REPUBLIKA E KOSOVËS/REPUBLIKA KOSOVA/REPUBLIC OF KOSOVA
QEVERIA E KOSOVËS/VLADA KOSOVA/GOVERNMENT OF KOSOVA
MINISTRIA E SHËNDETËSISË/MINISTARSTVO ZDRAVLJA/MINISTRY OF HEALTH
Njësia Org.
Org. Jedinica 02
Org Unit
Nr.i faqeve
Br.stranica
No.pages -14-
Nr.Prot:
Broj Prot:
Prot No 05-5025
Data:
Datum:
Date: 15/07/2026
Prishtinë / a

Republika e Kosovës
Republika Kosova-Republic of Kosovo
Qeveria-Vlada-Government
Ministria e Shëndetësisë/Ministry of Health/Ministarstvo Zdravstva

PROCEDURA STANDARDE OPERATIVE/PSO

EMRI I PSO: TESTI PËR DETEKTIMIN KUALITATIV TË ANTITRUPAVE/ANTIGJENIT NDAJ VIRUSIT TË HIV NË SERUM OSE PLAZMËN HUMANE (METODA MANUALE ELISA, METODA E AUTOMATIZUAR CHEMILUMINISCENCE – PLRFRSVP05/V1.0)

PËRMBAJTJA: DOKUMENTI PËRFSHIN HAPAT KRYESORË TË PËRGATITJES SË MOSTRËS, APLIKIMIT TË METODËS DHE INTERPRETIMIT TË REZULTATIT, DUKE SIGURUAR QË TESTIMI TË KRYHET NË MËNYRË TË SAKTË DHE TË STANDARDIZUAR PËR DETEKTIMIN KUALITATIV TË ANTITRUPAVE NDAJ VIRUSIT TË HIV NË SERUM

VERSIONI:1.0
DATA E APROVIMIT:15.07.2026.
AUTOR: MSH/IKSHPK
NR. I HAPAVE: XIII
NR. I NËNHAPAVE: 51

APROVUAR: Jahë Gecaj
U.D. Sekretar i Përgjithshëm, Ministria e Shëndetësisë

V.v

REPUBLIKA E KOSOVËS - QEVERIA E KOSOVËS - MINISTRIA E SHËNDETËSISË
REPUBLIKA KOSOVA - VLADA KOSOVA - MINISTARSTVO ZDRAVLJA
REPUBLIC OF KOSOVA - GOVERNMENT OF KOSOVA - MINISTRY OF HEALTH
Prishtinë / a

QËLLIMI	QËLLIMI I KËSAJ PSO ËSHTË TË PËRCAKTOJË NË MËNYRË TË QARTË HAPAT QË DUHET NDJEKUR PËR TË KRYER DETEKTIMIN KUALITATIV TË ANTITRUPAVE NDAJ VIRUSIT TË HIV NË SERUM OSE PLAZMËN HUMANE (CITRAT OSE HEPARIN). PËRMES METODËS ELISA DHE METODËS CHEMOLUMISCENSE NDAJ HIV NË SERUM OSE PLAZMËN HUMANE PËR SKRININGUN E DHURUESVE TË GJAKUT DHE DIAGNOSTIKIMIT TË PACIENTËVE TË INFEKTUAR ME VIRUSIN E HIV.
NDËRLIDHJA ME AKTET	DORACAKU PËR MENAXHIMIN E CILËSISË NË LABORATORË, 2025; LIGJI NR. 08/L-200 PËR PARANDALIMIN DHE KONTROLLIN E SËMUNDJEVE NGJITËSE; PLANI STRATEGJIK KOMBËTAR PËR LABORATORE 2024-2030; PSO PËR ASGJËSIMIN E MBETURINAVE MEDICINALE –MSH, GUSHT 2023; PSO DEKONTAMINIMI NË RASTE TË DERDHJES SË MATERIALIT TË RREZIKSHËM DHE RREZIQEVE TJERA TË LABORATORIT; PSO- ZBATIMI I MASAVE TË BIOSIGURISË PËR MBROJTJE PERSONALE (BIO-P01-V1.0) PSO- PËRDORIMI DHE MIRËMBAJTJA E INKUBATORIT NË LABORATOR (BIO-P02-V1-0)
LISTA E SHKURTESAVE	ELISA - ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY HIV - VIRUSI I HIV (VIRUSI I IMUNODEFICIENCËS HUMANE) ANTI-HIV - ANTITRUPAT NDAJ VIRUSIT HIV NC – KONTROLLA NEGATIVE OD - VLERA E ABSORBANSËS NË MIKROLEXUESIN E PLLAKËS ELISA RLU – NJËSI RELATIVE E DRITËS PPM – PAJISJET PERSONALE MBROJTËSE; TMB – TRETJE E TETRAMETIL BENZIDINËS. CLIA - KEMILUMINISHENCË

PROCEDURA

Nr.	HAPI	NËN-HAPAT
[I]	Zbatimi i masave për menaxhim të mostrave	1. Mostra merret nga infermieri në klinikë ose nga laboranti në zyrën e pranimit; 2. Mostra transportohet nga laboranti në zyrën e pranimit deri në laborator; 3. Pranimi, ndarja, procedura e testimit dhe ruajtja e mostrës kryhen nga laboranti përkatës në laborator; 4. Rezultati analizohet nga laboranti dhe mjeku përkatës: 5. Rezultati aprovohet nga mjeku përgjegjës; 6. Zyrtari i Cilësisë në Divizionin për Kontrollin e Cilësisë dhe Shërbime të Përbashkëta Mikrobiologjike është përgjegjës për sigurimin e zbatimit të masave të biosigurisë dhe biombrojtjes, përfshirë kriteret e refuzimit dhe pranimit të mostrave.
[II]	Pajisjet dhe materialet tjera të nevojshme të testimit me ELISA	1. Sigurohu që të gjitha pajisjet dhe reagjentët e mëposhtëm janë të disponueshëm në tavolinat e punës dhe funksionalë para fillimit të testimit. 1.1.Pajisjet dhe materialet e nevojshme: a. Lexuesi i pllakës me ELISA, pajisje për matjen e absorbancës 450/620 nm; b. Inkubatori 37 ^{0}C; c. Pajisje manuale ose automatike për shpërlarjen e pllakës; d. Pipetat për volumin në mes 10 dhe 1000 µl; e. Centrifuga për ndarjen e mostrës së serumit dhe plazmë; f. Vortex-i; g. Kohëmatësi; h. Kontenjerët për mbeturina ; i. PPM si dorëzat, mantili, maska, syzet, mburoja për fytyrën; j. Ujë i distiluar ose dejonizuar; k. Kivetat; l. Një folie mbuluese; m. Udhëzimi për përdorim; n. Mbajtësja e stripeve; 1.2.Reagjentët e nevojshëm në kitin e testimit: a. Pllaka për mikrotitrim: 12 stripe me nga 8 thellime. Në secilin thellim janë të fiksuar antigjenet rekombinant në HIV; b. Kontrolla negative: E gatshme për përdorim; Të përzihet mirë para përdorimit;

		c. Kontrolla pozitive: E gatshme për përdorim; Të përzihet mirë para përdorimit; d. Buferi për pastrim; e. Konjugati; f. Substrati/Kromogjen; g. Tretja për stopimin e reaksionit është e gatshme për përdorim, duhet të përzihet mirë para përdorimit.
[III]	Pajisjet dhe materialet tjera të nevojshme për testin CLIA	1. Sigurohu që të gjitha pajisjet dhe reagjentët e mëposhtëm janë të disponueshëm në tavolinat e punës dhe funksionalë para fillimit të testimit. 1.1.Pajisjet: a. Analizatori LIAISON® XL; b. Kompjuteri dhe sistemi LIS (nëse aplikohet); 1.2.Reagjentët: a. LIAISON® XL Murex Reagent Integral për detektimin e antitrupave me komponentet përbërëse: ✓ Grimcat magnetike (të mveshura me antigjene HIV-1 gp41 dhe HIV-2 gp35; ✓ Kalibratorët; ✓ Holluesi i mostrës; ✓ Konjugati. b. LIAISON® XL Murex Reagent Integrali për detektimin e antigjenit HIV p24 me komponentet përbërëse: ✓ Grimcat magnetike (të mveshura); ✓ Antitrupat e biotiniluar në HIV p24; ✓ Kalibratorët; ✓ Holluesi i mostrës; ✓ Konjugati; c. Komponentët e nevojshme përcjellëse: ✓ Kiveta dhe maja pipetash të sistemit LIAISON® ✓ Starter Kit LIAISON®; ✓ Solucionet e sistemit (Wash/System Liquid) LIAISON® ; ✓ Qeset për mbeturina LIAISON®; 1.3.Ruajtja e Reagjentëve: a. Reagjentët ruhen në temperaturë 2–8°C; b. Nuk duhet të ngrihen; c. Ruhen sipas afatit të deklaruar nga prodhuesi; d. Pas vendosjes në analizator përdoren sipas periudhës së stabilitetit të përcaktuar nga prodhuesi.

[IV]	Veprimet laboratorike të përgatitjeve të reagensëve dhe mostrave për testimin me ELISA	1. Reagjentët lihen në temperaturë dhome (20-25° C) dhe përzihen para fillimit të testimit; 2. Nga kiti për testim merren stripet e nevojshme për punë (kalkulo sipas numrit të testeve), pjesa tjetër e mbetur e stripeve duhet të lihet mbështjella në folie bashkë me tharësin dhe kutia të vendoset në frigorifer 2-8 °C; 3. Buferi për pastrim, (20x i koncentruar) përzihet mirë para hollimit dhe të përgatitet me 10mL bufer dhe 190mL ujë të destiluar. Buferi i përgatitur mund të qëndrojë 5 ditë në temperaturë të dhomës (20-25°C). Nëse paraqiten kristalet në koncentrat, të ngrohet tretja në 37°C në banjo ujore; 4. TMB Solucioni për substrat ka reagjentin e gatshëm për përdorim, i cili ruhet në temperaturë 2-8 °C, larg dritës. Të sigurohet se tretja është e pangjyrë, ose me një nuancë të ngjyrës së kaltër. Nëse substrati ka marrë ngjyrë të kaltër, atëherë mund të jetë kontaminuar, andaj duhet larguar nga përdorimi; 5. Mostrat që do të testohen shkrihen dhe përzihen mirë para përdorimit.
[V]	Veprimet laboratorike të testimit me ELISA	1. Të ndezët inkubatori derisa të arrihet temperatura 37°C; 2. Numëro gropëzat: Vendos stripet e nevojshme në pllakë mbajtësin e stripeve; 3. Gropëza A1 mbetet e zbrazët: a. Të vendosen 100 µl të kontrollës Negative në tri gropëza (B1,C1, D1); b. Të vendosen 100 µl të kontrollës Pozitive në dy gropëza (nje per HIV1 nje per HIV2 dhe nje per HIV Ag kontrola:E1,F1,G1). 4. Të vendosen 20 µl diluent (Biotin Conjugated Reagent) në të gjitha gropëzat përveç gropëzës së zbrazët dhe të mbulohet pllaka me folie ngjitëse; 5. Shto 100 µl Mostër / Serum në gropëzat tjera; 6. Inkubimi: mbulo pllakën me folie ngjitëse dhe inkuboni në 37° C për 60 minuta; 7. Shpërlarja: Pas përfundimit të inkubimit, largohet folia dhe të shpërlahet mirë me 350 µl tretësirë për shpëlarje (së paku 5 cikle). Pas cdo shpëlarje pllaka kthehet mbrapsht dhe shkundet mbi letër absorbuese në mënyrë që të largohen mbetjet; 8. Shto (pipeto) 100 µl të konjugatit në secilën gropëz (përveç në A1) dhe të mbulohet pllaka me folie ngjitëse; 9. Inkubim për 30 minuta në 37° C;

<table>
<tr><td></td><td></td><td>10. Shpëlarja: të shpërlahet mirë me 350 µl tretësirë për shpërlarje (së paku 5 cikle). pas çdo shpëlarje pllaka kthehet mbrapsht dhe shkundet mbi letër absorbuese në mënyrë që të largohen mbetjet;
11. Shto 50 µl të substratit/kromogjen-A/dhe 50 µl të substratit/kromogjen B/në secilën gropëz (përfshirë edhe A1); dhe të mbulohet pllaka me folie ngjitëse. Reaksioni enzimatik në mes Konjugatit dhe Substratit do ta ndërrojë ngjyrën në të kaltër në mikrothellimet me kontrollet pozitive dhe në mostrat anti HBs pozitive;
12. Inkubimi për 15 minuta në 37° C.
Shto (pipeto) 50 µl të Acidit Sulfurik (Stop Solution - Tretja për stopimin e reaksionit) në secilën gropëz. Te mikrothellimet me kontrollat pozitive dhe në mostrat anti HIV pozitive, ngjyra e kaltër duhet të shndërrohet në të verdhë. Hapësirat që përmbajnë mostra negative nuk ndryshojnë ngjyrë. Të performohen të gjitha hapat sipas udhëzimit pa vonesë;
13. Të vendoset mikro-pllaka në lexuesin e mikro-pllakës ELISA brenda 5 min pas stopimit të reaksionit.</td></tr>
<tr><td>[VI]</td><td>Veprimet laboratorike për leximin e rezultateve të testeve ELISA</td><td>1. Leximi i rezultateve: Lexuesi i mikro-pllakës ELISA vendoset në zero duke përdorur gropëzën e zbrazët të substratit;
2. Leximi bëhet duke u matur absorbanca në gjatësi valore 450/620 nm. brenda 5 min. pas stopimit;
3. Absorbanca matet në 450 nm. për të gjitha gropëzat dhe vlerat regjistrohen për çdo kontrollë dhe mostër;
4. Rekomandohet matje bikromatike me gjatësi valore 620nm, nëse është e mundur;
5. Për gropëzat e dyfishta, kalkulohet mesatarja e absorbancës.</td></tr>
<tr><td>[VII]</td><td>Interpretimi i rezultateve të testeve ELISA</td><td>1. Interpretimi i rezultateve bëhet me llogaritjen si në vijim:
a. Kalkulimi i Cut-Off (CO):
*NC (kontrolla negative) x 2.1 = Vlera e Cut-Off
Vëni re: Nëse mesatarja e kontrollave negative(*NC) është më e vogël se 0.05, merret 0.05. Nëse është më e madhe se 0.05 – shiko Intervalin e Kontrollës së Kualitetit (Quality control range) sipas udhëzimit të prodhuesit të kitit në referencë.
<table>
<tr><th>Sample/Cut-off ratio</th><th>Interpretimi</th></tr>
<tr><td><0.9</td><td>Negative</td></tr>
<tr><td>0.9 – 1.00</td><td>Papërcaktuar</td></tr>
<tr><td>> 1.00</td><td>Pozitive</td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><td>[VIII]</td><td>Validimi i rezultateve të testeve ELISA</td><td>1. Rezultatet e testit janë valide nëse kriteret e kontrollës së kualitetit janë të verifikuara:
a. Absorbansa në thellimin A1 (e zbrazët) është < 0.080 në 450 nm.
b. Vlera e absorbansës OD e kontrollës Pozitive duhet të jetë ≥ 0.800.
c. Vlera e absorbansës OD e kontrollës Negative duhet të jetë < 0.100.
i. Sample/C.O. <10%: negative;
ii. Sample/C.O. ≥10%: pozitive;
d. Mostrat me absorbansë të C.O. në intervalin 0.9-1.00 konsiderohet e papërcaktuar dhe rekomandohet të ritestohet.</td></tr>
<tr><td>[IX]</td><td>Veprimet laboratorike të përgatitjeve të reagensëve dhe mostrave për testimin me CLIA</td><td>1. Reagjentët lihen në temperaturë dhome (20-25°C) dhe përzihen para fillimit të testimit;
2. Verifiko identifikimin e saktë të mostrave para analizimit. Si mostër përdoret serumi human ose plazma. Ruhet në temperaturë 2-8°C për ruajtje afatshkurtër, ose deri në -80 °C për ruajtje afatgjatë;
3. Siguroni se personeli është i trajnuar dhe kompetent për përdorimin e sistemit LIAISON® XL dhe të përcillen në mënyrë strikte udhëzimet sipas Shtojcës 2;
4. Siguroni që në analizatorin LIAISON® XL është kryer kontrolla e cilësisë;
5. Verifiko vlefshmërinë e kalibrimit;
6. Verifiko funksionimin e analizatorit;
7. Kontrollo nivelin e reagjentëve dhe materialeve harxhuese;
8. Vendos reagjentët si kalibratorin, kontrollet në vendet përkatëse;
9. Vendos mostrat në rack-et përkatëse;</td></tr>
<tr><td>[X]</td><td>Veprimet laboratorike për testimin me CLIA</td><td>1. Regjistro ose importo kërkesat e analizave: Përzgjidh analizën anti-HIV;
2. Nis analizën. Analizatori kryen automatikisht dozimin e reagjentëve, inkubimet e nevojshme, larjet automatike dhe matjen e sinjalit kemilumineshent.</td></tr>
<tr><td>[XI]</td><td>Interpretimi i rezultateve të testeve CLIA</td><td>1. Analizatori kryen automatikisht kalkulimin e sinjalit vs Cut-off., matjen e sinjalit kemilumineshent dhe bën vlerësimin final të rezultateve të kombinuara (antitrupat anti-HIVdhe antigjenit HIV p24).
<table>
<tr><th>Sample/Cut-off ratio</th><th>Interpretimi</th></tr>
<tr><td><1.00</td><td>Negative</td></tr>
<tr><td>≥ 1.00</td><td>Pozitive</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

[XII]	Validimi i rezultateve të testeve CLIA	1. Rezultatet duhet të interpretohen së bashku me të dhënat klinike dhe epidemiologjike; 2. Shënim: Në fazat shumë të hershme të infeksionit antitrupat mund të mos jenë të detektueshëm. Rezultatet lehtë pozitive kërkojnë testim konfirmues sipas procedurave të laboratorit.
[XIII]	Raportimi i rezultateve	1. Raportimi i rezultateve duhet përfshirë rezultatin e testit, llojin e testimit, vlerat e fituara dhe çdo koment ose rekomandim shtesë për trajtim; 2. Siguro futjen e të dhënave të duhura në sistemin e menaxhimit të informacionit laboratorik; 3. Pasi të kryhet testimi mostra ruhet në temperaturë 2-8 °C, ose për ruajtje më të gjatë deri -80°C, sipas protokollit të analizës. 4. Asgjësimi i mostrës bëhet sipas protokollit të laboratorit për asgjësimin e mostrave.

Referencat:

- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 6th Edition, CDC;
- https://www.cdc.gov/hepatitis-c/hiv/diagnosis-testing/index.html;
- WHO Laboratory biosafety manual, 4th edition;
- Protokoli i testimit HBeAg me ELISA manuale Axiom, Germany;
- Udhëzuesi i përdorimit për lexuesin e mikro-pllakës ELISA;
- Udhëzuesi i përdorimit për pastruesin e pllakës mikro-titrike ELISA;
- Manuali i përdorimit LIAISON® XL;
- Udhëzimi i përdorimit (IFU) për LIAISON® XL Murex HIV Ab;
- ISO 15189:2022;
- Procedurat e sistemit të menaxhimit të cilësisë së laboratorit.
- World Health Organization (WHO) guidelines for laboratory biosafety.

Shtojca 1.

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) është një metodë analitike imunologjike që përdoret për zbulimin dhe matjen sasiore ose cilësore të antigjeneve/antitrupave në mostra biologjike (serum, plazmë,). ELISA është një test kualitativ dhe nuk jep matje sasiore të antitrupave anti-HIV. Respektimi strikt i protokolit të analizës, përfshirë pipetimin e saktë, larjen e duhur dhe kohëzgjatjen e saktë të hapave të inkubimit, është thelbësor për rezultate të besueshme.

1. Parimi i metodës

Metoda bazohet në lidhjen specifike antigjen–antitrup. Në ELISA manuale, reagentët shtohen dhe lahen manualisht në thellimet e mikropllakës. Një enzimë e lidhur me antitrupin ose antigjenin reagon me substratin dhe prodhon një ndryshim ngjyre. Intensiteti i ngjyrës është proporcional me sasinë e analitit të pranishëm në mostër. Gjatë testimit duhet të përdoren pipetat (vazhdueset) e veçanta për secilën mostër, kontrollë negative dhe kontrollë pozitive për të ju shmangur kontaminimit të kryqëzuar.

2. Hapat kryesorë të ELISA-s manuale

1. Veshja (coating) e thellimeve me antigjen ose antitrup.
2. Bllokimi i vendeve të palidhura.
3. Shtimi i mostrës.
4. Inkubimi për të lejuar lidhjen antigjen–antitrup.
5. Larja e thellimeve për largimin e substancave të palidhura.
6. Shtimi i konjugatit enzimatik.
7. Inkubimi dhe larja.
8. Shtimi i substratit kromogjen.
9. Ndalimi i reaksionit.
10. Leximi i absorbancës me spektrofotometër (ELISA reader).

Metoda e detektimit të HIV-it (1+2)AG/AB është metodë e ELISA-s Sandwich me një inkubacion me dy hapa e cila përdor stripa te poliesterit tëveshura paraprakisht me antigjene rekombinante HIV (HIV-1gp41 rekombinante, gp120, HIV-2 rekombinante gp-36) dhe antitrupa anti-HIV (p24).

.1 Hapi i parë –Antitrupat e biotiniluar anti-HIV (p24) së bashku me serumin ose plazmën e mostrës së pacientit vendosen brenda thellimeve.

.2 Gjatë inkubacionit antitrupat specifike HIV1/2 nëse janë të pranishme në mostër do të lidhen brenda thellimeve. Njëkohësisht nëse antigjeni p24 HIV është i pranishëm në mostër ai gjithashtu do të lidhet si një "SANDËICH" i dyfishtë i antitrupave ku formohet kompleks i përbërë nga: antitrupa të veshura - antitrupa të biotiniluar p24. Thellimet më pas shpërlahen për të larguar proteinat e palidhura të serumit

.3 Zbulimi i kompleksit të antitrupave të kapura me antigjenin p24 të antitrupave të biotiniluar ose të antitrupave HIV1/2 arrihet gjatë hapit të dyte të inkubacionit duke shtuar enzimen HRP (horseradish peroxidase) e cila është e konjuguar me antigjenet e dyta rekombinante HIV1+2 dhe me avidinën

.4 Zbulimi i p24: Kur p24 te jetë kapur brenda thellimeve, avidin do të reagojë me biotinën dhe do të bashkojë HRP me Ab-p24-Ab kompleksin.

.5 Zbulimi i antitrupave HIV 1/2: Kur antitrupat HIV 1/2 janë kapur brenda thellimeve, antigjenet e konjuguara me HRP do të lidhen me antitrupat e kapur duke formuar imunokompleksin "SANDWICH"Ag-Ab-Ag (HRP).

3. Kontrolla e cilësisë

3.1. Specificiteti diagnostik definohet si probabiliteti i testit i arritjes së rezultatit negativ në mungesë të analitit specifik. Testimi i mostrave të dhuruesve të gjakut është 99.87% përkatësisht tek pacientët e hospitalizuar 99.63%.

3.2. Senzitiviteti diagnostik definohet si probabiliteti i testit i arritjes së rezultatit pozitiv në prezencë të analitit specifik. Tek rastet akute dhe të shëruar është 100%, përkatësisht rastet kronike 99.75%.

3.3. Interferenca me mostrat hemolitike, lipemike ose ikterike nuk janë observuar deri në koncentrimin prej 10 mg/ml hemoglobin, 5mg/mL trigliceride dhe 0.5 mg/mL bilirubin.

3.4. Kryqëzimi i reaksionit: Hulumtimet e panelit të mostrave me aktivitet të antitrupave deri në parametrat potencial kryqëzues nuk kanë dhënë evidencë për rezultatet false pozitive.

4. Kufizimet e procedurës

4.1. Kontaminimi bakterial ose ciklet e ngrirje-shkrirjes së përsëritur të mostrës mund të ndikojnë në vlerat e absorbancës.

4.2. Rezultatet pozitive të papërsëritshme mund të ndodhin për shkak të karakterisitkavë të përgjithshme biologjike dhe biokimike të testit ELISA.

4.3. Testi ka ndjeshmëri dhe specifitet të lartë, mirëpo në raste të rralla disa mutante ose subtipe të virusit HIV mund të mbesin të padetektuar.

4.4. Antigjeni mund të mos detektohet gjatë fazës së hershme të sëmundjes dhe tek disa individë me imunitet të kompromituar.

4.5. Çdo rezultat pozitiv duhet interpretuar në suaza të të dhënave klinike të pacientit si dhe testeve tjera laboratorike.

4.6. Mundësitë e gabimeve të ndryshme: kiti i skaduar, procedura e pastrimit jo e duhur, reagjentët e kontaminuar, hapat jo korrekt të procedurës së punës, aspirimi jo i duhur gjatë pastrimit, problem me pajisjet, kohën vëllimi, natyra edhe kualiteti i mostrës.

4.7. Për kufizime të tjera të referohet PSO për pranimin dhe refuzimin e mostrës.

5. Skema e shkurtër e procedurës së testimit me Elisa

Skema e testimit për anti- HIV	
Metoda	Operimi
Kontrollat	100 µl
Mostra	100 µl
Konjugati	100 µl
INKUBIMI 1	60 min.
Temperatura	37 °C
Shpërlarja	350 µl / 5 cikle
Substrati A,B	50/50 µl
INKUBIMI 2	15 min.
Temperatura	37 °C
Shpërlarja	350 µl / 5 cikle
Acidi Sulfurik	50 µl
Leximi OD	450/650

6. Llojet e ELISA-s

6.1. ELISA direkte (Direct ELISA)

- Antigjeni fiksohet në thellim.
- Antitrupi i shënuar me enzimë lidhet drejtpërdrejt me antigjenin.

6.2. ELISA indirekte (Indirect ELISA)

- Antigjeni fiksohet në thellim.
- Shtohet antitrupi primar nga mostra.
- Më pas shtohet antitrupi sekondar i shënuar me enzimë.
- Përdoret gjerësisht për zbulimin e antitrupave në serum.

6.3. ELISA sandwich

- Thellimet vishen me antitrup kapës.
- Antigjeni i mostrës lidhet me këtë antitrup.
- Më pas shtohet një antitrup i dytë detektues.

6.4. ELISA konkurruese (Competitive ELISA)

- Antigjeni i mostrës konkurron me antigjenin e shënuar për vendet e lidhjes.
- Intensiteti i ngjyrës është në raport të zhdrejtë me përqendrimin e analitit.

7. Intepretimi klinik

Interpretimi i ELISA-s manuale bëhet në bazë të absorbancës (densitetit optik – OD) së matur spektrofotometrikisht. Mostrat me vlera mbi cut-off konsiderohen pozitive, ato nën cut-off negative, ndërsa vlerat pranë cut-off konsiderohen të dyshimta dhe kërkojnë ritestim.

Shtojca 2.

LIAISON XL MUREX assay është një analizë imunologjike me metodën CLIA (Chemiluminescent Immunoassay) për përcaktimin cilësor të antitrupave ndaj virusit të hepatitit në serum dhe plazmë humane.

1. Përbërja e kitit

Kiti përbëhet nga reagentë të vendosur në një njësi të integruar (Reagent Integral), e cila mundëson realizimin e 100 testeve.

1.1 Komponentët kryesorë të Reagent Integral janë:

- Grimca magnetike të veshura me antigjene rekombinante të virusit HIV
- Kalibrator me nivele të ulëta të antitrupave dhe antigjeneve të HIV.
- Antigjene rekombinant i biotiniluar.
- Hollues i mostrës (Specimen Diluent).
- Konjugat me antitrup monoklonal të miut kundër IgG humane, i lidhur me derivat të izoluminolit.

1.2 Kontrollet

Seti i kontrollit përfshin:

- Kontroll negativ (serum/plazmë humane jo reaktive ndaj virusit të HIV).
- Kontroll pozitiv (serum/plazmë humane reaktive ndaj antitrupave të virusit të HIV).

2. Parimi i metodës

Metoda përdor dy integrale të ndryshme, një për detektimin e anti-HIV dhe tjetra për detektimin e antigjenit p24. Të dyja vendosen në analizator njëkohësisht duke testuar mostrën dhe gjeneruar të dhëna të kombinuara për mostrën. Metoda e detektimit të antitrupave është sandwich antigjen CLIA. Detektimi i antigjenit me integralin e dytë bazohet në një imunoanalizë sandwich kemilumineshente (CLIA).

1. Grimcat magnetike janë të mveshura me antigjenet rekombinante .
2. Antigjeni i biotiniluar lidhet me grimcat magnetike të mveshura.
3. Nëse në mostrën e pacientit janë të pranishëm antitrupat ndaj virusit të HIV, ata lidhen me antigjenet virale në fazën solide.
4. Në inkubimin e dytë shtohet një antitrup monoklonal kundër IgG humane, i konjuguar me izoluminol.
5. Pas larjeve për të larguar materialin e palidhur, shtohen reagentët aktivizues.
6. Ndodh reaksioni kemilumineshent dhe emetohet dritë.
7. Intensiteti i dritës matet nga fotomultiplikatori në njësi relative të dritës (RLU).

Sasia e dritës së prodhuar është proporcionale me praninë e antitrupave në mostrën e pacientit.

3. Interpretimi klinik

- Rezultat pozitiv: tregon praninë e antitrupave dhe sugjeron ekspozim aktual ose të mëparshëm ndaj virusit.
- Rezultat negativ: nuk janë detektuar antitrupa.

4. Kufizimet

- Testi detekton vetëm antitrupa/antigjene dhe jo ARN-në e virusit.
- Nuk mund të përdoret për matjen e ngarkesës virale (viral load).
- Nuk mund të përdoret për monitorimin e trajtimit antiviral.
- Nuk përcakton nëse infeksioni është akut, kronik apo i kaluar.