unemployed (58.6 %), with finished secondary school (67.7 %), unsafe injecting practices (34.3 %) and never previously tested for HBV (39.4 %), HCV (36.4 %) nor HIV (28.3 %); only four percentage of them previously got HBV-vaccine. Complementary testings resulted with the following results: HBV ELISA/CIA and PCR negativity for 66 patients and positive results (by ELISA/CIA and PCR) for 19 patients. However, a difference was observed in ELISA/CIA-negative / PCR-positive result for 12 and ELISA/CIA-positive / PCR-negative for two patients, respectively. Further, negative results for HCV (ELISA/CIA and PCR testing) were found in 15 IDUs and positive results (using both methods) were found in 58 patients. Different results for ELISA/CIA-negative / PCR-positive results were found in 11 IDUs and ELISA/CIA-

positive / PCR-negative results were found in 15 patients. All investigated IDUs were negative for HIV (ELISA/CIA and PCR testing) and for pathogens of opportunistic infection (Cryptococcus neoformans; Pneumocystis carini; PCR testing), as well as for West Nile Virus (PCR testing). Just one IDU was positive for syphilis (ELISA and confirmatory testing).

Conclusion. This study undoubtedly confirmed the effectiveness and improved safety of originally designed complementary (ELISA/CIA and PCR) pathogen monitoring system. Our study demonstrated that the positivity for HBV and HCV is still very high (33.4 % and 84.8 %, respectively) in IDUs. Thus, we suggest that drug users have to be periodically screened using a complementary serological/molecular testing, also concerning differences/discrepancies in results obtained using these methods.

Key words: intravenous drug users, blood-borne pathogens, HBV, HCV, HIV

ЗАХВАЛНИЦА

Ова докторска дисертација представља резултат вишегодишњег рада и научног истраживања у трансфузиологији, психијатрији и микробиологији.

Највећу захвалност дугујем својој породици чију стручну и моралну подршку и разумевање сам имао у току докторских академских студија, као и у изради ове дисертације.

Посебну захвалност дугујем двојници бивших начелника Института за трансфузиологију и хемобиологију ВМА, пк проф. др Миролјубу Тркуљићу и проф. др Бели Балинту који су веровали у мене и омогућили ми започињање и завршетак ових студија, а такође и проф. др Небојши Арсенијевићу који је свој ентузијазам за бављење науком пренео и на нас у току извођења наставе на модулу Имунологија, инфекција и инфламација.

Велику захвалност дугујем и ментору проф. др Елизабети Ристановић која ми је давала ветар у леђа да брод докторских академских студија доведем у мирну луку.

САДРЖАЈ

САЖЕТАК	3
ABSTRACT	5
ЗАХВАЛНИЦА	7
САДРЖАЈ	8
1. УВОД	11
1.1 Дијагностички критеријуми зависности од опијата	12
1.2 Врсте и путеви уношења психоактивних супстанци.....	17
1.3 Личност зависника од опијата и ризична понашања.....	20
1.4 Третман зависности од опијата и програми смањења штете.....	25
1.5 Крвно-преносиве болести и зависност од опијата.....	27
1.6 Вирус хепатитиса тип Б и зависност од опијата	28
1.7 Вирус хепатитиса тип Ц и зависност од опијата	30
1.8 Вирус хумане имунодефицијенције и зависност од опијата	32
1.9 Трепонема pallidum и зависност од опијата.....	34
1.10 Опортунистичке инфекције и зависност од опијата.....	35
1.11 Савремени начини тестирања крвно-преносивих патогена.....	38
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ	47
2.1 Главни циљ	47

2.2	Радне хипотезе.....	48
3.	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	49
3.1	Врста студије	49
3.2	Популација која се истражује	49
3.3	Узорковање	51
3.4	Варијабле које се мере у студији	52
3.5	Снага студије и величина узорка	53
3.6	Статистичка обрада података	54
4.	РЕЗУЛТАТИ	55
4.1	Социодемографске карактеристике зависника од опијата	55
4.2	Обољевање од крвно-преносивих болести зависника од опијата	60
4.3	Поређење резултата тестирања зависника на патогене крвно-преносивих болести... 63	
5.	ДИСКУСИЈА	67
5.1	Профил зависника од опијата који је у ризику да оболи од крвно-преносиве болести 67	
5.2	Специфичности инфективности HBV/HCV код зависника од опијата	69
5.3	Специфичности HIV инфекције код зависника од опијата	71
5.4	Специфичности инфекције сифилисом код зависника од опијата.....	72
5.5	Специфичности WNV, <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Pneumocistis carini</i> инфекције код зависника од опијата.....	72
5.6	Формулисање алгоритма тестирања на крвно-преносиве болести код зависника од опијата.....	73

5.7 Важност ране детекције крвно-преносивих болести у специфичној популацији зависника од опијата.....	76
6. ЗАКЉУЧЦИ.....	78
7. ЛИТЕРАТУРА.....	79
8. ПРИЛОЗИ.....	93
Прилог 1 Помпиду упитник	93
Прилог 2 Извештај етичког одбора	98
БИОГРАФИЈА.....	99
БИБЛИОГРАФИЈА.....	100

1. УВОД

Особа која користи психоактивну супстанцу занемарује остале животне активности, развија психичку и/или физичку зависност и оштећује здравље на психичком, соматском и социјалном нивоу (1). Зависност од опијата је друштвени проблем, односно може се разматрати као социјална патологија, а такође и медицински, односно психијатријски проблем, посебно када се узму у обзир подаци о распрострањености, узроцима и последицама ове зависности и њеном доприносу сиромаштву, криминалу, распаду породица и издацима владе на локалном и националном нивоу (2). Медицини и психијатрији припада онај део зависности који има карактеристике болести, због телесних и психичких оштећења, која су последица хроничне интоксикације. Зависност или жудња за дрогама потискује и мења осећања, морал, одговорност, вредносне системе и подстиче она понашања која готово искључиво служе задовољењу жудње за психоактивном супстанцом.

Савремени протоколи лечења болести зависности садрже интегративни приступ, односно лечење и коморбидитетних соматских стања, посебно зависника који инјектирају психоактивне супстанце (3). Зависници од опијата су претежно млади људи, инциденција у популацији од 15. до 64. године старости износи 0,4 %, а у европским земљама тај однос је чак 6 до 9 зависника на 1 000 становника. Међу зависницима је и велики број особа заражених вирусом хепатитиса тип Б (Hepatitis B Virus – HBV), вирусом хепатитиса тип Ц (Hepatitis C Virus – HCV) и вирусом хумане имунодефицијенције (Human Immunodeficiency Virus – HIV) (2, 4). Зависници од опијата су стигматизовани, не само због свог понашања и психосоцијалних специфичности, већ и због значајно већег броја крвно и/или сексуално-преносивих инфекција, због могућег небезбедног коришћења игала и ризичног сексуалног понашања (5).

Програми фармаколошке супституције метадоном и бупренорфином су програми „избегавања веће штете“ и корисни су у превенцији крвно-преносивих болести (6). Третман опијатске зависности у Србији се спроводи у четири регионална центра, под супервизијом Министарства здравља републике Србије, укључујући више од 4 000 пацијената на супституционој терапији (7). Међутим, неопходна је и рана детекција и лечење придружених соматских болести, о чијој учесталости нема систематски доступних података у нашој земљи, а који су доступни у региону (8).

За популацију зависника од опијата у нашој земљи не постоје комплетни и адекватно систематизовани подаци о присуству патогена узрочника крвно-преносивих болести, као и оних који изазивају тзв. опортунистичке инфекције код особа са смањеним имунским одговором. Последично, без сазнања о профилу зависника који су у повећаном ризику да оболе од крвно-преносивих болести, није могуће ни формулисати адекватне протоколе детекције и раног третмана ових болести у датој популацији.

1.1 Дијагностички критеријуми зависности од опијата

Дијагноза зависности се може поставити према Међународној статистичкој класификацији болести и сродних здравствених проблема, 10. ревизија (МКБ-10) ако су три или више од наведених критеријума били удружено присутни неко време током претходне године:

1. јака жеља или осећање принуде да се узме супстанца;
2. отежено контролисање конзумирања супстанце у односу на почетак, трајање или степен конзумирања супстанце;

3. физиолошко стање апстиненције које се појављује приликом смањења или прекида конзумирања супстанце и које по својим карактеристикама одговара апстиненцијалном синдрому за ту супстанцу, а чији се симптоми губе или смањују приликом конзумирања исте;
4. присуство толеранције, односно пораст дозе психоактивне супстанце (ПАС) који је неопходан да би се постигли ранији жељени ефекти изазвани нижом дозом исте супстанце;
5. прогресивно занемаривање других задовољстава и интересовања због употребе ПАС и трошење све више времена на набавку, или конзумирање, или опоравак од дејства супстанце;
6. наставак узимања супстанце упркос сазнању о њеном штетном утицају на здравље.

Поремећаји због употребе супстанци (алкохол, канабис, синтетички канабиноиди, опиоиди, седативи, хипнотици или анксиолитици, кокаин, амфетамини, метамфетамини или меткатионин, кофеин, халуциногени, никотин, инхаланти, MDMA, РСР или вишеструка употреба) или зависничко (адиктивно) понашање ће у новој Међународној статистичкој класификацији болести и сродних здравствених проблема, 11. ревизија (МКБ-11) бити сврстани у групу Ментални, поремећаји понашања и развојни поремећаји (9).

Идентификација ПАС која је употребљавана обавља се на основу аутоанамнестичких података, анализе урина, крви или на основу других доказа (присуство узорака дроге у власништву пацијента, клинички знаци и симптоми или извештаји од трећих лица). Кад год је то могуће дијагноза поремећаја треба да буде класификована према најважнијој или јединој супстанци (F10 – алкохол, F11 – опијати, F12 – канабиноиди, F13 – седативи или хипнотици, F14 – кокаин, F15 – кофеин и други стимуланси, F16 – халуциногени, F17 – дуван, F18 – испарљиви растварачи, F19 – више психоактивних супстанци), изузев у

случајевима када је употреба дрога хаотична и неправилна или у којима су доприноси различитих дрога нераздвојиви (F19).

Четврта и пета цифра шифре означавају клиничко стање:

1. F1x.0 – акутна интоксикација;
2. F1x.1 – штетна употреба;
3. F1x.2 – синдром зависности;
4. F1x.3 – апстиненцијални синдром;
5. F1x.4 – апстиненцијални синдром са делиријумом;
6. F1x.5 – психотични поремећај;
7. F1x.6 – синдром амнезије;
8. F1x.7 – резидуални психотични поремећај и психотични поремећај са касним почетком;
9. F1x.8 – други ментални поремећаји и поремећаји понашања;
10. F1x.9 – неспецификован ментални поремећај и поремећај понашања.

Критеријуми за зависност од ПАС према Дијагностичком и статистичком приручнику америчког психијатријског удружења, 4. ревизија (Diagnostical and Statistical Manual, IV revision – DSM-IV) (10) су:

1. жудња за узимањем дроге, компулсивна потреба за узимањем дроге;
2. тешкоће у контроли употребе и поред свесности о штетним последицама (није у стању да прореди, одложи или одустане од узимања);
3. пораст толеранције (после извесног времена злоупотребе одређене дозе ПАС потреба да се повећа доза како би се доживео претходни ефекат супстанце), са успостављањем апстиненције толеранција опада и то сразмерно са дужином апстиненције;

4. приоритетна усмереност ка дроги (зависна особа има једину преокупацију у току дана и то је да набави и узме дрогу);
5. запостављање других активности и обавеза (социјалних, породичних и професионалних);
6. апстиненцијални синдром (скуп психичких и физичких симптома који се јављају након нагле обуставе или знатног смањења количине супстанце која се узима).

Поремећаји употребе супстанци у 5. ревизији (DSM-5) комбинују категорије злоупотребе и зависности од дрога из DSM-IV у један поремећај (видети у Табели број 1), који може бити различит, од благог до тешког. Свака специфична супстанца, осим кофеина, разматрана је у контексту посебног поремећаја (поремећај употребе алкохола, поремећај употребе стимуланаса, итд.), али су сви дијагностиковани истим критеријумима за претерану употребу и злоупотребу.

У овим поремећајима се не комбинују само критеријуми, већ разматра и њихова јачина. Док је за дијагнозу злоупотребе супстанце претходно био потребан само један симптом, благ поремећај супстанце, DSM-5 захтева два до три симптома из листе од 11. Жудња за супстанцом је додата на листу, док су проблеми са законом елиминисани због културолошких аспеката који онемогућавају да критеријуми имају интернационалну примену. У DSM-IV је разлика између употребе и зависности заснована на концепту злоупотребе као блага или рана фаза, а зависност као много озбиљнија манифестација.

Већина људи изједначава потребу за дрогом, која може бити само очекиван одговор организма на употребу супстанце, са синдромом зависности. Ревизија концепта поремећаја употребе супстанци, као јединствене дијагнозе, више одговара симптомима које пацијенти осећају.

Табела број 1.

DSM-IV и DSM-5 критеријуми за поремећај употребе супстанци

	DSM-IV злоупотреба ^a		DSM-IV зависност ^b		DSM-5 поремећај употребе супстанци ^b
штетна употреба	X	} ≥ 1 критеријум	-	} ≥ 3 критеријума	X
социјални/ међуљудски проблеми повезани са употребом	X		-		X
занемаривање главних улога због употребе	X		-		X
законски проблеми	X		-		-
апстиненција ^г	-		X		X
Толеранција	-		X		X
коришћење великих количина/ дуготрајно понављани покушаји прекидања/ контрола употребе	-		X		X
много времена за коришћење супстанце	-		X		X
физички/ психолошки проблеми повезани са употребом	-		X		X
активности занемарене због употребе	-		X		X
Жудња	-		-		X

^a Један или више критеријума злоупотребе у периоду од 12 месеци и без дијагнозе зависности, применљиво на све супстанце осим никотина, за који критеријуми злоупотребе у DSM-IV нису дати.

^b Три или више критеријума зависности у периоду од 12 месеци.

^b Два или више критеријума поремећаја употребе супстанци у периоду од 12 месеци.

^г Апстиненција није укључена за канабис, инхаланте и халуциогене поремећаје у DSM-IV. Апстиненција од канабиса укључена у DSM-5.

1.2 Врсте и путеви уношења психоактивних супстанци

Психоактивна супстанца је она супстанца која при уношењу у организам мења стање свести, опажања, расположења, условљава когнитивне промене и доводи до измена у понашању особе која је корисник такве супстанце (11). Према основним карактеристикама деловања у почетној фази направљена је подела на:

1. супстанце са седативним и у фармаколошком смислу депресивним дејством (барбитурати, опијати, етил алкохол, бензодиазепини);
2. супстанце са стимулативним деловањем (амфетамин, кокаин, фенциклидин);
3. психотомиметике (халуциногени, канабиноиди).

Начин на који се психоактивне супстанце уносе и проносе кроз тело и крвоток, како би стигле до мозга, различит је и утиче на брзину, интензитет и дужину њиховог деловања (12). Дроге се могу удисати или пушити, са тада најбржим транспортом дроге у мозак. Пушењем се најчешће уносе канабиноиди (марихуана, хашиш), код нас нешто ређе хероин, кокаин и амфетамин. Некада је тако уношен и опијум. Удисањем се уносе лепкови и испарљиви растварачи, али и хероин. Овај пут уношења има телесне последице у смислу локалног надраживања и оштећења плућа и бронхија, са последичним сувим кашљем, хроничним бронхитисом, па и значајнијим оштећењима плућног ткива.

Дрога се може унети и ушмркавањем, апсорбовати у системски крвоток путем слузокожа носа, усне дупље и грла, које су добро снабдевене крвним судовима. Хероин, ређе амфетамин и кокаин, могу се у виду праха узимати ушмркавањем кроз нос, са релативно брзом апсорпцијом и дејством, али споријем него пушењем или интравенском употребом, уз специфича оштећења носне слузокоже и стварање апсцеса носне преграде и сталним инфекцијама носне слузокоже.

Дроге се могу уносити и интравенски, путем „игле“, као инјекциони раствор путем шприца и игле, убодом у вену. На овај начин се најчешће уноси хероин, а код нас ређе кокаин или амфетамини. Директним уношењем у системску циркулацију дрога кроз срце и плућа за неколико минута доспева у мозак, па су ефекти брзи и интензивни. Опасност се огледа у оствареним централним ефектима инјектиране супстанце (озбиљна оштећења мозга, деловање на виталне центре, могуће са смртним исходом), а уколико игла и шприц нису стерилни могуће су бактеријске или вирусне инфекције, а заједничко коришћење игле више особа повећава могућност инфекције (HBV, HCV и HIV).

Дроге се могу уносити и оралним путем, гутањем, када се супстанца апсорбује преко слузокоже желуца и црева, пре свега када је у питању алкохол, али и све врсте таблета, укључујући и амфетамин, екстази, диетиламид лизергичке киселине (Lysergic acid diethylamide – LSD), различите облике бензодиазепина... Могуће је и сублингвално или уношење путем ректалне или вагиналне слузокоже.

Према резултатима Националног истраживања о стиливима живота становништва Републике Србије 2014. године, коришћење психоактивних супстанци и игара на срећу, употреба илегалних дрога, бар једном у току живота, забележена је код 8,0 % од укупне популације, старости од 18. до 64. године (10,8 % мушкараца и 5,2 % жена), са већом заступљеношћу (12,8 %) код млађе одрасле популације од 18. до 34. године старости. Најчешће коришћена илегална дрога међу одраслом популацијом је канабис (марихуана и хашиш), чија је употреба, бар једном у току живота, забележена код 7,7% испитаника узраста од 18. до 64. године (10,4 % мушкараца и 4,9 % жена). Употреба других илегалних дрога је врло ретка, 1,6 % испитаника (2,5 % популације узраста од 18. до 34. године) користило је друге илегалне дроге. Лекове из групе седатива и хипнотика у претходних годину дана користило је 22,4 % испитаника (13,9 % мушкараца и 30,9 % жена) (13).

Према истраживању спроведеном 2011. године међу ученицима старости 16 година (14), укупно 8,0 % ученика је барем једном у животу пробало неку од илегалних дрога, а 7,0 % је барем једном у животу пробало марихуану. У поређењу са истраживањем из 2008. године, није било значајних промена у учесталости употребе дрога. Резултати оба истраживања, показују већу учесталост употребе дрога међу младићима у поређењу са девојкама за све дроге, осим за седативе без препоруке лекара. Млади који користе илегалне дроге најчешће пробају више врста. Скоро половина ученика који су користили марихуану, користили су и неку другу легалну или илегалну супстанцу, најчешће седативе без препоруке лекара и алкохол. У поређењу са ученицима из више од 30 европских земаља које су учествовале у истраживању 2011. године, шеснаестогодишњаци су у мањем проценту користили марихуану и друге илегалне дроге, док су седативе без лекарског рецепта користили у већем проценту у односу на просечну вредност из свих земаља (14).

Национална канцеларија за HIV/AIDS при Институту за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут” је 2008. и 2011. године координисала истраживање везано за процену Интравенских Корисника Дроге (ИКД), применом методе множиоца, када се процена врши применом пропорције добијене на основу неког претходног истраживања. Према резултатима спроведене процене за 2009. годину било је 30 383 ИКД који су старости између 15 и 59 година, уз могући опсег од 12 682 до 48 083 ИКД. Процењени број корисника који дрогу инјектирају, на основу ових података, износи 0,7% становника старости између 15 и 59 година (14).

1.3 Личност зависника од опијата и ризична понашања

У сложеном одабиру адолесцената између различитих идентификација, вредносних одређења, социјалних улога и избора, чести су и разноврсни облици ризичних понашања: коришћење различитих психоактивних супстанци, промискуитетне сексуалне активности, туче, неопрезна вожња колима и слично (15). Јеротић (16) указује да пробање неке ПАС није одлучујуће за дефинитивно усмерење у смеру зависности. Постоје извесне опште, али не и специфичне преморбидне карактеристике, које указују на могућу угроженост дрогама: делом у наследним особинама, у нездравој породичној атмосфери, која има деструктивно дејство на развој детета у раном детињству, али и у општим, нездравим и кризним односима у друштву. Мотиви који одлучују зашто млад човек у првом контакту са дрогом постаје и остаје за њу чврсто везан јесу постизање задовољства и жеље да се у групном контакту оствари индивидуални доживљај, да се ојачају стваралачке способности, савладају личне и интрапсихичке тешкоће. Уживаоци дрога су уверени да им она помаже да савладају осећања одвојености од другог човека, ублажавању осећања отуђености и ствара се илузија о фузији са другим човеком. Међу овим младим људима је доста оних примарно слабе воље, пасивних и абуличних, који немају адекватан начин да се одупру негативним утицајима и попуштају унутрашњим нарцистичким потребама и прибегавају коришћењу ПАС као најлакшем путу за бег из реалности. Испољавају садистичке или мазохистичке црте, агресивни су и нетолерантни, слабо или никако прилагодљиви. У контактима са особама супротног пола показују неспособност везивања за партнере, нестрпљиви су и несигурни, лако кидају везу на најмањи повод. Овакви млади људи су емоционално незрели, непотпуне психосексуалне организације, угрожени су регресивним појавама као што су непотпуни, незадовољавајући или перверзни сексуални односи.

Јасно је да није могуће дефинисати одређени тип личности који значајно партиципира у настанку зависности и обликовати крајње редукционистички модел, већ пре разматрати индивидуалне психолошке структуре у одређеним околностима које су опредељујући фактор неког бихејвиоралног чина (17). Преморбидна структура може одговарати нарцистичком, антисоцијалном, граничном (емоционално нестабилном) или пасивно-зависном поремећају личности, где су нарцистичке црте и примарно хедонистичка оријентација често опредељујуће за формирање хероинског типа зависности, док су оралне црте, базична инфериорност и тежња ка симбиотичкој егзистенцији више карактеристика кокаинских зависника. У популацији зависника се срећу и особе са антисоцијалним поремећајем личности, слабошћу воље, немогућношћу толеранције фрустрације, које не прихватају друштвене норме и правила понашања.

Сама природа злоупотребе дрога, генерише понашање које је на својеврстан начин „супротстављено“ са одређеним правним нормама, како у области кривичног, тако и у области грађанског права. Посебан значај имају карактеристике структуре и динамике личности (18), али и различити социјални, нарочито породични фактори, што све, уз карактеристике ових менталних поремећаја, може бити узрок понашања са друштвено негативним последицама, како за појединца, његово ближе окружење, тако и за друштво у целини. Уколико се ради о извршиоцу кривичног дела који ретко или спорадично узима наркотику и да је дело извршио у стању неурачунљивости или битно смањене урачунљивости, право ће применити одредбе наведене у чл. 24. Кривичног законика Србије, одређене као скривљена неурачунљивост (скривљена битно смањена урачунљивост). Наиме, примениће се правни принцип *actiones liberae in causa*, који кривицу делинквента сагледава не у време када је услед употребе наркотика наступила неурачунљивост (битно смањена урачунљивост), већ у време пре него што је почео да се доводи у наведено стање. Другим речима, сагледава се да није било патолошких елемента

који су утицали на почетак примене наркотика (примена је резултат слободне воље и жеље да се оствари очекивано дејство дроге) и да је будући преступник могао да зна или је знао да применом наркотика може настати таква измена понашања која може имати и карактер кривичног дела. Самим тим, и поред постојања стања неурачунљивости постојаће кривица за извршено кривично дело, односно стање битно смањене урачунљивости неће бити основ за блаже кажњавање (19). Када се добију подаци да је преступник био под утицајем наркотика у време извршења дела, та околност се веома ретко проверава применом доста позуданих лабораторијских тестова, иако због кратког интервала то може лако доказати. Зависност од наркотика, као душевно обољење спада у биолошке основе умањења или искључења урачунљивости. Наравно, интензитет психичких измена зависиће од бројних фактора, а пре свега од наркотика који је довео до болести зависности, дужине трајања болести, начина узимања дроге, ранијих искустава са доживљавањем апстиненцијалног синдрома. Према психичком стању у коме се зависник може наћи у време извршења кривичног дела углавном се срећу следеће ситуације: да је зависник био у фази акутне интоксикације у време извршења дела, да се налазио у стању постојања апстиненцијалног синдрома („кризе“), са испољеним феноменима физичке и/или психичке зависности, ситуација да се зависник налази у тзв. продуженом апстиненцијалном синдрому, тј. да је дело извршено у периоду када је зависник прекинуо узимање наркотика пре неколико недеља или месеци, али се благи феномени зависности и даље одржавају (20). Уколико је дело извршено када се зависник налазио у апстиненцијалном синдрому, посебно када је у питању „криза“ настала прекидом узимања тзв. „великих дрога“ (хероин, кокаин, екстази и др.) због постојања изражених феномена и физичке и психичке зависности, моћ расуђивања, а посебно одлучивања могу бити веома значајно умањене, па чак и искључене. Наиме, жеља да се избегну веома мучна телесна и психичка доживљавања неузимањем

наркотика, као и жудња (са снагом присиле за зависника) да се наркотик поново узме, воде у деликте најчешће имовинско-правног карактера, преваре, фалсификате, односно облике понашања који ће омогућити зависнику да обезбеди начин и средства да наркотик поново набави и узме. Значајно је нарушена способност управљања својим поступцима, јер жудња и непријатна доживљавања усмеравају понашање зависника у наведеним правцима и само је то у центру њихове свести (наћи начин да се дрога набави и поново узме). Самим тим, пошто је једна од психолошких компоненти урачунљивости тако умањена, правник ће наведени налаз вештака ценити као да постоји битно смањена урачунљивост или неурачунљивост *tempore delicti* (21).

Када је у питању зависност од наркотика у грађанско-правном смислу може се поставити више питања: оцена пословне способности зависника у поступку за лишење исте, оцена учињених правних послова, процена у поступцима за развод брака и поверу деце, као и процене у домену радно-правних односа. Особу која је зависник од дрога, за знацима физичке и психичке зависности треба потпуно или делимично лишити пословне способности, јер психичке измене до којих болест доводи их чини у време болести умањено способним или неспособним да се адекватно и самостално брину о себи, својим правима и интересима, а и својим поступцима могу нанети штету себи и блиском окружењу. То, наравно, не значи да се ради о трајном статусу тих особа, јер уколико је болест излечена, успостављена апстиненција у дужем периоду, и нема неких трајних психијатријских оштећења, пословна способност се може делимично или потпуно вратити. Правне радње (отуђење дела имовине, имовинско-правни уговори и сл.) учињене у апстиненцијалном синдрому су код тежих облика ових стања учињене у циљу болесне потребе да се дође до начина да се наркотик поново набави и користи, те су у односу на те правне послове ове особе неспособне за расуђивање и одлучивање, што би у правном

смислу водило поништају ових правних послова. У случају лакших облика овог синдрома, углавном код постојања само психичке зависности, процена пословне способности је индивидуална, а параметри процене биће личност и њене карактеристике, врста наркотика који се користи, дневна доза, начин узимања и др. Уколико зависност прате и психотични поремећаји тада ће, због поремећаја теста реалитета, способности расуђивања и одлучивања, у принципу, бити искључене или веома значајно смањене. Зависност од дрога, у принципу, чини те особе неподобним да им се повери дете, све док ово стање постоји и док се не утврди квалитетно и трајно излечење и рехабилитација и ресоцијализација. Ако је правац тока лечења и еволуције болести такав, када се добро стање успостави, могу се ове личности и одредити као оне којима се поверава дете, што ће зависити од саме конкретне ситуације и других, посебно социо-економских околности. У домену радно-правних односа (оцена преостале радне способности, откази услед повреде радне дисциплине или радне обавезе), постојање зависности од дрога, као болести, може умањивати радне способности или утицати на мишљење да зависник није био способан за расуђивање у односу на повреду радне обавезе или радне дисциплине. И овде је неопходна индивидуална процена, према степену изражености болести, оштећењу психичких процеса, а евентуалне психотичне компликације или органска оштећења мозга и измена психичких процеса услед тога повећавају могућност за психијатријску процену да је изостала способност расуђивања и одлучивања у тим периодима (21).

1.4 Третман зависности од опијата и програми смањења штете

У третману зависности од опијата се примењује терапија антагонистима, терапија агонистима и агонистичко-антагонистичка терапија. Супституциона терапија је терапија агонистима. Супституционим лечењем се код зависника од опијата смањује излагање ризичном понашању и стабилизује функционисање у здравственом и друштвеном смислу, посебно код зависника којима је тешко да прекину са коришћењем опијата и одвикну се у потпуности, па се одлаже појава апстиненцијалне кризе. Замена нелегалне дроге легално прописаним леком доприноси унапређењу начина живота и смањењу криминалних дела. Морталитет је три пута нижи него међу зависницима који нису на третману, остварује се смањење ризичног понашања везаног за инјектирајуће узимање опијата и ризичног понашања везаног за трансмисивне болести. Зависници на терапији метадоном показују побољшање у физичком и менталном здрављу, могућностима за запошљавање због постојања довољно слободног времена које више не троше на набављање дроге, квалитету живота, социјалном функционисању, исходу трудноће, опстетричких и феталних компликација код гравидних жена које су опијатски зависници (2).

Још није до краја научно потврђено које је зависнике оправдано лечити метадоном, а које бупренорфином. Метадонска терапија и терапија бупренорфином су препоручене од Светске здравствене организације као основни модели лечења опијатских зависника, а за процену успешности неког програма метадон се узима као „златни стандард”. Супституциона терапија и посебно терапија одржавања метадоном у комбинацији са релевантним социјалним, здравственим и психолошким услугама има највеће шансе да буде најделотворнија од свих расположивих терапија за вишегодишње опијатске зависнике (2).

Метадон припада групи лекова који се употребљавају у болестима зависности. Користи се за лечење зависности од опијата (супресија наркотичког апстиненцијалног

синдрома) (22). Метадон је пример опијатског агонисте, који је по свом хемијском саставу 6-диметиламино-4,4-дифенил-3-хептан. Активни састојак метадона је метадон- хидрохлорид, добро се ресорбује из гастроинтестиналног тракта, полуживот елиминације је 24 до 36 сати и главно место биотрансформације је јетра. Овакав фармаколошки профил дозвољава оралну примену, једнократно дозирање и стабилну концентрацију ПАС у плазми. Нежељени ефекти употребе метадона су у неуровегетативном и психолошком подручју: повећано знојење, констипација, поремећај сна, сексуалног нагона и концентрације, код приближно 20 % корисника метадона.

Други лек који се прописује у третману зависности од опијата је бупренорфин. Бупренорфин се користи као терапија замене код зависности од опиоида, у склопу медицинског, социјалног и психолошког третмана. По свом механизму деловања, он је парцијални агониста μ рецептора и антагониста κ рецептора, са слабијим еуфоричним и седативним ефектима од чистих опиоидних агониста, као што су хероин, морфин и метадон. Сублингвалне таблете садрже активну супстанцу бупренорфин хидрохлорид (23). Бупренорфин смањује потребу за хероином и спречава или ублажује кризу и жудњу. Он је липосолубилан, када се узима перорално метаболише се у танком цреву и јетри, споре је кинетичке дисоцијације у централном нервном систему. Бупренорфин може да се користи једнократно као лек у ургентним стањима акутног опијатског апстиненцијског синдрома и у стратегији превенције хероинског рецидива. Уобичајене нежељене реакције у вези са употребом бупренорфина су сличне другим опиоидима, ефекти на централном нервном систему се виде ређе него код морфина. После интравенске ињекције згњечених таблета бупренорфина опсервиране су хепатичка некроза и хепатитис са жутицом.

На основу Стратегије за борбу против дрога у Републици Србији, у Србији су именована четири центра, у Београду, Новом Саду, Нишу и Крагујевцу, ради обављања послова здравствене заштите, примене, праћења и унапређења јединствене доктрине и

методологије у превенцији, дијагностици и лечењу и рехабилитацији болести зависности (24). Једна од улога ових центара је да спроводи и контролише примену супституционе терапије на територији коју збрињавају.

Стручни тимови обавезују зависника да, у складу са терапијским уговором, спроводи препоручени терапијски поступак који укључује и мере превенције и раног откривања HIV инфекције, вирусом хепатитиса и др., што укључује саветовање и тестирање на наведене вирусе (по могућству у центрима за добровољно и поверљиво саветовање и тестирање на HIV и полно преносиве инфекције. Поред овога зависнику се препоручују и лабораторијске анализе: крвна слика, седиментација, ниво гликемије, уреа, хепатограм, налази на HIV и хепатитис (2).

1.5 Крвно-преносиве болести и зависност од опијата

Проблем крвно-преносивих болести потребно је разматрати у односу на заступљеност инфективног агенса у општој популацији и у ризичним субпопулацијама каква је ова зависника од опијата, као и од постојања или одсуства имунитета према тој инфекцији. Поред адекватног лечења, изналажење и спровођење мера за спречавање инфекције, рана детекција узрочника крвно-преносиве болести представља један од најзначајнијих задатака служби за лечење болести зависности (24). Заједничке карактеристике крвно-преносивих агенаса су: релативно дуго присуство у циркулацији (уз постојање стања хроничног клицоноштва или латентности инфекције), релативно дуг инкубациони период који претходи обољењима која изазивају и могућност узроковања асимптоматске инфекције (25).

Осим ИКД потенцијално високо ризичне и вулнерабилне популације су имигранти, затвореници, проститутке, особе хомосексуалне оријентације, HIV инфициране особе,

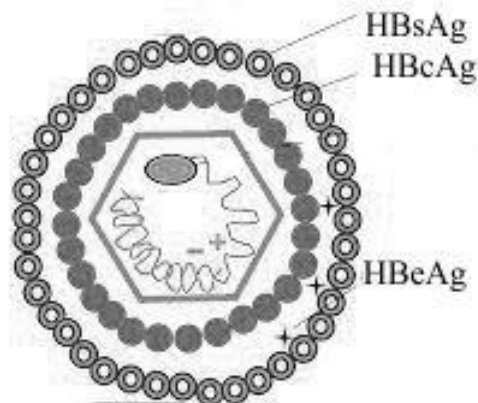
корисници психоактивних супстанци који их не узимају интравенски (26). Познато је да употреба дрога повећава ризик од крвно-преносивих болести, нарочито оних које се преносе сексуалним путем. Чак до 60 % интравенских зависника пријављује да је боловало од сексуално преносивих болести (27), а висок проценат је забележен и код оних који дрогу уносе на други начин као што је то случај код крека и кокаина (28).

Корисници дрога су примарна група за превенцију крвно-преносивих болести, а због високо-ризичног сексуалног понашања, укључујући и сексуалне услуге за новац да би набавили дрогу. Такође, зависници од дроге могу имати сексуалне партнере који не користе дрогу и они су мост преко кога се преносе инфекције у популацију која не користи дрогу (29, 30). Нелечене сексуално преносиве болести могу изазвати неплодност, даљу прогресију болести и смрт (31, 32).

1.6 Вирус хепатитиса тип Б и зависност од опијата

HBV је описан 1963. године и то је прва идентификација неког од вируса хуманих хепатитиса (33). Он је називан “аустралијским антигеном“, јер се јављао код аустралијских Аборигина и болесника са леукемијом, а нађена је висока преваленца HBV и код мултитрансфундованих болесника. Припада фамилији *Hepadnaviridae*, а састоји се од дезоксирибонуклеинске киселине (DNK), око које је липидни омотач. За детекцију HBV су значајна његова три антигена односно коресподентна антитела; површински, језгра и омотача (Hepatitis B surface Antigen – HBsAg, Hepatitis B core Antigen – HBcAg, Hepatitis B envelope Antigen – HBeAg) (Фигура број 1). Серолошко детектовање вируса изазивача хепатитиса типа Б, односно његовог површинског антигена (HBsAg) откривено је 1969. године, а уведено у трансфузиолошку праксу 1971. године (34).

Грађа вируса хепатитиса типа Б



Инфекција HBV је веома честа, чак преко 300 милиона људи (око 5% светске популације) носи у себи овај вирус (35). Преваленца је од 8 – 15 % (далеки Исток, средњи Исток, Африка и делови Јужне Америке), до мање од 2 % (САД, Канада, северна Европа и делови Јужне Америке) (36). Годишње се пријави око 4 милиона случајева акутног хепатитиса типа Б. Милион људи умире годишње од последица хроничног HBV и његових компликација (цироза и хепатоцелуларни хепатитис) (37). Када је у питању преваленца HBV у Србији она се креће од 0,007 % по подацима Института за јавно здравље „Милан Јовановић – Батут“, за период од 2005. до 2012. године (38) до 0,2 %, за период од 2005. до 2013. године, када су у питању добровољни даваоци крви у Институту за трансфузиологију и хемобиологију Војномедицинске академије (39).

HBV се примарно преносио путем крви. Сексуални контакт и коришћење заједничких игала код интравенских наркомана је данас најважнији пут преноса инфекције, пошто је скрининг сваког даваоца крви на HBsAg данас обавезан у већини земаља. Перзистентна виремија која се јавља код хроничних клицоноша представља перманентну могућност за инфекцију других. Око 5 – 10 % акутних инфекција прелази у хронично клицоноштво (34).

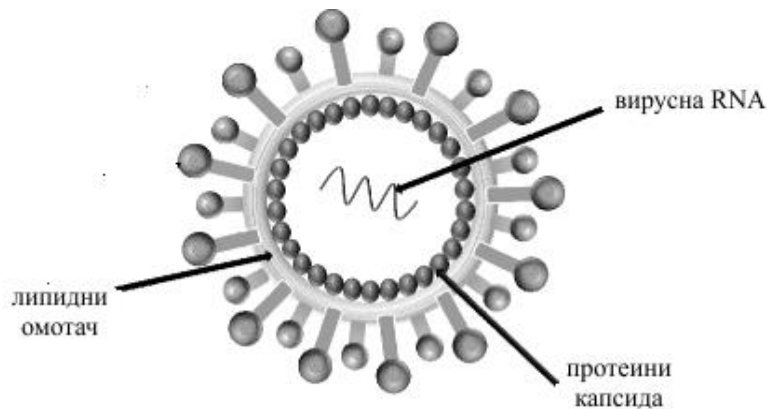
Широм планете постоје разлике у инциденци и преваленци HBV код интравенских зависника, што због различите прокужености овим вирусом, што због различитих метода

тестирања зависника (40). Глобална преваленца HBV инфекције међу интравенским зависницима је 14,6 %, што износи 2,3 милиона зависника који су инфицирани поменути вирусом (41).

1.7 Вирус хепатитиса тип Ц и зависност од опијата

После открића хепатитис А вируса (Hepatitis A Virus – HAV) и HBV и тестова за њихово откривање, преостао је велики број болесника са клиничким хепатитисом који није био изазван њима, те се стога називао нон-А, нон-Б хепатитисом (non-A, non-B – NANB). Било је познато да је овај хепатитис здружен са интравенским зависницима, терапијом са дериватима пуловане плазме и са трансфузијама. После клонирања генома 1989. године, вирус NANB хепатитиса је назван вирус хепатитиса тип Ц (Hepatitis C Virus – HCV) (42). Специфичан тест за HCV није био доступан до 1990. године, када су уведени анти-HCV тестови прве генерације, који су садржали клонирани HCV антиген.

Грађа вируса хепатитиса типа Ц



Годишње се 2 милиона људи зарази овим вирусом. Преваленца варира од 2 % у Северној Америци, Европи и Аустралији, до 5% у Африци (43). Он је RNК (рибонуклеинска киселина) вирус са липидним омотачем (Фигура број 2) и припада фамилији *Flaviviridae*. HCV се преодоминантно преноси путем крви. Интравенски наркомани су под највећим ризиком. Пре увођења анти-HCV тестова и примаоци трансфузија су били под великим ризиком. Вирус се мање ефикасно преноси и сексуалним контактом, као и са мајке на дете (34).

HCV је генетски хетероген вирус и може се поделити на 6 главних генотипова. Анти-HCV антитела су присутна код око 70% болесника, у тренутку испољавања симптома, а код свих болесника 6 месеци после експозиције (44). Фулминантни хепатитис се ретко јавља код акутне HCV инфекције.

У Србији која географски припада Југоисточној Европи, ситуација је слична као и у другим земљама у региону – епидемиолошке карактеристике HCV нису поуздано испитане јер не постоји континуирано и детаљно праћење болести. Ипак, постоји неколико

лимитираних студија везаних за социо-економску позадину ове болести у Србији. На основу ових студија преваленца HCV у Србији је већа од 1 % (процењена преваленца у општој популацији је 1,13%) (45), док је у Европи око 1,5 % (46).

Преваленца HCV код ИКД је од 60 % до 80 % што је у директној корелацији са временским периодом злоупотребе дроге. Код ове групе се HCV инфекција преноси 10 пута брже него HIV инфекција (47, 48) и у највећој мери одређује дисперзију HCV инфекције по Европи (49).

1.8 Вирус хумане имунодефицијенције и зависност од опијата

HIV је откривен средином осамдесетих година XX века, готово истовремено од стране две групе научника: Монтање и сарадници у Француској и Гало и сарадници у Сједињеним америчким државама. HIV се убраја у групу *Lentiviridae* (50) (Фигура број 3).

Инфицирани појединци развијају после 2–3 недеље од инфекције, синдром сличан грипу, са увећаним лимфним жлездама, затим стварају антитела на овај вирус и остају асимптоматски некада и годинама, чак и деценијама. Током овог асимптоматског периода вирус се активно умножава у лимфном ткиву и узрокује драматично смањење броја CD4⁺ лимфоцита, тако да инфициране особе постају неопорне на опортунистичке инфекције. Када се оне појаве то је знак да се код болесника развија синдром стечене имунодефицијенције (Acquired Immune Deficiency Syndrome – AIDS). У развијеним земљама комбинованом антивирусном терапијом продужава се животни век ових болесника, док они који одбију такав третман умиру унутар годину дана, када наступи овај стадијум инфекције (50).

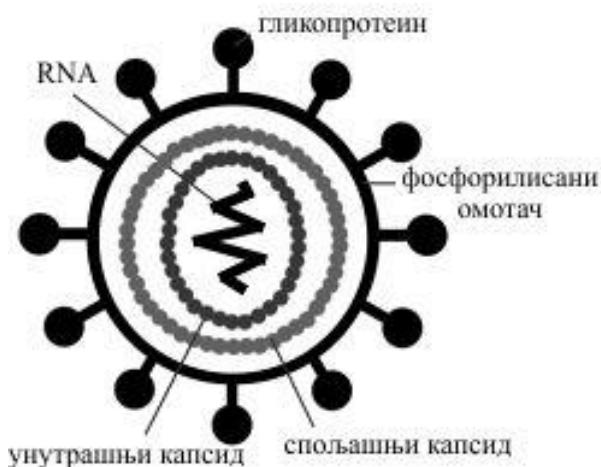
Постоје два типа вируса хумане имунодефицијенције: HIV–1 и HIV–2. HIV–1 садржи два подтипа: главни (main – M) и споредни (outlier – O). M подтип се испољава у 11

варијанти (од А до К). Варијанта Б је најчешћа у Европи и Америци. Подтип О је првобитно пронађен у Камеруну и предпоставља се да је око 1–2 % HIV позитивних западних Африканаца заражено овим вирусом (51–53).

HIV–2 је откривен 1985. године, у земљама западне Африке и његово присуство је неубичајено ван ове регије. Постоји значајан степен хомологије између ова два вируса, са сличном клиничком сликом, мада болест изазвана HIV–2 обично има блажи облик. У САД, само су 2 даваоца била позитивна на HIV–2, а чак 4 000 на HIV–1 од 50 милиона донација (54–56).

Фигура број 3

Грађа вируса хумане имунодефицијенције



HIV је изолован у крви, семеној течности, секрету материце, церебро–спиналној течности, сузама, пљувачки, урину и мајчином млеку. Трансфузијом је инфицирано око 4 % HIV позитивних у Уједињеном Краљевству и САД, а око 2–5 % у целом свету (57). Серопозитивне јединице инфицирају примаоце у 90 % случајева, а 10 % неинфицираних се објашњава екстремно ниском концентрацијом вируса у донираној крви, дуготрајним

стајањем компоненте крви пре трансфузије и у ретким случајевима мутацијом гена за HIV рецептор ког примаоца. Такође су добро документоване и секундарне трансмисије вируса од прималаца ка сексуалним партнерима и фетусу и новорођенчеду (58, 59).

У Италији HIV преваленца је 14,4 % међу ИКД и 1,6 % међу осталим зависницима, у Литванији је тај број 9 %, док у Мађарској нико од интравенских зависника није HIV инфициран (4, 5), док је у Црној Гори HIV преваленца 1,1 % међу интравенским зависницима (8).

1.9 *Treponema pallidum* и зависност од опијата

Treponema pallidum је узročник сифилиса (луеса). Сифилис се обично преноси сексуалним контактом са оболелом особом. Такође се може пренети и конгенитално са мајке на дете. Трансмисија трансфузијом се дешава изузетно ретко, најчешће када се крв/продукти од крви не тестирају на сифилис у неразвијеним земљама, мада се тестирање такође не изводи у појединим високо развијеним земљама (скандинавске земље). Инкубациони период је око 3 недеље (9 до 90 дана).

Први случај трансфузијом пренетог сифилиса је запележен 1915. године, али је до 1941. године публиковано 138 случајева (60). Фактори ризика за пренос сифилиса су промискуитетно понашање, а нарочито мушки хомосексуални односи. У Уједињеном Краљевству годинама није пријављен ниједан случај сифилиса пренетог трансфузијом. У САД тврде да нису имали ниједан случај у последњих 30 година. У 1999. години је пријављено 11,76 милиона нових случајева обољевања од сифилиса у свету (61).

У 32 студије са 13 848 интравенска корисника дроге, углавном из Југоисточне Азије, са малим бројем из Латинске Америке, Источне Европе, Централне и Источне Азије,

Северне Африке и Средњег Истока, али без испитаника из Субсахарске Африке утврђена је средња преваленца од 11,1 % за сифилис. Средња преваленца за мушки род је била 4 %, а за жене 19,9 % (62). У Русији је преваленца сифилиса била 8 % у Москви, 20 % у Волгограду и 6 % у Барнаулу, међу ИКД (63).

1.10 Опортунистичке инфекције и зависност од опијата

Опортунистичке инфекције (*Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini*, West Nile Virus – WNV) се јављају код особа које су имунокомпромитоване. То значи да су интравенски зависници који су HIV носиоци у повећаном ризику од обољевања од њих, а такође постоје и подаци који указују да коришћење одређених ПАС слаби способност имунског одговора на неки од горе наведених опортунистичких патогена (64).

Cryptococcus neoformans

Cryptococcus neoformans је опортунистичка патогена гљивица која изазива озбиљне инфекције, најчешће на централном нервном систему. *C. neoformans* се налази у окружењу и улази у организам удисањем. *C. neoformans* улази у организам сисара домаћина преко плућа, уз специфичне механизме преживљавања пулмоналног имунског одговора. Иако су плућа често место где се патоген први пут заустави, код неких особа овај пут се наставља до мозга. *C. neoformans* испољава разнолик сет заштитних својстава која су повезана са снажним неуротропизмом и способношћу за колонизацију мозга (65).

Инвазивне гљивичне инфекције узрокују у свету преко 1,5 милиона смрти годишње, а највећи број инфекција се развија код имунокомпромитованих болесника (66). У последњих неколико деценија, појављивање HIV инфекције је довело до пораста броја случајева криптококног менингоенцефалитиса. *C. neoformans* годишње изазива око 215 000 инфекција и доводи до 180 000 смртних случајева (67). *C. neoformans* је присутан у животној средини у многим регионима света што говори о скоро универзалној изложености људске популације овим гљивицама. Ипак код имунонекомпромитованих особа је симптоматска болест релативно ретка. Оштећење ћелијског имунског одговора, нарочито оног посредованог CD4+ лимфоцитима, најчешћи је фактор ризика за развој инвазивне криптококусне болести. Додатни предиспонирајући фактори су имunosупресија код болесника којима су трансплантирани чврсти органи или матичне ћелије хематопоезе, терапија кортикостероидима, инхибиторима фактора некрозе тумора, различити малигнитети, саркоидоза, хронична болест јетре и бубрежна инсуфицијенција (68–70). Криптококоза је често болест везана за AIDS и водећи узрок смртности код одраслих са HIV– ом у Субсахарској Африци (67). Упркос употреби антиретровирусне терапије, која је драстично смањила број активних HIV болесника у развијеном свету, *C. neoformans* остаје главни проблем у неразвијеним земљама. Мада се број случајева криптококусне болести удружене са AIDS уопштено смањује, инциденција болести расте код болесника са трансплантираним солидним органима и код других болесника (71–73).

Интересантан податак је да се криптококоза чешће јавља код мушкараца у односу на жене (2-3:1), што је запажено пре појаве HIV (74), а код HIV инфицираних тај број је и већи (4:1).

Pneumocystis carini

Pneumocystis carini је необична гљивица која користи предности ослабљеног имунског система и изазива пнеумонију код болесника са AIDS. Сматра се да је *Pneumocystis* одговорна за смрт око 200 000 болесника са AIDS, годишње, а такође годишње изазива и више од 50 000 смрти код болесника без AIDS (75–78).

Захваљујући широко коришћеној профилакси и високо ефикасној антиретровирусној терапији инциденција и морталитет од *Pneumocystis carini* код болесника са HIV је у константном паду у Европи и САД (79, 80). Тренутно је смртност код болесника са HIV који леже у болници од 7% до 11% (81). Са друге стране повећана је инциденција код пацијената који немају HIV, а имунокомпромитовани су (82), а њихова смртност варира од 48% до 67% (81).

West Nile Virus – WNV

WNV је вирус из фамилије *Flaviviridae*, који преносе комарци, а инфицира птице и изузетно ретко друге животиње као што су коњи и у ограниченом броју случајева и људи (83, 84). WNV се такође може пренети путем трансфузије тромбоцита, еритроцита и замрзнуте свеже плазме, као и преко трансплантираног срца, јетре, плућа и бубрега.

Откривен је 1937. године у Уганди, а ендемичан је у Африци, средњем Истоку и Европи (пријављени су случајеви у Румунији, Русији, Израелу и Француској). Није разматран као претња за трансфузију крви, све док није детектован 1999. године у САД, где се раширио у року од три године од иницијалног жаришта у Њујорку до Мајамија (85).

Инфекција овим вирусом је у 80% случајева асимптоматска, са у 20 % случајева јављају се фебрилне епизоде (грозница) и неуролошки симптоми (менингоенцефалитис). Ови симптоми су се јавили код 4 примаоца органа од инфицираног даваоца, а болест се смртно завршила код једног.

1.11 Савремени начини тестирања крвно-преносивих патогена

Маркери инфекције су детектабилни знаци инфекције који се појављају у крви за време или после инфекције. Могу бити присутни и сами, мада знатно чешће је присуство специфичних антитела против инфективног агенса на који се врши тестирање.

У пракси тестирање оставља велики број нерешених проблема везаних како за избор адекватног прелиминарног теста тако и за интерпретацију добијених резултата. Степен поузданости и коректна интерпретација резултата теста отворају проблеме који се у пракси најчешће манифестују у виду лажно реактивних или лажно негативних резултата теста. На бази резултата прелиминарног и потврдног теста све тестиране особе се сврставају у следеће 4 групе:

- стварно позитивне;
- лажно позитивне;
- лажно негативне;
- стварно негативне.

На основу међусобног односа ових група дефинишу се осетљивост и специфичност, два основна параметра који карактеришу поузданост дијагностичког теста. Осетљивост прелиминарног теста дефинисана је фреквенцом позитивних ензимоимунских (Enzyme-

Linked ImmunoSorbent Assay – ELISA) резултата добијених тестирањем популације стварно позитивних индивидуа. Специфичност је својство теста да неинфициране особе означу као негативне. Вредности осетљивости и специфичности декларисане од стране произвођача тестова крећу се од 98,3 % до 100 % и од 99,2 % до 100 %. Мада ове вредности на први поглед изгледају веома импресивно у пракси је ситуација сасвим другачија (86).

Оне зависе у значајној мери од учесталости инфективног агенса у популацији која се тестира. То значи да позитивна предиктивна вредности теста расте при тестирању високо ризичних популација, односно смањује се број лажно реактивних резултата. У случају тестирања нискоризичних популација негативна предиктивна вредност теста се смањује, односно расте број лажно реактивних резултата.

У прелиминарном тестирању ниско ризичне групе добровољних давалаца крви осетљивост теста је знатно важнија од специфичности пошто смањује могућност да јединица крви лажно нереактивних особа буде употребљена. Без обзира на ово потребно је водити рачуна и о специфичности да би се смањило број лажно реактивних резултата, не само из економских разлога како би се смањило непотребно коришћење скупих потврдних тестова, већ првенствено због тога да би се избегло излагање тестираних непотребном стресу (86).

За рутински скрининг давалаца крви се користе ELISA или тестови хемилуминисценције (Chemiluminescence Assays – CIA) за детекцију узрочника, односно кореспондентних антитела на HBV, HCV, HIV и *Treponema pallidum* (39) (Табела број 2).

Редослед увођења ензимоимунских тестова у трансфузиологији

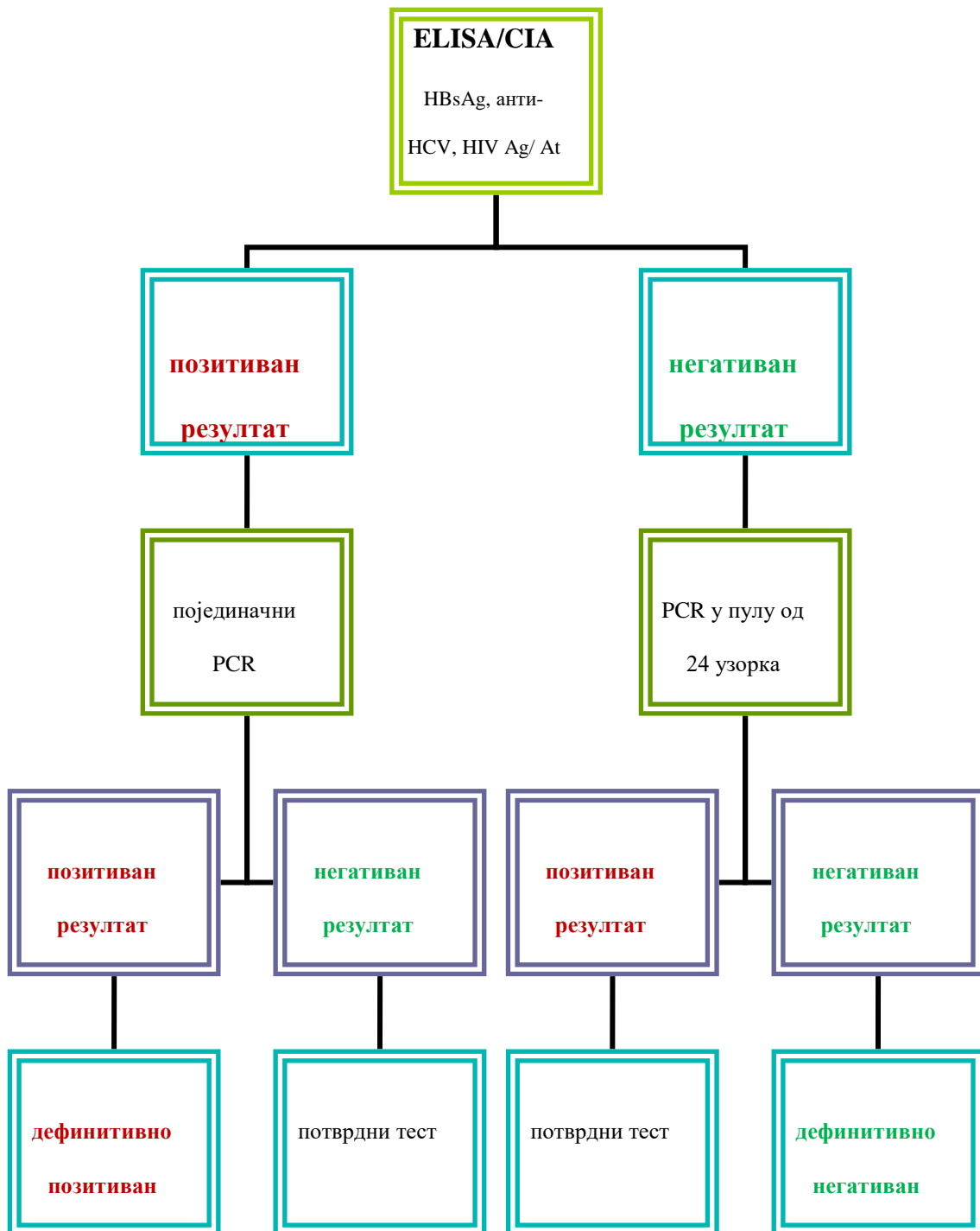
тестирање	година увођења
<i>Treponema pallidum</i>	1947.
HBsAg	1971.
HIV-1	1985.
ALT	1986.
HBc	1986.
HTLV-1	1988.
HCV	1990.

Крајем 90-тих година прошлог века почиње рутинско коришћење технике ланчане реакције полимеразе (Polymerase Chain Reaction – PCR) у детекцији HCV RNK, HIV RNK, а нешто касније и HBV DNK. У Јапану се већ од 1999. године тестирају све јединице крви на HCV RNK, HIV RNK, као и на HBV DNK, због високе преваленце HBV у овој популацији (87, 88). У САД такође је 1999. године уведено обавезно тестирање јединица крви на HCV RNK и HIV RNK. Сличан пример следиле су и друге земље Немачка, Француска, Шпанија, Италија итд., тако да је тестирање јединица крви на HCV RNK и HIV RNK обавезна у већини развијених земаља света (89).

У случају дискрепантних резултата за одређивање коначног статуса давалаца неопходно је урадити и потврдни тест. Већина развијених земаља имају могућност да на адекватан начин ураде потврдни тест код реактивних узорака.

У Институту за трансфузиологију и хемобиологију Војномедицинске академије за тестирање добровољних давалаца крви користимо следећи алгоритам:

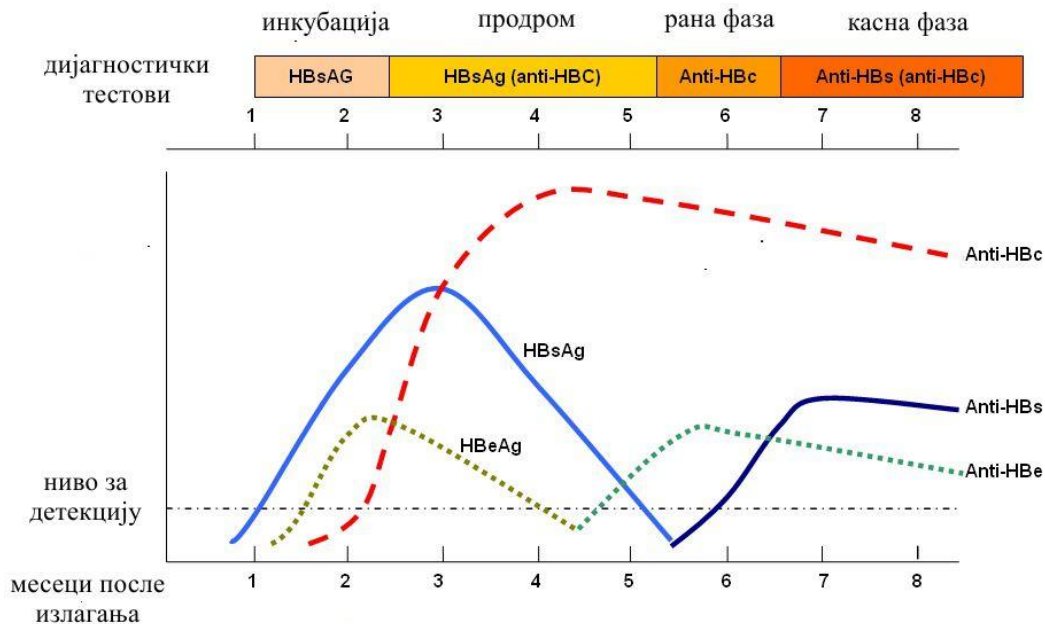
Тестирање добровољних давалаца крви



PCR технологија је уведена како би се смањио период „прозора“. Период „прозора“ је време од уласка вируса у организам до тренутка када га расположивим техникама можемо детектовати. Скраћење периода „прозора“ код HBV је са 59 дана на 21 дан, применом PCR методе (25). Потврђивање HBsAg би се заснивало на алтернативном ензимоимуном тесту са специфичном неутрализацијом anti-HBsAt.

Пошто је HBsAg присутан и код хроничних носилаца HBV, неопходно је детектовати и анти-HBc IgM, да би се потврдила акутна инфекција. Код неких болесника не може се доказати HBsAg. Присуство HBeAg је значајно не само као показатељ активне болести, већ и као маркер високе инфективности. Са губљењем HBsAg, појављује се анти-HBc; а са нестанком HBeAg, појављује се анти-HBe (Фигура број 4). Код хроничних носилаца HBV, може доћи до мутације вируса у јетри, тако да се не може детектовати HBsAg (лажно негативни). Зато је значајно користити и анти-HBc тестове, поготову у земљама са високом преваленцом HBV, као и тамо где се не користи HBV PCR. Лоша особина анти-HBc тестова је да дају велики проценат лажно позитивних резултата.

Серолошки одговор на HBV инфекцију



Пре 1971. године, процењивано је да је ризик од инфекције HBV код мултитрансфундованих болесника износио 6%. После увођења скрининга на HBsAg, ризик се смањио на 0,3 %–1,7 % (90, 91). Ризик да трансфузијом буде пренешен HBV, у САД (израчунат математичким моделима), износи 1 на 63 000 јединица крви. У САД се јавља и проблем великог броја лажно позитивних давалаца (око 23 %–75 % анти-HBc лажно одбијених давалаца). Последњих година покушава се пронаћи одговарајући алгоритам за враћање ових давалаца у расположиви пул (92–98).

Пре увођења PCR период „прозора” за анти-HCV тестове је износио око 70 дана (25). Период „прозора” за комбиновани тест, који детектује и антиген и антитело HCV (HCV Ag/At), износи 40 дана (25), а увођењем PCR појединачног тестирања овај период је скраћен на 15 дана (99). HCV Ag и HCV RNK су присутни на почетку инфекције, а анти-HCV антитела се јављају недељама после инфекције, али најчешће остају трајно присутна. Рекомбинантни имуноблот тест (eng. Recombinant Immunoblot Assay) RIBA HCV је „златни стандард” за потврду присуства anti-HCV антитела.

Пре увођења анти-HCV тестова, постојао је значајан ризик од преноса HCV трансфузијом крви: 1 % у САД и 0,1 % у Великој Британији. Са њиховом имплементацијом он је смањен на 1 : 100 000 трансфундованих јединица крви. Са увођењем NAT технологије овај ризик је смањен на 0,03 – 0,5/ 1 000 000 (95, 100–105).

Време потребно за детекцију износи минимално 16 дана за HIV комбиновани тест (HIV Ag/At), док је код HIV PCR он смањен на 9 дана (25). Захваљујући примени најсавременијих тестова за скрининг давалаца крви (HIV Ag/At и NAT-PCR), као и апликацији метода за инактивацију вируса у плазми и тромбоцитима, практично је елиминисан ризик од преноса HIV путем трансфузије. Процењује се да он износи 1 : 2–5 000 000 у развијеним земљама (106–110).

Увођење и стално побољшавање тестова за рутинско тестирање давалаца довело је до тога да се данас сифилис трансфузијом преноси изузетно ретко (вероватно 1 случај у 20 година).

У прошлој декади доступност напредних алата молекуларне биологије је олакшало PCR дијагностику *C. neoformans* (111).

За лабораторијску дијагностику *Pneumocystis carini* употребљава се PCR са различитим генетским супстратима, као што су рибозомална RNK, митохондријална рибозомална RNK и гени за главне површинске гликопротеине. Многе студије су потврдиле

високу сензитивност и варијабилно високу специфичност PCR техника у поређењу са морфолошком детекцијом *P. carini* код бронхоалвеоларне лаваже (Bronchoalveolar Lavage – BAL) (112–114). Сензитивност за PCR орофарингеалних узорака је била мања него код BAL, од 50 до 70 % у две студије (112, 113). Једна мала студија која је користила PCR митохондриске rRNK (рибозомална RNK) је била значајно сензитивнија него BAL. PCR је постао преобладајуће средство за дијагностику у односу на BAL, код болесника који су сувише болесни за бронхоскопију, јер побољшавају детекцију код узорака спутума. PCR би се могао користити за праћење орофарингеалних узорака код болесника са високим ризиком за развој РСР (*Pneumocystis carini pneumonia*), као што су они који су већ имали предходне епизоде са РСР и низак број CD4⁺ ћелија (115).

PCR тестирање је обавезно у САД и Канади и за WNV RNK од јула 2003. године. Код првих милион тестираних донација 329 (0,03 %) је било PCR позитивно, а код 163 је потврђено присуство WNV RNK (116, 117).

Детекција IgM антитела у серуму или церебро-спиналној течности коришћењем ELISA тестова је камен темељац за дијагнозу WNV. Зато што IgM класа антитела не пролази крвно-мождану баријеру, њихово присуство у церебро-спиналној течности је показатељ инфекције централног нервног система. Најмање 90 % болесника са енцефалитисом и менингитисом имају детектабилан ниво IgM антитела у церебро-спиналној течности унутар 8 дана од појаве симптома. Ова антитела могу бити иницијално недетектабилна у серуму или плазми; једна студија показује да само 58 % болесника са WNV грозницом имају позитиван резултат ELISA теста. Тестирање класе IgG није значајно у акутној фази болести. Скорје вакцинације против жуте грознице или Јапанског енцефалитиса или скорје инфекције са сродним флавиовирусима (нпр. Сент Луис енцефалитис или денга) могу давати позитиван резултат WNV IgM ELISA теста. Тест неутрализације може разлучити серолошку укрштenu реакцију међу флавиовирусима, али овај тест је доступан само у референтним лабораторијама.

Тренутно су доступна два комерцијална PCR теста за детекцију WNV RNK. Због релативно ниске виремије у акутној фази инфекције, тестирање је појединачно (обавезно код свих донора органа) или у мини пуловима од 6 или 16 узорака. Око 50 % позитивних узорака остаје непотврђено другим молекулским и серолошким тестовима који детектују IgM класу антитела (116–119).

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

2.1 Главни циљ

Главни циљ истраживања је дефинисање социодемографског профила зависника од опијата који су у повећаном ризику од инфекције HBV, HCV, HIV, *Treponema pallidum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и WNV.

У складу са главним циљем, дефинисани су конкретни задаци:

1. Анализа социодемографских карактеристика популације зависника од опијата на програмима супституције.
2. Испитивање зависника од опијата на програмима супституције на постојање инфекције HBV, HCV, HIV, *Treponema pallidum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и WNV употребом метода ELISA/CIA и PCR.
3. Поређење добијених резултата тестирања узорака плазме зависника на присуство HBV, HCV, HIV методама ELISA/CIA наспрот PCR: истовремено негативни/нерактивни (нису долазили у контакт са овим вирусима); PCR позитивни, ELISA/CIA нерактивни (почетак инфекције – период „прозора“); PCR позитивни, ELISA/CIA реактивни (инфекција) и PCR негативни, ELISA/CIA реактивни (прошла активна инфекција).
4. Поређење инфицираности узорака различитих субпопулација зависника од опијата, које су формиране у зависности од социодемографских карактеристика, испитивање корелације социодемографских карактеристика са инфективношћу пацијента и установљавање профила зависника од опијата који је у повећаном ризику од инфекције.
5. Формулисање предлога алгорита тестирања зависника од опијата на патогене крвно-преносивих болести.

2.2 Радне хипотезе

1. Очекује се да се утврди профил зависника од опијата узимајући у обзир пол, старост, брачни статус, место становања, радни статус, ниво образовања, начин коришћења супстанце, придружене менталне и соматске поремећаје, херидитет менталних и соматских поремећаја и почињена кривична дела.
2. Очекује се да резултати тестирања узорака плазме зависника на присуство HBV, HCV, HIV буду у све четири категорије: (1) истовремено ELISA/CIA и PCR негативни/нереактивни, (2) PCR позитивни, ELISA/CIA негативни, (3) PCR позитивни, ELISA/CIA реактивни и (4) PCR негативни, ELISA/CIA реактивни, при чему треба очекивати да мањи број испитаника буде сврстан у првој и четвртој категорији.
3. Претпоставка је да ће већи број позитивних/реактивних налаза бити код млађих зависника, мушкараца, који нису у браку, који живе у граду, незапослени су, са средњом стручном спремом, који су инјектирали психоактивну супстанцу, са придруженим менталним поремећајима и соматским стањима и херидитетом менталних и соматских поремећаја, уз претходно почињена кривична дела.
4. Очекујемо да ће бити оправдана примена модификованог алгоритма тестирања који се користи у Институту за трансфузиологију и хемобиологију Војномедицинске академије.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1 Врста студије: Клиничка експериментална студија пресека.

3.2 Популација која се истражује

Обављено је узорковање крви пацијената Одељења за болести зависности, Клинике за психијатрију, Клиничког центра Крагујевац, који су према стандардизованим критеријумима већ укључени у протоколе супституционе терапије метадоном и бупренорфином у оквиру овог регионалног центра, а претходно дијагностиковани према критеријумима Међународне класификације болести, 10. ревизија: F11 – Ментални поремећаји и поремећаји понашања због употребе опијата и F19 – Ментални поремећаји и поремећаји понашања због употребе бројних дрога.

Индикације за укључивање у програм су:

1. зависност од опијата (препоручује се претходни покушај лечења у амбулантним условима или болнички третман);
2. HIV инфекција у прогресији и/или AIDS;
3. Зависници од опијата са дуалним дијагнозама (психоза, биполарни афективни поремећај, депресија...);
4. Зависници од опијата са тешким телесним болестима;
5. Зависнице од опијата које су гравидне.

Укључивање опијатских зависника у супституциони програм врши се искључиво тимски и тим се састоји најмање од: лекара психијатра/неуропсихијатра, стручног сарадника (психолог, педагог, дефектолог, социјални радник, социолог) и медицинске сестре-

техничара, који у зависности од потребе могу да раде у пуном радном времену или у делу радног времена по Правилнику о ближим условима за обављање здравствене делатности (2).

Овај центар у прикупљању података користи Помпиду упитник, који је формулисан 2000. године, од стране Европског центра за дроге и болести зависности (Помпиду група), са циљем да се сакупе упоредиви и поуздани подаци о броју зависника у земљама Европске уније и њиховим карактеристикама (120). Помпиду упитник процењује терапијске потребе и историју злоупотребе дрога, као и ризична понашања зависника. Подаци који су прикупљени помоћу овог упитника су искоришћени за анализу социодемографских карактеристика зависника и њиховог понашања, а одобрење за коришћење упитника у истраживачке сврхе је добијено од представника Помпиду групе у националном Министарству здравља.

Укључујући критеријуми: зависници старији од 18 година и који су барем двапут били у контакту са психијатром/психијатријском установом и зависни су од опијата и препоручено предходно лечени у амбулантним условима или болнички или зависни од опијата са дуалним дијагнозама или тешким телесним болестима, а који су сви пре укључења у програм информисани о самој терапији, њеним позитивним ефектима, нежељеним дејствима, правилима током спровођења програма, и о поступцима због којих могу бити искључени из програма, и који су потписали уговор о начину спровођења терапије, па су у супституциони програм уведени тимски, а којима је појашњена природа истраживања, који су способни да схвате значај истраживања и који су дали сагласност за учешће у истраживању.

Искључујући критеријуми: зависници млађи од 18 година, који нису били или су само једном били у контакту са психијатром/психијатријском установом, болесници који узимају само алкохол и/или цигарете, три узастопне „позитивне“ контроле урина на психоактивне супстанце, грубо кршење договорених правила и агресивно понашање, непостојање резултата који су планирани применом метадона/бупренорфина, зависници који

избегавају пијење метадона/бупренорфина (анализа урина), они који нису способни да схвате значај истраживања и они који нису дали сагласност за учешће у истраживању.

Протокол ове студије је одобрен од стране Етичког комитета Клиничког Центра Крагујевац (број 01-7016 од 02. 07. 2015. године) и спроведен сагласно свим етичким принципима Хелсиншке декларације. Свим зависницима укљученим у супституционе програме регионалног центра за болести зависности, Одељења за болести зависности, Клинике за психијатрију, Клиничког центра Крагујевац, понуђено је учешће у истраживању, њих 99 је прихватило учешће и пре почетка студије сви испитаници су потписали сагласност за учешће у студији.

3.3 Узорковање

Након потписивања сагласности за учешће у истраживању, у Одељењу за болести зависности, Клинике за психијатрију, Клиничког центра Крагујевац, пацијентима су сукцесивно узети узорци крви (9 ml), ради одређивања присуства антигена/антитела и генетског материјала (DNK/RNK) HBV, HCV, HIV, *Treponema pallidum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и WNV, методама ELISA/CIA и PCR. Узорци су краткотрајно складиштени и одмах адекватно транспортовани, у складу са важећим законским прописима, до Института за трансфузиологију и хемобиологију и Института за микробиологију ВМА.

Тестирање је обављено у Институту за трансфузиологију и хемобиологију ВМА, на аутоматизованим апаратима Evolis и Architect произвођача Biorad и Abbott (САД), стандардним ELISA/CIA тестовима на HBsAg, HCV Ag/At, HIV Ag/At и *Treponema pallidum*. Сви прелиминарно негативни пацијенти на HBsAg, HCV Ag/At, HIV Ag/At су PCR тестирани, у пуловима од 6 узорка. Прелиминарно ELISA/CIA позитивни узорци су

тестирани PCR методом појединачно, спречена је потенцијална контаминација пула, смањен утрошак реагенаса и скраћено време за коначно утврђивање позитивног узорка у пулу од 6 (121), зато што је очекиван велики број прелиминарно негативних, а PCR позитивних давалаца. PCR тестирање је обављено помоћу система апарата произвођача Roche Diagnostics (Немачка). Процес је започео тако што је у улазне епрувете за апарат COBAS Ampliprep (за изолацију генетског материјала) укапаван по 1 mL узорака плазме. Детекција је обављена у апарату COBAS Taqman. Потврдни тестови за HBV су рађени на апарату Architect произвођача Abbott (САД), а за HCV коришћени су тестови Inno-LIA HCV Score произвођача Innogenetics (Белгија). Изолација и детекција вируса WNV је такође обављена на апаратима COBAS Ampliprep и COBAS Taqman у Институту за трансфузиологију и хемобиологију ВМА. Изолација и детекција *Cryptococcus neoformans* и *Pneumocystis carini* је обављена у Институту за микробиологију ВМА помоћу Real Time-PCR произвођача Sacace (Италија).

3.4 Варијабле које се мере у студији

I Група независних варијабли

Упитник је садржао три типа варијабли, интервалне, бинарне и категоријалне, распоређене у следећим тематским подручјима: пол (мушки, женски, остало), године старости (година рођења), брачни статус (у браку – први брак, у браку – други брак, неожењен/неудата, разведен/разведена, удовац/удовица, ванбрачна заједница, непознато), место становања (село, град), радни статус (стални радни однос, привремени или хонорарни посао, незапослен – не ради ништа, ради на црно, ученик, студент, пензионер, домаћица, самостална делатност, прима социјалну помоћ/инвалид, непознато), степен

образовања (незавршена основна школа, завршена основна школа, незавршена средња школа, завршена средња школа, незавршена виша школа или факултет, завршена виша школа, завршен факултет, друго, непознато), начин коришћења дроге (инјекцијом, пуши/удише, једе/пије, ушмркава, други начин, непознато), придружени ментални и соматски поремећаји (нема/негира, непознато, алкохолизам F10.2, зависници од психоактивних супстанци F11–F19, схизофренија, шизотипни и суманути поремећаји F20–F29, афективни поремећаји F30–F39, суицид X60–X84, друге психијатријске дијагнозе, друге неуролошке дијагнозе, друге важне дијагнозе), херидитет менталних и соматских поремећаја (отац, мајка, браћа/сестре, други ближи рођаци) и почињена кривична дела.

II Зависне варијабле су резултати ELISA/CIA и PCR тестирања на крвно-преносиве болести (HBV, HCV, HIV, *Treponema pallidum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и WNV).

3.5 Снага студије и величина узорка

Величина узорка је израчуната употребом статистичког програма G*Power3. Студијски узорак је израчунат узимајући вероватноћу грешке првог типа (α) од 0.05 и снагу студије од 0.8 за χ^2 тест, а узимајући у обзир да је степен слободе израчунат као $Df=(r-1)(c-1)$, према подацима из студије сличног дизајна са табелама контингенције (123), па је утврђен број испитаника од 32, а узимајући у обзир примењена два терапијска протокола метадоном и бупренорфином, очекује се укључење две групе по 35, укупно 70 испитаника.

3.6 Статистичка обрада података

Подаци су анализирани статистичким програмом SPSS 20.0. Коришћена је дескриптивна статистика: аритметичке средине, стандардне девијације, медијане и проценти. Правилност расподеле обављена је тестом Колмогоров-Смирнов. За поређење аритметичких средина једног обележја две популације коришћен је независни т-тест или Ман-Витнијев тест. За поређење аритметичких средина једног обележја више популација коришћена је анализа варијанси (ANOVA) и LSD тест за вишеструку компарацију или Крускал-Волисов тест. Корелација обележја испитивана је Пирсоновим или Спирмановим коефицијентом корелације. Поређење резултата серолошких тестирања обављено је табелама контингенције (χ^2 тест). За испитивање утицаја више обележја на неко нумеричко обележје коришћена је бинарна логистичка регресија.

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1 Социодемографске карактеристике зависника од опијата

Већина зависника од опијата су мушкарци (81,8 %), просечне старости од 32 године, 48,5 % је неудато/неожењено, који живе у граду (98,9 %), незапослени су (58,6 %) и преобладају са завршеном средњом школом (67,7 %) – ове карактеристике су презентоване у Табели број 3.

Табела број 3

Социодемографске карактеристике зависника

карактеристика		број зависника	процент
Пол	мушки	88	81,8 %
	женски	11	18,2 %
Старост	просечна (године)	32	–
	распон (године)	19 до 57	–
неудата/неожењен		48	48,5 %
живе у граду		98	98,9 %
незапослени		58	58,6 %
ниво образовања – средња школа		67	67,7 %

У Табели број 4 приказане су навике зависника од опијата. Њих 70 (70,7 %) ПАС уноси у организам инјекцијом, 78,8 % је барем некад дрогу унело интравенски, 81,8 % је барем некад користило заједнички прибор, а просечна старост првог узимања било ког средства је 16 година, са распоном од 11 до 48 година.

Табела број 4

Навике зависника од опијата

карактеристика		број зависника	процент
начин коришћења	инјекцијом	70	70,7 %
	једе/пије	4	4 %
	други начин	25	25,3 %
интравенско узимање супстанце	не	21	21,2 %
	да	78	78,8 %
коришћење заједничког прибора	не	18	18,2 %
	да	81	81,8 %
старост првог узимања било ког средства	просечна (године)	16	–
	распон (године)	11 до 48	–

Осим карактеристика наведених у Табели број 3 и Табели број 4, разматрани су и придружени ментални и соматски поремећаји, херидитет менталних поремећаја и почињена кривична дела.

На Фигури број 4 је приказан број зависника без придружених болести, као и број оних који имају придружену једну, две или три болести, а на Фигури број 5 врсте и заступљеност придружених болести, при чему близу 50% има бар једну придружену болест.

Фигура број 4

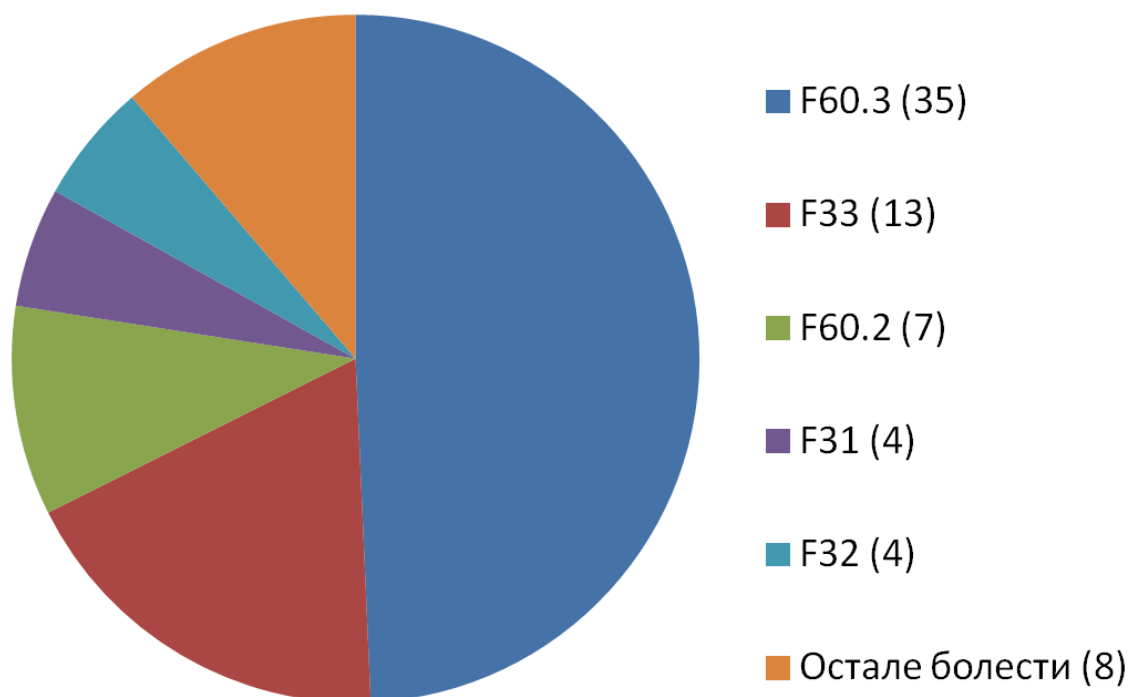
Број зависника са и без придружених болести



На Фигури број 5 се види да су углавном придружене менталне болести: F60.3 – Емоционално нестабилни поремећај личности; F33 – Рекурентни депресивни поремећај; F60.2 – Антисоцијални поремећај личности; F31- Афективно биполарно душевно обољење; F32 – Прва депресивна епизода. Од осталих болести присутне су епилепсија, токсична болест јетре, хронични гастроентеритис, хиатус хернија, псоријаза, ахалазија, дислалија.

Фигура број 5

Врсте и заступљеност придружених болести



Када је у питању постојање психичког поремећаја код оца или мајке зависника укључених у супституциони програм, њих 75 (75,8 %) одговара са нема/ негира код оца и 86 (86,9 %) код мајке, с тим да 13 (13,1 %) даје податак да је отац боловао од алкохолизма.

Ранији судски проблеми приказани су у Фигури број 6. Њих 35 није имало судских проблема. Највећи број зависника је кажњаван прекршајно (21), њих 15 је било у затвору више пута, 13 је кажњаван/а затворском казном, 10 условном казном, а петоро је било у притвору.

Фигура број 6

Ранији судски проблеми зависника



4.2 Обољевање од крвно-преносивих болести зависника од опијата

Међу 99 зависника од опијата неки никад нису тестирани на крвно-преносиве болести – 39 на HBV, 36 на HCV и 28 на HIV; а само четворо је добило вакцину против HBV. Сви зависници који су тестирани на HBV и HCV то су урадили у периоду од 2003. до 2015. године, а тестирање на HIV је рађено 2012. године. На основу наших тестирања утврђена је преваленца HBV од 33,3 % и преваленца HCV од 84,8 %.

Није утврђена корелација између одређене социо-демографске категорије и повећане инфективности узорака. Применом ANOVA за поређење инфективности HBV и HCV (ELISA/PCR позитивни и негативни резултати) у зависности од начина узимања, пола, живота са другим уживаоцем, интравенске примене и коришћења заједничког прибора, није показана статистички значајна разлика, изузев што се за HCV при испитивању у односу на старост зависника вредност приближила статистички значајној ($p=0,083$).

Анализа бинарном логистичком регресијом HBV ELISA и PCR позитивних резултата у зависности од социодемографских параметара и зависничких навика као варијабли је показала да је инфективност зависи од старости зависника при тестирању и од узраста првог узимања средства, што је приказано у Табели број 5 и 6.

Бинарна логистичка регресија HBV ELISA позитивних резултата у зависности од варијабли

HBV ELISA 95% CI	варијабле	Wald	Df	<i>p</i>
	пол	0.819	1	0.365
	старост тестирања	4.005	1	0.045
	садашњи услови живота – са ким живи	3.302	1	0.069
	живи са другим уживаоцима средстава	1.469	1	0.225
	место пребивалишта	0.000	1	1.000
	начин узимања	1.307	1	0.253
	фреквентност узимања средства у последњих месец дана	0.039	1	0.843
	узраст првог узимања било ког средства	1.576	1	0.209

Бинарна логистичка регресија HBV PCR позитивних резултата у зависности од варијабли

HBV PCR 95% CI	варијабли	Wald	Df	<i>p</i>
	пол	0.020	1	0.887
	старост тестирања	4.257	1	0.039
	садашњи услови живота – са ким живи	2.434	1	0.119
	живи са другим уживаоцима средстава	0.214	1	0.644
	место пребивалишта	0.000	1	1.000
	начин узимања	0.347	1	0.556
	фреквентност узимања средстава у последњих месец дана	1.306	1	0.253
	узраст првог узимања било ког средстава	3.869	1	0.049

4.3 Поређење резултата тестирања зависника на патогене крвно-преносивих болести

Комплементарно ELISA/CIA и PCR тестирање зависника демонстрира преобладајуће слагање у резултатима серолошког и молекуларног тестирања. Резултати потврђују да више од 50 % зависника је HCV позитивно на оба теста, док је нешто мање од 20 % котестирања позитивно на HBV инфекцију. Усаглашеност и дискрепантност између два метода (ELISA/CIA vs. PCR) је приказана у Табели бр. 7.

Табела број 7

Резултати ELISA/CIA и PCR тестирања на вирусе

врста патогена	ELISA/CIA и PCR	број зависника	процент
HBV	ELISA/CIA-нег. / PCR-нег.	66	66,7 %
	ELISA/CIA-поз. / PCR- поз.	19	19,2 %
	ELISA/CIA-нег. / PCR-поз.	12	12,1 %
	ELISA/CIA-поз. / PCR-нег.	2	2,1 %
HCV	ELISA/CIA-нег. / PCR-нег.	15	15,1 %
	ELISA/CIA-поз. / PCR- поз.	58	58,6 %
	ELISA/CIA-нег. / PCR-поз.	11	11,1 %
	ELISA/CIA-поз. / PCR-нег.	15	15,1 %
HIV	ELISA/CIA-нег. / PCR-нег.	99	100 %

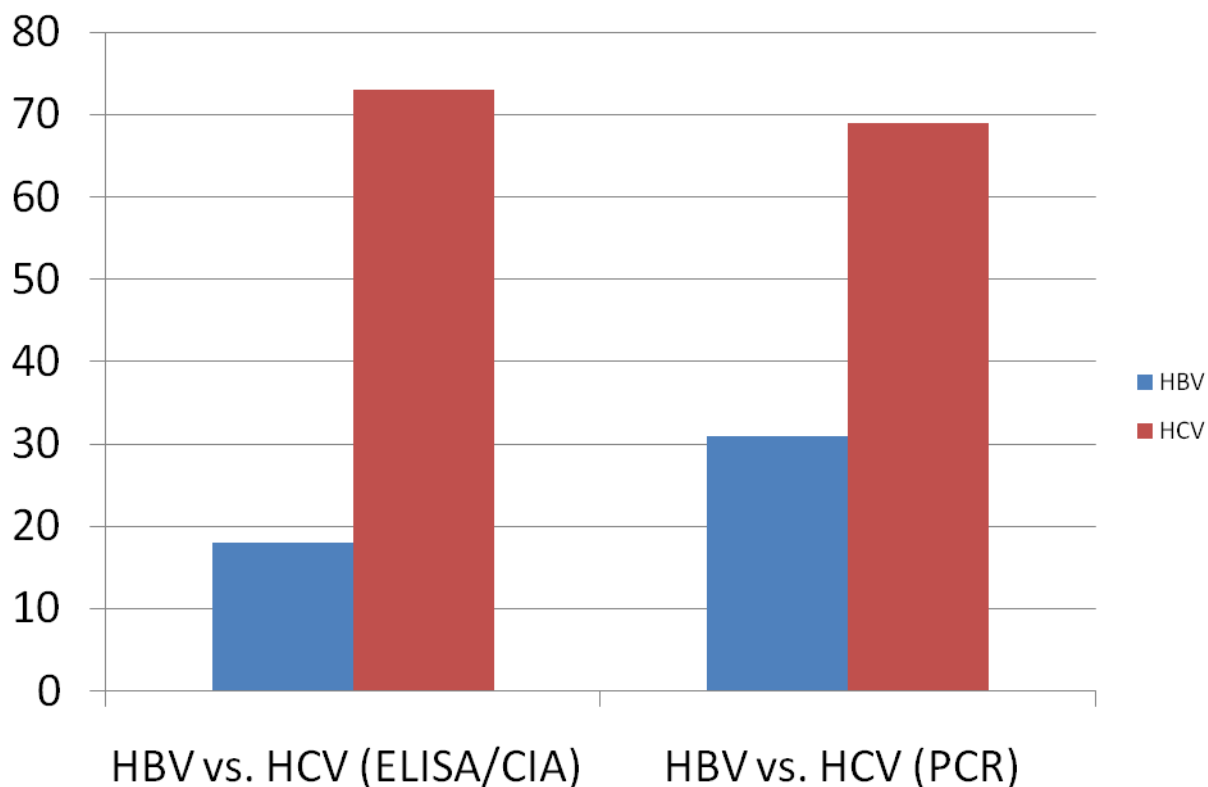
Апсолутни бројеви зависника тестираних комплементарним серолошким и молекулским тестирањем на HCV vs. HBV у овом истраживању су сумирани у Табели број 8 и Фигури број 7. Из њих видимо да је значајно више зависника позитивно на HCV у односу на HBV – 73 према 18 код ELISA/CIA тестирања и 69 према 31 код PCR тестирања.

Табела број 8

Резултати HBV и HCV ELISA/CIA и PCR тестирања

ELISA/CIA тестирање				PCR тестирање			
(апсолутни бројеви)				(апсолутни бројеви)			
Врста патогена		HCV		Врста патогена		HCV	
		нег.	поз.			нег.	поз.
HBV	нег.	25	56	HBV	нег.	18	50
	поз.	1	17		поз.	12	19

Резултати HBV и HCV ELISA/CIA и PCR тестирања



Као што је представљено на Фигури број 7, број HCV наспрам HBV позитивних зависника је већи у нашој студијској групи, користећи обе ELISA/CIA и PCR технике.

Када су у питању опортунистичке инфекције, свих 99 зависника је било негативно (PCR тестирање) на најчешће патогене: *Cryptococcus neoformans* и *Pneumocystis carini* и WNV. Само један зависник је био позитиван на сифилис и то и ELISA, VDRL и TRHA тестовима. Ови резултати су приказани у Табели број 9.

Резултати ELISA/CIA и PCR тестирања за остале патогене

врста патогена	ELISA/CIA и PCR тестирања	број зависника (процент)
Treponema pallidum	ELISA/CIA-негативан	98 (99 %)
	ELISA-позитиван	1 (1 %)
	* VDRL-позитиван	
	** ТРНА-позитиван	
	потврдно-позитиван	
Cryptococcus neoformans	PCR-негативан	99 (100 %)
Pneumocystis carini	PCR-негативан	99 (100 %)
West Nile Virus	PCR-негативан	99 (100 %)

VDRL = Venereal Disease Research Laboratory testing;

ТРНА = Treponema pallidum Hemagglutination test.

5. ДИСКУСИЈА

5.1 Профил зависника од опијата који је у ризику да оболи од крвно-преносиве болести

Већина зависника од опијата у популацији коју смо испитивали су мушкарци (81, 8%), просечне старости од 32 године, 48,5 % укључених је неударено/неожењено, са пребивалиштем у граду (98,9 %), незапослени су (58,6 %) и преобладају са завршеном средњом школом (67,7 %). Дрогу преобладајућо узимају интравенски (70,7 %), њих 67 има придружене поремећаје који су углавном ментални, а ређе соматски, негирају херидитет менталних и соматских поремећаја, осим 13,1 % мушкараца који су истакли да им је отац био зависник од алкохола, а 64 њих је претходно имало правних проблема или је санкционирано.

Интравенски зависници у Србији имају сличне социо-демографске карактеристике као и у Италији: 88% наспрам 84% су мушкарци, просечна старост је 32 наспрам 35 година, углавном незапослени. Наши резултати указују да инфективност HBV зависи старосне доби и указују на неопходност узрасно раних интервенција. Наведене карактеристике ове популације је потребно узети у обзир у спровођењу циљаних стратегија превенције болести зависности, али и дуалних дијагноза насталих као последица инфекција крвно-преносивих болести. Ипак, зависници у нашем истраживању нису били добро едуковани пошто их је само 4% добило вакцину против HBV, јер је, на пример, у Италији већи обухват вакцинацијом ове популације (29%) (4), мада ова чињеница може указивати и на субоптималну медицинску заштиту у посматраном региону.

Подаци о заразним болестима повезаним са употребом дрога у Републици Србији потичу из националних регистара за HIV и AIDS и из био-бихевиоралних истраживања (спроведених 2008. и 2010. године и 2012. године међу ИКД). Од 1991. године, проценат

ИКД међу новодијагностикованим и пријављеним случајевима HIV инфекције, јасно опада из године у годину. На основу резултата истраживања, уочава се висока преваленца HCV инфекције међу инјектирајућим корисницима дрога (више од 70 % у Београду 2008. и 2010. године), док је преваленција HIV инфекције међу ИКД мања од 5 %. Програми размене игала и шприцева доступни су само у Београду, Нишу, Новом Саду и Крагујевцу, и у великој мери зависе од екстерног финансирања (Глобални фонд за борбу против AIDS, туберкулозе и маларије). Број новообухваћених ИКД, био је у порасту у периоду 2009-2012. година, али је обухват ИКД овим програмима недовољан (24).

Укупан број од 125 хероинских зависника из притвореничког центра и из две психијатријске болнице на Северном Тајвану је током 2006. године тестирано на HIV, HCV, HBV, HDV и сифилис и преваленце су биле 15,2 %, 74,4 %, 15,2 %, 6,4 %, и 8 % (131). То значи да би било пожељно и тестирање зависника који се налазе и у затворским јединицама у Србији (24).

У периоду од 2011. до 2013. године, количина укупно заплећене дроге у Србији била је у сталном порасту док је 2013. године укупно заплећено 3,4 тоне дроге (24). Број зависника од дрога у затворима био је близу 5 000 у 2011. и 2012. години. Током 2012. године евидентирано је 4 775 кривичних дела у вези са дрогом и покренуте су 3 992 кривичне пријаве. Године 2013. забележена су 5 642 кривична дела у вези са дрогом и покренуто је 4 928 кривичних пријава. У субпопулацији обухваћеној нашим истраживањем готово 70 % зависника је имало судске проблеме, при чему су били и на одслужењу затворске казне једном или више пута, што указује на потребу да се и у пеналним условима спроводи супституциона терапија, али и мере превенције на крвно-преносиве болести.

5.2 Специфичности инфективности HBV/HCV код зависника од опијата

Глобална преваленца HBV инфекције међу интравенским зависницима је 14,6 %, што износи 2,3 милиона зависника који су инфицирани поменути вирусом (41), док је преваленца HCV инфекције међу интравенским зависницима у 2010. години била 46,7 %, што значи да је 7,4 милиона од 16 милиона интравенских зависника широм света било инфицирано са HCV.

У нашем истраживању преваленца HBV (33,3 %) је била нижа него у Италији (60,7 %), док је Мексико са 85 %, близак Грчкој и Португалу, али је преваленца значајно виша него у Уругвају (20 %), Ирану (0,7 %) и међу даваоцима крви (0,20 %) (4, 39, 40, 124). Интравенски зависници имају много већу вероватноћу да добију инфекцију него остали зависници, чиме се потврђује улога интравенске трансмисије. Приликом тестирања узорака од 1 330 зависника у Италији, утврђено је присуство HBV код 70,4 % оних који су дрогу узимали интравенски и 22,8 % код оних зависника који су дрогу узимали на друге начине (4), док је у Црној Гори преваленца 1,4 % међу интравенским зависницима (8). Подаци Италијанског система за праћење акутног вирусног хепатитиса од 1997. до 2004. године говоре да се 13 % акутне HBV инфекције приписује интравенском узимању дроге, док је овај број пао на 5 % у 2005. години (125). Такође је важно напоменути да је после примене стратегије редукције штете у Кини дошло до смањења инциденције HBV са 14,2 % на 8,8 % код ИКД (6).

Преваленца је највећа за HCV инфекцију (84,8 %) и то је мање него преваленце у Естонији и Летонији (око 90 %), Румунији и Португалу, а слична је као у Русији (73 %). Преваленца HCV је већа него у Мађарској (23 %) и међу даваоцима крви (0,12 %) (4, 39, 40, 124).

Према епидемиолошкој студији Европског центра за мониторинг дрога и зависности од дроге, инциденца акутног HCV узрокованог хепатитиса, код интравенских зависника варира од 2,7–3,2 % у Уједињеном краљевству до 66 % у Ирској, са средњом инциденцом од 13 % (3). Преваленца HCV у Италији износи 83,2 % међу интравенским зависницима и 22 % међу осталим зависницима (4). У Мађарској 15 % интравенских зависника је пријавило акутни хепатитис узрокован са HCV, док је тај број у Литванији 80 %, а у Русији 73 % (5, 40), а у Црној Гори 53 % (8).

Разлике у резултатима ELISA/CIA и PCR тестирања могу бити објашњене на два начина. Прво, ELISA/CIA негативни и PCR позитивни резултати показују да је инфекција HBV или HCV у периоду „прозора“ – то значи да је концентрација вирусног антигена или коренсподентних антитела прениска тако да не може бити детектована помоћу ELISA/CIA (39, 99). Од 12 HBV ELISA/CIA негативних али PCR позитивних резултата, шест је било позитивно, а шест негативно на потврдном тесту. Са друге стране, PCR негативни и ELISA/CIA позитивни резултати су чести кад имамо зависнике са старом HCV инфекцијом. Број ових узорака може бити и до 20% код добровољних давалаца, тако да је преваленца од 15, 1 % у нашем испитивању у границама тог распона, а сви су били позитивни и на потврдном тесту (126). Међу 11 HCV ELISA/CIA негативних и PCR позитивних зависника, пет је било позитивно, а шест негативно на потврдном тесту. Број од два HBV PCR негативна ELISA/CIA позитивна узорка показује да HBV DNK ниво код HBsAg-позитивних зависника је можда екстремно низак, јер је потврдни тест био такође позитиван код ова два узорка. Око 6 % HBsAg-позитивних може бити негативно када се користе HBV PCR методе у мини пулу. Око 3 % HBsAg-позитивних донација остаје негативно и када се користи појединачни PCR. Ови резултати морају бити узети у обзир у свим разматрањима евентуалног избацивања скрининга са HBsAg (127).

5.3 Специфичности HIV инфекције код зависника од опијата

Међу зависницима 18,9 % или 3 милиона широм света живи са HIV (41). Није било HIV инфекције међу зависницима од опијата и то је слично са преваленцом у Ирану (0,7 %) и међу даваоцима крви тестираним на ВМА од 2005. до 2013. године (0,005 %) (39, 128).

У Италији преваленца HIV-а је 14,4 % међу интравенским зависницима и 1,6 % међу осталим зависницима, у Литванији је тај број 9 %, док у Мађарској нико од интравенских зависника није инфициран са HIV (4, 5), док је у Црној Гори његова преваленца 1,1 % (8). После примене стратегије редукције штете у Кини дошло до смањења инциденције HIV са 2,5 % на 0,6 % код интравенских уживалаца дрога (6).

Упркос вишој преваленци и „трансмисивности“ и истих или виших економских трошкова у поређењу HCV и HIV инфекције, нарочито међу интравенским зависницима, на вирусни хепатитис је усмерено много мање пажње него са HIV повезаном болешћу. Светска преваленца HIV инфекције међу интравенским зависницима је била 17,9 % у 2009. и 18,9 % у 2010. години (129).

Доступни подаци указују да је у нашој земљи највећи број HIV инфицираних из групе интравенских уживалаца дрога, са око 55 % инфицираних путем нестерилног шприца или игле, али додатно и путем сексуалног незаштићеног односа, због честог мењања сексуалног партнера и продаје сексуалних услуга ради обезбеђења новца за набавку дроге (130).

5.4 Специфичности инфекције сифилисом код зависника од опијата

У 32 студије са 13 848 интравенска корисника дроге, углавном из Југоисточне Азије, са малим бројем из Латинске Америке, Источне Европе, Централне и Источне Азије, Северне Африке и Средњег Истока, али без испитаника из Субсахарске Африке утврђена је средња преваленца од 11,1 % за сифилис. Средња преваленца за мушки род је била 4 %, а за жене 19,9 %. (62). У Русији је преваленца сифилиса била 8% у Москви, 20% у Волгограду и 6% у Барнаулу, међу интравенским зависницима (63).

5.5 Специфичности WNV, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* инфекције код зависника од опијата

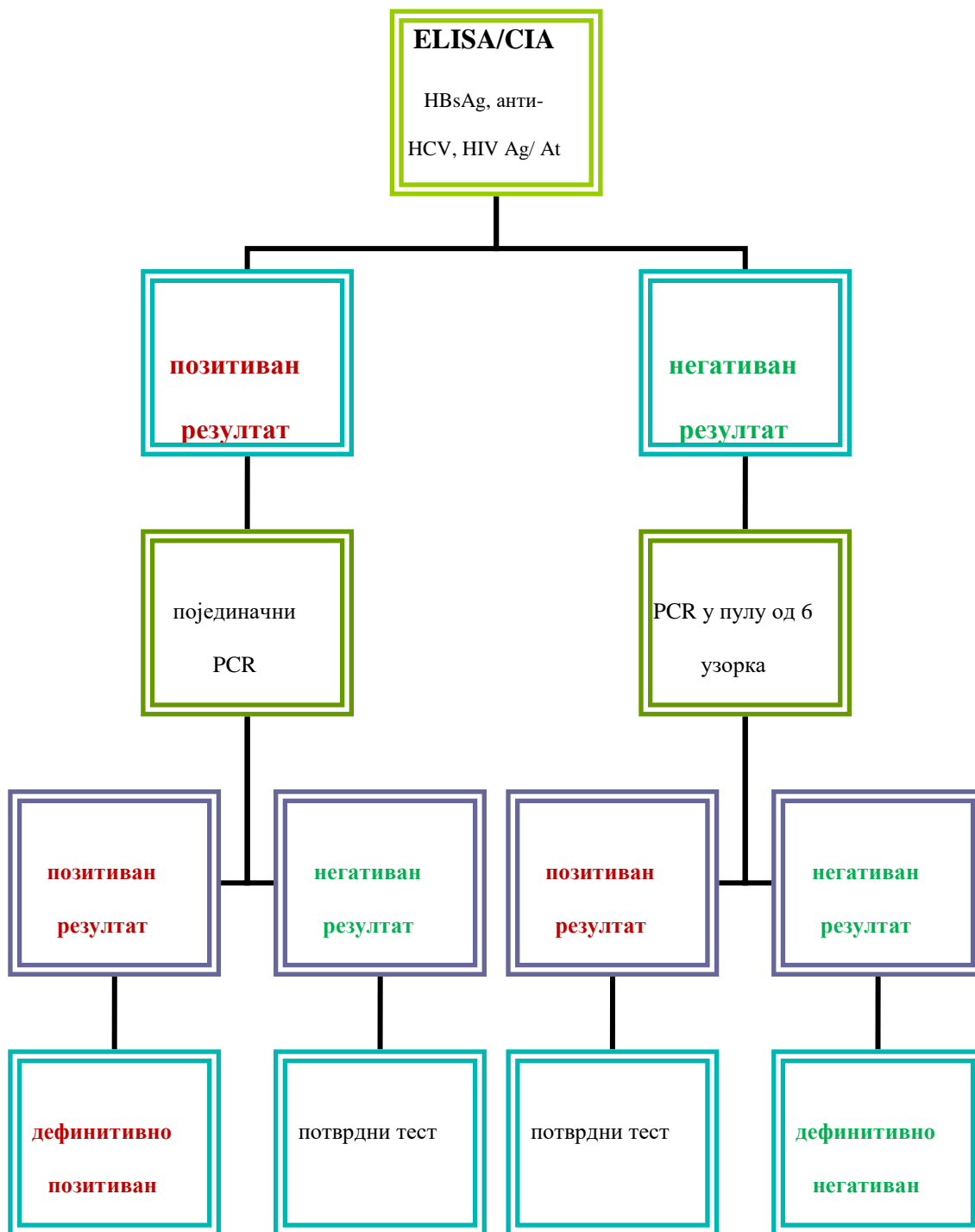
Тренутна негативност на патогене опортунистичких инфекција може бити објашњена тиме што код зависника није озбиљније компромитован имунски систем, јер су сви негативни на HIV.

5.6 Формулисање алгоритма тестирања на крвно-преносиве болести код зависника од опијата

Наведени резултати указују да је потребно што раније утврдити серолошки статус зависника од опијата који су укључени у програме супституције. Најбоље је тестирање обавити пре почетка супституционог лечења. Тестирати зависнике путем ELISA/CIA минимално на HBV, HCV, а по могућности и на HIV. Било би пожељно извести и PCR тестирање, појединачно за прелиминарно позитивне и у пулу за прелиминарно негативне. Уколико је због нејасноћа у резултатима то неопходно урадити и потврдни тест. На тај начин се добија прелиминарни статус зависника, пре уласка у метадонски/бупренорфински програм, што би нам омогућило раније лечење уколико код њих постоји активна болест, а такође и даље праћење, како „позитивних“, тако и „негативних“ резултата зависника.

Приликом утврђивања инфективног статуса зависника можемо користити модификовани алгоритам који нам служи за тестирања добровољних давалаца у Институту за трансфузиологију и хемобиологију ВМА.

Модификовани алгоритам за тестирање зависника



При томе треба имати у виду да код оних зависника који нису долазили у контакт са овим вирусима треба очекивати двоструко негативне резултате (ELISA/CIA и PCR); на почетку инфекције, у периоду „прозора“, налази су PCR позитивни, ELISA/CIA негативни; у фази активне инфекције узорци су PCR позитивни, ELISA/CIA позитивни и како пролази активна инфекција они могу постати PCR негативни, ELISA/CIA позитивни. То се нарочито односи на оне зависнике који примају интерферонску терапију, јер она доводи до смањења концентрације HCV у крви зависника, тако да он остаје недектабилан и за PCR технологију.

Ограничење ове студије је да нисмо испитали фармакоекономске аспекте коришћења појединих тестова у поређењу са трошковима лечења, што је такође значајно код HCV инфекције, јер је утврђено да генотипови 1 и 4 узрокују тежи клинички ток и захтевају више неге и повећавају трошкове лечења у поређењу са генотиповима 2 и 3 (132).

Ово истраживање несумњиво показује повећану сигурност оригинално дизајнираног алгорита за комплементарно тестирање (ELISA/CIA и PCR) патогена крвно-преносивих болести. Добијени резултати потврђују да су зависници од опијата у повећаном ризику за крвно-преносиве болести; позитивност за HBV и HCV је још увек висока – 33,3% и 84,8%. Зато зависници од опијата морају да буду периодично тестирани комплементарним серолошким/молекулским тестовим, уз разматрање разлика/дискрепанци у резултатима када се користе ове методе. Вакцина против HBV би требало да буде активно понуђена свим HBV-негативним зависницима од опијата.

Тренутна негативност на патогене опортунистичких инфекција може бити објашњена тиме што код зависника није озбиљније компромитован имунски систем, јер су сви негативни на HIV. Повременим тестирањима треба пратити HIV статус зависника и уколико се појави инфекција овим вирусом, евентуално треба поновити тестирања и на могуће патогене ових опортунистичких инфекција.

5.7 Важност ране детекције крвно-преносивих болести у специфичној популацији зависника од опијата

Различити фактори ризика чине зависнике од опијата рањивим за HBV, HCV, HIV, сифилис и опортунистичке инфекције узроковане *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и WNV (117). Ризично понашање укључује употребу нестерилних игала, незаштићене сексуалне односе, нестерилно тетовирање, трансфузију крви или стоматолошке интервенције и код интравенских и код осталих зависника. Поред тога, недовољан приступ здравственим службама, низак социо-едукативни ниво, бескућништво, историја боравка у затвору, социјална неприхваћеност, незапосленост, зависност од алкохола и друге болести код многих интравенских зависника компликују манифестације инфекција крвно-преносивим болестима и њихов исход (123).

Узимајући у обзир да су зависници укључени у супституциони програм у високом проценту супстанцу узимали инјектирањем бар једном у животу, а да је управо то доминантни начин коришћења код већине и додатно компромитовано коришћењем заједничког прибора, неопходно је можда размотрити примену едукативних програма и превентивних мера, које би у фокус ставиле трансмисију крвно-преносивих патогена, управо инјекционим коришћењем психоактивне супстанце. Превенција болести зависности доприноси смањивању и крвно-преносивих болести, па тако програми смањења штете („harm reduction”) омогућавају бесплатну доступност стерилних шприцева и игала, летака, кондома, на местима окупљања интравенских корисника дрога.

Превентивне активности би се огледале у развоју специфичних програма који промовишу здраве начине живота, имплементацији постојећих програма и извођењу различитих едукативних активности као што су вршњачка едукација, подршка

иницијативи младих у спровођењу акција које имају за циљ подржавање здравог начина живота, развој социалних вештина, информисање младих и родитеља о ризицима конзумирања психоактивних супстанци кроз школске програме и радионице у школама, идентификацију и смањење фактора ризика у школском окружењу.

6. ЗАКЉУЧЦИ

- Социодемографски профил зависника од опијата на супституционој терапији осликавају следећа својства: мушки пол, зрела животна доб, без заснивања брачне заједнице, пребивалиште у граду, незапосленост и средњошколско образовање.
- Највише зависника на супституционој терапији психоактивну супстанцу уноси инјектирањем (више од 70%) и висок удео испитаника је бар некада користио заједнички прибор (више од 80%). Просечна старост првог узимања је у раној адолесценцији (16 година).
- Постојање инфекције HBV показано је у више од 30% зависника на супституционим програмима, а за HCV у више од 80%.
- Резултати тестирања узорака зависника ELISA/CIA и PCR методама су углавном усаглашени: 50 % зависника је HCV позитивно на оба теста, док је нешто мање од 20 % паралелних тестирања позитивно на HBV инфекцију.
- Потребно је у популацији адолесцената већ спровести мере ране превенције болести зависности и са њима често удружених болести које узрокују крвно-преносиви патогени. У популацији зависника од опијата су супституциони програми оправдани и конципирани као програми смањења штете, па је у циљу дестигматизације ове субпопулације оправдана примена савремених алгоритама на тестирање крвно-преносивих болести.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Jovanović M. Stimulansi i marihuana. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2009.
2. Vučković N, Dickov A, Simonović P, Nikolić M, Saveljić Daragan J, Kovačević M, et al. Supstituciona terapija zavisnika od opijata. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2013.
3. Wiessing L, Ferri M, Grady B, Kantzanou M, Sperle I, Cullen KJ; EMCDDA DRID group, Hatzakis A, Prins M, Vickerman P, Lazarus JV, Hope VD, Matheï C. Hepatitis C virus infection epidemiology among people who inject drugs in Europe: a systematic review of data for scaling up treatment and prevention. *PLoS One*. 2014; 9 (7): e103345.
4. Camoni L, Regine V, Salfa MC, Nicoletti G, Canuzzi P, Magliocchetti N, et al. Continued high prevalence of HIV, HBV and HCV among injecting and noninjecting drug users in Italy. *Ann Ist Super Sanità* 2010; 46 (1): 59–65.
5. Gyarmathy VA, Neaigus A, Li N, Ujhelyi E, Caplinskiene I, Caplinskas S, Latkin CA. Infection disclosure in the injecting dyads of Hungarian and Lithuanian injecting drug users who self-reported being infected with hepatitis C virus or human immunodeficiency virus. *Scand J Infect Dis*. 2011; 43 (1): 32–42.
6. Ruan Y, Liang S, Zhu J, Li X, Pan SW, Liu Q, Song B, Wang Q, Xing H, Shao Y. Evaluation of harm reduction programs on seroincidence of HIV, hepatitis B and C, and syphilis among intravenous drug users in southwest China. *Sex Transm Dis*. 2013; 40 (4): 323–8.
7. Djukić Dejanović S, Borovčanin M. Principi tretmana zavisnika od opijata u Srbiji. In: Djukić Dejanović S, Nastasić P, editors. *Bolesti zavisnosti: savremena dostignuća u prevenciji, lečenju i rehabilitaciji*. Beograd: ECPD; 2015. p. 10–2.

8. Lausevic D, Begic S, Mugosa B, Terzic N, Vratnica Z, Labovic I, Bozicevic I. Prevalence of HIV and other infections and correlates of needle and syringesharing among people who inject drugs in Podgorica, Montenegro: a respondent driven sampling survey. *Harm Reduct J.* 2015; 12:2.
9. World Health Organization. International Classification of diseases (ICD-11) Available at <http://www.who.int/health-topics/international-classification-of-diseases>. Accessed on 07/07/2018.
10. Daragan Saveljić J, Dostanić N, Milašinović J. Rano otkrivanje i kratke intervencije u bolestima zavisnosti. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2013.
11. Lazarević J, Miletić J. Vrste i karakteristike psihoaktivnih supstanci. In: Jovanović M, ed. Anatomija adikcije. Medicinski fakultet u Kragujevcu; 2005. p. 39–79.
12. Nastasić P. Kako droge nađu svoj put do mozga? In: Nastasić P, ed. Bolesti zavisnosti u adolescenciji. Beograd: Publikum; 2011. p. 29–45.
13. Национално истраживање о стилевима живота становништва Србије 2014. године – коришћење психоактивних супстанци и игре на срећу, Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут”.
14. Comiskey, C., Dempsey, O. and Snel, A. (2011), Преваленција популација под повећаним ризиком од ХИВ инфекције у Републици Србији. Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут”.
15. Kovačević M. Ličnost zavisnika od supstanci. In: Kovačević M, ed. Ličnost alkoholičara I narkomana- komparativna analiza. Beograd: Srpska školska knjiga; 2003. p. 57–82.
16. Jerotić V. Ličnost pre uzimanja droge. In: Jerotić V, ed. Ličnost narkomana. Beograd: Ars Libri; 2006. p. 94–101.
17. Đoković D. Epidemiologija i etiologija narkomanije. In: Jovanović M, ed. Anatomija adikcije. Medicinski fakultet u Kragujevcu; 2005. p. 13–25.

18. Илић Б. Психилошки профил адолесцентних наркомана (магистарски рад). Београд 1998; Филозофски факултет.
19. Стојановић З. Коментар кривичног законика. Београд: Службени гласник 2006: 102.
20. Крстић Б. Судска психијатрија. Ниш: СКЦ 1996: 113.
21. Ћирић З. Судско-психијатријски аспект менталних поремећаја насталих злоупотребом дрога. Зборник радова Правног факултета у Нишу 2014; 68: 515–34.
22. АЛИМС. Упутство за лек метадон. Фебруар 2015: 1–10.
23. АЛИМС. Упутство за лек бупренорфин. Јун 2015: 1–8.
24. Стратегија о спречавању злоупотребе дрога за период 2014–2021. године. Влада Републике Србије. Службеном гласник Републике Србије, Београд; број: 515-16742/2014.
25. Trkuljić M, Borovčanin N, Vučetić D, Jovičić D. Transmisivne bolesti- Etiopatogeneza, testiranje na markere, inaktivacija patogena. In: Balint B, Trkuljić M, Todorović M, eds. Osnovni principi hemoterapije. Beograd: Čigoja štampa; 2010. p. 421–505.
26. Forouzanfar MH, Afshin A, Alexander LT, Anderson HR, Bhutta ZA, Biryukov S, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. Lancet 2016; 388: 1659–1724.
27. Nelson KE, Vlahov D, Cohn S, Odunmbaku M, Lindsay A, Antohony JC, et al. Sexually transmitted diseases in a population of intravenous drug users: Association with seropositivity to the Human Immunodeficiency Virus (HIV). Journal of Infectious Diseases 1991; 164(3): 457–63.
28. Ross MW, Hwang LY, Zack C, Bull L, Williams ML. Sexual risk behaviours and STIs in drug abuse treatment populations whose drug of choice is crack cocaine. International Journal of STD & AIDS 2002; 13(11): 769–74.

29. Ruan Y, Cao X, Qian H, Zhang L, Qin G, Jiang Z, et al. Syphilis among female sex workers in southwest China: Potential for HIV transmission. *Sexually Transmitted Diseases* 2006; 33(12): 719–23.
30. Steinbrook R. HIV in India—A complex epidemic. *New England Journal of Medicine* 2007; 356(11): 1089–93.
31. Lyles CM, Kay LS, Crepaz N, Herbst JH, Passin WF, Kim AS, et al. Best evidence interventions: Findings from a systematic review of HIV behavioral interventions for US populations at high risk, 2000–2004. *American Journal of Public Health* 2007; 97(1): 133–43.
32. Phipps W, Stanley H, Kohn R, Stansell J, Klausner JD. Syphilis, chlamydia, and gonorrhea screening in HIV-infected patients in primary care, San Francisco, California, 2003. *AIDS Patient Care and STDs*. 2005; 19(8): 495–8.
33. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A ‘new’ antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 191: 541–6.
34. Dwyre DM, Holland PV. Hepatitis viruses. In: Barbara JAJ, Regan FAM, Contreras MC, eds. *Transfusion Microbiology*. New York: Cambridge University Press; 2008. p. 9–23.
35. Zarski JP, Ganem D, Wright TL. Hepatitis B virus. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical Virology*. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 623–57.
36. Andre F. Hepatitis B epidemiology in Asia, the Middle East, and Africa. *Vaccine* 2000; 18: S20–S22, 35.
37. Previsani N, Lavanchy D, Siegl G. Hepatitis A. In: Mushahwar IK, editor. *Viral Hepatitis: Molecular Biology, Diagnosis, Epidemiology and Control (Perspectives in Medical Virology, volume 10)*. Amsterdam: Elsevier; 2004. p. 1–98.
38. Institute of Public Health of Serbia „Dr Milan Jovanovic Batut“. *Health Statistical Yearbooks of Republic of Serbia 2005–2012* Available at <http://www.batut.org.rs/download/publikacije>. Accessed on 13/05/2014.

39. Vucetic D, Kecman G, Ilic V, Balint B. Blood donors' positivity for transfusion-transmissible infections: the Serbian Military Medical Academy experience. *Blood Transfus* 2015; 13 (4): 569–75.
40. Amon JJ. Hepatitis in drug users: time for attention, time for action. *Lancet* 2011; 378: 543–4.
41. Honarvar B, Odoomi N, Moghadami M, Kazerooni PA, Hassanabadi A, Dolatabadi PZ, et al. Blood-Borne Hepatitis in Opiate Users in Iran: A Poor Outlook and Urgent Need to Change Nationwide Screening Policy. *PLoS One* 2013; 8(12): e82230.
42. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359–62.
43. Quer J, Mur JIE. Hepatitis C virus: epidemiology. In: Thomas HC, Lemon S, Zuckerman AJ, editors. *Viral Hepatitis*. Malden, MA: Blackwell; 2005. p. 407–25.
44. Garnier, L., Inchauspe, G. and Trepo, C. (2002) Hepatitis C virus. In *Clinical Virology*, eds D. D. Richman, R. J. Whitley, F. G. Hayden, pp. 1153–76. Washington DC, ASM Press.
45. European Center for Disease Prevention and Control. Hepatitis C Surveillance in Europe—Stockholm: ECDC; 2015. Available online at: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/hepatitis_C/Pages/AnnualEpidemiologicalReport.aspx#sthash.nRp4gu4L.dpuf.
46. Cooke GS, Lemoine M, Thursz M, Gore C, Swan T, Kamarulzaman A, et al. Viral hepatitis and the Global Burden of Disease: a need to regroup. *J. Viral Hepat.* 2013; 20: 600–1.
47. Mosley JW, Operskalski EA, Tobler LH, Andrews WW, Phelps B, Dockter J, et al. Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2005; 42: 86–92.
48. Wang H, Wolock TM, Carter A, Nguyen G, Kyu HH, Gakidou E, et al. Estimates of global, regional, and national incidence, prevalence, and mortality of HIV, 1980–2015: the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 3: 361–87.

49. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2016). HepatitisC among Drug Users in Europe: Epidemiology, Treatment and Prevention. Luxembourg: Publications Office of the European Union. EMCDDA Insights.
50. Dow BC, Fiebig EW, Busch MP. Retroviruses. In: Barbara JAJ, Regan FAM, Contreras MC, eds. Transfusion Microbiology. New York: Cambridge University Press; 2008. p. 59–65.
51. Delwart EL, Orton S, Parekh B, Dobbs T, Clark K, Busch MP, et al. Two per cent of HIV–positive US blood donors are infected with non–subtype–B strains. *AIDS Res & Hum Retrovir* 2003; 19: 1065–70.
52. Parry JV, Murphy G, Barlow KL, Lewis K, Rogers PA, Belda FJ, et al. National surveillance of HIV–1 subtypes for England and Wales: design, methods and initial findings. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 26: 381–8.
53. Simon F, Loussertjaka I, Damond F, Saragosti S, Barin F, Brun-Ve' zinet F, et al. HIV type 1 diversity in northern Paris, France. *Aids Res Hum Retroviruses* 1996; 12: 1427–33.
54. Pellett PE, Wright DJ, Engels EA, Ablashi DV, Dollard SC, Forghani B, et al. Multicenter comparison of serologic assays and estimation of human herpesvirus 8 seroprevalence among US blood donors. *Transfusion* 2003; 43: 1260–68.
55. Sharp PM, Bailes E, Chaudhuri RR, Rodenburg CM, Santiago MO, Hahn BH, et al. The origins of acquired immune deficiency syndrome viruses: where and when? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356: 867–76.
56. Janssens W, Buve A, Nkengasong JN. The puzzle of HIV–1 subtypes in Africa. *AIDS* 1997; 11: 705–12.
57. Adler MW, ABC of AIDS: development of the epidemic. *BMJ* 2001; 322: 1226–9.
58. Operskalski EA, Stram DO, Busch MP, Huang W, Harris M, Dietrich SL, et al. Role of viral load in heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1 by blood transfusion recipients. *Amer J Epid* 1997; 146: 655–61.

59. Busch MP, Operskalski EA, Mosley JW, Lee TH, Henrard D, Herman S, et al. and the Transfusion Safety Study Group Epidemiological background and long-term course of disease in human immunodeficiency virus type 1-infected blood donors identified before routine laboratory skrining. *Transfusion* 1994; 34: 858–64.
60. Egglestone SI, Turner AJL. for the PHLIS Syphilis Serology Working Group Serological diagnosis of syphilis. *Commun Dis Public Health* 2000; 3: 158–62.
61. World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections overview and estimates. 2001.
62. Coffin LS, Newberry A, Hagan H, Cleland CM, Des Jarlais DC, Perlman DC. Syphilis in drug users in low and middle income countries. *International Journal of Drug Policy* 2010; 21: 20–7.
63. Rhodes T, Platt L, Maximova S, Koshkina E, Latishevskaya N, Hickman M, et al. Prevalence of HIV, hepatitis C and syphilis among injecting drug users in Russia: a multi-city study. *Society for the Study of Addiction, Addiction*, 2016; 101: 252–66.
64. Patel D, Desai GM, Frases S, Cordero RJB, DeLeon-Rodriguez CM, Eugenin EA, Nosanchuk JD, et al. Methamphetamine Enhances *Cryptococcus neoformans* Pulmonary Infection and Dissemination to the Brain. *MBio*. 2013. 4 (4): e00400–13.
65. Esher SK, Zaragoza O, Alspaugh JA. Cryptococcal pathogenic mechanisms: a dangerous trip from the environment to the brain. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018. 113(7): e180057.
66. Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med*. 2012; 4(165): 165rv13.
67. Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17(8): 873–81.
68. Casadevall A, Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. Washington DC: ASM Press; 1998.

69. Baddley JW, Perfect JR, Oster RA, Larsen RA, Pankey GA, Henderson H, et al. Pulmonary cryptococcosis in patients without HIV infection: factors associated with disseminated disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2008; 27(10): 937–43.
70. Maziarz EK, Perfect JR. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2016; 30(1): 179–206.
71. Bratton EW, El Husseini N, Chastain CA, Lee MS, Poole C, Stürmer T, et al. Comparison and temporal trends of three groups with cryptococcosis: HIV-infected, solid organ transplant, and HIV-negative/non-transplant. *PLoS One*. 2012; 7(8): e43582.
72. Casadevall A, Coelho C, Alanio A. Mechanisms of *Cryptococcus neoformans*-Mediated Host Damage. *Frontiers in Immunology*. 2018; 9: doi: 10.3389/fimmu.2018.00855.
73. Guess TE, Rosen JA, McClelland EE. An Overview of Sex Bias in *C. neoformans* Infections. *Journal of Fungi*. 2018; 49: doi:10.3390/jof4020049.
74. Hajjeh RA, Brandt ME, Pinner RW. Emergence of cryptococcal disease: Epidemiologic perspectives 100years after its discovery. *Epidemiol. Rev*. 1995; 17:303–20.
75. Fungal Disease Frequency. Global Action Fund for Fungal Infections website. <http://www.gaffi.org/why/fungal-disease-frequency>. Accessed on 11 December 2017.
76. Alangaden GJ, Thyagarajan R, Gruber SA, et al. Infectious complications after kidney transplantation: current epidemiology and associated risk factors. *ClinTransplant*. 2006; 20 (4): 401–9.
77. Monnet X, Vidal-Petiot E, Osman D, et al. Critical care management and outcome of severe *Pneumocystis pneumonia* in patients with and without HIV infection. *Crit Care*. 2008; 12 (1): 28.
78. De Boer MGJ, Kroon FP, Le Cessie S, De Fijter JW, Van Dissel JT. Risk factors for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplant recipients and appraisal of strategies for selective use of chemoprophylaxis. *Transpl Infect Dis*. 2011; 13: 559–69.

79. Buchacz K, Baker RK, Palella Jr FJ, Chmiel JS, Lichtenstein KA, Novak RM, Wood KC, Brooks JT, Investigators H. AIDS-defining opportunistic illnesses in US patients, 1994-2007: a cohort study. *AIDS*. 2010; 24(10): 1549–59.
80. Powell K, Davis JL, Morris AM, Chi A, Bensley MR, Huang L. Survival for patients With HIV admitted to the ICU continues to improve in the current era of combination antiretroviral therapy. *Chest*. 2009; 135(1):11–17.
81. Morris A, Norris KA. Colonization by *Pneumocystis jirovecii* and its role in disease. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25(2):297–317.
82. Bienvenu AL, Traore K, Plekhanova I, Bouchrik M, Bossard C, Picot S. *Pneumocystis pneumonia* suspected cases in 604 non-HIV and HIV patients. *Int J Infect Dis*. 2016;46:11–17.
83. Campbell GL, Martin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 519–29.
84. Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O'Leary D, Murray K, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med* 2001; 344: 1807–14.
85. Anonymous. Provisional surveillance summary of the West Nile virus epidemic – United States, January–November 2002. *MMWR* 2002; 51: 1129–33.
86. Vasiljević N. Transfuzijski transmisivne bolesti. In: Balint B, editor. *Transfuziologija*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2004. p. 665–84.
87. Yugi H, Hino S, Satake M, et al. Implementation of donor screening for infectious agents transmitted by blood by nucleic acid technology in Japan. *Vox Sanguinis*, 2005; 89: 265.
88. Yoshikawa A. , Gotanda Y. , Itabashi M. Hepatitis B NAT virus- positive blood donors, in the early and late stage of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sanguinis*, 2005; 88: 77–86.
89. Borovčanin N. Molekulske tehnike u transfuziologiji. *Specijalistički rad*. 2006.

90. Biswas R, Tabor E, Hsia CC, Wright DJ, Laycock ME, Fiebig EW, et al. Comparative sensitivity of HBV nucleic acid tests and HBsAg assays for detection of acute HBV infections. *Transfusion* 2003; 43: 788–98.
91. World Health Organization. Hepatitis B surface antigen assays: operational characteristics. Geneva: World Health Organization; 2001.
92. Brojer E. Implementation of donor skrining for infectious agents transmitted by blood by nucleic acid technology in Poland. *Vox Sang* 2005; 89: 267–8.
93. Roth WK, Seifried E. The German experience with NAT. *Transfus Med* 2002; 12: 255–8.
94. Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. Detection of HIV–1 and HCV infections among antibody–negative blood donors by nucleic acid amplification testing. *N Eng J Med* 2004; 351: 760–8.
95. Stramer SL. Pooled HBV DNA testing by nucleic acid amplification: implementation or not. *Transfusion* 2005; 45: 1242–6.
96. Kleinman SH, Strong DM, Tegtmeier GG, Holland PV, Gorlin JB, Cousins C, et al. Hepatitis B virus (HBV) DNA skrining of blood donations in mini–pools with the COBAS AmpliScreen HBV test. *Transfusion* 2005; 45: 1247–57.
97. Kleinman SH, Busch MP. HBV: amplified and back in the blood safety spotlight. *Transfusion* 2001; 41: 1081–5.
98. Comanor L, Holland P. Hepatitis B virus blood testing: unfinished agendas. *Vox Sang* 2006; 91: 1–12.
99. Balint B, Vucetic D, Todorovic-Balint M, Borovcanin N, Jovanovic-Cupic S, Mandusic V. Safety improving by complementary serological and molecular testing combined with pathogen reduction of the donated blood in window period (Letter). *Transfusion and Apheresis Science* 2013; 49: 103–4.

100. Klein HG. Pathogen inactivation technology: cleansing the blood supply. *J Intern Med* 2005; 257: 224–37.
101. Laperche S, Le Marrec N, Simon N, Bouchardeau F, Defer C, Maniez– Montreuil M, et al. A new HCV core antigen assay based on disassociation of immune complexes: an alternative to molecular biology in the diagnosis of early HCV infection. *Transfusion* 2003; 43: 958–62.
102. Gonzalez M, Regine V, Piccinini V, Vulcano F, Giampaolo A, Hassan HJ, et al. Residual risk of transfusion–transmitted human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus infections in Italy. *Transfusion* 2005; 45: 1670–5.
103. Jarvis LM, Dow BC, Cleland A, Davidson F, Lycett C, Morris K, et al. Detection of HCV and HIV–1 antibody negative infections in Scottish and Northern Ireland blood donations by nucleic acid amplification testing. *Vox Sang* 2005; 89: 128–34.
104. Koppelman MH, Sjerps MC, Reesink HW, Cuypers HT. Evaluation of COBAS AmpliPrep nucleic acid extraction in conjunction with COBAS AmpliScreen HBV DNA, HCV RNA and HIV–1 RNA amplification and detection. *Vox Sang* 2005; 89:193–200.
105. Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, 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: 254–64.
106. Weusten JJAM, van Drimmelen HAJ, Lelie PN. Mathematic modeling of the risk of HBV, HCV and HIV transmission by window–phase donations not detected by NAT. *Transfusion* 2002; 42: 537–48.
107. Dodd RY, Notari EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window–period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 2002; 42: 975–9.
108. Glynn SA, Kleinman SH, Wright DJ, Busch MP. International application of the incidence rate/window period model. *Transfusion* 2002; 42: 966–72.

109. Bharucha ZS. Risk management strategies for HIV in blood transfusion in developing countries. *Vox Sang* 2002; 83 (Suppl. 1): 167–71.
110. Murphy EL, Fridey J, Smith JW, Engstrom J, Sacher RA, Miller K, et al. HTLV-associated myelopathy in a cohort of HTLV-I and HTLV-II-infected blood donors. The REDS investigators. *Neurology* 1997; 48: 315–20.
111. Zhang N, Park YD, Williamson PR. New technology and resources for cryptococcal research. *Fungal Genet Biol.* 2015; 78: 99–107.
112. Atzori C, Angeli E, Agostoni F et al. Biomolecular techniques to detect *Pneumocystis carini* f. sp. hominis pneumonia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Int J Infect Dis* 1998; 3: 76–81.
113. Huang SN, Fischer SH, O'Shaughnessy E et al. Development of a PCR assay for diagnosis of *Pneumocystis carini* pneumonia based on amplification of the multicopy major surface glycoprotein gene family. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 35: 27–32.
114. Torres J, Goldman M, Wheat LJ. Diagnosis of *Pneumocystis carini* pneumonia in human immunodeficiency virus-infected patients with polymerase chain reaction: a blinded comparison to standard methods. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 141–145.
115. Barry SM, Johnson MA. *Pneumocystis carini* pneumonia: a review of current issues in diagnosis and management. *British HIV Association HIV Medicine.* 2001; 2: 123–132.
116. Allain PJ. Emerging Viruses in Transfusion. In: Barbara JAJ, Regan FAM, Contreras MC, eds. *Transfusion Microbiology.* New York: Cambridge University Press; 2008. p. 75–86.
117. Stramer SL. Current Risks of Transfusion-Transmitted Agents. *Arc Path Lab Med* 2007; 131: 702–7.
118. Peterson LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile Virus: Review of the Literature. *JAMA* 2013; 3: 308–15.

119. Roche Molecular Systems, Inc. COBAS TaqScreen West Nile Virus Test. Copyright 2010: 1–32.
120. Simon R, Donmall M, Hartnoll R, Kokkevi A, Ouwehand AW, Stauffacher M, et al. The EMCDDA/Pompidou Group treatment demand indicator protocol: a European core item set for treatment monitoring and reporting. *Eur Addict Res* 1999; 5(4): 197–207.
121. Borovčanin N, Vučetić D, Jocić M, Jovičić D, Balint B. Osnovni principi NAT tehnologije sa osvrtom na rezultate rada. *Bilt Transfusiol* 2011; 56: 99–107.
122. El-Sokkary RH, Tash RME, Meawed TE, El-Seifi OS, Mortada EM. Detection of hepatitis C virus (HCV) among health care providers in an Egyptian university hospital: different diagnostic modalities. *Infect Drug Resist*. 2017; 10: 357–64.
123. Borovcanin N, Ristanovic E, Todorovic M, Borovcanin M, Jovanovic M, Balint B. The use of complementary serological and molecular testing for blood-borne pathogens and evaluation of socio-demographic characteristics of intravenous drug users on substitution therapy from Shumadia District of Serbia. *Vojnosanitetski pregled*, 2017 OnLine-First (00):129-129. <https://doi.org/10.2298/VSP170814129B>.
124. Goulao J, Götz W and European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Annual Report 2012: The state of the drug problem in Europe. Lisbon: EMCDDA; 2012.
125. Mele A, Tosti ME, Spada E. Epidemiology of acute viral hepatitis: twenty years of surveillance through SEIEVA in Italy and a review of the literature. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006 (Rapporti ISTISAN, 06/12). Available from: <http://www.iss.it/publ/rapp/cont.php?id=1963&lang=1&tipo=5&anno=2006>; last visited 20/7/09.
126. Busch M, Glynn S, Stramer S, Orland J, Murphy E, Wright D, et al. Correlates of hepatitis C virus (HCV) RNA negativity among HCV- seropositive blood donors. *Transfusion* 2006; 46(3): 469–75.

127. Kuhns MC, Kleinman SH, McNamara AL, Rawal B, Glynn S, Busch MP. Lack of correlation between HBsAg and HBV DNA levels in blood donors who test positive for HBsAg and anti-HBc: implications for future HBV screening policy. *Transfusion* 2004; 44(9): 1332–9.
128. Zamania S, Radfarb R, Nematollahic P, Fadaiee R, Meshkatic M, Mortazavia S, et al. Prevalence of HIV/HCV/HBV infections and drug-related risk behaviours amongst IDUs recruited through peer-driven sampling in Iran. *Int J Drug Policy* 2010; 21(6): 493–500.
129. Wales N. A review of viral hepatitis in injecting drug users and assessment of priorities for future activities. Geneva: WHO; 2009.
130. Ilić D. Narkomanija i sida. In: Milovanović D, Sakoman S, Mičić J, Dimitrijević I, eds. *Bolesti zavisnosti*. Beograd: ECPD; 2004. p. 137–42.
131. Wang LJ, Lin SK, Chiang SC, Su LW, Chen CK. Risk Factors for HIV, Viral Hepatitis, and Syphilis among Heroin Users in Northern Taiwan. *Substance Use & Misuse*, 2013; 48: 89–98.
132. Jakovljevic M, Mijailovic Z, Popovska Jovicic B, Canovic P, Gajovic O, Jovanovic M, et al. Assessment of Viral Genotype Impact to the Cost-Effectiveness and Overall Costs of Care for Peg-Interferon-2 α + Ribavirine Treated Chronic Hepatitis C Patients. *Hepat Mon.* 2013; 13(6): e6750.

8. ПРИЛОЗИ

Прилог 1 Помпиду упитник

OSNOVNI PODACI O ZAVISNICIMA U PROGRAMU LEČENJA – TDI/POMPIDOUPITNIK –

USTANOVA LEČENJA	KOD (ŠIFRA) KLIJENTA <input type="text"/>
-------------------------	--

PODACI KLIJENTA	
anonimno/nadimak <input type="checkbox"/>	
1. Ime	2. Prezime
3. Pol 1 – muški 2 – ženski 0 – ostalo	4. Godina rođenja <input type="text"/>
5. Opština stanovanja*	6. Poštanski broj opštine stanovanja <input type="text"/>
7. Državljanstvo* 1. RS 2. druge zemlje 0. nepoznato	8. Datum javljanja na sadašnje lečenje <input type="text"/>
1. RS 2. druge zemlje 0. nepoznato	9. Datum završetka lečenja <input type="text"/>

EPIZODA LEČENJA - GLAVNA:		
10. Tipovi centara/programa za lečenje (višestruki izbor) 1. Centar/program za ambulantno lečenje 2. Centar/program za bolničko lečenje 3. Odeljenja za lečenje u zatvoru 4. Lekari opšte prakse 5. Služba za socijalnu pomoć 6. Terapeutske zajednice 7. ostalo 0. nepoznato	14. Upućen/a od 1. lično 2. porodice 3. prijatelja 4. druge službe za prevenciju i vanbolničko lečenje zavisnosti 5. lekara primarne zdravstvene zaštite 6. bolnice – druge medicinske ustanove 7. Centra za socijalnu pomoć 8. suda / policije 9. drugo 0. nepoznato	17. Vrste programa (višestruki izbor) 1. farmakoterapija/supstituciona terapija 2. psihoterapija 3. savetovanje 4. kratka intervencija 5. porodična terapija/porodično savetovanje 6. društveni rad/socijalna podrška 7. podela sterilnih špricava i igala 8. testiranje na zarazne bolesti 9. upućen u zdravstvenu ustanovu za bolesti zavisnosti 10. upućen u drugu zdravstvenu ustanovu 11. lečenje nije započeto niti je upućen 12. ostalo 0. nepoznato
11. Vrsta kontakta 1. novi klijent 2. stari klijent 0. nepoznato	15. Vrsta lečenja unutar ustanove (višestruki izbor) 1. detoksikacija 2. supstituciona terapija održavanja 3. druge vrste lečenja zavisnosti uz pomoć medikamenata (MAT) 4. lečenje zavisnosti bez farmakoterapije 5. savetovanje 6. krizne intervencije 7. upućen u drugu zdravstvenu ustanovu bez intervencije 8. ostalo 0. nepoznato	18. Terapija supstitutima opijata (OST) Uzrast kod prve OST <input type="text"/> 1. nikada nije bio u OST 0. nepoznato
12. Datum prvog lečenja zbog konzumiranja droga/zavisnosti od droga <input type="text"/> 1. nikada prethodno lečen/a 0. nepoznato	16. Ako je detoksikacija, OST ili farmakoterapija, koja supstanca? 1. metadon 2. buprenorfin 3. morfin 4. naltrexone 5. klonidin 6. trodon 7. ostalo 0. nepoznato	
13. Datum završetka zadnje epizode prethodnog lečenja <input type="text"/> 1. nikada prethodno lečen/a 0. nepoznato		

INFORMACIJE O PORODICI	
19. Bračni status roditelja 1. u braku (prvi brak) 2. u braku (drugi brak) 3. razveden/a 4. klijent je vanbračno dete 5. udovac/udovica 6. oba roditelja umrla 7. usvojeno dete 0. nepoznato	20. Psihički poremećaji u porodici (MKB-10) a) otac <input type="checkbox"/> b) majka <input type="checkbox"/> c) braća/sestre <input type="checkbox"/> d) bliži rođaci <input type="checkbox"/> Mogući poremećaji: 1. Alkoholizam - F10.2; 2. Zavisnost od psihoaktivnih supstanci - F11-F19; 3. Shizofrenija, shizotipni i sumanutni poremećaji - F20-F29 4. Afektivni poremećaji - F30-F39 5. Suicid - X60-X84 6. Ostalo 7. nema/negira. 0. nepoznato 8. nema braće/sestara 9. nema bliže rođake

POZADINA PROBLEMA

21. Ko je prvi otkrio problem sa zavisnošću?

1. policija
2. član porodice
3. zdravstveni radnik
4. neko od osoblja škole koju pohađa ili je pohađao
5. neko na radnom mestu
6. neko drugi – prijatelj, poznanik
7. ostalo
0. nepoznato

22. Nakon koliko vremena su roditelji saznali za problem sa zavisnošću?

1. tokom prve godine
2. nakon 1. godine
3. nakon 2 – 3 godine
4. nakon 4 godine i više
5. roditelji ili rođaci za to ne znaju
6. roditelji umrli, ne zna za roditelje
0. nepoznato

25.
26.

23. Povod početka eksperimentisanja

1. želja za samopotvrđivanjem (da se napravi važan)
2. uticaj vršnjaka ili partnera
3. problemi u porodici
4. problemi u školi
5. psihološki razlozi (depresija, neuroza ili mladenačka nesigurnost)
6. dosada
7. zabava
8. znatiželja
9. neznanje o mogućim štetnim posledicama
0. nepoznato

27.

29.
30.

Por

24. Proceniti dominantni etiološki faktor za razvoj zavisnosti (procena anketara, višestruki izbor)

1. patologija porodice (raspad porodice, alkoholizam, itd)
2. neadekvatno vaspitanje u "normalnoj porodici" (kriza usled neresenog razdvajanja, poremećaj komunikacije)
3. uticaj mikrosocijalne okoline na koju porodica nije imala uticaja ("društvo", partner)
4. stres (tragični događaj, težak životni neuspeh, bolest)
5. verifikovani PTSD
6. primarni psihički poremećaj, depresija, poremećaj ličnosti (biološka ili psihološka predispozicija)
7. životna filozofija, hedonizam, način zabave
8. neznanje, pogrešna procena samokontrole
0. nepoznato

USLOVI ŽIVOTA

25a. Životni status (sa kim živi) početak

1. živi sam
2. s primarnom porodicom (roditelji)
3. sa partnerom
4. sa partnerom i decom
5. sa decom
6. sa prijateljima i drugim ljudima-bez rodbinske veze
7. u pritvoru
8. u institucijama/svratištima
9. drugo
0. nepoznato

25b. Životni status (sa kim živi) trenutno

1. živi sam
2. s primarnom porodicom (roditelji)
3. sa partnerom
4. sa partnerom i decom
5. sa decom
6. sa prijateljima i drugim ljudima-bez rodbinske veze
7. u pritvoru
8. u institucijama/svratištima
9. drugo
0. nepoznato

26a. Sadašnji uslovi života(gde) početak

1. stalna adresa
2. privremena adresa
3. u zatvoru
4. u instituciji za lečenje/klinici
5. beskućnik
0. nepoznato

26b. Životni status (gde) trenutno

1. stalna adresa
2. privremena adresa
3. u zatvoru
4. u instituciji za lečenje/klinici
5. beskućnik
0. nepoznato

27a. Živi s drugim uživaocima droga početak

1. da
2. ne
0. nepoznato

27b. Živi s drugim uživaocima droga trenutno

1. da
2. ne
0. nepoznato

28a. Radni status - početak

1. stalni radni odnos
2. privremeni ili honorarni posao
3. nezaposlen, ne radi ništa
4. radi na crno
5. učenik
6. student
7. penzioner
8. domaćica
9. samostalna delatnost
10. prima socijalnu pomoć/invalid
0. nepoznato

28b. Radni status-trenutno

1. stalni radni odnos
2. privremeni ili honorarni posao
3. nezaposlen, ne radi ništa
4. radi na crno
5. učenik
6. student
7. penzioner
8. domaćica
9. samostalna delatnost
10. prima socijalnu pomoć/invalid
0. nepoznato

29. Stepen obrazovanja

1. nezavršena osnovna škola
2. završena osnovna škola
3. nezavršena srednja škola
4. završena srednja škola
5. nezavršena viša škola ili fakultet
6. završena viša škola
7. završen fakultet
8. drugo
0. nepoznato

30a. Bračni status – početak

1. u braku (prvi brak)
2. u braku (drugi brak)
3. neudata / neoženjen
4. razveden/a
5. udovac / udovica
6. vanbračna zajednica
0. nepoznato

30b. Bračni status-trenutno

1. u braku (prvi brak)
2. u braku (drugi brak)
3. neudata / neoženjen
4. razveden/a
5. udovac / udovica
6. vanbračna zajednica
0. nepoznato

31. Broj maloletne dece

1. nema decu
0. nepoznato

32. Sa koliko maloletne dece klijent živi

1. nema decu
0. nepoznato

33a. Materijalni status klijenta (subjektivna procena ispitanika) -početak

1. nadprosečan
2. prosečan
3. ispodprosečan
4. egzistencijalno ugrožen
0. nepoznato

33b. Materijalni status klijenta (subjektivna procena ispitanika)-trenutno

1. nadprosečan
2. prosečan
3. ispodprosečan
4. egzistencijalno ugrožen
0. nepoznato

SUDSKI PROBLEMI

34. Prvi put prekršio/la zakon:

1. pre uzimanja bilo kakvog sredstva
2. nakon što je počeo/la uzimati sredstva zavisnosti
3. nije počinio
0. nepoznato

35. Raniji zakonski problemi

1. nije ih imao/la
2. imao/la u vezi sa sredstvima zavisnosti
3. imao/la ali ne u vezi sa sredstvima zavisnosti
0. nepoznato

36. Vrste ranijih zakonskih problema (višestruki izbor)

1. kažnjavan/a prekršajno
2. bio/la u pritvoru
3. kažnjavan/a uslovnom kaznom
4. kažnjavan/a zatvorskom kaznom
5. bio/bila u zatvoru više puta
6. mera obaveznog lečenja
0. nepoznato

37a. Sadašnji problemi sa zakonom početak

1. nema
2. ima, u vezi sa sredstvima zavisnosti
3. ima, ali nisu u vezi sa sredstvima zavisnosti
0. nepoznato

37b. Sadašnji problemi sa zakonom trenutno

1. nema
2. ima, u vezi sa sredstvima zavisnosti
3. ima, ali nisu u vezi sa sredstvima zavisnosti
0. nepoznato

38a. Vrste sadašnjih zakonskih problema početak

1. započeta istraga
2. u toku je sudski proces
3. očekuje izvršenje kazne
4. pod uslovnom je kaznom
5. nalazi se u pritvoru
6. nalazi se u zatvoru
7. mera obaveznog lečenja
0. nepoznato

38b. Vrste sadašnjih zakonskih problema trenutno

1. započeta istraga
2. u toku je sudski proces
3. očekuje izvršenje kazne
4. pod uslovnom je kaznom
5. nalazi se u pritvoru
6. nalazi se u zatvoru
7. mera obaveznog lečenja
0. nepoznato

39a. Mera obaveznog lečenja početak

1. nikada izricana
2. izricana i još traje
3. izricana i završena
0. nepoznato

39b. Mera obaveznog lečenja trenutno

1. nikada izricana
2. izricana i još traje
3. izricana i završena
0. nepoznato

40a. Mera izricana od maloletničkog suda početak

1. nikada izricana
2. bila izrečena
3. sada je pod merom
0. nepoznato

40b. Mera izricana od maloletničkog suda trenutno

1. nikada izricana
2. bila izrečena
3. sada je pod merom
0. nepoznato

ZDRAVSTVENO STANJE

41. Psihički poremećaji i druge hronične bolesti pacijenta (višestruki izbor) :

1. nema/negira 0. nepoznato

1.alkoholizam F10.2; 2.zavisnost od psihoaktivnih supstanci F11- F 19;
3.shizofrenija, šizotipni sumanutni poremećaji F20 – F29; 4.afektivni poremećaji F30 – F39;
5. suicid X60 – X84;
druge psihijatrijske dijagnoze (F__.)
druge neurološke dijagnoze (G__.)
druge važne dijagnoze (____)

42. Testiranje na HIV

1. nije testiran/a
2. da, ali ne u poslednjih 12 meseci
3. da, u poslednjih 12 meseci
4. ne želi da odgovori
0. nepoznato

43. Ako je HIV testiran/a

1. test pozitivan
2. test negativan
3. ne želi da odgovori
0. nepoznato

44. Testiranje na Hepatitis C

1. nije testiran/a
2. da, ali ne u poslednjih 12 meseci
3. da, u poslednjih 12 meseci
4. ne želi da odgovori
0. nepoznato

45. Ako je HCV testiran

1. test pozitivan
2. test negativan
3. ne želi da odgovori
0. nepoznato

46. Testiranje na Hepatitis B

1. nije testiran/a
2. da, ali ne u poslednjih 12 meseci
3. da, u poslednjih 12 meseci
4. ne želi da odgovori
0. nepoznato

47. Ako je HBV testiran

1. test pozitivan
2. test negativan
3. ne želi da odgovori
0. nepoznato

48. Vakcinisan/a protiv hepatitisa B (najmanje jedna doza)

--	--	--	--	--

1. ne
0. nepoznato

SREDSTVA ZAVISNOSTI

49. Supstanca (višestruki izbor)

Opioidi

- 11 heroin
- 12 metadon
- 13 buprenorfin
- 14 fentanil
- 15 čaj od maka
- 16 drugi opioidi

Kokain

- 21 prah kokaina HCl
- 22 krek kokain
- 23 drugi kokain

Drugi stimulansi

- 31 amfetamin
- 32 metamfetamin
- 33 MDMA i derivati
- 34 mefedron
- 35 drugi stimulansi

Hipnotici i sedativi

- 41 barbiturati
- 42 benzodiazepan
- 43 GHB/GBL
- 44 drugi hipnotika i sedativa

Halucinogene droge

- 51 LSD
- 52 ketamin
- 53 drugi halucinogeni

60. Isparljivi inhalanti

- 70. Kanabis
- 80. Alkohol

ostale supstance _____
ostale supstance _____

00. nepoznato

supstanca 1 supstanca 4
supstanca 2 supstanca 5
supstanca 3 supstanca 6

50a. Način uzimanja - početak

- 1. injekcijom
- 2. puši/udiše
- 3. jede/pije
- 4. ušmrkava
- 5. drugi načini
- 0. nepoznato

supstanca 1 supstanca 4
supstanca 2 supstanca 5
supstanca 3 supstanca 6

50b. Način uzimanja-trenutno

- 1. injekcijom
- 2. puši/udiše
- 3. jede/pije
- 4. ušmrkava
- 5. drugi načini
- 0. nepoznato

supstanca 1 supstanca 4
supstanca 2 supstanca 5
supstanca 3 supstanca 6

51. Učestalost uzimanja (poslednjih 30 dana)

- 1. svakodnevno
- 2. 4-6 dana u nedelji
- 3. 2-3 dana u nedelji
- 4. jednom nedeljno ili manje
- 5. ne koristi u poslednjih 30 dana
- 6. nepoznato

supstanca 1 supstanca 4
supstanca 2 supstanca 5
supstanca 3 supstanca 6

52. Uzrast prvog uzimanja (višestruki izbor)

00. nikada nije koristio/la

supstanca 1 supstanca 4
supstanca 2 supstanca 5
supstanca 3 supstanca 6

53. Uzrast redovnog uzimanja (višestruki izbor)

00. nikada nije redovno koristio/la

supstanca 1 supstanca 4
supstanca 2 supstanca 5
supstanca 3 supstanca 6

RIZIČNO PONAŠANJE

54. Da li ima problem sa korišćenjem više vrsta droga istovremeno

- 1. da
- 2. ne
- 0. nepoznato

57. Je li ikad koristio/la zajednički pribor

- 1. ne
- 2. da
- 3. ne želi da odgovori
- 0. nepoznato

55. Uzrast prvog intravenskog uzimanja droge (bilo koje droge)

- 1. Nikada
- 2. Ne želi da odgovori
- 0. Nepoznato

58. Ako je koristio/la, nevesti kada

- 1. da, ali ne u poslednjih 12 meseci
- 2. da u poslednjih 12 meseci, ali ne u poslednjih 30 dana
- 3. da u poslednjih 30 dana
- 0. nepoznato

59. Da li se ikada predozirao/la

- 1. ne
- 2. da, jednom
- 3. da, više puta
- 0. nepoznato

56. Ako je ikada uzimao injektiranjem, navesti kada

- 1. da, ali ne u poslednjih 12 meseci
- 2. da u poslednjih 12 meseci, ali ne u poslednjih 30 dana
- 3. da u poslednjih 30 dana

60. Da li je zbog predoziranja završio/la u zdravstvenoj ustanovi

- 1. ne
- 2. da, jednom
- 3. da, više puta
- 0. nepoznato

KRAJ EPIZODE

61. Razlog završetka lečenja

1. završeno shodno planu lečenja
2. upućen/a u drugi centar za lečenje/program
3. disciplinarno okončanje
4. formalni završetak po zahtevu pacijenta
5. završetak usled gubitka kontakta sa pacijentom
6. u pritvoru
7. umro/umrla
8. samoinicijativno prekinuo/la lečenje
0. nepoznato

62. Problemi/simptomi poslednjeg dana lečenja

1. uspešno
2. poboljšano
3. nepromenjeno
4. umanjeno
0. nepoznato

63. Psihološko stanje (anksioznost, depresija, emocionalni problem, itd.)

1. bolje
2. isto
3. lošije
0. nepoznato

64. Fizičko stanje (somske bolesti i bojazan od njih)

1. bolje
2. isto
3. lošije
0. nepoznato

65. Socijalni status

1. bolje
2. isto
3. lošije
0. nepoznato

66. Porodična situacija

1. bolje
2. isto
3. lošije
0. nepoznato

67. Opšta situacija klijenta (kvalitet života)

1. bolje
2. isto
3. lošije
0. nepoznato

Прилог 2 Извештај етичког одбора

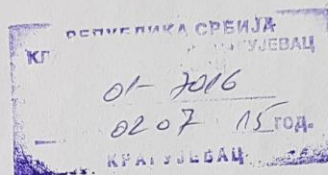
ИЗВЕШТАЈ ЕТИЧКОГ ОДБОРА

НАЗИВ И АДРЕСА ЕТИЧКОГ ОДБОРА: Клинички центар „Крагујевац“, ул.Змај Јовина 30, 34000 Крагујевац
НАЗИВ СТУДИЈЕ: "Компаративна анализа резултата тестирања узорака плазме зависника од психоактивних супстанци на HCV и HIV помоћу метода ELISA и NAT-PCR".
ВЕРЗИЈА И ДАТУМ ПРОТОКОЛА: Студија без броја протокола заведена у писарници КЦК под бр. 01/6640 дана 19.06.2015
НАЗИВ И АДРЕСА СПОНЗОРА: Спонзор не постоји
ИМЕ И АДРЕСА ГЛАВНОГ ИСТРАЖИВАЧА: проф. др Мирјана Јовановић, Клиника за психијатрију, Клинички центар Крагујевац, ул.Змај Јовина 30, Крагујевац 34000.

ПРЕГЛЕДАН МАТЕРИЈАЛ

Следећи документи у вези горе наведене студије коју ће спровести наведени истраживач су прегледани на седници од 30.06.2015. године:

1. Протокол клиничке студије
2. Сажетак протокола
3. Изјава о етичким документима којих се протокол придржава
4. Биографија свих истраживача (датиране и потписане)
5. Опис начина на који ће се од пацијента добити пристанак
6. Информација за пацијента на српском језику
7. Формулар за пристанак пацијента на српском језику
8. Изјава о било ком облику надокнаде пацијентима за учешће у студији
9. Изјава о начину надокнаде евентуалне штете
10. Опис осигурања пацијента
11. Списак поднетих докумената у електронској форми (на диску или дискети)



Закључак: ОДОБРЕНА СУ ПРЕГЛЕДАНА ДОКУМЕНТА

Датум заседања: 30.06.2015. године

Председник Етичког одбора
Проф. др Биљана Вулећић

Одобрење важи за време трајања студије, ако другачије није наведено.
Етички одбор КЦ-а Крагујевац се у свом раду придржава смерница ICH GCP.

ЧЛАНОВИ ЕТИЧКОГ ОДБОРА КЦ „КРАГУЈЕВАЦ“

проф. др Биљана Вулећић	председник ЕО	(специјалиста педијатрије)
доц. др Дејана Ружић Зечевић		(клинички фармаколог)
проф. др Горан Михајловић		(специјалиста психијатрије)
доц. др Александра Димитријеви		(специјалиста гинекологије и акушерства)
доц. др Милош Тодоровић		(специјалиста судске медицине)
проф. Снежана Соковић		(правник из друге установе)
г-ђа Миљана Милић		(правник)

На седници Етичког одбора од 30.06.2015. године, када су разматрана горе наведена документа, присуствовали су сви чланови Етичког одбора. Сви присутни чланови су једногласно одобрили поднета документа.

Датум заседања: 30.06.2015. године



Председник Етичког одбора,
Проф. др Биљана Вулећић

БИОГРАФИЈА

Др **Немања М. Боровчанин** је рођен 01. 12. 1974. године у Пожаревцу. Завршио је Основну школу „Мирко Јовановић“, Прву крагујевачку гимназију и дипломирао је на Медицинском факултету у Крагујевцу 2000. године, са просечном оценом 8,43. Од 2001. до 2003. ради у Гарнизонској амбуланти у Крагујевцу, а од 2003. је на специјализацији из Трансфузиологије на Војномедицинској академији у Београду (ВМА). Након завршене специјализације 2006. године је постављен на место начелника Одељења за имунохематологију и имуногенетику, а од 2010. године је начелник Одељења за конзервирање крви са лабораторијом за NAT-PCR, Института за трансфузиологију и хемобиологију ВМА. Од 2007. године изводи тестирање добровољних давалаца крви на генетски материјал вируса хепатитиса типа Б (Hepatitis B Virus – HBV) и типа Ц (Hepatitis C Virus – HCV) и вируса хумане имунодефицијенције (Human Immunodeficiency Virus – HIV) методом ланчане реакције полимеразе (Polymerase Chain Reaction – PCR). Докторске академске студије уписује 2008. године, а усмени докторантски испит полаже 2009. године.

Члан је Лекарске коморе Србије (лиценца бр. 206330), члан Српског лекарског друштва (Трансфузиолошка секција) и удружења Анестезија, реанимација, трансфузија (АРТ). Активно се служи енглеским језиком. Био је ангажован у мировној мисији у Централноафричкој републици, од јануара до јула 2016. године, као командант Војне болнице, у оквиру треће ротације српског контингента Војске Републике Србије.

БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Borovčanin N.** Molekulske tehnike u transfuziologiji. Specijalistički rad. 2006.
2. **Borovčanin N,** Trkuljić M, Balint B. Testiranje nukleinskih kiselina (NAT). Anest Reanim Transfuziol 2006; 34 (1–2): 203–12. **(M53)**
3. Trkuljić M, **Borovčanin N,** Balint B, Jovičić D. Testiranje davalaca tehnologijom „Nucleic Acid Testing-NAT“. Anest Reanim Transfuziol 2008; 36(1–2): 69–73. **(M53)**
4. Trkuljić M, **Borovčanin N,** Vučetić D, Jovičić D. Transmisivne bolesti- Etiopatogeneza, testiranje na markere, inaktivacija patogena. In: Balint B, Trkuljić M, Todorović M, eds. Osnovni principi hemoterapije. Beograd: Čigoja štampa; 2010. p. 421–505. **(M42)**
5. Vuković V, Mijailović Ž, **Borovčanin N.** Epstein-Barr virusni hepatitis sa pojavom ikterusa. Med Čas 2010; 1: 14–8. **(M53)**
6. Graovac R, Vučetić D, **Borovčanin N,** Balint B. Analiza petogodišnjeg rada na prikupljanju i obradi krvi u Institutu za transfuziologiju VMA. Anest Reanim Transfuziol 2010; 38 (1–2): 47–50. **(M53)**
7. Jocić M, Trkuljić M, Jovicic D, **Borovčanin N,** Balint B. Mirasol PRT inactivation efficacy evaluated in platelet concentrates by bacteria-contamination model. Vojnosanit Pregl 2011; 68(12): 1041–6. **(M23)**
8. Jovičić D, Vučetić D, **Borovčanin N,** Jocić M, Balint B. Iznalaženje optimalne sile centrifugiranja u procesu pripreme koncentrovanih trombocita iz buffy coat-a. Bilt Transfuziol 2011; 56: 56–63. **(M52)**
9. **Borovčanin N,** Vučetić D, Stamenković G, Jocić M, Jovičić D, Balint B. Pricipi NAT tehnologije sa osvrtom na rezultate Instituta za transfuziologiju VMA u period od 2007. do 2011. godine. Bilt Transfuziol 2011; 57(1-2): 99–107. **(M52)**

10. Bomfim IL, Obradovic DV, Toncev G, Knezevic Z, Supic G, **Borovcanin N**, et al. HLA-DRB1*15 and Smoking as Risk Factors for Multiple Sclerosis in Serbia, Evidence of Interaction (Meeting Abstract). *Genetic Epidemiology* (2012), 36(7): 760. **(M21)**
11. Balint B, Vucetic D, Todorovic-Balint M, **Borovcanin N**, Jovanovic-Cupic S, Mandusic V. Safety improving by complementary serological and molecular testing combined with pathogen reduction of the donated blood in window period (Letter). *Transfusion and Apheresis Science* 2013; 49: 103–4. **(M23)**
12. Vucetic DD, Balint BJ, Ljubenov M, **Borovcanin N**, Jovicic D. Recommendation of a New Cconfirmatory Algorithm and Signal-To-Cutoff Ratio for HCV Testing of Donated Blood (Meeting Abstract). *Vox Sanguinis* 2013; 105(1): 181. **(M22)**
13. **Borovčanin N**, Balint B. Virus Zapadnog Nila (WNV)– etiopatogeneza, klinička slika i transfuziološki aspekti. *Anest Reanim Transfuziol* 2014; 41(1–2): 77–81. **(M53)**
14. **Borovcanin N**, Ristanovic E, Todorovic M, Borovcanin M, Jovanovic M, Balint B. The use of complementary serological and molecular testing for blood-borne pathogens and evaluation of socio-demographic characteristics of intravenous drug users on substitution therapy from Shumadia District of Serbia. *Vojnosanitetski pregled*, 2017 OnLine-First (00):129-129. <https://doi.org/10.2298/VSP170814129B>. **(M23)**
15. **Borovčanin N**, Vučetić D, Balint B. Zika Virus- Pathogenesis, Clinical Manifestations and Influence on Blood Transfusion. *Anest Reanim Transfuziol* 2017; 43(1–2): 67–72. **(M53)**
16. **Borovčanin N**, Vučetić D, Ristanović E, Todorović-Balint M. Molecular Testing for Blood-Borne Pathogens in Transfusion Medicine- A Review and Our Ten-Years of Experience. *Anest Reanim Transfuziol* 2018; 44(1–2): 17–21. **(M53)**

ПРИЛОГ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број - РБ:

Идентификациони број - ИБР:

Тип документације - ТД: Монографска публикација

Тип записа - ТЗ: Текстуални штампани материјал

Врста рада - ВР: Докторска дисертација

Аутор - АУ: Немања Боровчанин

Ментор/коментор - МН: проф. др Елизабета Ристановић

Наслов рада - НР: Социодемографски профил зависника од опијата који су у повећаном ризику од инфекције HBV, HCV, HIV, Treponema pallidum, Cryptococcus neoformans, Pneumocystis carini и WNV

Језик публикације - ЈП: српски/ћирилица

Језик извода - ЈИ: српски/енглески

Земља публикавања - ЗП: Република Србија

Уже географско подручје - УГП: Централна Србија

Година - ГО: 2019. година

Издавач - ИЗ: Ауторски репринт

Место и адреса - МС: 34 000 Крагујевац, Светозара Марковића 69, Република Србија

Физичи опис рада - ФО: 126 страна, 9 табела, 7 фигура

Научна област - УДК: Медицина

Научна дисциплина - ДИ: Имунологија, инфекција и инфламација.

Предметна одредница/ кључне речи - ПО: зависници од опијата, крвно-преносиви патогени, HBV, HCV, HIV

Чува се - ЧУ: У библиотеци Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

Важна напомена- МН:

Извод - ИД:

Увод. Зависници од опијата представљају високоризичну групу због међусобних инфекција крвно-преносивим болестима, вертикалне трансмисије патогена, као и због могућности да буду потенцијални доноси крви (нарочито као плаћени даваоци).

Циљ. Циљ нашег истраживања био је одређивање социо-демографског профила 99 зависника од опијата Шумадијског округа лечених у Клиничком центру Крагујевац супституционом терапијом метадоном и бупренорфином, као и одређивање преваленце инфекција крвно-преносивим патогенима: вирус хепатитиса тип Б, вирус хепатитиса тип Ц, вирус стечене имунодефицијенције (HBV, HCV, HIV) и сифилис (*Treponema pallidum*), као и *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и вирус Западног Нила (West Nile Virus – WNV).

Методе: Испитаници су одговарали на питања из Помпиду упитника и подаци из овог упитника су коришћени за анализу основних социо-демографских карактеристика. Сви узорци су тестирани коришћењем ELISA (Enzyme – Linked ImmunoSorbent Assay)/CIA (Chemiluminescent Immuno – Assay) тестова за вирус хепатитиса тип Б, вирус хепатитиса тип Ц, вирус стечене имунодефицијенције (HBV, HCV, HIV) и сифилис (*Treponema pallidum*), као и коришћењем PCR (Polymerase Chain Reaction) за HBV, HCV, HIV, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* и вирус Западног Нила (West Nile Virus – WNV).

Резултати: Највећи број испитаника је био мушког пола (81,8 %), старости 32 (19 – 57) године, 99 % је живело у граду, незапослених је било 58,6 %, са завршеном средњом школом 67,7 %, а корисника неадекватне примене игала 34,3 %. Нетестираних на HBV је 39,4 %, на HCV 36,4 %, HIV 28,3 %, а само њих 4 (4 %) је примило вакцину против HBV. Што се тиче анализа на присуство HBV инфекције, ELISA/CIA и PCR негативних је било 66, HBV ELISA/CIA и PCR позитивних је било 19, HBV ELISA/CIA-негативних / PCR-позитивних 12 и HBV ELISA/CIA-позитивних / PCR-негативних 2 испитаника. Тестирање на HCV инфекцију је показало следеће: ELISA/CIA и PCR негативних испитаника је било 15, HCV ELISA/CIA и PCR позитивних је било 58, HCV ELISA/CIA-негативних / PCR-позитивних 11, а HCV ELISA/CIA-позитивних / PCR-негативних 15. Сви испитаници су били негативни на HIV (ELISA/CIA и PCR тестирање), као и на патогене опортунистичких инфекција (*Cryptococcus neoformans*; *Pneumocystis carini*; PCR тестирање) и на присуство WNV (PCR тестирање). Један испитаник је био позитиван на сифилис (ELISA тестирање).

Закључак: Наши резултати су показали да је позитивност на присуство патогена крвно-преносивих болести HBV и HCV висока у испитиваној групи зависника од опијата и износи 33,4 % и 84,8 %. Препорука би била да они буду периодично тестирани на присуство HBV, HCV и HIV, комплементарним ELISA/CIA и PCR тестовима, обзиром на изванредан степен дискрепанце у добијеним резултатима серолошког и молекуларног тестирања.

Кључне речи: зависници од опијата, крвно-преносиви патогени, HBV, HCV, HIV

Датум прихватања теме од стране ННВ - ДП: 09.05.2018. године

Датум одбране - ДО:

Чланови комисије - КО:

1. Проф. др Бела Балинт, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије, Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина - Хематологија, председник,
2. Проф. др Предраг Чановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, члан,
3. Проф. др Иван Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија; Онкологија, члан.

KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

Accession number - ANO:

Identification number - INO:

Documentation type - DT: Monographic publication

Type of record - TR: Textual printed material

Contents code - CC: Ph. D. Thesis

Author - AU: Nemanja Borovcanin

Menthor/co-mentor - MN: Full Professor Elizabeta Ristanovic MS, Ph. D.

Title - TI: Sociodemographic profile of opiate addicts at increased risk of infection with HBV, HCV, HIV, *Treponema pallidum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* and WNV

Language of text - LT: Serbian/ Cyrillic

Language of abstract: Serbian/ English

Country of publication - CP: Republic of Serbia

Locality of publication - LP: Central Serbia

Publication year - PY: 2019

Publisher - PU: Author reprint

Publication place - PP: 34 000 Kragujevac, Svetozara Markovica 69, Republic of Serbia

Physical description - PD: 126 pages, 9 tables, 7 figures

Scientific field - SF: Medical science

Scientific discipline - SD: Immunology, infection and inflammation

Subject/key words - SKW: intravenous drug users, blood-borne pathogens, HBV, HCV, HIV
UDC

Holding data: Library of Faculty of medical sciences, University of Kragujevac, Republic of Serbia

Note - N:

Abstract - AB:

Background/Aim. Intravenous drug users (IDUs) are still a high risk-group for cross-reacting blood-borne infections, for vertical pathogen transmission, as well as for potentially blood/plasma donation (particularly as "payed" donors). The aim of our study was to establish the profile of opiate addict and prevalence of blood-borne pathogens – Hepatitis B virus (HBV), Hepatitis C virus (HCV), Human Immunodeficiency Virus (HIV), *Treponema pallidum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* and West Nile Virus – WNV among 99 patients on substitution therapy with methadone and buprenorphine from Shumadia District.

Methods. The Treatment Demand Indicator (TDI) of Pompidou-questionnaire was used to assess the history of drug abuse and risk behavior. All blood samples were tested for HBV, HCV, HIV and

Treponema pallidum by Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) or Chemiluminescent Immuno-Assay (CIA). Investigations were also performed for HBV, HCV, HIV, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* and West Nile Virus – WNV by molecular testing – Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

Results. The majority of patients were male (81.8 %), median age 32 (19 – 57) years, lived in a city (99 %), unemployed (58.6 %), with finished secondary school (67.7 %), unsafe injecting practices (34.3 %) and never previously tested for HBV (39.4 %), HCV (36.4 %) nor HIV (28.3 %); only four percentage of them previously got HBV-vaccine. Complementary testings resulted with the following results: HBV ELISA/CIA and PCR negativity for 66 patients and positive results (by ELISA/CIA and PCR) for 19 patients. However, a difference was observed in ELISA/CIA-negative / PCR-positive result for 12 and ELISA/CIA-positive / PCR-negative for two patients, respectively. Further, negative results for HCV (ELISA/CIA and PCR testing) were found in 15 IDUs and positive results (using both methods) were found in 58 patients. Different results for ELISA/CIA-negative / PCR-positive results were found in 11 IDUs and ELISA/CIA-positive / PCR-negative results were found in 15 patients. All investigated IDUs were negative for HIV (ELISA/CIA and PCR testing) and for pathogens of opportunistic infection (*Cryptococcus neoformans*; *Pneumocystis carini*; PCR testing), as well as for West Nile Virus (PCR testing). Just one IDU was positive for syphilis (ELISA and confirmatory testing).

Conclusion. This study undoubtedly confirmed the effectiveness and improved safety of originally designed complementary (ELISA/CIA and PCR) pathogen monitoring system. Our study demonstrated that the positivity for HBV and HCV is still very high (33.4 % and 84.8 %, respectively) in IDUs. Thus, we suggest that drug users have to be periodically screened using a complementary serological/molecular testing, also concerning differences/discrepancies in results obtained using these methods.

Key words: intravenous drug users, blood-borne pathogens, HBV, HCV, HIV

Accepted by the Scientific Board on - ASB: 09.05.2018.

Defended on - DE:

Thesis defended board (Degree/name/surname/title/faculty) - DB:

1. Full Professor Bela Balint, M. D., Ph. D., Medical Faculty of Military Medical Academy,

University of Defense, Chairman;

2. Full Professor Predrag Canovic, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac,

Member;

3. Associate professor Ivan Jovanovic, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac,
Member.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Немања Боровчанин, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Социодемографски профил зависника од опијата који су у повећаном ризику од инфекције HBV, HCV, HIV, Treponema pallidum, Cryptococcus neoformans, Pneumocystis carini и WNV

_____ која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Панчеву, _____, 19.01.2019. године,



_____ потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Немања Боровчанин,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Социодемографски профил зависника од опијата који су у повећаном ризику од инфекције HBV, HCV, HIV, Treponema pallidum, Cryptococcus neoformans, Pneumocystis carini и WNV

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Панчеву _____, _____ 19.01.2019. године,



потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>

РАДОВИ КОЈИ СУ БИЛИ УСЛОВ ЗА ПРИЈАВУ ЗАВРШЕНЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ



VOJNOSANITETSKI PREGLED

VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA

Crnotravska 17, 11 000 Beograd, Srbija

Tel/faks: +381 11 2669689

vsp@vma.mod.gov.rs

ACCEPTED MANUSCRIPT

Accepted manuscripts are the articles in press that have been peer reviewed and accepted for publication by the Editorial Board of the *Vojnosanitetski Pregled*. They have not yet been copy edited and/or formatted in the publication house style, and the text could still be changed before final publication.

Although accepted manuscripts do not yet have all bibliographic details available, they can already be cited using the year of online publication and the DOI, as follows: article title, the author(s), publication (year), the DOI.

Please cite this article: **THE USE OF COMPLEMENTARY SEROLOGICAL AND MOLECULAR TESTING FOR BLOOD-BORNE PATHOGENS AND EVALUATION OF SOCIO-DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF INTRAVENOUS DRUG USERS ON SUBSTITUTION THERAPY FROM SHUMADIA DISTRICT OF SERBIA**

Authors: Nemanja Borovcanin^{*,†}, Elizabeta Ristanovic[†], Milena Todorovic^{‡,§}, Milica Borovcanin^{||,¶}, Mirjana Jovanovic^{||,¶}, Bela Balint^{*,†,‡,§}; *Vojnosanitetski pregled* (2017); Online First September, 2017.

UDC:

DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP170814129B>

When the final article is assigned to volumes/issues of the Journal, the Article in Press version will be removed and the final version appear in the associated published volumes/issues of the Journal. The date the article was made available online first will be carried over.

THE USE OF COMPLEMENTARY SEROLOGICAL AND MOLECULAR TESTING FOR BLOOD-BORNE PATHOGENS AND EVALUATION OF SOCIO-DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF INTRAVENOUS DRUG USERS ON SUBSTITUTION THERAPY FROM SHUMADIA DISTRICT OF SERBIA

Nemanja Borovcanin^{*}, Elizabeta Ristanovic[†], Milena Todorovic^{‡,§}, Milica Borovcanin^{||,¶},
Mirjana Jovanovic^{||,¶}, Bela Balint^{*,††,**}

^{*}Institute for Transfusiology and Hemobiology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia;

[†]Institute for Microbiology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia;

[‡]Clinic for Hematology, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia;

[§]Medical faculty, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

^{||}Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia;

[¶]Psychiatric Clinic, Clinical Centre Kragujevac, Kragujevac, Serbia

^{††}Serbian Academy of Sciences and Arts;

^{**}Faculty of Medicine of Military Medical Academy, University of Defence, Belgrade, Serbia.

*Correspondence to:

Nemanja Borovcanin MD,
Institute of Transfusiology and Hemobiology, Military Medical Academy,
Crnotravska 17,
11 000 Belgrade, Serbia.
Tel.: +381 11 3609135; E-mail address: drsky2@gmail.com.

Running title: Serological/molecular pathogen testing and socio-demographic characteristics of intravenous drug users

Abstract

Background/Aim. Intravenous drug users (IDUs) are still a high risk-group for cross-reacting blood-borne infections, for vertical pathogen transmission, as well as for potentially blood/plasma donation (especially as "paid" donors). The aim of our study was to establish the profile of opiate addict and prevalence of blood-borne pathogens – Hepatitis B virus (HBV), Hepatitis C virus (HCV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) among 99 patients on substitution therapy with methadone and buprenorphine from Shumadia District. **Methods.** The Treatment Demand Indicator (TDI) of Pompidou-questionnaire was used to assess the history of drug abuse and risk behavior. All blood samples were tested for HBV surface antigen (HBsAg), anti-HCV antibody (anti-HCV) and HIV antigen/antibody (HIV-Ag/Ab) by Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) or Chemiluminescent Immuno-Assay (CIA). Investigations were also performed for HBV, HCV and HIV by molecular testing – Polymerase Chain Reaction (PCR) method. **Results.** The majority of patients were male (81.8%), median age 32 (19–57) years, lived in a city (99%), unemployed (58.6%), with finished secondary school (67.7%), unsafe injecting practices (34.3%) and never previously tested for HBV (39.4%), HCV (36.4%) nor HIV (28.3%); only four percentage of them previously got HBV-vaccine. Complementary testing resulted with following results: HBV ELISA/CIA and PCR negativity for 66 patients and positive results (by ELISA/CIA and PCR) for 19 patients. However, a difference was observed in ELISA/CIA-negative / PCR-positive result for 12 and ELISA/CIA-positive / PCR-negative for two patients, respectively. Further, negative results for HCV (ELISA/CIA and PCR testing) were found in 15 IDUs and positive results (using both methods) were found in 58 patients. Different results for ELISA/CIA-negative / PCR-positive results were found in 11 IDUs and ELISA/CIA-positive / PCR-

negative results were found in 15 patients. All investigated IDUs were negative for HIV (ELISA/CIA and PCR testing) and for pathogens of opportunistic infection (*Cryptococcus neoformans*; *Pneumocystis carini*; PCR testing), as well as for West Nile Virus (PCR testing). Just one IDU was positive for syphilis (ELISA and confirmatory testing).

Conclusion. This investigation undoubtedly confirmed the effectiveness and improved safety of originally designed complementary (ELISA/CIA and PCR) pathogen monitoring system. Our study demonstrated that the positivity for HBV and HCV is still very high (33.4% and 84.8%, respectively) in IDUs. Thus, we suggest that drug users have to be periodically screened using a complementary serological/molecular testing – concerning differences/discrepancies in results obtained using these methods.

Key words: intravenous drug users, blood-borne pathogens, HBV, HCV, HIV

Komplementarno serološko i molekularno testiranje krvno-prenosivih patogena i procena socio-demografskih karakteristika kod korisnika intravenskih droga na supstitucionoj terapiji u Šumadijskom okrugu Srbije

Apstrakt

Uvod. Korisnici intravenskih droga predstavljaju visiorizičnu grupu zbog međusobnih infekcija krvno prenosivim bolestima, vertikalne transmisije patogena, kao i zbog mogućnosti da budu potencijalni donori krvi/produkata plazme (naročito kao plaćeni donori). **Cilj.** Cilj našeg istraživanja bio je utvrđivanje demografsko-sociološkog profila 99 opijatnih zavisnika Šumadijskog okruga lečenih u Kliničkom centru Kragujevac supstitucionom terapijom metadonom i buprenorfinom, kao i određivanje prevalencije infekcija krvno prenosivim bolestima: virusom hepatitisa B, virusom hepatitisa C i virusom

stečene imunodeficijencije (HBV, HCV i HIV). **Metode:** Ispitanici su odgovarali na pitanja iz Pompidu upitnika i podaci iz ovog upitnika su korišćeni za analizu osnovnih socio-demografskih karakteristika. Svi uzorci su prvo testirani ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) i CIA (Chemiluminescent Immuno-Assay) metodom, a zatim PCR-om (Polymerase Chain Reaction). **Rezultati:** Najveći broj ispitanika je bilo muškog pola (81,8%), starosti 32 (19–57) godine, 99% ispitanika je živelo u gradu, nezaposlenih je bilo 58,6 %, sa završenom srednjom školom 67,7 %, a korisnika neadekvatne primene igala bilo je 34,3%. Netestiranih na HBV je bilo 39,4 %, na HCV 36,4 %, HIV 28,3 % a samo njih 4 (4 %) je primilo vakcinu protiv HBV. Što se tiče analiza na prisustvo HBV infekcije, ELISA/CIA i PCR negativnih je bilo 66, HBV ELISA/CIA i PCR pozitivnih je bilo 19, HBV ELISA/CIA-negativnih / PCR-pozitivnih 12 i HBV ELISA/CIA-pozitivnih / PCR-negativnih 2 ispitanika. Testiranje na HCV infekciju je pokazalo sledeće: ELISA/CIA i PCR negativnih ispitanika je bilo 15, HCV ELISA/CIA i PCR pozitivnih je bilo 58, HCV ELISA/CIA-negativnih / PCR-pozitivnih 11, a HCV ELISA/CIA-pozitivnih / PCR-negativnih 15. Svi ispitanici su bili negativni na HIV (ELISA/CIA i PCR testiranje), kao i na patogene oportunističkih infekcija (Cryptococcus neoformans; Pneumocystis carini; PCR testiranje) i na prisustvo virusa zapadnog Nila (West Nile Virus, PCR testiranje). Jedan ispitanik je bio pozitivan na sifilis (ELISA testiranje). **Zaključak:** Naši rezultati su pokazali da je pozitivnost na prisustvo patogena krvno prenosivih bolesti HBV i HCV visoka u ispitivanoj grupi korisnika intravenskih droga i iznosi 33,4% i 84,8%, respektivno. Preporuka bi bila da oni budu periodično testirani na prisustvo HBV, HCV i HIV infekcije, komplementarnim ELISA/CIA testovima kao i PCR testovima, obzirom na izvestan stepen diskrepance u dobijenim rezultatima serološkog i molekularnog testiranja.

Ključne reči: korisnici intravenskih droga, hematogeni patogeni, HBV, HCV, HIV

Introduction

The integrative approach is the necessity in the modern treatment of addiction, especially considering early detection and additional treatment of somatic states in intravenous drug users¹. The "drug-use-disorder" show to be very frequent in European countries (approximately 0.5% of population or about two million people), with relatively more problem of diseases caused by "drug-use-disorder" in Western Europe and especially high rates of hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV) and humane immunodeficiency virus (HIV) infection in this vulnerable population^{2,3}.

The intravenous drug users (IDUs) face stigma not only due to psychological and behavioral aspects of their functioning, but also because of significantly higher rates of blood-borne and/or sexually transmitted infections due to unsafe injecting practices and risky sexual behaviors⁴. The pharmacological substitution programs of methadone and buprenorphine are "harm avoidance" programs that are also useful in prevention of blood-borne infections⁵. Opiate addiction treatment in Serbia is conducted in four clinical centers by supervision of the Ministry of Health, Republic of Serbia – including more than 4000 patients on substitution therapy, but objective, precise and longitudinal data about opiate addiction and infectious disease "co-occurrence" is still lacking⁶.

Serological testing, like routine screening of blood donors are performed by anti-HCV Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) or Chemiluminescent Immuno-Assays (CIA) methods. In the last years of the 20th century, two more tests were initiated to detect the presence of HCV: HCV Ag/Ab, and HCV Nucleic Acid Testing (NAT) or Polymerase Chain Reaction (PCR) assays^{7,8}.

The period of the "window" (the time from entering the virus in the body until the moment when it is detectable by the available techniques) before the introduction of PCR was about 70 days. By introducing PCR individual testing this period is reduced to 15 days², while the window period for HCV Ag/Ab is 40 days⁷. The window period is 16 days for HIV Ag/Ab, while in HIV PCR it is reduced to 9 days⁷. The actuality of comparisons of test results by ELISA and PCR methods lies in determining the infectivity of the samples or the phase of infection in which there are dependents on psychoactive substances in this case³. It is necessary to determine the infectivity of the tested addicts and in terms of delineation of the test results: they did not come into contact with these viruses, the start of the infection – the "window" period, an infection, a past active infection.

The study aim was to evaluate the profile of opiate addict and above all the prevalence of blood-borne infections such as HBV, HCV and HIV among IDUs on substitution therapy with methadone and buprenorphine in Shumadia District of Serbia. The results of complementary ELISA or CIA and PCR testing were also compared in attempt to improve of pathogen monitoring system, as well as the diagnostic algorithm for this vulnerable population.

Methods

Patients/Subjects

In this study patients on substitution therapy with methadone or buprenorphine at Department of addictions, Psychiatric Clinic, Clinical Centre Kragujevac – as a regional addiction treatment center – were included. This centre is managing the drug dependence

treatment using the Treatment Demand Indicator (TDI) approach. The TDI was formulated in 2000 by the European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction – EMCDDA/Pompidou Group, aiming to collect comparable and reliable data about the number and characteristics of drug addicts in EU countries⁹.

TDI is evaluating treatment needs and assessing the history of drug abuse and risk behavior. Collected data from this questionnaire was used for the socio-demographic and injection practice analysis. Diagnoses of opioid related disorders (F11) or other psychoactive substance related disorders (F19) were established using International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems.

The protocol of this "cross-sectional" study was approved by the Ethic Committee of Clinical Centre Kragujevac and conducted in accordance with all the ethical principles of the Declaration of Helsinki. Informed consent was obtained from all of the patients before starting any study procedure.

Pathogen investigation methods

Total of 99 IDUs were tested using complementary serological and molecular testing. All samples were taken into 9 ml tubes with K2EDTA (Bio-One Vacuette, Greiner), then the tubes were centrifuged at 3500 rpm, 30 minutes and plasma samples were analyzed. Samples were initially tested by ELISA or CIA systems (Evolis, Biorad; Architect i2000 SR, Abbott) and afterward with s201 system (COBAS Ampliprep/ COBAS Taqman, Roche). Preliminary positive specimens were analyzed using ID (Individual Donation) PCR. Preliminary negative samples were tested by mini-pool (MP) PCR technique (6 samples).

HCV ELISA/CIA-negative / PCR-positive samples were tested using confirmatory test (n=11; Innolia Innogenetics)⁷. In addition, all 99 IDUs were tested on pathogens of

opportunistic infections, such as *Cryptococcus neoformans* and *Pneumocystis carini*.

Finally, patients were also investigated for syphilis by ELISA or CIA method and West Nile Virus (WNV) by PCR testing.

The pathogen investigations were performed in the Institute of Transfusiology and Hemobiology of Military Medical Academy (MMA) and in the Institute of Microbiology of MMA in Belgrade – during the period from July to August 2015.

Statistical analysis

The data was presented as absolute numbers, median and percentages. The tables were used to present the socio-demographic characteristics of IDUs, as well as complementary serological and molecular investigations. The 2×2 contingency table was used to compare the results of serological and molecular testing. The statistical analyses were performed using SPSS 20.0 software. Differences were considered as statistically significant if the p value was less than 0.05.

Results

The majority of IDUs were male, city residents and dominantly with a completed secondary school – their characteristics are presented in Table 1.

Table 1

Amongst all 99 IDUs, some of them have never been tested on virus infections – exactly, on HBV 39, on HCV 36, on HIV 28; in addition, just 4 IDUs got a vaccine against HBV.

Complementary ELISA or CIA and PCR testing of the IDUs demonstrated predominant concordance between serological and molecular analysis. Results confirmed that more than 80% of IDUs had HCV positivity, proved by both testing, comparing to more than 30%

proved HBV infection. Concordance and discordance between different methods (ELISA or CIA vs.PCR) are shown in the Table 2.

Table 2

Absolute numbers of patients – analyzed by comparative serological and molecular testing for HCV vs. HBV in this study – are summarized in Table 3 and in Figure 1.

Table 3 and Figure 1.

As presented, the number of HCV vs. HBV positive IDUs was significantly ($p < 0.01$) higher in our study group, using both ELISA or CIA and PCR techniques.

Regarding the opportunistic infections, all 99 IDUs were negative (PCR testing) for the most common pathogens: *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* and West Nile Virus. Only one patient was positive on syphilis by ELISA, VDRL and TPHA. These results are presented in Table 4.

Table 4

The presented negativity for opportunistic infection pathogens can be explain because of no severe compromised immune system – since all IDUs were negative on HIV.

Discussion

Several risk factors make IDUs vulnerable to HCV, HBV, HIV, syphilis and opportunistic infection caused by *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carini* and WNV¹⁰. Hazardous behaviors include the use of non-sterilized needles and unprotected sexual activities, unsafe tattooing, cupping, blood transfusion or dental procedures in both IDUs and non-IDUs. Besides, lack of access to health services, low socio-educational level, homelessness, history of imprisonment, social exclusion, unemployment, alcohol addiction and presence of other diseases complicate the feature of infection by HCV, HBV and HIV viruses and their related outcomes in many IDUs.

The global prevalence of HCV infection among IDUs in 2010 was 46.7%, implicating that some 7.4 million of the 16 million IDUs worldwide are infected with the HCV. The HBV infection rate among IDUs is about 14.6%, that is 2.3 million IDU are infected with mentioned virus, and 18.9% or 3 million of IDUs are living with HIV worldwide ¹¹.

Despite the higher prevalence and "transmissibility" and the equal or higher economic costs of HCV compared to HIV infection, especially among IDUs, viral hepatitis received far less attention than HIV related disease. Worldwide, the prevalence of HIV infection amongst IDUs was calculated as 17.9% in 2009 and 18.9% in 2010 ³.

In our study there is no HIV infection among IDUs and that is similar as prevalence in Iran (0.7%) and among blood donors tested earlier in MMA (0.005%) ^{8,12}. Prevalence of HBV (33.3%) was lower than in the Italy (where the prevalence is 60.7%), while in Mexico is 85%, similar as in Greece and Portugal, but significant higher than prevalence in Uruguay (20%), Iran (0.7%) and among blood donors (0.20%) ¹³⁻¹⁵. IDUs had a much higher probability of acquiring infection than non-injectors, confirming the role of intravenous transmission. The prevalence was highest for HCV infection (58.6%) and that is lower than prevalence observed in Estonia and Latvia (about 90%), Romania and Portugal, and similar as in Russia (73%). The HCV prevalence is higher than in Hungary (23%) and among blood donors (0.12%) ¹²⁻¹⁶.

The difference between results of ELISA/CIA and PCR testing can be explained on two ways. Firstly, ELISA/CIA negative, but PCR positive results show that infection with HBV or HCV is in "window" period – that mean that concentration of viral antigen or antibodies against them are to low that they can not measured by ELISA/CIA ⁸. On the other hand, PCR negative ELISA/CIA positive results are common when we have cases of old HCV infections. The number of these results can be even 20% among blood donors, so the

prevalence of 15.1% in our study is in that range¹⁸. The number of two HBV PCR negative ELISA/CIA positive results show that HBV DNA levels in HBsAg-positive samples can be extremely low. About 6% of donations would be negative by current MP HBV PCR methods. About 3% of donations would remain undetected by sensitive single-donor PCR. These results indicate caution in any consideration of dropping HBsAg screening¹⁸.

IDUs in Serbia have similar social-demographic characteristics as Italian: 88% vs. 84% are male, median age is 32 vs. 35 years, mostly unemployed. However, IDUs in this investigation were not well educated because only 4% of patients received HBV vaccine – while 29% in Italy¹³. Although, this fact could be a consequence of the suboptimal medical care system in investigated region.

Conclusion

The majority of IDUs were male (aged 19–57 yrs), city residents and dominantly with a completed secondary school. This study undoubtedly demonstrated improved safety of originally designed complementary (ELISA/CIA and PCR) pathogen monitoring system. Our results confirmed that injecting drug practice continues to be an important risk factor for blood-borne infections; the positivity for HBV and HCV was still very high – 33.4% and 84.8%, respectively. Thus, drug users have to be periodically screened by complementary serological/molecular testing – concerning differences/discrepancies in results obtained using these methods. Finally, we speculate that HBV vaccination should be actively obtainable/offered to all HBV-negative IDUs.

Acknowledgements

This work was supported by the Ministry of Defence of the RS (Project MF/VMA 9/17-19)

REFERENCES

1. *Wiessing L, Ferri M, Grady B, Kantzanou M, Sperle I, Cullen KJ, et al.* Hepatitis C virus infection epidemiology among people who inject drugs in Europe: a systematic review of data for scaling up treatment and prevention. *PLoS One* 2014; 9(7): e103345.
2. *Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, Gustavsson A, Svensson M, Jönsson B, et al.* The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol* 2011; 21(9): 655–79.
3. *Wales N.* A review of viral hepatitis in injecting drug users and assessment of priorities for future activities. Geneva: WHO; 2009.
4. *Gyarmathy VA, Neaigus A, Li N, Ujhelyi E, Caplinskiene I, Caplinskas S, et al.* Infection disclosure in the injecting dyads of Hungarian and Lithuanian injecting drug users who self-reported being infected with hepatitis C virus or human immunodeficiency virus. *Scand J Infect Dis.* 2011;43 (1): 32–42.
5. *Ruan Y, Liang S, Zhu J, Li X, Pan SW, Liu Q et al.* Evaluation of harm reduction programs on seroincidence of HIV, hepatitis B and C, and syphilis among intravenous drug users in southwest China. *Sex Transm Dis* 2013; 40(4): 323–8.
6. *Djukić Dejanović S, Borovčanin M.* Principi tretmana zavisnika od opijata u Srbiji. In: *Djukić Dejanović S, Nastasić P, editors.* Bolesti zavisnosti: savremena dostignuća u prevenciji, lečenju i rehabilitaciji. Beograd: ECPD; 2015. p. 10–2.

7. *Trkuljić M, Borovčanin N, Vučetić D, Jovičić D.* Transmisivne bolesti-Etiopatogeneza, testiranje na markere, inaktivacija patogena. In: *Balint B, Trkuljić M, Todorović M*, editors. Osnovni principi hemoterapije. Beograd: Čigoja štampa; 2010. p. 421–505.
8. *Vucetić D, Kecman G, Ilić V, Balint B.* Blood donors' positivity for transfusion-transmissible infections: the Serbian Military Medical Academy experience. *Blood Transfus* 2015; 13(4): 569–75.
9. *Simon R, Donmall M, Hartnoll R, Kokkevi A, Ouwehand AW, Stauffacher M*, et al. The EMCDDA/Pompidou Group treatment demand indicator protocol: a European core item set for treatment monitoring and reporting. *Eur Addict Res* 1999; 5(4): 197–207.
10. *Allain PJ.* Emerging Viruses in Transfusion. In: *Barbara JAJ, Regan FAM, Contreras MC*, editors. *Transfusion Microbiology*. New York: Cambridge University Press; 2008. p. 75–86.
11. *Honarvar B, Odoomi N, Moghadami M, Kazerooni PA, Hassanabadi A, Dolatabadi PZ*, et al. Blood-Borne Hepatitis in Opiate Users in Iran: A Poor Outlook and Urgent Need to Change Nationwide Screening Policy. *PLoS One* 2013; 8(12): e82230.
12. *Zamania S, Radfarb R, Nematollahic P, Fadaiee R, Meshkatic M, Mortazavia S*, et al. Prevalence of HIV/HCV/HBV infections and drug-related risk behaviours amongst IDUs recruited through peer-driven sampling in Iran. *Int J Drug Policy* 2010; 21(6): 493–500.

13. *Camoni L, Regine V, Salfa MC, Nicoletti G, Canuzzi P, Magliocchetti N, et al.* Continued high prevalence of HIV, HBV and HCV among injecting and noninjecting drug users in Italy. *Ann Ist Super Sanità* 2010; 46(1): 59–65.
14. *Goulao J, Götz W* and European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Annual Report 2012: The state of the drug problem in Europe. Lisbon: EMCDDA; 2012.
15. *Amon JJ.* Hepatitis in drug users: time for attention, time for action. *Lancet* 2011; 378(9791): 543–4.
16. *Balint B, Vucetic D, Todorovic-Balint M, Borovcanin N, Jovanovic-Cupic S, Mandusic V.* Safety improving by complementary serological and molecular testing combined with pathogen reduction of the donated blood in window period (Letter). *Transfus Apher Sci* 2013; 49(1): 103–104.
17. *Busch M, Glynn S, Stramer S, Orland J, Murphy E, Wright D, et al.* Correlates of hepatitis C virus (HCV) RNA negativity among HCV- seropositive blood donors. *Transfusion* 2006; 46(3): 469–75.
18. *Kuhns MC, Kleinman SH, McNamara AL, Rawal B, Glynn S, Busch MP.* Lack of correlation between HBsAg and HBV DNA levels in blood donors who test positive for HBsAg and anti-HBc: implications for future HBV screening policy. *Transfusion* 2004; 44(9): 1332–9.

Figure legend

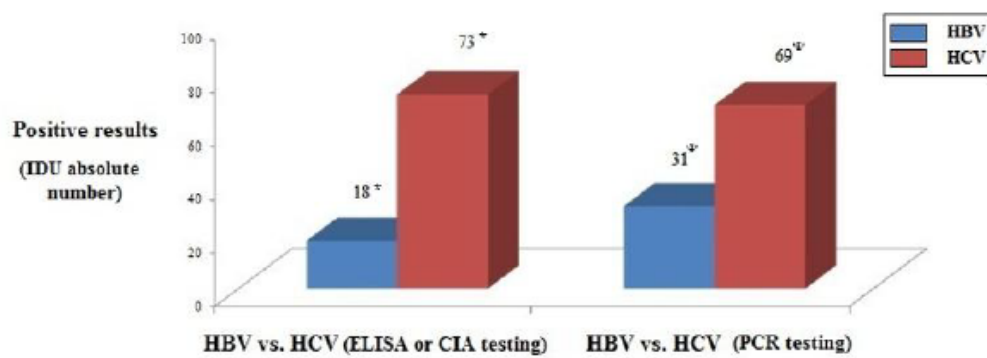


Figure 1

Comparative HCV and HBV values determined by ELISA/CIA and PCR

*,^ψ significant differences between HBS and HCV positivity by both, serological and molecular testing ($p < 0.01$).

Table 1**The socio-demographic characteristics of IDUs**

Parameters investigated		Values
Age	median (yrs)	32
	range (yrs)	19 to 57
Gender	Male	88 (81.8%)
	Female	11 (18.2%)
Residents of the city		98 (98.9%)
Unemployed		58 (58.6 %)
Education level – secondary school		67 (67.7 %)
Unsafe injecting practices		34 (34.3%)

IDUs = intravenous drug users.

Table 2.**Complementary ELISA or CIA and PCR investigations for viruses**

Pathogen type	ELISA or CIA and PCR testing	IDU number (percentage)
HBV	ELISA/CIA-negative / PCR-negative	66 (66.7%)
	ELISA/CIA- positive / PCR- positive	19 (19.2%)
	ELISA/CIA-negative / PCR-positive	12 (12.1%)
	ELISA/CIA-positive / PCR-negative	2 (2.1%)
HCV	ELISA/CIA-negative / PCR-negative	15 (15.1%)
	ELISA/CIA- positive / PCR- positive	58 (58.6%)
	ELISA/CIA-negative / PCR-positive	11 (11.1%)
	ELISA/CIA-positive / PCR-negative	15 (15.1%)
HIV	ELISA/CIA-negative / PCR-negative	99 (100%)

IDU = intravenous drug user.

Table 3.

The HBV and HCV presence investigated by ELISA or CIA and PCR

Pathogen type		ELISA or CIA testing (absolute numbers)		Pathogen type		PCR testing (absolute numbers)	
		HCV		HCV			
		negative	positive	negative	positive	negative	positive
HBV	negative	25	56*	HBV	negative	18	50*
	positive	1*	17*		positive	12*	19*

*significant difference in the HBV and HCV positivity (1+17 vs. 56+17; 12+19 vs. 50+19) (p < 0.01).

Table 4.

The results of ELISA or CIA and PCR testing for other pathogens

Pathogen type	ELISA or CIA and PCR testing	IDU number (percentage)
Treponema pallidum	ELISA/CIA-negative	98 (99%)
	ELISA-positive	1 (1%)
	*VDRL-positive	
	**TPHA-positive	
	Confirmatory test-positive	
Cryptococcus neoformans	PCR-negative	99 (100%)
Pneumocystis carini	PCR-negative	99 (100%)
West Nile Virus	PCR-negative	99 (100%)

IDU = intravenous drug users;

VDRL = Venereal Disease Research Laboratory testing;

TPHA = Treponema pallidum Hemagglutination test.

Received on August 14, 2017.
Accepted on September 12, 2017.
Online First September, 2017.

PAPER ACCEPTED



ELSEVIER

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Transfusion and Apheresis Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/transci

Letter to the editor

Safety improving by complementary serological and molecular testing combined with pathogen reduction of the donated blood in window period


In our Institute, high-infectious-risk donors (HIRDs) were recognized/rejected based on a self-exclusion questionnaire and medical-history evaluation. Blood screening involved serological tests (enzyme or chemiluminescent immunoassay [EIA or CIA]) for HBs-Ag, Anti-HCV, and HIV-Ag/Ab, as well as molecular (PCR) testing for HBV, HCV, and HIV. All negative donors were tested by “mini-pooled” PCR (MP-PCR; 24 donations), while EIA/CIA positive donations were checked by individual donation PCR (ID-PCR). The window period (WP) or “PCR-yield” was defined with negative EIA/CIA and positive ID-PCR ($HCV_{WP} = 1: 300,000$; $HIV_{WP} = 1:2$ million donations) [1,2].

The study objective was to develop an optimized protocol for detection of infrequent WP donations – across a HCV_{WP} -donor serologic and molecular “portrait design” – screened by complementary EIA/CIA and PCR testing.

In February 2012, blood was collected from a 23 year old male first-time donor. It was nonreactive serological screening tests. On the next day, qualitative MP-PCR testing – HCV RNA extraction (COBAS Ampliprep; Roche, USA), amplification and detection (COBAS Amplicor; Roche, USA) – was performed. Since HCV positivity was obtained, all 24 donations from this “mini-pool” were blocked and “sub-mini-pooled” PCR investigations (sMP-PCR; four times 6 donations) were completed. One sMP-PCR analysis was confirmed as positive; single samples from this “sub-mini-pool” were then retested by ID-PCR. One of them was positive, thus the red blood cells, platelets and fresh frozen plasma (FFP) were definitely blocked from that donation (HCV_{WP} -FFP).

The discovered HCV_{WP} -donor underwent further investigations. New facts appeared in the donor’s medical-history: data of intravenous drug usage two month prior to donation – which was not stated in the initial questionnaire. His serum was then tested (once monthly – at five time points) by applying Architect Anti-HCV (Abbott, Germany), Vitros Anti-HCV (Ortho, UK), Bioelisa HCV 4.0 (Biotek, Spain) and Monolisa Anti-HCV Plus (Bio-Rad, France). Samples were confirmed in triple by the Chiron RIBA HCV 3.0 SIA (Ortho, USA), Inno-Lia HCV Score (Innogenetics,

Belgium), and Deciscan HCV Plus (Bio-Rad, France) [3]. Anti-HCV was reactive in different EIA/CIA tests and confirmed serologically beginning with the 2nd to 5th time points.

The presence of HCV Ag was examined in the serum and the HCV_{WP} -FFP (Architect HCV Ag CIA; Abbott, Germany). Due to inconsistency in the serological results and for evaluation of inactivation efficacy, respectively, the viral load (HCV RNA concentration) in the samples was measured by quantitative real time PCR (qRT-PCR) (HCV Real-TM Quant Kit; Sacace, Italy). Although viremia varied from less than 2.50×10^2 to 4.64×10^5 IU/mL, HCV RNA was quantified at all time points during the follow-up period (Table 1).

The HCV Ag and qRT-PCR values were inversely correlated with the HCV antibody serum levels (phase shift phenomenon). The virus genotype was determined as 3a and confirmed with the highest viral load values (HCV Genotype Kit; Sacace, Italy) at the 1st, 2nd and 5th time points. This finding was in accordance with the typical genotype in injection drug users.

The donor’s HCV_{WP} -FFP unit was inactivated with the Mirasol Pathogen Reduction Technology (PRT) system (TerumoBCT, USA), as described earlier [4]. To the best of our knowledge, this is the first published data the PRT-treated HCV_{WP} -FFP examination. The levels of the HCV Ag and qRT-PCR quantifications in pre-treated vs. post-treated HCV_{WP} -FFPs samples are also shown (Table 1).

As was clearly demonstrated, PRT-treatment is capable of inactivating important HCV-activity (depletion = 5.1 Log; calculated based on $TCID_{50}$ *in vitro* infectivity assay) [5]. We speculate that the nearly equal qRT-PCR values in pre-treated vs. post-treated HCV_{WP} -FFP could be explained through the detection of residual/noninfectious HCV RNA particles – because the primer length in the molecular assay applied was around 100 base pairs, but the use of longer primers most likely could be negative for replication.

Despite superior pre-donation selection, increasingly sensitive standardized testing of blood and the use of the newest virus inactivation systems, infectious complications still represent the essential concern in transfusion practice. Introduction of PCR testing reduced the WP-hazard by approximately 10-fold in each category of HIRDS [6]. The results obtained clearly demonstrate that screening system with complementary EIA/CIA and MP/sMP-

Table 1
Serological and molecular data with PRT-treatment.

Assays/treatment used	1st tP	2nd tP	3rd tP	4th tP	5th tP
CIA/HCV Ag testing (fmol/L)	481.39*	131.87*	75.09*	90.48*	32.30*
qRT-PCR	Copies/mL	5.88×10^5	18.6×10^5	$<1.0 \times 10^3$	9.17×10^5
Qualitative PCR	MP-PCR; sMP-PCR; and ID-PCR		$3.965^* - 3.970^*$		(range: 0.2–4.0)
HCV _{WP} -FFP	Pre-treated	CIA/HCV Ag		417.88 fmol/L	
PRT-treatment	Post-treated	HCV qRT-PCR		4.82×10^5 copies/mL	
		CIA/HCV Ag		433.80 fmol/L**	
		HCV qRT-PCR		5.54×10^5 copies/mL**	

tP = time point, * = positive; ** = corrected HCV Ag and HCV qRT-PCR values (dilution factor applied).

PCR (besides being a cost-benefit advance) exactly identified donor's early WP, reducing the infectious risk-rate of the HCV_{WP}-donations.

Acknowledgements

We thank R. Goodrich and M. Pavlovic for critical reading and suggestions. This work was supported from the Ministry of Science, Republic of Serbia (Projects: "III" No. 41030; ON 173049; and No. 41004).

References

- [1] Zou S, Dorsey KA, Notari EP, Foster GA, Krzyztof DE, Musavi F, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. *Transfusion* 2010;50:1495–504.
- [2] Nübling CM, Heiden M, Chudy M, Kress J, Seitz R, Keller-Stanislawski B, et al. Experience of mandatory nucleic acid test (NAT) screening across all blood organizations in Germany: NAT yield versus breakthrough transmissions. *Transfusion* 2009;49:1850–8.
- [3] Vucetic D, Trkuljic M, Balint B, Veljanovic Ij. Detection of hepatitis C core antigen and comparison of six anti-HCV assays in testing hemodialysed patients. *Vox Sang* 2005;89(Suppl 1):110.
- [4] Stanojkovic Z, Balint B, Antic A, Todorovic M, Ostojic G, Pavlovic M. Clinical efficacy of riboflavin and ultraviolet light inactivated fresh frozen plasma assessed using INR-quantification. *Transf Apher Sci* 2012;47:33–7.
- [5] Goodrich RP, Edrict RA, Li J, Seghatchian J. The Mirasol™ PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: an overview of current status and future trends. *Transf Apher Sci* 2006;35:5–17.
- [6] Kucirka LM, Sarathy H, Govindan P, Wolf JH, Ellison TA, Hart LJ, et al. Risk of window period hepatitis-C infection in high infectious risk donors: systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2011;11:1188–200.

Bela Balint*

*Institute for Transfusiology and Hemobiology of MMA,
Crnotravska 17, Belgrade, Serbia
Institute for Medical Research,
University of Belgrade, Serbia*

*Faculty of Medicine of MMA,
University of Defense,
Serbia*

* Tel.: +381 69 866 1646.
E-mail address: belalint26@yahoo.com

Dusan Vucetic
*Institute for Transfusiology and Hemobiology of MMA,
Belgrade,
Serbia*

*Faculty of Medicine of MMA,
University of Defense,
Serbia*

Milena Todorovic-Balint
*Clinic for Hematology,
Clinical Center of Serbia,
Belgrade,
Serbia*

*Faculty of Medicine,
University of Belgrade,
Serbia*
Nemanja Borovcanin
*Institute for Transfusiology and Hemobiology of MMA,
Belgrade,
Serbia*

Snezana Jovanovic-Cupic
Vesna Mandusic
*Institute of Nuclear Sciences "Vinca",
University of Belgrade,
Serbia*



Mirasol PRT System inactivation efficacy evaluated in platelet concentrates by bacteria-contamination model

Ocena efikasnosti inaktivacije bakterija pomoću Mirasol PRT sistema u koncentrovanim trombocitima primenom modela bakterijske kontaminacije

Miodrag Jocić^{*}, Miroljub Trkuljić^{*}, Dragana Jovičić^{*}, Nemanja Borovčanin^{*},
Milena Todorović[†], Bela Balint^{*‡}

^{*}Military Medical Academy, Institute of Transfusiology, Belgrade, Serbia; [†]Clinical Center of Serbia, Clinic for Hematology, Belgrade, Serbia; University of Belgrade, [‡]Institute for Medical Research, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Bacterial contamination of blood components, primarily platelet concentrates (PCs), has been identified as one of the most frequent infectious complications in transfusion practice. PC units have a high risk for bacterial growth/multiplication due to their storage at ambient temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Consequences of blood contamination could be effectively prevented or reduced by pathogen inactivation systems. The aim of this study was to determine the Mirasol pathogen reduction technology (PRT) system efficacy in PCs using an artificial bacteria-contamination model. **Methods.** According to the ABO blood groups, PC units ($n = 216$) were pooled into 54 pools (PC-Ps). PC-Ps were divided into three equal groups, with 18 units in each, designed for an artificial bacteria-contamination. Briefly, PC-Ps were contaminated by *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* in concentrations 10^2 to 10^7 colony forming units (CFU) per unit. Afterward, PC-Ps were underwent to inactivation by Mirasol PRT system, using UV ($\lambda = 265\text{--}370$ nm) activated riboflavin (RB). All PC-Ps were assayed by BacT/Alert Microbial Detection System for CFU quantifica-

tion before and after the Mirasol treatment. Samples from non-inactivated PC-P units were tested after preparation and immediately following bacterial contamination. Samples from Mirasol treated units were quantified for CFUs one hour, 3 days and 5 days after inactivation. **Results.** A complete inactivation of all bacteria species was obtained at CFU concentrations of 10^2 and 10^3 per PC-P unit through storage/investigation period. The most effective inactivation (10^5 CFU per PC-P unit) was obtained in *Escherichia coli* setting. Contrary, inactivation of all the three tested bacteria species was unworkable in concentrations of $\geq 10^6$ CFU per PC-P unit. **Conclusion.** Efficient inactivation of investigated bacteria types with a significant CFU depletion in PC-P units was obtained – 3 Log for all three tested species, and 5 Log for *Escherichia coli*. The safety of blood component therapy, primarily the clinical use of PCs can be improved using the Mirasol PRT system.

Key words:

blood platelets; platelet transfusion; bacterial infections; treatment outcome; riboflavin; ultraviolet rays.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Bakterijska kontaminacija hemoprodukata, prvenstveno koncentrovanih trombocita (KT), jedna je od najčešćih infektivnih komplikacija u transfuzijskoj praksi. Zbog skladištenja na sobnoj temperaturi ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), KT predstavljaju veliki rizik od umnožavanja bakterija. Posledice bakterijske kontaminacije mogu biti efikasno sprečene ili smanjene upotrebom sistema za inaktivaciju patogena u različitim hemoproduktima. Cilj ovog rada bio je procena efikasnosti Mirasol sistema za redukciju patogena (PRT) u KT korišćenjem modela artefijalne bakterijske kontaminacije.

Metode. U skladu sa krvnim grupama ABO, jedinice KT ($n = 216$) spojene su u 54 pula (P-KT) koji su bili podeljeni u tri jednake grupe, u svakoj po 18 jedinica, namenjenih za artefijalnu bakterijsku kontaminaciju. Jedinice P-KT bile su kontaminirane bakterijama *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* u koncentracijama od 10^2 do 10^7 CFU po jedinici. Potom su P-KT bili podvrgnuti inaktivaciji sistemom Mirasol PRT, korišćenjem riboflavina aktiviranog UV zracima ($\lambda = 265\text{--}370$ nm). Svi P-KT su testirani sistemom BacT/Alert Microbial Detection na prisustvo CFU pre i posle postupka Mirasol. Uzorci iz neinaktivisanih jedinica PKT testirani su posle pripremanja i neposredno

posle kontaminacije bakterijama. Uzorci iz jedinica tretiranih Mirasolom ispitivani su na prisustvo CFU jedan sat, odnosno 3 i 5 dana nakon inaktivacije. **Rezultati.** Tokom perioda čuvanja/istraživanja postignuta je kompletna inaktivacija bakterija svih vrsta u koncentracijama od 10^2 i 10^3 CFU po P-KT. Najefikasnija inaktivacija (10^5 CFU po P-KT) postignuta je pri ispitivanju bakterije *Escherichia coli*. Nasuprot tome, inaktivacija kod sve tri vrste bakterija nije bila efikasna u koncentracijama bakterija $\geq 10^6$ CFU po P-KT. Zaključak. Efikasna inaktivacija ispitivanih bakterija sa bitnim smanje-

njem CFU u P-KT – 3 Log postignuta je za sve tri vrste bakterija i 5 Log za bakteriju *Escherichia coli*. Bezbednost terapije krvnim komponentama, prvenstveno klinička primena KT, može biti unapređena korišćenjem sistema Mirasol PRT.

Ključne reči:
trombociti; transfuzija trombocita; infekcija, bakterijska; lečenje, ishod; vitamin b2; ultravioletni zraci.

Introduction

The use of various inactivation techniques clearly reduces pathogen occurrence in collected blood. The Mirasol pathogen reduction technology (PRT) system is based on the treatment by ultraviolet (UV) illuminated/activated riboflavin (RB), resulting in inactivation of white blood cells (WBC) and pathogens at the molecular level due to irreversible photochemically induced damage of nucleic acids. These photochemical mechanisms inhibit nucleic acid replication and decrease incidence of potential transfusion side effects or complications¹⁻⁵.

Generally, the risk of transfusion-associated infections – applying bacteria contaminated platelet concentrates (PCs) is about 1,000 times greater than the hazard of transfusion-related HIV, hepatitis C or B virus and human T-lymphotropic virus transmission^{6, 7}. The most important sources of bacterial contamination of collected blood are the donor skin⁸⁻¹¹ or asymptomatic donors – low-level or transient bacteremia in chronic bacterial infections, as well as a recovery from a disease¹²⁻¹⁵. Seldom, the source of bacteria can be a nonsterile equipment for collection or devices for processing of harvested blood units¹⁶⁻¹⁸. The prevalence of bacterial contamination is relatively high in PCs – from 0.14% to 1.41% – since their storage temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) favors bacteria growth/multiplication^{6, 19}. Consequently, PCs are the most common cause of transfusion-associated bacterial morbidity and mortality. However, the rate of blood contamination is higher than the incidence of bacterial infections because their clinical manifestation depends on numerous factors, such as patient's general condition, antibiotic therapy, quantity and type of bacteria, etc²⁰⁻²².

Strategies to reduce the risk of transfusion-associated bacterial infections include superior donor selection²³, improved preparation and disinfecting of venepuncture field²⁴⁻²⁷, redirecting the initial blood stream into satellite bag at the start of collection^{25, 26}, improved processing procedure safety and reduced storage time^{28, 29}, reevaluation/optimization of thresholds and criteria for transfusion supportive treatment^{30, 31}, as well as the use of different pathogen inactivation systems^{1, 5-7, 32}.

The aim of this study was to evaluate the Mirasol PRT system efficacy in artificial bacteria-contamination model and to predict the importance of its application in prevention of potential infectious complications of PC clinical use.

Methods

The study included 216 units of buffy coat derived PCs; the volume was 62.4 ± 8 mL in average. The units of PC were separated from whole blood collected by a CPD/SAGM quadruple bag system (Macopharma, France) within 6 hours after donation, using a T-ACE II blood processor (Terumo, Japan). According to the ABO blood groups, PC units were pooled into 54 pools (PC-Ps; four PCs per PC-P unit). After that PC-Ps were divided into three equal groups, with 18 PC-P units in each (mean PC-P volume was 256.6 ± 14 mL). PC-Ps were stored at ambient temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) for 2 hours and then were filtered using an Imugard III-PL (Terumo, Japan).

The PC-P units were artificially contaminated by three different bacteria species. In brief, into the units of the first PC-P group *Staphylococcus epidermidis* (isolated from the skin), in the second group *Staphylococcus aureus* (ATCC# 25923), and in the units of the third group *Escherichia coli* (ATCC# 25922) were inoculated. The initial bacteria concentration for all the three species was 0.5 McF (1.5×10^8 CFU/mL). Initial suspensions were diluted (six different dilutions were applied) and inoculated into the units of PC-P groups regarding all the three species in the same way. Therefore, the final counts of inoculated CFUs were 102 to 107 per PC-P unit.

Before bacterial contamination, samples were taken (1st sample; sterility control) from the PC-P units and investigated by a BacT/Alert Microbial Detection System (Biomérieux, France). After contamination, from PC-P units samples were taken also to confirm contamination success (2nd sample; contamination checking). All PC-P units underwent inactivation by the Mirasol PRT system (CaridianBCT, USA) – that is using UV ($\lambda = 265 - 370$ nm) activated RB according to the manufacturer's instructions. Concisely, a sterile solution contains RB ($500 \mu\text{mol/L}$) in a 0.9% sodium chloride solution (pH range: 4.0–5.0). A volume of 35 ± 5 mL of this solution is added to PC-P units to produce a final concentration 57–60 $\mu\text{mol/L}$. The illuminator delivers the required UV light dose (6.24 J/mL) to the contents of an illumination bag (Mirasol Platelet Illumination/Storage set), based on product volume and measured flux rate³.

The units are then returned to platelets shaker up to the moment of the investigations that followed. Finally, the samples from the inactivated units one hour, 3 days and 5 days

after the Mirasol inactivation and storage at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ (3rd, 4th and 5th samples) were investigated for CFU units.

Results

The results of the PC-P testing before and after the contamination with bacteria *Staphylococcus epidermidis* (six different concentrations), and after inactivation of pathogens using the Mirasol PRT system, are presented in Table 1.

Testing relating to contamination of PC-Ps with bacteria *Staphylococcus aureus* and bacteria *Escherichia coli* in different concentrations is shown in Tables 2 and 3, respectively.

In the samples from PC-Ps contaminated with *Staphylococcus aureus* in the concentration of 10^4 CFU per PC-Ps, we proved the presence of the said bacteria after the storage period of three and five days (4th and 5th samples, respectively), despite the negative results of the

Table 1
Inactivation efficiency of the Mirasol PRT after platelet concentrates contamination with *Staphylococcus epidermidis*

PC-P number	CFU per PC-P unit	Bacteria presence in the sample				
		initial*	contaminated**	inactivated-1 [†]	inactivated-2 ^{††}	inactivated-3 ^{†††}
J1004 1000001	10 ²	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000002		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000003		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000004	10 ³	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000005		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000006		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000007	10 ⁴	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000008		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000009		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000010	10 ⁵	Ø	+	+	+	+
J1004 1000011		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000012		Ø	+	+	+	+
J1004 1000013	10 ⁶	Ø	+	+	+	+
J1004 1000014		Ø	+	+	+	+
J1004 1000015		Ø	+	+	+	+
J1004 1000016	10 ⁷	Ø	+	+	+	+
J1004 1000017		Ø	+	+	+	+
J1004 1000018		Ø	+	+	+	+

*1st sample – before bacterial contamination; **2nd sample – immediately after bacterial contamination; †3rd sample – one hour after inactivation; ††4th sample – day 3 after inactivation; †††5th sample – day 5 after inactivation.

Table 2
Inactivation efficiency of the Mirasol PRT after platelet concentrations contamination with *Staphylococcus aureus*

PC-P number	CFU per PC-P unit	Bacteria presence in the sample				
		initial*	contaminated**	inactivated-1 [†]	inactivated-2 ^{††}	inactivated-3 ^{†††}
J1004 1000019	10 ²	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000020		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000021		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000022	10 ³	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000023		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000024		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000025	10 ⁴	Ø	+	Ø	+	+
J1004 1000026		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000027		Ø	+	Ø	Ø	+
J1004 1000028	10 ⁵	Ø	+	+	+	+
J1004 1000029		Ø	+	+	+	+
J1004 1000030		Ø	+	Ø	+	+
J1004 1000031	10 ⁶	Ø	+	+	+	+
J1004 1000032		Ø	+	+	+	+
J1004 1000033		Ø	+	+	+	+
J1004 1000034	10 ⁷	Ø	+	+	+	+
J1004 1000035		Ø	+	+	+	+
J1004 1000036		Ø	+	+	+	+

*1st sample – before bacterial contamination; **2nd sample – immediately after bacterial contamination; †3rd sample – one hour after inactivation; ††4th sample – day 3 after inactivation; †††5th sample – day 5 after inactivation.

The samples of contaminated PC-Ps with *Staphylococcus epidermidis* in the concentration of 10^4 CFU per PC-P were also sterile after the Mirasol PRT inactivation process and during a storage period, while in bacterial concentration of 10^5 CFU per PC-P, only one PC-P was sterile.

first sample taken one hour after the Mirasol PRT inactivation.

The highest degree of pathogen reduction has been made in PC-Ps contaminated by *Escherichia coli* inoculation. In concentrations of bacteria $\leq 10^5$ CFU per PC-Ps, the sam-

Table 3

Inactivation efficiency of the Mirasol PRT after platelet concentrate contamination with *Escherichia coli*

PC-P number	CFU per PC-P unit	Bacteria presence in the sample				
		initial*	contaminated**	inactivated-1 [†]	inactivated-2 ^{††}	inactivated-3 ^{†††}
J1004 1000037		0	+	0	0	0
J1004 1000038	10 ²	0	+	0	0	0
J1004 1000039		0	+	0	0	0
J1004 1000040		0	+	0	0	0
J1004 1000041	10 ³	0	+	0	0	0
J1004 1000042		0	+	0	0	0
J1004 1000043		0	+	0	0	0
J1004 1000044	10 ⁴	0	+	0	0	0
J1004 1000045		0	+	0	0	0
J1004 1000046		0	+	0	0	0
J1004 1000047	10 ⁵	0	+	0	0	0
J1004 1000048		0	+	0	0	0
J1004 1000049		0	+	+	+	+
J1004 1000050	10 ⁶	0	+	+	+	+
J1004 1000051		0	+	+	+	+
J1004 1000052		0	+	+	+	+
J1004 1000053	10 ⁷	0	+	+	+	+
J1004 1000054		0	+	+	+	+

*1st sample – before bacterial contamination; **2nd sample – immediately after bacterial contamination; †3rd sample – one hour after inactivation; ††4th sample – day 3 after inactivation; †††5th sample – day 5 after inactivation.

ples were sterile during the whole storage period. However, pathogen inactivation was not successful with bacterial concentrations $\geq 10^6$ CFU per PC-Ps.

The results show that all PC-P units (n = 54) were sterile before testing (1st sample), as well as that the contamination of units by all the three bacteria species in all concentrations – from 10^2 to 10^7 – was confirmed (2nd sample). There was a complete inactivation of bacteria in concentrations of 10^2 and 10^3 CFU per PC-P (the degree of reduction was 2 and 3 Log) during the storage period (3rd, 4th and 5th samples) for all the three types of bacteria.

Summarily, in our study using the Mirasol PRT system bacterial depletion rank was 3–5 Log for all the three of bacteria species.

Discussion

The bacteria presence in PCs is often the result of their inadequate removal from the skin of donors (venepuncture field), not diagnosed donor's bacteremia and possible blood contamination during collection and processing^{33–36}. Bacterial contamination of PCs, associated with adverse transfusion reactions showed that most commonly isolated Gram-positive bacteria from donor's skin (*Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*) were found in more than 70% of published cases of sepsis associated with PC transfusion^{6, 35, 37}. Contrary to this, some published data showed that Gram-negative bacteria, such as *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Serratia marcescens* are most commonly isolated pathogens in transfusion associated sepsis. Fatal outcome was the result of infection with Gram-negative bacteria in 63% of cases in comparison with 37% of fatal outcome after infections with Gram-positive bacteria^{6, 35, 37}.

To assess the efficacy of bacterial reduction by the Mirasol PRT system, two types of experiments known as “high

spike bacterial titer” and “low spike bacterial titer” tests were performed¹. Both methods involve inoculation of the known number of bacteria before inactivation of pathogens, and subsequently prove the presence or quantification of remaining bacteria (CFU) and calculate degree of their reduction. The aim of the experiments with high-titer bacteria inoculation was to determine the full potential of the Mirasol PRT system in the terms of reduction of a large number of bacteria in PCs. Contrary, in studies with inoculation of low, but clinically significant titer of bacteria, after the Mirasol inactivation of pathogens (0.5–2 Log CFU per mL), evaluation of PCs usefulness for transfusion was performed using standard systems to detect contamination during the whole storage period^{1, 38}.

Based on these facts, our pathogen inactivation model examined the Mirasol treatment efficacy in PCs, previously contaminated with different bacterial species most frequently associated with bacterial adverse transfusion complications – *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Inoculation prepared with a various bacterial concentrations (range: 10^2 to 10^7 CFU per PC-P unit). Checking the maximum capacity of the Mirasol PRT system for the degree of pathogen inactivation was testing by inoculation of high bacterial concentrations in the PCs. Evaluation of the Mirasol efficacy in the prevention of potential infectious complications after transfusion of contaminated PC units was performed due to inoculation of lower bacteria's concentrations – mimicking the conditions regularly seen in clinical practice.

For the period of storage bacteria can growth/multiply quickly, as in our study with PC-Ps contaminated with *Staphylococcus aureus* species in the concentration of 10^4 CFU per PC-P in two PC-Ps. Despite the reduction of bacteria's number after the Mirasol PRT system inactivation to undetectable degree (negative result in the 3rd sample), there was a multiplication of the remaining viable bacteria to

detectable levels (confirmed in two PC-P units at 3rd and/or 5th days).

Concerning the literature data, fresh PCs are contaminated with less than 100 bacteria *per product*^{1,20}. The number of inoculated bacteria can vary from low concentrations (100–1,000 times higher than clinically relevant concentrations) to high, when their number is approximately 10,000–100,000 times bigger than in typical clinical conditions. In our model, we achieved the degree of pathogen reduction from 3–5 Log which represents an additional high-level safety for patients receiving PCs. Impossibility to complete inactivation of viable bacteria number in concentrations $\geq 10^6$ CFU *per PC-P unit* has no importance, because in clinical practice we do not regularly see such a large number of bacteria in fresh blood products. Finally, the obtained degree of pathogen reduction/inactivation in our research model was in accordance with the studies of other authors^{1,4,38}, as well as the manufacturer's instructions.

The advantage of the Mirasol PRT system, unlike other systems developed to inactivate pathogens in blood products, is in the fact that after illumination of product with UV light during 6–10 minutes (6.24 J / mL), these products are immediately ready for clinical use. Therefore, there is no need for subsequently removing RB and its metabolites from blood products, since it is a vitamin, already present in the body of the recipient.

Conclusion

In this study efficient pathogen inactivation (CFU depletion) was obtained in investigated PC-P units – 3 Log for all the three tested bacteria species and 5 Log for *Escherichia coli*. Thus, the safety of blood component therapy – predominantly the clinical use of PCs – can be significantly improved (lower morbidity/mortality rate) by using the Mirasol PRT system.

R E F E R E N C E S

- Goodrich RP, Edrich RA, Li J, Seghatchian J. The Mirasol PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: an overview of current status and future trends. *Transfus Apher Sci* 2006; 35(1): 5–17.
- Goodrich RP, Doane S, Reddy HL. Design and development of a method for the reduction of infectious pathogen load and inactivation of white blood cells in whole blood products. *Biologicals* 2010; 38(1): 20–30.
- Reddy HL, Dayan AD, Cavagnaro J, Gad S, Li J, Goodrich RP. Toxicity testing of a novel riboflavin-based technology for pathogen reduction and white blood cell inactivation. *Transfus Med Rev* 2008; 22(2): 133–53.
- Goodrich P, Gilmour D, Hovenga N, Keil SD. A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns. *Transfusion* 2009; 49(6): 1205–16.
- Solheim BG. Pathogen reduction of blood components. *Transfus Apher Sci* 2008; 39(1): 75–82.
- Blajichman MA. Incidence and significance of the bacterial contamination of blood components. *Dev Biol (Basel)* 2002; 108: 59–67.
- Brecher ME, Hay SN. Improving platelet safety: bacterial contamination of platelets. *Curr Hematol Rep* 2004; 3(2): 121–7.
- Bueno JL. Skin disinfection and bacterial contamination of blood components: be simple. *Transfusion* 2010; 50(1): 5–8.
- Goldman M, Roy G, Fricbette N, Déary F, Massicotte L, Delage G. Evaluation of donor skin disinfection methods. *Transfusion* 1997; 37(3): 309–12.
- Lee CK, Ho PL, Chan NK, Mak A, Hong J, Lin CK. Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. *Vox Sang* 2002; 83(3): 204–8.
- McDonald CP, Lowe P, Roy A, Robbins S, Hartley S, Harrison JF, et al. Evaluation of donor arm disinfection techniques. *Vox Sang* 2001; 80(3): 135–41.
- Tipple MA, Bland A, Murphy JJ, Arduino MJ, Panlilio AL, Farmer JJ 3rd, et al. Sepsis associated with transfusion of red cells contaminated with *Yersinia enterocolitica*. *Transfusion* 1990; 30(3): 207–13.
- Benavides S, Nicol K, Koranyi K, Nabata MC. *Yersinia* septic shock following an autologous transfusion in a pediatric patient. *Transfus Apher Sci* 2003; 28(1): 19–23.
- Stainsby D, Jones H, Asber D, Atterbury C, Boncinelli A, Brant L, et al. Serious hazards of transfusion: a decade of hemovigilance in the UK. *Transfus Med Rev* 2006; 20(4): 273–82.
- Jafari M, Forsberg J, Gilber RO, Smith JW, Crutcher JM, McDermott M, et al. Salmonella sepsis caused by a platelet transfusion from a donor with a pet snake. *N Engl J Med* 2002; 347(14): 1075–8.
- Helberg O, Skov F, Gerner-Smidt P, Kolmos HJ, Dybbjaer E, Gutschik E, et al. Nosocomial epidemic of *Serratia marcescens* septicemia ascribed to contaminated blood transfusion bags. *Transfusion* 1993; 33(3): 221–7.
- Högman CF, Fritz H, Sandberg L. Posttransfusion *Serratia marcescens* septicemia. *Transfusion* 1993; 33(3): 189–91.
- AuBuchon JP, Pickard C, Herschel L. Sterility of plastic tubing welds in components stored at room temperature. *Transfusion* 1995; 35(4): 303–7.
- Loukemas L, Houmane N, Miskine M, Mdagbri N, Benbachir M, Benchemsi N. Prevalence of bacterial contamination of standard platelet units: prospective study. *Transfus Clin Biol* 2000; 7(2): 171–6.
- Brecher ME, Holland PV, Pineda AA, Tegtmeier GE, Yontovian R. Growth of bacteria in inoculated platelets: implications for bacteria detection and the extension of platelet storage. *Transfusion* 2000; 40(11): 1308–12.
- McDonald CP, Roy A, Lowe P, Robbins S, Hartley S, Barbara JA. Evaluation of the BacT/Alert automated blood culture system for detecting bacteria and measuring their growth kinetics in leucodepleted and non-leucodepleted platelet concentrates. *Vox Sang* 2001; 81(3): 154–60.
- Wagner SJ, Moroff G, Katz AJ, Friedman LI. Comparison of bacterial growth in single and pooled platelet concentrates after deliberate inoculation and storage. *Transfusion* 1995; 35(4): 298–302.
- Germain M, Goldman M. Blood donor selection and screening: strategies to reduce recipient risk. *Am J Ther* 2002; 9(5): 406–10.
- de Korte D, Marcelis JH, Soeterboek AM. Determination of the degree of bacterial contamination of whole-blood collections using an automated microbe-detection system. *Transfusion* 2001; 41(6): 815–8.
- de Korte D, Marcelis JH, Verboeven AJ, Soeterboek AM. Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collections. *Vox Sang* 2002; 83(1): 13–6.

26. McDonald CP, Roy A, Mahajan P, Smith R, Charlett A, Barbara J.A. Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. *Vox Sang* 2004; 86(3): 178–82.
27. McDonald C, McGuane S, Thomas J, Hartley S, Robbins S, Roy A, et al. A novel rapid and effective donor arm disinfection method. *Transfusion* 2010; 50(1): 53–8.
28. Pietersz RN, de Korte D, Reesink HW, Dekker WJ, van den Ende A, Loois J.A. Storage of whole blood for up to 24 hours at ambient temperature prior to component preparation. *Vox Sang* 1989; 56(3): 145–50.
29. Wagner SJ, Robinette D, Nazario M, Moruff G. Bacteria levels in components prepared from deliberately inoculated whole blood held for 8 or 24 hours at 20 to 24 degrees C. *Transfusion* 1995; 35(11): 911–6.
30. Balint B, Stamatovic D. Clinical indications of transfusion therapy in internal medicine. In: Walterova L, Kretschmer V, Bogdanovic G, Rossi U, editors. The contribution of clinical medicine to blood safety. Proceedings of the European School of Transfusional Medicine ESTM Residential Course Milano: ESTM; 2003. p. 51–60.
31. Lozano M, Cid J. Consensus and controversies in platelet transfusion: trigger for indication, and platelet dose. *Transfus Clin Biol* 2007; 14(6): 504–8.
32. Pelletier JP, Transue S, Snyder EL. Pathogen inactivation techniques. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006; 19(1): 205–42.
33. Blajichman M.A. Bacterial contamination of cellular blood components: risks, sources and control. *Vox Sang* 2004; 87(Suppl 1): 98–103.
34. Brecher ME, Hay SN. Bacterial contamination of blood components. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(1): 195–204.
35. Ness P, Braine H, King K, Barrasso C, Kieckler T, Fuller A, et al. Single-donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. *Transfusion* 2001; 41(7): 857–61.
36. Rentas F, Harman R, Gomez C, Salata J, Childs J, Silva T, et al. Inactivation of *Orientia tsutsugamushi* in red blood cells, plasma, and platelets with riboflavin and light, as demonstrated in an animal model. *Transfusion* 2007; 47(2): 240–7.
37. Engelfriet CP, Reesink HW, Blajichman M.A, Myllye L, Kjeldsen-Kragh J, Kekomaki R, et al. Bacterial contamination of blood components. *Vox Sang* 2000; 78(1): 59–67.
38. Ruane P, Edrich R, Gampp D, Keil S, Leonard L, Goodrich R. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. *Transfusion* 2004; 44(6): 877–85.

Received on May 12, 2010.
Accepted on June 22, 2010.