



# LIJEČNIČKI VJESNIK

GLASILO HRVATSKOGA LIJEČNIČKOG ZBORA  
 THE JOURNAL OF THE CROATIAN MEDICAL ASSOCIATION

Utemeljen 1877.

Founded 1877

## 8. HRVATSKI TRANSFUZIOLOŠKI KONGRES

## 8<sup>th</sup> CROATIAN CONGRESS OF TRANSFUSIOLOGISTS

## 7. STRUČNI SASTANAK MEDICINSKIH SESTARA I TEHNIČARA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI

## 7<sup>th</sup> PROFESSIONAL MEETING OF MEDICAL NURSES AND MEDICAL TECHNICIANS IN TRANSFUSION MEDICINE

s međunarodnim sudjelovanjem / with international participation



**04.-07. 11. 2021.**

Hotel Dubrovnik, ZAGREB

# GETTING PEOPLE BACK TO DOING THE THINGS THEY LOVE



Don't just live longer. Live better.

At Abbott, we're all about helping you live the best life you can through good health. We keep your heart healthy, nourish your body at every stage of life, help you feel and move better, and bring you information, medicines and breakthroughs to manage your health. Every day and around the world, we're discovering new ways to make life better.

Harness the force of our collaboration and thrive through evolution.

[Abbott.com](http://Abbott.com)

ADD-135769-EMEA-EN 10/21



**Abbott**

# LIJEĆNIČKI VJESNIK

GLASILO HRVATSKOGA LIJEĆNIČKOG ZBORA

Utemeljen 1877.



<https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr/>  
<https://hrcak.srce.hr/lijecnicki-vjesnik>



UDK 61(061.231)=862=20

Liječnički vjesnik citiraju: EMBASE/Excerpta Medica, Scopus, EBSCO, Hrcak

Liječnički vjesnik tiskano izdanje ISSN 0024-3477

Liječnički vjesnik online izdanje ISSN 1894-2177

## Osnivač i izdavač

HRVATSKI LIJEĆNIČKI ZBOR

## Za izdavača

ŽELJKO KRZNARIĆ

## Glavni i odgovorni urednik

BRANIMIR ANIĆ

## Tajnik uredničkog odbora

Željko Ferenčić

## Tajnica redakcije

Draženka Kontek

## Naslovница

KONTRAST

## Tehnički urednik

Josip Vlahović

## Slog

„Gredice“ – Horvaćanska 67, Zagreb, Hrvatska

## Web stranica

Alen Babacanli

Zagreb 2021.

## SAVJET

### Predsjednik

Mladen Belicza

### Tajnik

Miroslav Hromadko

### Članovi

Nada Čikeš (Zagreb) – Hedvig Hricak (New York) – Miroslav Hromadko (Zagreb) – Mirko Jung (Zürich) – Ivica Kostović (Zagreb) – Ante Padjen (Montreal) – Marko Pećina (Zagreb) – Dinko Podrug (New York) – Miljenko Pukančić (Sydney) – Smiljan Puljić (Upper Saddle River, New Jersey) – Berislav Tomac (Hagen) – Marko Turina (Zürich)

## UREDNIČKI ODBOR

Branimir Anić (Zagreb) – Anko Antabak (Zagreb) – Branka Aukst Margitić (Zagreb) – Alen Babacanli (Zagreb) – Ivan Bojanic (Zagreb) – Boris Brkljačić (Zagreb) – Venija Cerovečki (Zagreb) – Mislav Čavka (Zagreb) – Željko Ferenčić (Zagreb) – Božo Krušlin (Zagreb) – Martin Kuhar (Zagreb) – Julije Meštrović (Split) – Mislav Planinc (Zagreb) – Dražen Pulanić (Zagreb) – Duje Rako (Zagreb) – Željko Reiner (Zagreb) – Zdenko Sonicki (Zagreb) – Davor Štimac (Rijeka) – Adriana Vince (Zagreb) – Miroslav Župčić (Rijeka)

## MEĐUNARODNI UREDNIČKI ODBOR

Jurgen Deckert (Würzburg, Njemačka) – Patrick Erik Eppenberger (Zürich, Švicarska) – Michael Fuchsberger (Graz, Austrija) – Primož Gradišek (Ljubljana, Slovenija) – Andrej Grajin (Manchester, UK) – Emir Q. Haxhija (Graz, Austria) – Tomas Jovaisa (Kaunas, Litva) – Jamin Kashwa (London, Engleska) – Živko Steven Pavletić (Bethesda, SAD) – Semir Vranic (Doha, Katar)

## Opis

*Liječnički vjesnik* je najstariji hrvatski medicinski časopis koji neprekidno izlazi od 1877. te redovito bilježi sva važna stručna i strukovna dostignuća u hrvatskoj i svjetskoj medicini. U *Liječničkom vjesniku* objavljaju se uvodnici, stručni i znanstveni radovi, pregledni članci, prikazi bolesnika, lijekova i metoda, preliminarna znanstvena i stručna priopćenja, osvrti, pisma uredništvu, prikazi knjiga, referati iz literature i drugi prilozi. Svi rukopisi podvrgnuti su procesu recenzija.

Rukopis i svi članci salju se *Uredništvu Liječničkog vjesnika*, Zagreb, Šubićeva ul. 9, tel. (01) 46-93-300, e-pošta: [lijecnicki-vjesnik@hlez.hr](mailto:lijecnicki-vjesnik@hlez.hr).

Članarina, preplata i svi novčane pošiljke salju se Hrvatskomu liječničkom zboru, Zagreb, Šubićeva ulica 9, na IBAN HR7423600001101214818, OIB 60192951611. Članarina Hrvatskoga liječničkog zbora iznosi 200 kuna; za liječnike pripravnike i obiteljsku članarinu iznosi 100 kuna. Preplata za *Liječnički vjesnik* je 315 kuna (inozemstvo 84 eura). Radi redovitog primanja časopisa svaku promjenu adrese potrebitno je javiti Uredništvu. Svaki član Hrvatskoga liječničkog zbora ima pravo besplatno objaviti članak u *Liječničkom vjesniku*; autori koji nisu članovi Zbora moraju platiti naknadu u iznosu od 187,50 kuna + PDV.

## Tiskano u Hrvatskoj



Autorska prava: Objava: Hrvatski liječnički zbor.

Svi su članci slobodno dostupni pod uvjetima Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 međunarodna licenca. Ova licenca dopušta drugima da preuzimaju radove i podjeli ih s drugima sve dok vam priznaju, ali ih ne mogu ni na koji način promijeniti ili komercijalno koristiti. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

# LIJEĆNIČKI VJESNIK

THE JOURNAL OF THE CROATIAN MEDICAL ASSOCIATION

Founded 1877



<https://lijecnicki-vjesnik.hzl.hr/>  
<https://hrcak.srce.hr/lijecnicki-vjesnik>



UDK 61(061.231)=862=20

Liječnički vjesnik indexed or abstracted in: EMBASE/Excerpta Medica, Scopus, EBSCO, Hrčak

Liječnički vjesnik printed edition ISSN 0024-3477

Liječnički vjesnik online edition ISSN 1894-2177

## Founder and Publisher

HRVATSKI LIJEĆNIČKI ZBOR

## For Publisher

ŽELJKO KRZNARIĆ

## Editor-in-Chief

BRANIMIR ANIĆ

## Secretary of the Editorial Board

Željko Ferenčić

## Secretary of the Editorial Office

Draženka Kontek

## Front Page

KONTRAST

## Technical Board

Josip Vlahović

## Typesetting

"Gredice" – Horvaćanska 67, Zagreb, Croatia

## Web page

Alen Babacanli

Zagreb 2021

## ADVISORY BOARD

### President

Mladen Belicza

### Secretary

Miroslav Hromadko

### Members

Nada Čikeš (Zagreb) – Hedvig Hricak (New York) – Miroslav Hromadko (Zagreb) – Mirko Jung (Zürich) – Ivica Kostović (Zagreb) – Ante Padjen (Montreal) – Marko Pećina (Zagreb) – Dinko Podrug (New York) – Miljenko Pukanić (Sydney) – Smiljan Puljić (Upper Saddle River, New Jersey) – Berislav Tomac (Hagen) – Marko Turina (Zürich)

## EDITORIAL BOARD

Branimir Anić (Zagreb) – Anko Antabak (Zagreb) – Branka Aukst Margitić (Zagreb) – Alen Babacanli (Zagreb) – Ivan Bojanic (Zagreb) – Boris Brklijačić (Zagreb) – Venija Cerovečki (Zagreb) – Mislav Čavka (Zagreb) – Željko Ferenčić (Zagreb) – Božo Krušlin (Zagreb) – Martin Kuhar (Zagreb) – Julije Meštrović (Split) – Mislav Planinc (Zagreb) – Dražen Pulanić (Zagreb) – Duje Rako (Zagreb) – Željko Reiner (Zagreb) – Zdenko Sonicki (Zagreb) – Davor Štimac (Rijeka) – Adriana Vince (Zagreb) – Miroslav Župčić (Rijeka)

## INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Jurgen Deckert (Würzburg, Germany) – Patrick Erik Eppenberger (Zürich, Switzerland) – Michael Fuchsäger (Graz, Austria) – Primož Gradišek (Ljubljana, Slovenia) – Andrej Grajn (Manchester, UK) – Emir Q. Haxhija (Graz, Austria) – Tomas Jovaisa (Kaunas, Lithuania) – Jamin Kashwa (London, UK) – Živko Steven Pavletić (Bethesda, USA) – Semir Vranic (Doha, Qatar)

## Description

The Croatian Medical Association started publishing its professional journal *Liječnički Vjesnik* in 1877. *Liječnički Vjesnik* is one of only about a hundred international journals that were coming out in the late 19<sup>th</sup> century, maintained continuity during the 20<sup>th</sup> century, and then entered the 21<sup>st</sup> century. It is also the oldest Croatian medical journal and regularly captures all important achievements, professional and trade events. Editorials, professional and scientific papers, review articles, patient reviews, medications and methods, preliminary scientific and expert papers, reviews, letters to the editor, book reviews, literature papers and other contributions are published in the journal *Liječnički Vjesnik*. Through publishing original scientific and professional papers by local authors, *Liječnički Vjesnik* has contributed to the overall health care improvement. All manuscripts are subjected to a review process. All articles should be addressed to the Croatian Medical Association, Office of *Liječnički Vjesnik*, Zagreb, Šubićeva 9, tel. (01) 46-93-300, e-mail: [lijecnicki-vjesnik@hzl.hr](mailto:lijecnicki-vjesnik@hzl.hr).

**MEMBERSHIP AND SUBSCRIPTION:** Membership, subscription or any other cash dispatches should be sent to the Croatian Medical Association, Zagreb, Šubićeva 9, Croatia. Bank account: HR742360001101214818, VAT number HR60192951611. The membership fee for the Croatian Medical Association is 200,00 HRK. The membership fee for the family member is 100,00 HRK. Subscription fee for *Liječnički vjesnik* is 315,00 HRK (84 euros). Members and other legal entities are advised to inform Croatian Medical Association – Editorial Board of *Liječnički Vjesnik* about any change of address in order to receive the journal regularly. Each member of the Croatian Medical Association is allowed to publish the article in the journal *Liječnički vjesnik* for free. Non-members are also allowed to publish the article with administration fee in amount of 187,50 HRK + VAT.

Printed in Croatia



Author's. Published by: Croatian Medical Association.

All articles are freely available under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International Licence. This license allows others to download works and share them with others as long as they credit you, but they can't change them in any way or use them commercially. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

# **8. HRVATSKI TRANSFUZILOŠKI KONGRES**

**8<sup>th</sup> CROATIAN CONGRESS  
OF TRANSFUSIOLOGISTS**

**7. STRUČNI SASTANAK MEDICINSKIH  
SESTARA I TEHNIČARA U  
TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI**

**7<sup>th</sup> PROFESSIONAL MEETING  
OF MEDICAL NURSES AND  
MEDICAL TECHNICIANS  
IN TRANSFUSION MEDICINE**

s međunarodnim sudjelovanjem / with international participation



**04.- 07.11.2021.**

**Hotel Dubrovnik, ZAGREB**

## **ORGANIZATOR**

Hrvatski liječnički zbor  
Hrvatsko društvo za transfuzijsku medicinu

## **ORGANIZACIJSKI ODBOR**

**Predsjednica: Irena Jukić**

Članovi:

1. Ana Hećimović
2. Bojana Bošnjak
3. Dejana Bogdanić
4. Ivica Bradarić
5. Jela Mratinović Mikulandra
6. Maja Strauss Patko
7. Miljana Stojić Vidović

## **ZNANSTVENI ODBOR**

**Predsjednica: Ines Bojanic**

Članovi:

1. Branka Golubić Čepulić
2. Jasna Bingulac Popović
3. Maja Tomičić
4. Marina Samardžija
5. Mirela Raos
6. Nataša Lukežić
7. Slavica Dajak
8. Tiha Vučemilo
9. Tomislav Vuk

Sukladno trenutno važećim epidemiološkim mjerama pravo fizičkog sudjelovanja na Kongresu imat će sudionici uz važeću EU digitalnu COVID potvrdu.

## **MJESTO ODRŽAVANJA KONGRESA:**

Hotel „Dubrovnik“, Zagreb

## **TEHNIČKI ORGANIZATOR:**

Penta Travel Agency Ltd., Izidora Kršnjavoga 25, 10000 Zagreb, Croatia

Tel: (01) 4553 290, e-mail: [penta@penta-zagreb.hr](mailto:penta@penta-zagreb.hr), <http://www.penta-zagreb.hr>

## **TEME KONGRESA**

1. Dobrovoljno davalanstvo i uzimanje krvi
2. Proizvodnja krvnih pripravaka
3. Imunohematologija u transfuzijskoj medicini
4. Krvlju prenosive bolesti
5. Hemostaza
6. Stanična terapija
7. Tkvno bankarstvo
8. COVID-19
9. Transfuzijsko liječenje
10. Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini



HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR  
HRVATSKO DRUŠTVO  
ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU

**8. HRVATSKI  
TRANSFUZIOLOŠKI  
KONGRES**

**7. STRUČNI SASTANAK  
MEDICINSKIH SESTARA  
I TEHNIČARA  
U TRANSFUZIJSKOJ  
MEDICINI**

s međunarodnim  
sudjelovanjem

04.-07. STUDENOGA 2021.  
Hotel Dubrovnik, ZAGREB

Suplement Liječničkog vjesnika broj 2/2021

**8. HRVATSKI TRANSFUZILOŠKI KONGRES**

**7. STRUČNU SASTANAK MEDICINSKIH SESTARA I TEHNIČARA  
U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI  
s međunarodnim sudjelovanjem**

Urednice  
IRENA JUKIĆ  
INES BOJANIĆ  
ANA HEĆIMOVIĆ

Urednice ne odgovaraju za jezičnu i sadržajnu ispravnost članaka i sažetaka

## Sadržaj

UVODNA RIJEČ . . . . .	IX
PROGRAM . . . . .	XI
<b>8. HRVATSKI TRANSFUZIOLOŠKI KONGRES . . . . .</b>	<b>1</b>
<b>PREDSJEDNIČKO PREDAVANJE</b>	
Izazovi transfuzijske medicine danas i sutra <i>I. Jukić</i> . . . . .	1
<b>PLENARNA PREDAVANJA</b>	
Etički aspekti transfuzijskog liječenja <i>L. Zibar</i> . . . . .	3
Poremećaji hemostaze i tromboze u COVID-19 bolesnika <i>D. Pulanić</i> . . . . .	6
Fetalna i neonatalna aloimuna trombocitopenija (FNAIT) u 2021. godini <i>M. Tomičić</i> . . . . .	6
Revision of the Union Legislation on Blood, Tissues and Cells <i>D. Fehily</i> . . . . .	10
Mesenchymal Stromal Cell Therapy in Daily Clinical Practice: Experiences From St. Catherine Specialty Hospital <i>D. Primorac, V. Molnar, V. Matišić, L. Zenić, D. Polančec</i> . . . . .	13
SAŽETCI . . . . .	15
POSTERI . . . . .	95
<b>7. STRUČNI SASTANAK MEDICINSKIH SESTARA I TEHNIČARA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI . . . . .</b>	<b>131</b>
<b>PLENARNA PREDAVANJA</b>	
Prikupljanje konvalescentne COVID-19 plazme sa plazmaferezom na Zavodu Republike Slovenije za transfuzijsku medicinu u Ljubljani <i>Z. Krvžić, P. Mali</i> . . . . .	131
Proizvodnja krvnih pripravaka i ispitivanje njihove kvalitete prilikom zamjene proizvodne opreme u HZTM <i>S. Stanešić, M. Strauss Patko, M. Vinković</i> . . . . .	131

---

Zbrinjavanje komplikacija tijekom liječenja djeteta sa solidnim malignim tumorom <i>J. Stepan Giljevic</i> . . . . .	133
Planiranje i provođenje izobrazbe u HZTM <i>B. Baćić, T. Očić, I. Jukić</i> . . . . .	134
SAŽETCI . . . . .	135
POSTERI . . . . .	151
<b>Kazalo autora</b> . . . . .	161

## Uvodna riječ

Drage kolegice i kolege,

Prošlo je već puno vremena od našeg zadnjeg kongresa, a okolnosti uvjetovane pandemijom učinile su taj period subjektivno još dužim. Pred nas je epidemija stavila brojne nove izazove koje smo savladavali, sukladno njihovim pojavnostima, manje-više uspješno. Nije bilo lako, i još uvijek nije jednostavno jer ne znamo koji će se novi problem pojaviti. Mi smo u struci u kojoj je puno toga propisano stručnom i zakonskom legislativom i rado bi to znali, kako bi mogli analizirati, predvidjeti i procijeniti. Vrijeme je za razmjenu iskustava i najnovijih spoznaja u transfuzijskoj medicini, i ne samo s aspekta utjecaja SARS-CoV-2 virusa koji je obilježio posljednjih godinu i pol dana naših života i rada.

Pozivamo Vas na 8. Hrvatski transfuziološki kongres koji će biti održan u Zagrebu od 4. do 7. studenog 2021. godine.

Znanstveni program kongresa obuhvaća gotovo sva područja iz naše djelatnosti, od darivatelja krvi do transfuzijskog liječenja te do iskustava iz domene staničnog i tkivnog bankarstva. Naravno, uključena su i iskustva postojeće epidemije i njenog utjecaja na transfuzijsku medicinu.

Sve nove spoznaje u našoj struci kao i rezultati našeg rada bit će prikazani kroz plenarna predavanja, tematske i satelitske simpozije kao i kroz poster sekciju.

Istovremeno, održat će se i 7. Stručni sastanak medicinskih sestara i tehničara koji rade u transfuziološkim službama.

Uz planirani stručni dio kongresa, svoja iskustva izmjenjivati ćemo s kolegama i u ugodnom ambijentu hotela Dubrovnik u blizini Trga bana Jelačića. Imat ćemo priliku i zanoviti stara te sklapati nova poznanstva i prijateljstva.

U ime Upravnog odbora našeg Društva ljubazno Vas pozivamo na sudjelovanje u radu 8. Hrvatskog transfuziološkog kongresa i 7. Stručnog sastanka medicinskih sestara i tehničara te s radošću očekujemo Vaš znanstveni i stručni doprinos.

Iskreno vjerujemo kako ćete uživati u stručnom dijelu Kongresa i ljepoti jeseni koja najljepše pristaje našem Zagrebu.

Doc. prim. dr. sc. Irena Jukić, dr. med.

Predsjednica Organizacijskog odbora

Predsjednica Hrvatskog društva za transfuzijsku medicinu HLZ-a

Dvorana A		Dvorana B		Subota 06.11.2021.		Subota 06.11.2021.		Subota 06.11.2021.	
Četvrtak 04.11.2021.		Petak 05.11.2021.		Petak 05.11.2021.		Dvorana A		Dvorana B	
8. Hrvatski transfuzioloski kongres		8. Hrvatski transfuzioloski kongres		7. stručni skup med. sestara i tehničara		8. Hrvatski transfuzioloski kongres		7. stručni skup med. sestara i tehničara	
9 <sup>00</sup> –19 <sup>00</sup>	Registracija	9 <sup>00</sup> –19 <sup>00</sup>	Registracija	9 <sup>00</sup> –19 <sup>00</sup>	Registracija	9 <sup>00</sup> –19 <sup>00</sup>	Registracija	9 <sup>00</sup> –19 <sup>00</sup>	Registracija
9 <sup>00</sup> –10 <sup>30</sup>	Simpozij (2) Proizvodnja krvnih pripravaka	9 <sup>00</sup> –10 <sup>15</sup>	Simpozij (1) Dobrovoljno davalstvo i uzimanje krvi	9 <sup>00</sup> –10 <sup>30</sup>	Simpozij (6) COVID-19	9 <sup>00</sup> –10 <sup>30</sup>	Simpozij (4) Imuno-hematologija	9 <sup>00</sup> –10 <sup>30</sup>	Simpozij (9) Transfuzijsko liječenje
10 <sup>30</sup> –11 <sup>00</sup>	Plenarno predavanje	10 <sup>15</sup> –10 <sup>40</sup>	Plenarno predavanja	10 <sup>30</sup> –11 <sup>00</sup>	Plenarno predavanje	10 <sup>30</sup> –11 <sup>00</sup>	Plenarna predavanja	10 <sup>30</sup> –12 <sup>00</sup>	Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini
11 <sup>00</sup> –11 <sup>15</sup>	Registracija	10 <sup>40</sup> –11 <sup>15</sup>	Odmor	11 <sup>00</sup> –11 <sup>15</sup>	Odmor	11 <sup>00</sup> –11 <sup>15</sup>	Odmor	12 <sup>00</sup> –13 <sup>00</sup>	Ručak
11 <sup>15</sup> –12 <sup>00</sup>	Satelitski simpozij ABBOTT	11 <sup>15</sup> –11 <sup>55</sup>	Plenarno predavanje	11 <sup>15</sup> –12 <sup>00</sup>	Plenarno predavanje	11 <sup>15</sup> –11 <sup>45</sup>	Plenarno predavanje	13 <sup>00</sup>	Zatvaranje kongresa
12 <sup>00</sup> –13 <sup>30</sup>	Simpozij (3) Krviju prenosive bolesti	12 <sup>00</sup> –12 <sup>40</sup>	Simpozij (2) Tkivo bankarstvo	12 <sup>00</sup> –13 <sup>30</sup>	Simpozij (7) Stanična terapija	11 <sup>45</sup> –13 <sup>15</sup>	Simpozij (5) Transfuzijsko liječenje		
13 <sup>30</sup>	Ručak	13 <sup>30</sup>	Ručak	13 <sup>30</sup>	Ručak	13 <sup>30</sup>	Ručak	13 <sup>30</sup>	Ručak
14 <sup>30</sup> –16 <sup>00</sup>	Predsjedničko predavanje	15 <sup>00</sup> –16 <sup>00</sup>	Simpozij (4) Hemostaza	14 <sup>30</sup>	Poster prezentacije*	14 <sup>30</sup> –16 <sup>00</sup>	Simpozij (8) Tkivno bankarstvo	14 <sup>30</sup>	Poster prezentacije*
16 <sup>00</sup> –16 <sup>30</sup>	Plenarno predavanje	16 <sup>00</sup> –16 <sup>30</sup>	Plenarno predavanje	16 <sup>00</sup> –16 <sup>30</sup>	Plenarno predavanje	16 <sup>30</sup> –16 <sup>45</sup>	Odmor		
16 <sup>30</sup> –16 <sup>45</sup>	Simpozij (1) Dobrovoljno davalstvo i uzimanje krvi	16 <sup>30</sup> –16 <sup>45</sup>	Odmor						
16 <sup>45</sup> –18 <sup>15</sup>									
18 <sup>30</sup>	Otvaranje kongresa	18 <sup>15</sup> –19 <sup>00</sup>							
19 <sup>00</sup>	Piće dobrodošlice/ Zakuška	19 <sup>00</sup>	Poster prezentacije*		Poster prezentacije*	16 <sup>45</sup>	Poster prezentacije*		
		19 <sup>30</sup>	Kongresna večera Hotel Dubrovnik Sponzor Jasika	19 <sup>30</sup>	Kongresna večera Hotel Dubrovnik Sponzor Jasika	20 <sup>00</sup>	Svečana večera Kaptolska klet	20 <sup>00</sup>	Svečana večera Kaptolska klet

\*Posteri se mogu razgledavati tijekom kongresa.

# PROGRAM 8. HRVATSKOGA TRANSFUZIOLOŠKOG KONGRESA

**Četvrtak, 04. 11. 2021.**

**13:30–19:00** Registracija

## DVORANA A

**15:30–16:00** **Predsjedničko predavanje**

Irena Jukić: Izazovi u transfuzijskoj medicini – danas i sutra

**16:00–16:30** **Plenarno predavanje**

Lada Zibar: Etički aspekti transfuzijskog liječenja

**16:30–16:45** **Odmor**

**16:45 – 18:15** **Ssimpozij 1 – Dobrovoljno davalanstvo i uzimanje krvi**

*Predsjedavajući: Patricija Topić Šestan dr. med.,  
doc. prim. dr. sc. Irena Jukić, dr. med.*

**16:45–17:05** **Patricia Topić Šestan:** Darivanje krvi u doba korone – Iskustva Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu  
*Uvodno predavanje*

**17:05–17:25** **Tomislav Vuk:** Postdonacijske informacije  
*Uvodno predavanje*

**17:25–17:40** **Iva Crnjak:** Darivanje krvi tijekom pandemije SARS-CoV-2 i potresa u Hrvatskoj

**17:40–17:55** **Tatjana Mušlin:** Prikupljanje konvalescentne plazme

**17:55–18:10** **Željkica Hadrović Pavišić:** Naša iskustva u prikupljanju konvalescentne plazme od dobrovoljnih darivatelja krvi

**18:10–18:15** Rasprava

**18:30** **Otvaranje**

**19:00** **Piće dobrodošlice/zakuska**

## Petak, 05. 11. 2021.

09:00–19:00 Registracija

### DVORANA A

#### 9:00–10:30 Simpozij 2 – Proizvodnja krvnih pripravaka

*Predsjedavajući: prof. prim. dr. sc. Marina Samardžija, dr. med., prim. mr. sc. Maja Strauss Patko, dr. med.*

- 09:00–09:25** **Marina Samardžija:** Blood Components – Planning, Processing and Requirements in Special Circumstances  
*Uvodno predavanje*
- 09:25–09:40** **Maja Strauss Patko:** MIRASOL® tehnologija redukcije patogena u koncentratima trombocita iskustvo HZTM-a
- 09:40–09:50** **Marina Ferenac Kiš:** Evaluation of New non – DEHP Platelet Pooling Kit
- 09:50–10:00** **Matea Vinković:** Ispitivanje kvalitete krvnih pripravaka proizvedenih iz doza krvi kod kojih su uočeni sitni ugrušci na in-line filteru
- 10:00–10:10** **Dušan Vučetić:** Platelet Gel Obtained from Buffy Coats in Regenerative Medicine
- 10:10–10:30** Rasprava
- 10:30–11:00** **Plenarno predavanje**  
**Dražen Pulanić:** Poremećaji hemostaze i tromboze u COVID-19 bolesnika
- 11:00–11:15** Odmor
- 11:15–12:00** **Satelitski simpozij**  
**ABBOTT**  
*Hepatitis B in Transfusion: The never-ending story*  
Ramune Sepetiene, MD PhD, Area Medical Director EMEA

#### 12:00–13:30 Simpozij 3 – Krvlju prenosive bolesti

*Predsjedavajući: Nataša Lukežić, dr. med., Sandra Jagnjić, dr. med.*

- 12:00–12:35** **Nataša Lukežić:** Infektivni rizici transfuzijskog liječenja u 21. stoljeću  
*Uvodno predavanje*
- 12:35–12:45** **Ivana Babić:** Procjena značaja anti-HBc testa u algoritmu testiranja nat inicijalno reaktivnih doza
- 12:45–12:55** **Sandra Jagnjić:** Rezultati probirnih testova na malariju kod DDK u RH u periodu od siječnja 2016. do listopada 2021.
- 12:55–13:05** **Marta Šerer Vičević:** Trace-back postupak: prikaz slučaja
- 13:05–13:15** **Miljana Stojić Vidović:** Look-back postupci u HZTM u periodu 2016.–2020. godine
- 13:15–13:30** Rasprava
- 13:30** RUČAK

**14:30–16:00 Simpozij 4 – Hemostaza**

*Predsjedavajući: dr. sc. Tiha Vučemilo, dr. med.,  
mr. sc. Bojana Bošnjak, dr. med.*

- 14:30–14:50** Tiha Vučemilo: Tromboza i krvarenje u bolesnika s karcinomom i kroničnom bolesti jetre  
*Uvodno predavanje*
- 14:50–15:00** Bojana Bošnjak: Primjena srednjih doza niskomolekularnih heparina za prevenciju tromboembolija u COVID-19 bolesnika
- 15:00–15:10** Dubravka Perković: Izazov u liječenju tromboembolizma kod pacijenata s nasljednom hipodisfibrinogenemijom – iskustva KBC Osijek
- 15:10–15:20** Koraljka Gojčeta: Testiranje antiheparinskih protutijela u bolesnika na izvantjelesnoj membranskoj oksigenaciji
- 15:20–15:30** Marija Skoko: VTE tijekom kemoterapije-kada posumnjati, kada prevenirati?
- 15:30–15:40** Marija Novosel: Usporedba metode imunofluorescencije (PSIFT-M) i metode vezanja trombocitnih antigena pomoću monoklonskih protutijela (MAIPA-EIA) za određivanje antitrombocitnih autoprotofijela u bolesnika s imunom trombocitopenijom (ITP)
- 15:40–16:00** Rasprava
- 16:00–16:30** **Plenarno predavanje**  
Maja Tomićić: Fetalna i neonatalna aloimuna trombocitopenija (FNAIT) u 2021. godini
- 16:30–16:45** Odmor

**16:45–18:15 Simpozij 5 – Imunohematologija**

*Predsjedavajući: dr. sc. Mirela Raos, dr. med.,  
dr. sc. Zrinka Kruhonja Galić, dr. med.*

- 16:45–17:15** Mirela Raos: Serološke karakteristike autoprotofijela i dijagnostika autoimunosne hemolitičke anemije  
*Uvodno predavanje*
- 17:15–17:35** Zrinka Kruhonja Galić: Moguća povezanost alela sustava HLA u osoba s antieritrocitnim autoprotofijelima razreda IgG
- 17:35–17:50** Marko Lilić: Molekularno određivanje alela RHD u populaciji RhD negativnih davatelja krvi sjeverozapadne Hrvatske
- 17:50–18:00** Darija Bogdanić: Nestanak klinički značajnih antieritrocitnih aloprotutijela
- 18:00–18:15** Rasprava
- 18:15–19:00** **Satelitski simpozij**  
*JASICA Improved blood group and platelet matching by fast genotyping with FluoGene®*  
Stephan Jacobs, PhD director of international operations Inno-train Diagnostik, Frankfurt, Germany
- 19:00** Poster prezentacije
- 19:30** Kongresna večera, *Hotel Dubrovnik, Sponzor Jasika*

## Subota, 06. 11. 2021.

09:00–19:00 Registracija

## DVORANA A

### 09:00–10:30 Simpozij 6 – COVID-19

Predsjedavajući: dr. sc. prim. Maja Tomičić, dr. med., dr. sc. Ana Hećimović, dr. med

- 09:00–09:20 Beata Halassy: Test neutralizacije SARS-CoV-2 kao ključ za uvođenje seroterapije u liječenju COVID-19 u Hrvatskoj  
*Uvodno predavanje*
- 09:20–09:40 Ozren Jakšić: COVID-19 kod hematoloških bolesnika i primjena konvalescentne plazme  
*Uvodno predavanje*
- 09:40–09:55 Ana Hećimović: Stvaranje preduvjeta za prikupljanje COVID-19 konvalescentne plazme u HZTM-u
- 09:55–10:05 Ana Boban: Fatalno intrakranijalno krvarenje u bolesnika s trombocitopenijom i pozitivnim pf4 protutijelima nakon cijepljenja cjepivom CHADOX1NCoV-19
- 10:05–10:15 Adriana Lukač: Transfuzijsko liječenje SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika u Kliničkom bolničkom centru Zagreb
- 10:15–10:25 Dina Rnjak: COVID-19 convalescent plasma as long-term therapy in immunodeficient patients?
- 10:25–10:30 Rasprava
- 10:30–11:00 Plenarno predavanje  
Esteve Trias: The challenge of providing answers to our patients – Innovation as a need in the era of personalized medicine
- 11:00–11:15 Odmor
- 11:15–12:00 Plenarno predavanje  
Deirdre Fehily, Substances of Human Origin Team, DG Santé, European Commission  
Revision of the Union legislation on blood, tissues and cells

### 12:00–13:30 Simpozij 7 – Stanična terapija

Predsjedavajući: doc. dr. sc. Ines Bojanić, dr. med., Silvana Jurenec, dr. med.

- 12:00–12:30 Ines Bojanić: Stanična terapija – od koštane srži do personalizirane imunoterapije  
*Uvodno predavanje*
- 12:30–12:40 Silvana Jurenec: Utjecaj talidomida u uvodnoj terapiji na mobilizaciju i prikupljanje krvotornih matičnih stanica u bolesnika s multiplim mijelomom
- 12:40–12:50 Nikolina Friščić: Neželjene reakcije prilikom transplantacije alogeničnih krvotornih matičnih stanica
- 12:50–13:00 Sanja Mazić: Ekstrakorporalna fotofereza nakon transplantacije pluća u KBC Zagreb (2014–2021.)

- 13:00–13:10** Dejana Bogdanić: Projekt transplantacije krvotvornih matičnih stanica za autolognu primjenu – KBC Split
- 13:10–13:30** Rasprava
- 13:30** Ručak

### 14:30–16:00 Simpozij 8 – Tkvno bankarstvo

*Predsjedavajući: doc. dr. sc. Branka Golubić, dr. med., Ivana Vidović, dr. med.*

- 14:30–15:00** Esteve Trias: The first academic CART authorized in EU – Hospital Clinic experience  
*Uvodno predavanje*
- 15:00–15:30** Ivana Vidović: Rad Banke tkiva u okviru Hrvatske banke tkiva i stanica  
*Uvodno predavanje*
- 15:30–15:40** Marija Vilaj: Osnivanje prve banke jajnika u sustavu javnog zdravstva u Hrvatskoj
- 15:40–15:50** Jurjana Novoselac: Obilježja prvih 112 darivateljica hrvatske Banke humanog mlijeka
- 15:50–16:00** Rasprava
- 16:00–16:30** Plenarno predavanje  
 Dragan Primorac: Terapijski potencijal mezenhimalnih matičnih stanica u kliničkoj praksi
- 16:30–16:45** Odmor
- 16:45** Poster prezentacija
- 20:00** Svečana večera

### Nedjelja, 07. 11. 2021.

- 08:30–09:00** Registracija

### DVORANA A

### 09:00–10:30 Simpozij 9 – Transfuzijsko liječenje

*Predsjedavajući: doc. dr. sc. Ines Bojanic, dr. med., dr. sc. Mirela Raos, dr. med.*

- 09:00–09:30** Tina Tomić Mahećić: Patient Blood Management – mit ili stvarnost  
*Uvodno predavanje*
- 09:30–09:45** Dejana Bogdanić: Evaluation of platelet count and platelet function analyzer – 100 testing for prediction of platelet transfusion following coronary bypass surgery
- 09:45–10:00** Kristina Majcen: Kretanje učestalosti odgođenih seroloških i odgođenih hemolitičkih transfuzijskih reakcija u prošlom desetljeću
- 10:00–10:15** Milica Liker: Indikacije i učinkovitost liječenja hospitaliziranih hematoloških bolesnika koncentratima trombocita
- 10:15–10:30** Rasprava

**10:30–12:00 Simpozij 10 – Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini**

*Predsjedavajući: Prim. dr. sc. Tomislav Vuk, dr. med., Julijana Ljubičić, dr. med.*

**10:30–11:00** Tomislav Vuk: Upravljanje rizicima i značaj u transfuzijskoj medicini  
*Uvodno predavanje*

**11:00–11:15** Julijana Ljubičić: Upravljanje reklamacijama U HZTM (2014–2020)

**11:15–11:30** Mia Slade: Skrining koncentrata trombocita prikupljenih aferezom u periodu od studenog 2019. do rujna 2021. – rezultati

**11:30–11:45** Jadranka Gulan Harcet: Ispitivanje koncentracije glukoze, laktata i trombocita te pH u uzorcima koncentrata trombocita sa smanjenim brojem leukocita pool više doza

**11:45–12:00** Tomislav Vuk: Praćenje indikatora kvalitete u transfuzijskoj službi RH (2013–2020)

**12:00–13:00** Ručak

**13:00** Zatvaranje kongresa

# **PROGRAM 7. STRUČNOG SASTANKA MEDICINSKIH SESTARA I TEHNIČARA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI**

**Petak, 05. 11. 2021.**

**09:00–19:00** Registracija

## **DVORANA B**

**08:55–09:00** Otvaranje stručnog skupa

### **09:00–10:00 Simpozij 1 – Dobrovoljno davalaštvo i uzimanje krvi**

*Predsjedavajući: Ivana Leskovar, Stjepan Stanešić*

**09:00–09:15** Ratić D., KBC Osijek: Dobrovoljni davatelji – ljudi velikog srca

**09:15–09:30** Čegec V., HZTM: Utjecaj pandemije COVID-19 na planiranje i organizaciju akcija darivanja krvi

**09:30–09:45** Pašalić A., KB Zenica: Istraživanje povezanosti nastanka neželjene reakcije sa prethodnim iskustvom davaoca u davanju krvi

**09:45–10:00** Piškorjanac S., KBC Osijek: Prikupljanje plazme pomoću aurora separatora u KZTM KBC Osijek

**10:00–10:15** Rukavina K., KBC Zagreb: Kapi za oči iz autolognog seruma

#### **10:15–10:40 Plenarno predavanje**

Kvržić Z.: Prikupljanje konvalescentne COVID-19 plazme sa plazmaferezom na zavodu Republike Slovenije za transfuzijsku medicinu u Ljubljani

**10:40–11:15** Odmor

#### **11:15–11:55 Plenarno predavanje**

Stanešić S., HZTM: Proizvodnja krvnih pripravaka i ispitivanje njihove kvalitete prilikom zamjene proizvodne opreme u HZTM

### **12:00–12:40 Simpozij 2 – Tkivno bankarstvo**

*Predsjedavajući: Marija Bekavac i Silvana Piškorjanac*

**12:00–12:15** Leskovar I., KBC Zagreb: Darovano humano mlijeko za svako novorođenče u Hrvatskoj

**12:15–12:30** Mihojević V., KBC Zagreb: Vrste transplantata rožnica pripremljenih u Banci očnog tkiva u razdoblju 2015.–2020. godine

**12:30–12:40** Rasprava

**12:40–13:30 Simpozij 3 – Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini**

*Predsjedavajući: Marija Bekavac i Silvana Piškorijanac*

- 12:40–12:55** Vranaričić M., HZTM: Djelatnik, kvaliteta, izvrsnost
- 12:55–13:10** Baričević Lukač M., KBC Zagreb: Mikrobiološki nadzor prostora za prikupljanje krvotvornih matičnih stanica postupkom afereze
- 13:10–13:30** Rasprava
- 13:30** Ručak
- 14:30** **POSTER PREZENTACIJE**  
*Predsjedavajući: Valentina Čegec*
- 14:30–14:35** Pašalić A., Zenica: Neuspjele venepunkcije kao uzrok neuspjelog uzimanja doze krvi
- 14:50–14:55** Lubina Ž., HZTM: Hemoliza kao parametar kvalitete koncentrata eritrocita ozračenih centralnom dozom zračenja od 35 gy
- 15:00–15:05** Tomašić M., HZTM: Koncentrat eritrocita sa smanjenim brojem leukocita resuspendiran u 0,9% NaCl
- 15:05–15:10** Vuković I., HZTM: Organizacija proizvodnje, skladištenja i izdavanja COVID-19 konvalescentne plazme u HZTM-u
- 15:15–15:20** Šnajder-Šajatović M.; HZTM: Mikrobiološka kontrola koncentrata trombocita dobivenih aferezom
- 15:25–15:30** Blažević L., HZTM: Korištenje run kontrola u NAT probiru DDK Procleix Ultrio Elite testom na uređaju Panther
- 15:30** Rasprava
- 19:30** Kongresna večera, *Hotel Dubrovnik*, Sponzor Jasika

**Subota, 06. 11. 2021.**

- 09:00–19:00** Registracija

**DVORANA B**

**09:00–10:30 Simpozij 4 – Imunohematologija**

*Predsjedavajući: Vesna Matuš i Dino Štefanec*

- 09:00–09:15** Krešo N., HZTM: Stabilnost monoklonskih staničnih linija kao izvornog materijala koji se koristi za proizvodnju in house reagensa u HZTM
- 09:15–09:40** Leskovar I., KBC Zagreb: Antiteritrocitna protutijela u transfundiranih bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom
- 09:40–9:55** Vujević K., KBC Split: Rezultati imunohematoškog testiranja trudnica na prisutnost iregularnih protutijela u petogodišnjem razdoblju (2015. – 2019.) u zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Split
- 09:55–10:10** Štefanec D., KBC Sestre Milosrdnice: Određivanje indirektnog antiglobulinskog testa uzorkovanog iz venske i kapilarne krv
- 10:10–10:30** Rasprava

**10:30–11:00** **Plenarno predavanje**  
Stepan Giljević J., Klinika za dječje bolesti Zagreb: Zbrinjavanje komplikacija tijekom liječenja djeteta sa solidnim malignim tumorom

**11:00–11:15** Odmor

**11:15–11:45** **Plenarno predavanje**  
Baćić B., HZTM: Planiranje i provođenje izobrazbe u HZTM

### 11:45–13:15 **Ssimpozij 5 – Transfuzijsko liječenje**

*Predsjedavajući: Barbara Baćić i Ivana Ivanjko Pedišić*

**11:50–12:05** Živković M., KBC Split: Stavovi i znanja medicinskih sestara KBC Split o transfuzijskom liječenju

**12:05–12:20** Ivanjko Pedišić I., KBC Sestre Milosrdnice, Klinika za tumore: Patient blood management-perioperativno upravljanje potrošnjom krvi i krvnim pripravcima

**12:20–12:35** Gusić N., KBC Zagreb: Zbrinjavanje hematološkog pacijenta kod primjene transfuzioloških pripravaka

**12:35–12:50** Lauš R., KBC Zagreb: Mini ekstrakorporalna fotofereza

**12:50** Rasprava

**13:30** Ručak

#### **14:30 POSTER PREZENTACIJE**

*Predsjedavajući: Vesna Matuš*

**14:30–14:35** Vukmirović N., HZTM: Sindrom putujućih limfocita

**14:40–14:45** Mišetić S., KBC Zagreb: Vrijeme izdavanja nalaza (TAT) kod molekularne dijagnostike zbog varijante RhD antigena

**14:45–14:50** Marić J., KBC Zagreb: Učestalost antitrombocitnih protutijela kod pacijenata upućenih na imunohematološku obradu u KBC-u Zagreb u razdoblju od godine dana

**14:50–14:55** Tumpak M., KBC Zagreb: Značajnost specifičnosti protutijela u hemolitičkoj bolesti fetusa i novorođenčeta (HDFN)

**14:55–15:00** Čehulić M.: Uloga tehničara i prvostupnika medicinsko-laboratorijske dijagnostike u analizi rezultata unutarnje kontrole kvalitete (UKK) u laboratoriju za hemostazu Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu

**14:55** Rasprava



info@aandb.hr  
01/2396-888  
www.aandb.hr



SCAN RDI

BTA3D



MYLA



DCOUNT 25/ 50

VIDAS



VITEK 2C



VITEK MS



ENDOSOFT

Vaš pouzdan partner  
u mikrobiološkoj kontroli kvalitete



## IZAZOVI TRANSFUZIJSKE MEDICINE DANAS I SUTRA

JUKIĆ I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prije dvadeset i jednog mjeseca zbuljujuća situacija ispred Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu, neposredno prije početka radnog vremena. Sukladno preporuci epidemiologa upućujemo doma dvoje djelatnika koji su na akciji darivanja krvi bili u izravnom kontaktu s prvim hospitaliziranim bolesnikom koji je imao PCR pozitivan test na SARS-CoV 2 virus. Do tada smo svi uglavnom imali manje-više nedostatne informacije o novom kineskom virusu koji se širi od Azije prema Europi preko Italije. Naš potencijalni darivatelj, mlađi čovjek bez ikakvih zdravstvenih tegoba odgođen je zbog boravka u Italiji nekoliko dana prije odvijanja akcije. Epidemiolozi Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo izuzetno brzo i učinkovito detektiraju kontakte svih darivatelja i naše terenske ekipe i u dogovoru s njima šaljemo naših dvoje djelatnika u samoizolaciju. I, to jutro je hrvatska transfuzijska služba ušla u novu fazu rada, razmišljanja, ponašanja,..., ušla u neke nove izazove i počela strahovati prvenstveno glede sigurnosti transfuzijskog liječenja. Slijedilo je pretraživanje svih objavljenih radova i iskustava iz cijelog svijeta (hvala Bogu na Google-u), slijedili su on-line sastanci s kolegama iz Europe, slijedila je hiperprodukcija dokumentacije, od definiranja i osnivanja Kriznih stožera u ovlaštenim zdravstvenim ustanovama do Smjernica, Preporuka,... Najbolji pokazatelj intenziteta rada jest pet revizija jednog dokumenta unutar manje od godine dana dok nam je u nekim ranijim normalnim vremenima za neku promjenu trebalo desetljeće.

U proteklih dvadeset i jedan mjesec promijenili su se svima nama brojni segmenti života, a našoj struci su postavljena brojna nova pravila kojima se mi transfuziolozi, poznato disciplinirana medicinska grana, vrlo brzo prilagođavamo. Povezujemo sveukupno pučanstvo preko davalaštva krvi i taj naš javnozdravstveni dio je uglavnom najviše pogoden epidemijskim teškoćama. Kolateralna smo žrtva epidemije ponajviše glede zaliha krvnih pripravaka. Oscilacije zaliha i zahtjeva su u jednom trenutku bile nezapamćeno inverzne jer nitko u transfuzijskoj povijesti ne pamti da je bila veća potreba za brojem koncentrata trombocita nego za brojem koncentrata eritrocita, a onda nagle promjene nakon otvaranja bolnica i deficit od kojeg se teško oporavljamo mjesecima. Organizacija akcija prikupljanja krvi je postala mučan i neizvjestan posao bez obzira na količinu uloženog truda. Izolacije, samoizolacije naših redovitih i potencijalnih darivatelja krvi, rad od doma, nemogućnost organiziranja akcija u nekim ustanovama i firmama su značajno utjecali i još uvijek utječe na stanje zaliha krvnih pripravaka. Za dodatnu začudnu dinamiku pobrinuli su se i potresi, prirodna katastrofa koja je ponovo pokazala veliko hrvatsko srce. Redovi strpljivih ljudi satima su na hladnoći, u skladu sa epidemiološkim mjerama, čekali na iskaz svoje humanosti. To je privilegija rada u ovom dijelu transfuzijske medicine – doticaj s čistom ljudskom dobrotom. Napunili smo hladnjake u cijeloj Hrvatskoj, pokazali kako izvrsno funkcioniра krvotok solidarnosti, kako smo mi struka koja solidarno reagira bez naputaka nadređenih institucija. Prijelaz iz stare, grozne, teške, naporne 2020. godine u duhu plemenitosti željeli smo protumačiti upravo kao optimizam i nadu kako će nam nadolazeća 2021. godina biti normalna, kako ćemo sve „muke po koroni“ ostaviti iza sebe. Tom optimizmu je dodatno pogodovao početak cijepljenja. Unatoč svemu, stiže treći val i svi naši raniji problemi se ponavljaju i traju i traju

Početkom lipnja prošle godine, istovremeno kada i razvijene europske zemlje uvodimo i proizvodnju novog krvnog pripravka – konvalescentnu plazmu koja je osim izravne pomoći transfundiranja bolesnicima značajno pomaže i u destigmatizaciji osoba koje su preboljele COVID-19, poglavito na samom početku kada su ih drugi sugrađani doživljavali na različite načine. Dugo vremena je prošlo dok su naši kliničari započeli primjenu iste bolesnicima, a onda je krenula velika potražnja jer je nekim bolesnicima koji su je dobili u pravom trenutku došlo do vidljivog poboljšanja. Pomoći pri oporavku bar jedne oboljele osobe opravdava sav uloženi trud, a kolege sa nekih klinika svjedoče o puno većem broju bolesnika kod kojih se bilježilo poboljšanje. Bilo je jedno vrijeme zatišje u narudžbama konvalescentne plazme, ali zadnjih dana je ponovo aktualna, što je svakako odraz stanja tijekom ovog četvrtog vala.

Korona tema će biti nezaobilazna tijekom našeg kongresa kao što je nezaobilazna u našoj i stručnoj i privatnoj svakodnevničici. Uz sve muke glede organizacije rada, smanjenih zaliha, brojnih poslijedonacijskih informacija,... možemo biti sretni i Bogu zahvalni što nas je u ovom hororu zaobišao problem kojeg smo se u početku najviše bojali – prijenos SARS-CoV 2 virusa krvnim pripravcima. Nigdje, ni u jednom znanstvenom radu nije objavljen potvrđeni prijenos, čak niti kod praćenja hematoonkoloških bolesnika transfuzijski liječenih krvnim

pripravcima priređenim od darivatelja koji su bili asimptomatski u fazi inkubacije u trenutku darivanja krvi. Ovo je zaista jedna od rijetkih virusnih infekcija za koju nema dokaza da je krvlju prenosiva. U protivnom bi to bilo potpuno gašenje naše grane medicine, a posljedično i gašenje brojnih života.

Očito nam još nije suđeno vrijeme nestajanja, još puno toga mi moramo odraditi iako ponekad mislimo kako smo daleko došli. Malo nam pomogne znanstvena znatiželja, malo napredak tehnologije, ponekad slučajni događaji, ali sumarno se ipak krećemo naprijed, iako stalno prigovaramo brzini tog kretanja. Samokritički bi mogli definirati puno slabih točaka kako nas pojedinaca, tako i cjelovitog našeg stručnog Društva koje bi moglo i moralо bolje. Nužno je uključivanje mlađih kolegica i kolega spremnih na davanje i realizaciju ideja, spremnih na nove aktivnosti, ali i preuzimanje odgovornosti, spremnih na kritike postojećeg stanja, ali i nuđenje alternativnih rješenja. Vrata su otvorena, samo ulazite i ne zatvarajte ih za sobom jer će možda još netko stidljivo zakucati. Transfuzijska medicina nije niti može biti nikakva zabarikadirana utvrda, niti prostor dominacije nekog pojedinca ili privilegirane skupine samozvanih stručnjaka. Naprotiv, najotvorenija je grana medicine jer „dotikavljе“ sve, povezuje sve, od zdravih do bolesnih, od darivatelja do primatelja, ona je most između dobrote i iščekivanja, dio medicine koji dar plemenitog čovjeka prerađuje u lijek za nemoćnog bolesnika. Najvažnija je činjenica da nema jasne granice pripadnosti između darivatelja i primatelja krvi u jednom narodu osim što je svatko od nas u svakom trenutku svog života potencijalni primatelj, a broj potencijalnih darivatelja je ipak ograničen.

Nakon što smo transfuzijsku službu uglavnom reorganizirali i okrupnili, nakon što smo se uglavnom informatički povezali, nakon što smo se više-manje standardizirali u radu i opremi, nakon što smo svojim radom i rezultatima postali prepoznatljivi dio razvijenog svijeta, slijede prepoznavanja područja za poboljšanje i stalni rad na unaprjeđenju u svim segmentima transfuzijske medicine. To je otvorena platforma za sve naše mlade snage ako imaju želju, ako imaju inicijativu i volju. Temelji su poprilično čvrsti i nikada nemojte posustati jer će o vama i samo o vama zavisiti i vaš i status naše i vaše struke. Znanje je najbolji alat i najjače oružje, a možda niti u jednoj grani medicine nije tako široka platforma istraživanja i tako velika mogućnost suradnje sa drugim strukama. Tu prednost morate prepoznati i na njoj graditi budućnost jer je naša struka jedina „bankarska“ struka u medicini. Gledajući banke kao uspješnice u ekonomskom smislu i bankare kao najuspješnije (?) ljude, za nas nema straha. Možda klasični bankari nikada ne bi postali baš najbogatiji da su bili stalno podvrgnuti kontrolama kao što su svi postupci u našoj struci. U konačnici, i njima se pojavila neželjena virtualna konkurenca jer na svjetskom finansijskom tržištu kriptovalute polako ali nezaustavljivo uzimaju dio bankarskog monopolističkog prostora. Naše krvne i tkivne banke nisu temeljene na istim motivima, nisu vođene profitom i to je ključna razlika od ovih drugih, a naši bankari nisu finansijski nego transfuzijski stručnjaci. Dok nas vodi stručna i znanstvena znatiželja ne bojimo se nikakvih konkurenčija, a nove ideje i nova postignuća su uvijek dobro došla svakom otvorenom umu. Naša struka je uvijek bila i ostaje otvorena za suradnju na svim relacijama, za prihvaćanje novih ideja, tehnologija, znanstvenih postignuća, za razmjenu znanja i iskustva. Internetska komunikacija daje nam svima mogućnost konzultacija, mogućnost bržeg rješavanja nekih problema i mogućnost ujednačavanja rada. Posebna je to prednost za mlade kolege koji se ne trebaju bojati za budućnost transfuzijske medicine bez obzira u kojem gradu radili i kojim se dijelom transfuzijske medicine profesionalno bavili. Ako imate želju za znanjem, svi su vam putevi otvoreni!

Teško je prognozirati što nas sve čeka i s kojima ćemo se problemima susretati jer je ovaj „mali“, nevidljivi virus izazvao veliku pandemiju i pokazao kako smo mali, malešni, sitni bez obzira što o sebi mislili i kako nas drugi doživljavali. Preraspodijelio nam je prioritete, okrenuo nas naglavačke, a mi smo se resetirali i nastavili raditi na najbolji mogući način u postojećim okolnostima. Možda smo mogli bolje jer uvijek može bolje, možda bi netko drugačije. Mi smo se maksimalno angažirali i znanjem i srcem kao i tijekom Domovinskog rata. Zahvalni smo i dežurnim kritičarima jer bi bez njih bilo nezanimljivo. Ponekad nam daju i dodatni poticaj. Svaka kritika je dobro došla, poglavito ako nudi i konkretne prijedloge. Za prazne kritike nemamo vremena.

Transfuzijska medicina kao javnozdravstvena struka je uvijek bila i biti će pod povećalom javnosti. I to je dio našeg rada unutar kojeg moramo uvijek biti dosljedni i vođeni samo i isključivo znanjem temeljenim na dokazima i, neizostavno, etičkim načelima. Mora nas voditi spoznaja kako su lijekovi koje proizvodimo biološkog podrijetla sa svim promjenjivim specifičnostima koje darivatelj nosi i koje samo djelomično možemo detektirati. Na drugoj strani je bolesnik primatelj kojem želimo i trebamo pomoći uz najmanji mogući rizik. Unatoč pridržavanju svih propisanih postupaka, unatoč suvremenim tehnološkim postignućima, unatoč našem znanju i iskustvu, taj rizik se smanjuje, ali nikada neće potpuno nestati. Naša zadaća je i dalje smanjivati sve prepoznate rizike, dosljedno komunicirati sa javnošću i dalje raditi s nadom da će neki učinkoviti „kriptopripravci“ biti što prije široko dostupni. Puno ih je do sada bilo, od eritropoetina koji je zauzeo zasluženo mjesto u terapiji, trombopoetina koji to nije uspio, do potentnog hemoglobina dobivenog od pješčanog crva čija je uspješna primjena započeta u transportu organa za transplantaciju. Ipak, još dugo vremena nama će središnji izvor i dalje ostati darovane žive stanice zdravog čovjeka, možda zbog mističnog čimbenika kojeg nose u sebi, a koji se jednostavno zove život.



## Plenarna predavanja

# ETIČKI ASPEKTI TRANSFUZIJSKOG LIJEĆENJA

Zibar L.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Hrvatska liječnička komora

ladazibar@gmail.com

Nedavno sam susrela prijateljicu iz djetinjstva u završnom stupnju zloćudne bolesti. Bila je prisebna, orijentirana, nasmijana, teže pokretna zbog općeg lošeg stanja i zbog obilnog malignog ascitesa. Bila je hospitalizirana putem hitne službe radi reevaluacije bolesti i tada je utvrđen završni stupanj bolesti. Teže je disala i brzo se umarala. Nisam sigurna je li bila stvarno svjesna svoje tužne i vremenski kratke prognoze. Kaže doduše, usput, da joj jest bilo rečeno da nema aktivnog liječenja i da će uskoro kući. Priča mi da ima dvoje djece srednjoškolske dobi i supruga. Raduje se povratku kući, bit će kod mame, „*tamo joj je tako lijepo, osobito u dvorištu*“. Svi njezini će doći i svi će joj ugadati... Imala je koncentraciju hemoglobina u krvi 70 g/l, saturaciju arterijske krvi kisikom 92 %, sistolički krvni tlak 85 mmHg i srčanu frekvenciju 100/min. Ti su nalazi bili bez promjene u odnosu na nalaze pri primitku u bolnicu prije tjedan dana. Bila je bez vidljivih znakova krvarenja. „*Samo kad ne bih bila tako strašno slaba i kad bih imala više zraka.*“ rekla mi je. Postavlja se pitanje zašto ne dobije transfuziju krvi. U razmatranjima o transfuziji krvi u palijativnoj skrbi navode se prednosti i rizici, poput olakšanja simptoma, s jedne strane, i zabilježene veće smrtnosti ubrzo nakon transfuzije, s druge strane. (*Raval, J.S. Transfusion as a Palliative Strategy. Curr Oncol Rep 21, 92 (2019)*)

I tako krećem u navođenje etičkih dvojbi i etičkih područja koja se susreću povezana s transfuzijom krvi i krvnih pripravaka. Namjerno izbjegavam započeti s temom odbijanja transfuzije krvi Jehovinih svjedoka na koju, prema pretrazi pomoću hrvatskih riječi “etika” i “transfuzija”, nailazim gotovo isključivo, barem na prvim stranicama ekranu. **Etička područja u transfuzijskoj medicini** puno su šira od aspekata koji se tiču samo Jehovinih svjedoka. U primjeru s početka prepoznajemo područje indikacija za transfuziju krvi, osobito u području palijativne skrbi. Sljedeća područja odnose se na poznavanje pravila – i propisa i struke, filozofiju etike, (ne) profitabilnost, kontraindikacije za darovanje krvi, informiranost i pristanke, hemovigilanciju, osiguranje dostatnosti transfuzije krvi i razvoj transfuzijske medicine.

Odnos etike i zakona je paralelan i trebao bi biti usklađen. No, to nije uvijek tako. Zakon je često etički neutralan (Kant) pa je za optimalnu primjenu propisa u praksi nužna i etika, kao svojevrsni *fine tuning* u postupanju, koja medicinskom profesionalizmu daje humanističko obilježje. Kako filozofija razlikuje moral od etike, pojednostaviti će distinkciju i reći da je moral intrinsični osjećaj za dobro, a da etika predstavlja načela dobrog postupanja. Tako je etika u transfuziji propisana etičkim kodeksom kojega je po prvi put donio International Society of Blood Transfusion 1980. godine. Aktualna je verzija iz 2017. godine. ([https://www.isbtweb.org/fileadmin/user\\_upload/ISBT\\_Code\\_Of\\_Ethics\\_English.pdf](https://www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/ISBT_Code_Of_Ethics_English.pdf)) Na internetu je taj **kodeks** dostupan na osam jezika, među kojima nema hrvatskoga (!?). U Kodeksu se polazi od načela da opskrba krvlju i krvnim pripravcima treba biti sigurna, učinkovita i dostatna. A etičnost se osigurava prema darovatelju (donoru) i primatelju krvi/krvnih pripravaka. Pri tomu je najvažnija odgovornost stručnjaka. Uvijek je nužno uvažiti načela biomedicinske etike – autonomiju, neškodljivost, dobrobit i pravdu, pa se i odredbe Kodeksa temelje na tim načelima.

U vezi s etičnošću **prema primatelju** krvi neizostavno je osigurati njegov informirani pristanak. Ukoliko ga se ne može dobiti, tada treba postupiti u najboljem interesu pacijenta. U svakom slučaju treba poštovati anticipirane naredbe (eng. *advanced directive*), ukoliko postoje. I, evo nas već kod teme prava Jehovinih svjedoka – prava na odbijanje transfuzijskog liječenja. Sukobi u argumentaciji za donošenje odluke liječnika postoje na barem tri razine – poštovanje autonomije, odredba zakona o spašavanju života u hitnim stanjima i bez pristanka pacijenta i odgovornost pred Europskim sudom za ljudska prava (ESLjP). O tome detaljno pišemo i u članku u Liječničkom vjesniku iz 2017. godine, 139 (3–4) – Pravo Jehovinih svjedoka na ostvarivanje kirurške zdravstvene zaštite u Republici Hrvatskoj – prema vrijedećim zakonima (de lege lata), Roksandić Vidlička, S., Zibar, L. i dr. Pripadnici vjerske zajednice Jehovinih svjedoka odbijaju transfuziju pune krvi, eritrocita i leukocita, seruma i plazme. (*Petrini C. Ethical and legal aspects of refusal of blood transfusions by Jehovah's Witnesses, with particular reference to Italy. 2014;12 Suppl 1:s395–401.*) Oni vjeruju da Biblija zahtijeva „apstiniranje od krvi“, budući da oni krv

smatraju svetom jer predstavlja vrijedan dar života. (*Ariga T. Refusal of blood by Jehovah's Witnesses and the patient's right to self-determination. Leg Med (Tokyo). 2009;11 Suppl 1:S138–40.*) Kršenje ovih religijskih uvjerenja ima za posljedicu izolaciju iz vjerske zajednice i ekskomunikaciju iz Crkve. (Z. B. *Odbijanje transfuzije krvi zbog vjerskih razloga – pravni aspekti. Hrvatska pravna revija. 2005;9:71–7.*) Tzv. pravo na samoodređenje pretpostavlja pravo davanja ili uskrate pristanka na preporučeni medicinski postupak. Ono se primjenjuje čak i kada prema mišljenju ordinirajućeg liječnika odbijanje pojedinog postupka može rezultirati pogoršanjem pacijentovog zdravlja ili njegovom smrću. Ilustrativna je presuda prizivnog suda pokrajine Ontario u Kanadi iz 1990. godine, prema kojoj čak i u slučaju hitnosti liječnik mora poštivati pacijentove prijašnje upute, pa bilo to i odbijanje transfuzije krvi. (*Bodnaruk ZM, Wong CJ, Thomas MJ. Meeting the clinical challenge of care for Jehovah's Witnesses. Transfusion medicine reviews. 2004;18(2):105–16.*) Kod odbijanja transfuzije krvi u osnovi se radi o sukobu između interesa države da zaštitи život i zdravlje svojih građana i prava pojedinca na osobnu autonomiju u pogledu fizičkog integriteta i vjerskih uvjerenja. Kada postoji takav sukob država je dužna primijeniti načelo proporcionalnosti. (<http://hudoc.echr.coe.int/eng?i=001-99221>) Tekst o proporcionalnosti sadržan je u članku 16. Ustava Republike Hrvatske: „*Slobode i prava mogu se ograničiti zakonom samo da bi se zaštitila sloboda i prava drugih ljudi te pravni poredak, javni moral i zdravlje. Svako ograničenje slobode ili prava mora biti razmjerno naravi potrebe za ograničenjem u svakom pojedinom slučaju.*“ ([www.zakon.hr/z/94/Ustav-Republike-Hrvatske](http://www.zakon.hr/z/94/Ustav-Republike-Hrvatske)) ESLJP smatra da pravo pojedinca da sam izabere svoj način života uključuje i mogućnost bavljenja aktivnostima koje je moguće u fizičkom pogledu smatrati štetnim ili opasnima po njega. „*U području medicine, čak i kad odbijanje određenog medicinskog postupka može dovesti do smrtnog ishoda nametanje medicinskog postupka bez pristanka mentalno zdravog, odraslog pacijenta predstavljaljalo bi zadiranje u njegov tjelesni integritet i povredu prava zaštićenih člankom 8. Konvencije.*“ (<http://hudoc.echr.coe.int/eng?i=001-99221>) Konvencija za zaštitu ljudskih prava i temeljnih sloboda iz Rima, od 4. studenoga 1950.

(“*Narodne novine – Međunarodni ugovori*” br. 18/97., 6/99. – proč. tekst, 8/99 – ispr., 14/02.) – s izmjenama i dopunama iz Protokola br. 14. uz Konvenciju koji je stupio na snagu 1. lipnja 2010. (“*Narodne novine – Međunarodni ugovori*” br. 1/06.) u članku 8. kaže da „*Svatko ima pravo na poštovanje svoga privatnog i obiteljskog života, doma i dopisivanja.*“ i da se „*Javna vlast neće miješati u ostvarivanje tog prava, osim u skladu sa zakonom i ako je u demokratskom društvu nužno radi interesa državne sigurnosti, javnog reda i mira, ili gospodarske dobrobiti zemlje, te radi sprječavanja nereda ili zločina, radi zaštite zdravlja ili morala ili radi zaštite prava i sloboda drugih.*“ ([https://www.usud.hr/sites/default/files/doc/KONVENCIJA\\_ZA\\_ZASTITU\\_LJUDSKIH\\_PRAVA\\_I\\_TEMELJNIH\\_SLOBODA\\_s\\_izmjenama\\_i\\_dopunama\\_iz\\_PROTOKOLA\\_br.\\_14.pdf](https://www.usud.hr/sites/default/files/doc/KONVENCIJA_ZA_ZASTITU_LJUDSKIH_PRAVA_I_TEMELJNIH_SLOBODA_s_izmjenama_i_dopunama_iz_PROTOKOLA_br._14.pdf)) ESLJP se nastavlja na Konvenciju i kaže da su „*Brojne nadležnosti razmatrale slučajeve Jehovahinih svjedoka koji su odbili transfuziju krvi i zaključile da se javni interes u očuvanju života i zdravlja pacijenta, iako je on nesporno zakonit i vrlo snažan, treba podrediti snažnjem interesu pacijenta da sam odluči kako će živjeti.... Naglašeno je da su sloboda izbora i samoodređenje temeljne sastavnice života te da se država, u slučaju nepostojanja potrebe za zaštitom trećih strana ... mora suzdržavati od zadiranja u slobodu izbora pojedinca u području zdravstvene zaštite, jer se takvim zadiranjem može samo umanjiti vrijednost života, a nikako povećati.*“ Da bi mogle interferirati u ova prava pacijenta, nacionalne zdravstvene vlasti dužne su *dokazati postojanje neodložne društvene potrebe* (npr. zaštita djece i osoba koje ne mogu samostalno donositi odluke) i *pronaći relevantne i dostatne dokaze kojima je moguće opravdati ograničenje prava Jehovahinih svjedoka da odbiju transfuziju krvi.* (<http://hudoc.echr.coe.int/eng?i=001-99221>) Ovdje moram spomenuti da je međunarodni pravni standard sadržan u Europskoj konvenciji za zaštitu ljudskih prava i temeljnih sloboda da „*Pravo na život nije apsolutno pravo.*“ (članak 2). (NN, *Međunarodni ugovori*, br. 18/1997, 6/1999, 8/1999, 14/2002) Je li nedavanje transfuzije krvi koje bi spasilo život bolesniku koji je Jehovah svjedok i to odbija vrsta sudjelovanja u asistiranom suicidu? Članak 114. Kaznenog zakona Republike Hrvatske kaže „*Tko navede drugoga na samoubojstvo ili mu iz niskih pobuda pomogne u samoubojstvu pa ono bude počinjeno ili pokušano, kaznit će se kaznom zatvora do tri godine.*“ (NN 125/11, 56/15, 61/15) U presudi ESLJP-a 2010. u predmetu *Moskovski Jehovahi svjedoci i ostali protiv Rusije*, ESLJP je naglasio da se odbijanje primanja transfuzije krvi ne može izjednačiti sa samoubojstvom zato što se okolnosti pacijenta koji traži ubrzanje smrti prekidom liječenja razlikuju od okolnosti u kojima se nalaze pacijenti koju se, poput Jehovahinih svjedoka, samo odlučuju za određeni medicinski postupak, pri čemu i dalje žele ozdraviti i ne odbijaju svako liječenje. (*Zahtjev br. 302/02, pravomočna presuda od 22.11.2010. <http://hudoc.echr.coe.int/eng?i=001-99221>.*) Tako da izostanak primjene transfuzije krvi nije asistirani suicid. Članak 181. Kaznenog zakona kaže “*Doktor medicine, doktor dentalne medicine ili drugi zdravstveni radnik koji obavljajući zdravstvenu djelatnost primjeni očito nepodobno sredstvo ili način liječenja ili na drugi način očito ne postupi po pravilima zdravstvene struke ili očito nesavjesno postupa pa time prouzroči pogoršanje bolesti ili narušenje zdravlja druge osobe, kaznit će se kaznom zatvora do jedne godine.*” (zakonipropisi.

[com/hr/zakon/kazneni-zakon/134-clanak-povreda-prava-iz-socijalnog-osiguranja](http://com/hr/zakon/kazneni-zakon/134-clanak-povreda-prava-iz-socijalnog-osiguranja)) Dakle, oblik nesavjesnog poнашана лијећника може бити и уколико у bolesnika nastупи pogoršanje болести. Do čega može doći zbog izostanka primjene transfuzije krvi. Zakon je u Hrvatskoj dodatno nejasan i proturiječan jer se informirani pristanak traži bezuvjetno, ali s druge strane zakon daje mogućnost da ga se ne treba tražiti kada je intervencija neodgodiva. Prema Zakonu o zaštiti prava pacijenata, članak 16, „*Pacijent ima pravo prihvatiti ili odbiti pojedini dijagnostički, odnosno terapijski postupak, osim u slučaju neodgodive medicinske intervencije čije bi nepoduzimanje ugrozilo život i zdravlje pacijenta ili izazvalo trajna oštećenja njegovoga zdravlja.*“ I prema Zakonu o liječništvu, članak 18, „... U hitnim stanjima liječnik je dužan pružiti pomoć svakom bolesniku bez odlaganja... Hitnim stanjima... smatraju se ona stanja kod kojih bi zbog nepružanja liječničke pomoći mogle nastati trajne štetne posljedice po zdravlje (invalidnost) ili po život bolesnika.“ Interpretacija Zakona o liječništvu i Zakona o zaštiti prava pacijenata je sljedeća – preporučuje se dati transfuziju krvi bez pitanja, u slučaju neodgodive medicinske intervencije kada bi nedavanje ugrozilo život (što je zapravo upitno je li u skladu s Konvencijom). Etičnost prema primatelju krvi nadalje uključuje povjerljivost informiranja i anonimnost između donora i primatelja. Osiguranje sigurnosti pripravaka za primatelja (uključujući testove pripravaka na zarazne bolesti) je *conditio sine qua non* etičnog transfuziološkog pristupa. Kao i informiranje o ev. naknadnim saznanjima o potencijalnoj štetnosti (npr. kada je donor nedugo nakon darovanja krvi postao pozitivan na HIV) i postupanje u skladu sa situacijom.

**Donor** je jednako važan objekt i subjekt etičnosti. Pri tome je važno informirati ga o obilježjima i rizicima darovanja krvi i dobiti njegov pristanak za darovanje. Neizostavno je osigurati povjerljivost informacija kao i sigurnosti za donora. Potrebno je informirati ga i o eventualnim rizicima za primatelja i kontraindikacijama za darovanje krvi, pri čemu on, kao tako informirani potencijalni donor ujedno postaje subjekt etičnosti prema objektu – primatelju. Pri tome postoji i odgovornost donora koji mora biti svjestan da ne smije štetiti primatelju („*Donors must be made aware of their responsibility not to harm the recipient*“ [https://www.isbtweb.org/fileadmin/user\\_upload/ISBT\\_Code\\_Of\\_Ethics\\_English.pdf](https://www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/ISBT_Code_Of_Ethics_English.pdf)) Zašto je biti MSM (od eng. *men who have sex with men*, muškarci koji imaju seks s muškarcima) – kontraindikacija za darovanje krvi? Zato što za svaku bolest koja se prenosi krvlju postoji tzv. razdoblje „window“ u kojem je uzročnika nemoguće otkriti suvremenim pretragama, a istodobno je od novootkrivenih pozitivnih na HIV u Hrvatskoj 80 % upravo pripadnika zajednice MSM. (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/hiv-surveillance-report-2020.pdf>) Kao i u slučaju primatelja etično je i donora informirati o saznanjima o potencijalnim bolestima (npr. kada je u donora u obradi utvrđen pozitivitet na hepatitis B ili C) i postupati u skladu sa situacijom.

Bitan etički zahtjev u darovanju krvi jest **neprofitabilnost** (eng. *Not-for-Profit*), a neprihvatljiv komercijalizam, tj. plaćanje darovateljima. Darovanje krvi mora se temeljiti na motivima altruizma i mora biti dobrovoljno (voluntarizam), dok je bilo kakva prisila (eng. *coercion*) neetična. (*Council of Europe. Recommendation No. R (95) 14 Of The Committee Of Ministers To Member States On The Protection Of Health Of Donors And Recipients. The Area Of Blood Transfusion. 1995.*)

Načelo **pravde** (eng. *justice*) ogleda se kroz pravilo Kodeksa da se pristup pripravcima treba temeljiti na kliničkim potrebama (isključivo!) te da je potrebno osigurati izbjegavanje bacanja pripravaka. Etičnost uključuje i dobro gospodarenje, odnosno **upravljanje** transfuzijskim sustavom (eng. *stewardship*). Kodeks zahtijeva i samo osiguranje sustava transfuzijskog liječenja (i kvalitetu sustava u skladu sa standardima) i osiguranje razvoja transfuzijskog liječenja. I Kodeks medicinske etike i deontologije (NN 139/15) u članku 9, stavak 9, kaže da je „*Obvezu liječnika stalno obravnavanje i praćenje napretka u struci.*“ Iz čega proizlazi da je nestručnost neetična!

Za kraj, važno je biti svjestan svih **odgovornosti** u transfuzijskom radu, subjekata te odgovornosti (transfuziolozi i drugi transfuziološki djelatnici, kliničari, donori, primatelji, pravne osobe koje donose odredbe vezane za transfuziju krvi) kao i razina odgovornosti (disciplinska na razini institucije npr. zaposlenika, stručna i etička na razini Hrvatske liječničke komore, odnosno Časnoga suda, građansko pravna, pri čemu se uglavnom radi o naknadi štete, kazneno pravna koja u pozitivnim propisima u Hrvatskoj predviđa nesavjesno liječenje u članku 182 Kaznenog zakona, i konačno odgovornost pred ESLjP-om gdje ipak ne odgovara pojedinac, već država). Najveća je odgovornost prema svojoj savjesti i to je najveća i najteža etička odgovornost, osobito u situacijama gdje nema jasnih pisanih i obvezujućih etičkih odredaba. Liječnici koji užurbanim tempom ulažu trud činiti najbolje, često u okolnostima pretpostavljenog timskog povjerenja i vremenskih improvizacija, nisu svjesni kako se u odgovornosti pred sudom sve mijenja i kako tada tamo ostajemo sami. „*Gotovo automatsko prebacivanje odgovornosti toliko uobičajeno u modernom društvu iznenada se prekida čim stupite u sudnicu. Sva opravdanja nespecifične apstraktne naravi, od duha vremena pa do Edipovog kompleksa po kojima nismo ljudi nego funkcija ovoga ili onoga, te u tom smislu zamjenjivi – gube tlo pod nogama.*“ kaže Hannah Arendt (u „O zlu“).

## POREMEĆAJI HEMOSTAZE I TROMBOZE U COVID-19 BOLESNIKA

PULANIĆ D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

• Odjel za hemostazu i trombozu te benigne bolesti krvotvornog sustava Zavod za hematologiju Klinika za unutarnje bolesti

**Uvod:** Hemostatski poremećaji i tromboze koje nastanu u značajnog broja oboljelih od koronavirusne bolesti 2019. (engl. *Coronavirus Disease 2019, COVID-19*) predmet su golemog medicinskog interesa. Cilj ovog rada prikaz je dosadašnjeg znanja o trombozama i koagulacijskim poremećajima, te postojećim smjernicama za tromboprofilaksu u COVID-19 bolesnika.

**Materijali i metode:** Pretražen je PubMed i ostala dostupna medicinska literatura o trombozama, koagulacijskim poremećajima, te smjernicama za tromboprofilaksu u COVID-19.

**Rezultati:** Venske tromboembolije (VTE) uočene su kao važne komplikacije bolesnika hospitaliziranih zbog COVID-19, čak i u onih koji primaju farmakološku tromboprofilaksu. Opisane su i arterijske tromboze kao komplikacije COVID-19 bolesnika, uključujući ishemijske moždane udare. Bolesnici s COVID-19 imaju često prisutna sva tri elementa Virchowljeva trijasa za nastanak tromboze: otežanu pokretljivost ili nepokretljivost, akutna upalna zbijanja koja dovode do hiperkoagulabilne krvi, te oštećenje endotela krvnih žila. Opisane su povišene aktivnosti faktora VIII, von Willebrandovog faktora, fibrinogena i D-dimera kao pokazatelja hiperkoagulabilnosti u COVID-19 bolesnika. Hospitalizirani COVID-19 bolesnici koji imaju teži oblik bolesti, pogotovo uz dodatne rizične čimbenike (nepokretni, stari, adipozni, muškarci, ranije preboljela VTE, rak, drugi komorbiditeti, hospitalizacija u jedinici intenzivnog liječenja) imaju i veći rizik nastanka tromboze nego oni s blagim ili asimptomatskim oblikom COVID-19. Studije temeljene na obdukcijama utvrđile su mikrovaskularne tromboze u COVID-19 bolesnika, koje mogu zahvatiti pluća i druge organe. Razmatra se i utjecaj terapije protiv COVID-19 (antivirusni lijekovi, kortikosteroidi, anti-citokini, monoklonalna protutitijela, rekovalessentna plazma) na protrombotski rizik kao i na interakcije s farmakološkom tromboprofilaksom. Razvoj diseminirane intravaskularne koagulacije jedan je od najznačajnijih pokazatelja lošeg ishoda u COVID-19. Također je i trombocitopenija u hospitaliziranih COVID-19 bolesnika povezana s povećanim rizikom smrti. Brojna međunarodna medicinska udruženja objavila su preporuke o tromboprofilaksi bolesnika s COVID-19, često se ograjući da se preporuke temelje na niskoj razini i niskoj snazi dokaza s obzirom na to da je riječ o novoj bolesti.

**Zaključak:** Postojeća saznanja ukazuju da je COVID-19 protrombogena bolest. Za očekivati je da će se preporuke o najadekvatnijoj tromboprofilaksi redovito obnavljati i doradivati s protokom vremena i ovisno o novim podacima o COVID-19.

## FETALNA I NEONATALNA ALOIMUNA TROMBOCITOPENIJA (FNAIT) U 2021. GODINI

TOMIĆIĆ M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za dijagnostiku trombocita, leukocita i hemostazu

Fetalna/neonatalna aloimuna trombocitopenija (FNAIT) je klinički sindrom, koji nastaje zbog nepodudarnosti trombocitnih antigena (HPA), koje je fetus naslijedio od oca, a nisu prisutni na majčinim trombocitima. Bolest je slična hemolitičkoj bolesti novorođenčeta (HBFN) uzrokovanoj aloimunizacijom na eritrocitne antogene. Točna učestalost FNAIT u većini zemalja nije poznata, jer se zabilježeni slučajevi odnose samo na pojedine Ustanove ili Referalne centre, u kojima je moguća serološka potvrda dijagnoze. Procijenjena učestalost FNAIT je 0,3 do 1 slučaj na 1000 do 5000 živorodene djece. U 20–59% slučajeva, FNAIT se opaža u prvorodene djece. Iako je bolest rijetka, težina kliničkih simptoma i posljedice povezane s krvarenjem u središnji živčani sustav nalažu ranu serološku laboratorijsku dijagnostiku i liječenje.

Neonatalnu aloimunu trombocitopeniju (NATP) prvi je opisao Harington 1953. godine, u dvoje novorođenčadi s trombocitopenijom i krvarenjem, rođenih od majki s normalnim brojem trombocita. Unatoč teškom krvarenju i brojnim komplikacijama oporavak je nastupio nakon 2 odnosno 8 tjedana. Serološka potvrda dijagnoze nije bila moguća sve do 1962. godine, kada su Shulman i suradnici opisali prvi specifični trombocitni aloantigen, nazvali ga PLA1 (danas HPA-1a) i dokazali da je trombocitopenija u novorođenčeta bila posljedica prijelaza majčinih aloprotutjela u krvotok djeteta i vezanja na fetalne trombocite.

Od tada do danas otkrivenio je više od 30 trombocitih specifičnih aloantigena (HPA), koji potencijalno mogu uzrokovati FNAIT. Ipak, HPA-1a inkompatibilnost ima najveće kliničko značenje.

Inunosni odgovora na HPA-1a antigen, snažno je povezan sa sustavom tkivne snošljivosti razreda II, odnosno alelom DRB3\*01:01, koji je prisutan u 90% žena imuniziranih na HPA-1a alel.

Uvođenje molekularnih metoda za HPA genotipizaciju umnogome je unaprijedilo serološku potvrdu bolesti. Epidemiološke studije učestalosti HPA alela u populaciji pojedinih zemalja značajno su doprinijele razvoju novih metoda određivanja HPA specifičnosti protutijela i njihovog kliničkog značenja. Ujedno, omogućile su probirno prijenatalno ispitivanje trudnica, te razvoj lijekova za sprječavanje FNAIT. Određivanje HPA alela u dobrotvornim davatelja koncentrata trombocita na staničnom separatoru omogućilo je liječenje HPA antigen negativnim krvnim pripravkom.

Prije tridesetak godina, za sprječavanje fetalne trombocitopenije najčešće su primjenjivane intrauterine transfuzije trombocita (IUT). Nedostatak IUT je složenost postupka i česta, jednotjedna ponavljanja zbog kratkog poluvijeka transfudiranih trombocita. Najteže komplikacije IUT su produženo krvarenje iz mesta punkcije pupkovine ili tromboza pupkovine. Rizik za fetalnu smrt ili hitni prijevremeni carski rez, nakon IUT iznosi oko 10%. Stoga se one danas primjenjuju izuzetno rijetko. Bussel i suradnici prvi su počeli s primjenom intravenoznih gama globulina (IVIG), kako bi izbjegli komplikacije IUT. Točan mehanizam djelovanja IVIG-a nije poznat, pretpostavlja se da djeluje na više razina. Najvažnija je ometanje transplacentnog prijelaza HPA protutijela i stabilizacija endotela krvnih žila. Iskustva prikupljena liječenjem i sprječavanjem HBFN značajno su unaprijedila postupke prijenatalnog liječenja FNAIT. Posebno se to odnosi na HPA genotipizaciju fetalne "cell free DNA" iz uzorka krv majke tijekom trudnoće, primjenu hiperimunog globulina ("NAITgam, anti-HPA-1a), te inhibiciju neonatalnih Fc gama receptora (FcRn).

Sumnja na FNAIT postavlja se kada je u novorođenčeta nakon poroda prisutna neobjašnjena izolirana trombocitopenija (najčešće  $10 \times 10^9/L$  do  $30 \times 10^9/l$ ). Broj trombocita u majčinoj krvi obično je normalan.

Specifična trombocitna aloprotutijela IgG razreda, koja stvara majčin imunološki sustav tijekom fetalnog razdoblja, mogu prijeći placentu, vezati se na fetalne trombocite i uzrokovati njihovu pojačanu razgradnju. Kako su fetalni HPA antigeni razvijeni već od 16. tjedna, trombocitopenija može uzrokovati krvarenja i dugotrajno ugrožavati fetus i prije poroda.

80–90% FNAIT uzrokovano je anti-HPA-1a protutijelima. Anti-HPA 5a su druga protutijela prema učestalosti, dok se protutijela ostalih specifičnosti rijetko nalaze. Uloga anti-HLA razreda I u nastanku FNAIT nije potpuno jasna. Za konačnu potvrdu dijagnoze nužno je učiniti laboratorijsko serološko ispitivanje za FNAIT, kojim se dokazuju specifična trombocitna protutijela IgG razreda u serumu majke, koja su transplacentarno prešla u krvotok djeteta i vezala se na fetalne/neonatalne trombocite.

Algoritam laboratorijskog ispitivanja za FNAIT obično obuhvaća probirno serološko ispitivanje antitrombocitnih protutijela u uzorku krvi majke i djeteta, određivanje HPA specifičnosti prisutnih aloprotutijela, HPA genotipizaciju majke i djeteta/oca, određivanje titra protutijela, odabir trombocita za transfuziju i tumačenje rezultata. U serološkoj dijagnostici FNAIT potrebno je primijeniti metode koje imaju najbolju osjetljivost i specifičnost. Za probirno ispitivanje za antitrombocitna protutijela najčešće se koristi test imunofluorescencije (protočna citometrija). Za određivanje specifičnosti anti-HPA protutijela najčešće se koristi enzimsko-imunološka metoda immobilizacije trombocitnih glikoproteina pomoću monoklonskih protutijela (MAIPA, monoclonal antibody immobilization of platelet antigens, engl) i Luminex (protočna imunofluorescencija s mikro kuglicama, PLX). Za križnu probu i određivanje titra anti-HPA-1a protutijela koristi se indirektni MAIPA test. U konačnoj potvrdi serološkog nalaza, poželjno je odrediti HPA fenotip/genotip majke i djeteta/oca. Za HPA genotipizaciju, najčešće je to metoda polimerazne lančane reakcije sa začetnicama specifičnim za sekvencu (PCR-SSP, polymerase chain reaction-sequence specific primers, engl.). Ako je probirno serološko ispitivanje pozitivno, slijedi određivanje specifičnosti aloprotutijela u serumu/plazmi majke. Ukoliko se specifična trombocitna protutijela ne dokažu, može se učiniti križna proba s trombocitima oca i serumom majke, izvedena MAIPA metodom, i ispitati prisutnost HLA protutijela razreda I. U slučaju kada majka boluje od autoimune trombocitopenije (AITP), direktni test za ATA s trombocitima majke je pozitivan, a u serumu majke u indirektnom testu mogu se dokazati samo panreaktivna slobodna autoprotutijela IgG razreda. Iako majčina autoprotutijela najčešće ne uzrokuju trombocitopeniju u djeteta ili je prisutan samo blago snižen broj trombocita bez kliničkih simptoma, opisano je nekoliko slučajeva teškog oblika neonatalne trombocitopenije uzrokovane samo majčinim autoprotutijelima. Protutijela IgM razreda, koja također mogu biti prisutna u majčinoj cirkulaciji nemaju utjecaja na patogenezu FNAIT. Nepodudarnost HPA genotipa majke i djeteta/oca, dopunjaje i potvrđuje nalaz serološkog ispitivanja.

Posebno je važna za dokazivanje specifičnosti protutijela na rijetke antigene u populaciji, ali sama HPA inkompatibilnost između majke i djeteta, bez ostalih pozitivnih laboratorijskih nalaza i kliničke slike bolesti, nije dovoljna za konačnu potvrdu dijagnoze.

Liječenje se provodi transfuzijom koncentrata trombocita, odabranih prema nalazu HPA specifičnosti aloprotutijela dokazanih u serumu majke. Za neonatalnu transfuziju priprema se koncentrat trombocita jednog davatelja, čiji trombociti nemaju odgovarajući aloantigen, odabranog iz baze podataka HPA tipiranih davatelja trombocita na staničnom separatoru u HZTM-u. Iznimno se mogu primijeniti majčini trombociti, koji su također aloantigen negativni. U slučaju kada je FNAIT uzrokovana majčinim autoprotofutijelima, za transfuziju se primjenjuju trombociti slučajno odabranog davatelja pripravljeni aferezom, jer su protutijela panreaktivna za glikoproteinske komplekse trombocitne membrane. Trombocitni krvni pripravak uvijek mora biti sa smanjenim brojem leukocita (filtriran), a ukoliko se primjenjuju majčini trombociti nužno je ukloniti plazmu, u kojoj se nalaze HPA aloprotutijela, te ozračiti pripravak, radi sprječavanja GVHD. Trombocitni pripravak treba biti ABO podudaran s antigenima novorođenčeta, a ukoliko nije, treba također ukloniti plazmu iz pripravka. Nije opravданo odgađati trombocitnu transfuziju u slučaju vitalne indikacije, teške trombocitopenije i krvarenja, zbog čekanja na rezultate laboratorijskog ispitivanja. Tada novorođenče dobiva trombocitnu transfuziju slučajno odabranog davatelja, a slijedeća transfuzija se priprema prema nalazu HPA specifičnosti dokazanih aloprotutijela. Također se primjenjuje liječenje novorođenčeta IVIG-om, u dozi 1 g/kg tjelesne težine tijekom 2–3 dana, a rjede kortikosteroidima. U slučaju da je prethodno novorođenče imalo intrakranijalno krvarenje (IKK) indicirano je prijenatalno liječenje, jer je rizik fetalnog krvarenja ukoliko izostane liječenje tijekom trudnoće, oko 79%. Tijekom zadnja dva desetljeća terapija IVIG-om je gotovo u potpunosti zamjenila IUT, uz 98%-tnu uspješnost u prevenciji fetalnog krvarenja.

Sustavnim pregledom i analizom podataka iz 27 studija o FNAIT/NAIT (Medline, EMBASE, Cochrane) za razdoblje od 1946. do 2017. godine, međunarodna radna skupina predvođena Liebermanom i suradnicima donijela je 2019. godine preporuke za dijagnostiku i liječenje FNAIT.

Preporučene su smjernice za liječenje IVIG-om i kombinacijom IVIG-a s kortikosteroidima, te protokoli za doze i trajanje liječenja. Oni se odabiru prema anti-HPA-a specifičnosti aloprotutijela i anamnestičkom podatku o IKK u prethodnoj trudnoći. Ukoliko je u prethodnoj trudnoći bilo IKK, radi se o visokom riziku za krvarenje, te se trudnice liječe višim dozama IVIG-a, u dužem terapijskom ciklusu. Doze IVIG kreću se od 0.5 do 2.0g/ 1 kg majčine težine. Nizozemska grupa predložila je za visoko rizične trudnoće, dozu IVIG-a, 1.0 g/ 1kg, jednom tjedno. Liječenje treba započeti između 12. i 16. tjedna i nastaviti do 36. tjedna, kada treba planirati porođaj. Najviše preporučene doze IVIG-a su 2,0 g/ 1kg tjedno, kombinirane s prednisonom, u dozi 0,5 mg/ kg dnevno. Za nisko rizične trudnoće, bez prethodnih IKK, doza IVIG-a je obično 0.5g / 1kg. U svim protokolima, liječenje IVIG-om treba kontrolirati ultrazvučnim pregledima mozga, u intervalima od 2 do 4 tjedna. Posebnu pažnju treba usmjeriti na prepoznavanje intra i ekstrakranijalnih krvarenja. U studijama Tiller-ove i suradnika pokazana je pozitivna prediktivna vrijednost određivanja titra anti-HPA-1a protutijela u predviđanju teške trombocitopenije u neonatusa, veća od 90%. Suprotno tome, objavljeni su slučajevi FNAIT s teškim fetalnim krvarenjima i malim titrom anti-HPA-1a protutijela. Iako titar HPA-1a protutijela nije pouzdan u procjeni trombocitopenije u fetusa i ne mora uvijek korelirati s brojem trombocita, pad titra protutijela u krvi majke neizravno može upućivati na dobar terapijski učinak prijenatalne primjene IVIG-a. Takav nalaz sukladan je nalazu broja trombocita iz pupkovine nakon porođaja i negativnom nalazu direktnog testa na antitrombocitna protutijela IgG razreda u novorođenčeta.

Način porođaja u slučaju FNAIT također je varijabilan. Većina Centara radi carski rez između 36. i 38. tjedna ako je u prethodnoj trudnoći bilo IKK. Međutim, prema podacima manjih kohortnih studija, nema dokaza da vaginalni porođaj povećava rizik za IKK.

Prijenatalni probir trudnica za FNAIT, ne radi se rutinski i nije obavezan. On je opravdan, ako ga slijedi sigurna i isplativa profilaksa, kojom se postiže značajno smanjenje incidencije bolesti (prema kriterijima WHO). U većini europskih zemalja, koje su provele velike populacijske studije za FNAIT, probir se radio određivanjem HPA-1 genotipa u trudnica koje su prethodno rodile dijete s FNAIT uzrokovanе anti-HPA-1a aloprotutijelima, odnosno ako je postojao anamnestički podatak o IKK ili drugom velikom krvarenju u prethodnog djeteta. Takvim načinom probira, incidencija teške trombocitopenije u neonatusa bila je 3 do 5 puta viša, nego u slučaju kada je probir rađen bez prethodne klinički potvrđene FNAIT. Važan je podatak da je 75% trudnica, koje su rodile djecu s novootkrivenom FNAIT uzrokovanu anti-HPA-1a protutijelima bilo imunizirano tijekom porođaja u prvoj trudnoći. Taj se podatak značajno razlikuje od podataka o klinički potvrđenim slučajevima FNAIT,

koji su otkriveni u majčinoj prvoj trudnoći u 60 % slučajeva. Ako je trudnica HPA-1bb genotipa (oko 2% u populaciji Bijelaca), nastavlja se serološko ispitivanje i HPA genotipizacija oca djeteta. Ako je otac heterozigot, HPA-1ab, tada postoji 50%-tina vjerojatnost da je fetus HPA-1bb. U tom slučaju indicirana je amniocenteza radi provjere fetalnog genotipa. Ukoliko je fetalni genotip HPA-1bb, može se isključiti bolest jer je identičan s majčinim genotipom. Unatrag nekoliko godina, HPA genotipizacija fetusa može se učiniti i analizom "slobodne" fetalne DNA iz majčine plazme. Pretragu je moguće učiniti od 10. tjedna gestacije, ali za sada samo za HPA-1 genotip. Određivanje DRB3\*0101 alela pokazalo se važnim u procjeni rizika za HPA-1a imunizaciju tijekom trudnoće i predloženo je za sastavni dio probira za FNAIT, uz HPA-1ab genotipizaciju.

Profilaktička primjena "NAITgam"-a, hiperimunog gama globulina, koji se dobiva iz plazme žena koje su rodile dijete s klinički dokazanim FNAIT uzrokovanim anti-HPA-1a aloprotutijelima, također je u početnoj fazi kliničkog ispitivanja. Nužno je nastaviti s kliničkim ispitivanjima kako bi se potvrdila učinkovitost i sigurnost primjene, ali i finanacijska isplativost, o kojima ovisi uvođenje obveznog probira za FNAIT.

Najnovija istraživanja lijekova koji blokiraju neonatalne Fc gama receptore, čija se primjena ispituje za liječenje HBFN, daju obećavajuće rezultate. Njihova primjena u FNAIT omogućila bi prevenciju i liječenje neoviso o specifičnosti HPA aloprotutijela, što predstavlja ogroman iskorak u pristupu liječenju svih neonatalnih citopenija.

## Zaključak

Točna učestalost FNAIT nije poznata u većini zemalja, jer se zabilježeni slučajevi odnose samo na određene Referalne centre pojedinih zemalja. Iako je bolest rijetka, težina kliničkih značajki i posljedica povezanih s krvaranjem u središnjem živčanom sustavu, nalažu ranu serološku dijagnostiku.

Prijenatalni serološki/ molekularni probir za FNAIT nije točno propisan. Radi se samo u slučaju teškog oblika FNAIT u prethodnoj trudnoći, uzrokovane anti-HPA-1a protutijelima. Razlog je niska učestalost bolesti, slaba dostupnost metoda za HPA genotipizaciju, te nepostojanje odobrenoga lijeka za sprječavanje bolesti za rutinsku primjenu. Stoga se FNAIT uglavnom dijagnosticira i liječi kada postoji anamnestički podatak o FNAIT, posredovanom anti-HPA-1a protutijelima u prethodnoj trudnoći. Dijagnoza se ponekad postavi već u prvoj trudnoći, ako se na ultrazvuku nađe intra ili ekstrakranijalno krvarenje. Izbor trombocita za neonatalnu transfuziju prema HPA genotipu majke dobiven od HPA negativnog davatelja postupkom afereze, danas je najučinkovitija metoda liječenja FNAIT. Primjena IVIG-a tijekom trudnoće, u slučajevima potvrđene FNAIT uzrokovane anti-HPA-1a protutijelima značajno doprinosi prevenciji i usmjerrenom liječenju ove bolesti.

U budućnosti će vjerojatno većina ovih potupaka biti u drugom planu i zamjenjena obveznim probirom za FNAIT metodom HPA-1ab genotipizacije majke, određivanjem HPA genotipa iz fetalne "cell free DNA" u krvi majke, profilaktičkom primjenom hiperimunog globulina ("NAITgam"-anti-HPA-1a), te lijekovima koji inhibiraju neonatalne Fc gama receptore (FcRn).

## LITERATURA

1. Backhoul T, Bassler D, Heckmann M, Thiele T, Kiefer V, Gross I i sur. Management of infants born with severe neonatal alloimmune thrombocytopenia: the role of platelet transfusions and intravenous immunoglobulin. Transfusion 2014; 54(3):640–5.
2. Borros A i sur. Neonatal immune incompatibilities between newborn and the mother. J Clin Med. 2000;9(5): 1470, doi: 10.3390/jnm9051470
3. Bussel JB, Vander Haar EL, Berkowitz RL. New developments in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. Am J Obstet Gynecol. 2021;225(2):120–127
4. Harington WJ, Sprague CC, Minnich V, Moore CV, Aulvin RC, Dubach R. Immunologic mechanisms in idiopathic and neonatal thrombocytopenic purpura. An Int Med. 1953;38:433–469.
5. Kaplan C. Neonatal alloimmune thrombocytopenia. Haematologica 2008; 93(6): 805–807.
6. Williamson LM, Hackett G, Rennie J i sur. The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (PlA1, Zwa) as determined by antenatal screening. Blood. 1998; 92:2280–2287.
7. Peterson JA, Mc Farland JG, Curtis B, Aster RH. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. Br J Haematol, 2013; 161(1):3–14
8. Tiller H, Killie MK, Chen P, Eksteen M, Husebekk A, Skogen B i sur. Toward a prophylaxis against fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: induction of antibody-mediated immune suppression and prevention of severe clinical complications in a murine model. Transfusion 2012;52(7):1446–57
9. Tiller H, Husebekk A, Ahlen MT, Stuge TB, Skogen B. Current perspectives on fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia – increasing clinical concerns and new treatment opportunities. Int J Womens Health. 2017; 19(9):223–234.

## REVISION OF THE UNION LEGISLATION ON BLOOD, TISSUES AND CELLS

Fehily D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Substances of Human Origin Team, DG Santé, European Commission

### Evaluation of the EU legislation on blood, tissues and cells

The Blood Directive 2002/98/EC and the Tissues and Cells Directive 2004/23/EC (the BTC legislation) have helped ensure the safety of millions of patients undergoing blood transfusion, transplantation and medically assisted reproduction. The legislation sets out quality and safety requirements for all steps from donation to human application, unless the donations are used to manufacture medicinal products or medical devices, in which case the legislation only applies to donation, collection and testing. After more than 16 years in place, the legislation cannot cater for all the new scientific and technical developments that have taken place since. Shortcomings of the legislation were identified in a 2019 evaluation of the legislation on blood, tissues and cells<sup>1</sup>. The evaluation findings were endorsed by stakeholders and national competent authorities, and welcomed in the Council Working party on health, and in the European Parliament.

The COVID-19 pandemic highlighted some of the shortcomings, in particular those impacting on blood transfusions. The strong reliance on the United States for a sufficient supply of plasma for medicinal product manufacture emerged as a threat to an open strategic autonomy. This is underlined the need for timely action. A potential revision was included in the Commission Work Programme 2021.

The revision aims to address the following gaps and shortcomings identified in the evaluation:

#### 1. Patients are not fully protected from avoidable risks:

The EU safety and quality requirements have not kept up-to-date with frequently changing scientific and epidemiological developments, potentially exposing patients treated with BTC to avoidable risks. The European Centre for Disease Prevention and Control provides up-to-date but non-binding guidance on safety measures, the Council of Europe provides guidance on quality and safety of BTC and many Member States put more stringent requirements in place. In addition, while new therapies have emerged since the BTC legislation was adopted, it is not always clear whether, and if so which, of the BTC Directives apply, leaving these substances unregulated or regulated in divergent ways (e.g., donated breast milk, serum eye drops, faecal microbiota transplants).

#### 2. Divergent approaches to oversight cause unequal levels of safety and quality and barriers to the exchange of BTC across the EU

Divergent national interpretations and implementations of the legislation lead to unequal protection and a lack of mutual trust between national authorities. This in turn creates barriers to cross-border exchange and to availability of BTC.

#### 3. Avoidable risks for BTC donors and for children born from donated eggs, sperm or embryos

Current BTC legislation contains only very limited measures to protect and monitor BTC donors and children born from donated sperm, eggs or embryos. In particular, the requirements to report donor adverse reactions are too limited and provisions for testing egg and sperm donors for genetic conditions are out-of-date with the technology available. Growing demand by commercial companies (e.g. egg banks for IVF, plasma collectors for medicinal product manufacture) increases the pressure to donate and consequently the need for robust donor protection measures.

#### 4. BTC legislation lags behind innovation

New ways of processing donations in BTC establishments may bring significant benefits. However, these new therapies can also put patients at risk, as current authorisation procedures for new BTC processes do not require evidence that risk is justified by benefits. Moreover, this lack of adequate procedures does not inspire trust and prevent healthcare actors from developing and adopting innovative processes. In addition, there are sometimes difficulties in defining the borderlines for novel BTC with other regulatory frameworks, in particular where medicinal products and medical devices are concerned.

#### 5. EU vulnerable to interruptions in supply of some BTC

For some essential BTC, the EU is highly dependent on imports to ensure sufficiency. In particular, the EU relies on the United States for an adequate supply of plasma used to manufacture plasma-derived medicines. In the

<sup>1</sup>Evaluation of the EU legislation on blood, tissues and cells

current legislation, sufficiency of supply through voluntary unpaid donation is encouraged, though without concrete measures to protect or increase supply. This approach has not proven adequate to protect EU patients from the risk of shortages or sudden supply disruption. The lack of EU and national monitoring provisions for the supply of BTC makes it difficult to predict EU supply interruptions and to take action to mitigate the risks to patients.

The COVID-19 pandemic highlighted the risks for supply interruptions, the need for adequate donor and recipient protection and for adequate authorisations of health innovation through blood transfusion. By providing a framework for such cooperation, based on a common set of rules, EU-level measures are best placed to address such issues effectively. Establishing rules at an EU level could bring significant efficiencies for Member States, avoiding the need for multiple exercises in risk, benefit and cost analysis.

### **Objectives of the revision of the EU legislation on blood, tissues and cells**

The overall objective of the revision is to ensure a high level of health protection for EU citizens. The EU legal framework should:

1. Ensure safety and quality for patients treated with BTC therapies, for donors and for children born from in vitro fertilization, and enforcement of safety and quality requirements.
2. Optimize access to, and avoid shortages of BTC therapies.
3. Ensure the framework is future-proof and facilitates the development of innovative BTC therapies.

### **Three policy options for the future legislation**

Three options are being assessed in an impact assessment to help decide on the best approach to the revision.

**Policy option 1:** Strengthened quality and safety requirements defined by blood and tissue establishments with strengthened national inspection, EU audits and classification advice

This option would strengthen safety of recipients, donors and offspring through a system of **self-regulation** by establishing general safety and quality principles at EU level, complemented by technical rules and specifications to be set and regularly updated by BTC establishments. Establishments would be required to base their own specific rules on documented risk assessment and scientific evidence, and to update them whenever the need arises.

Substantially strengthened oversight principles would be laid down in the legislation, addressing independence of inspectors, conflicts of interest, and competency requirements for staff in authorities. The Commission would perform controls in Member States, including audits of national systems of inspection, authorisation and vigilance. To improve access to and sufficiency of BTC, mandatory EU monitoring and notification of sufficiency data and measures for emergency supply responses would be introduced. To accommodate innovative BTC therapies, the scope of the BTC legislation would be clarified to include novel substances of human origin currently used but not regulated at the EU level. For major changes in the steps of collection, processing and use of BTC, competent authorities would have to grant prior authorisation based on data demonstrating safety and benefit for patients that justifies any risks associated with treatment with BTC prepared in innovative ways. An EU level mechanism would be set up to advise Member States on whether the BTC framework should be applied for particular novel BTC.

**Policy option 2:** EU-level safety and quality requirements defined by European Expert Bodies and strengthened national inspection, EU audits and classification advice

Safety of donors, recipients and offspring would be strengthened through a system of **co-regulation**. As under option 1, general safety and quality principles would be established at EU level, but with the obligation for establishments to take into account technical rules and specifications that would be defined and updated by authoritative bodies such as the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) and the Council of Europe's European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM).

The approach would be complemented by similar measures as under policy option 1 for strengthening oversight, including risk-based inspections by national authorities and EU level audits of national control systems. In addition a framework for joint compliance inspections (by two or more Member States), where appropriate, would be introduced. New measures relating to ensuring sufficiency and supporting innovation, once shown to be safe and beneficial for patients, would be as in Option 1.

**Policy option 3:** EU-level safety and quality requirements laid down in the BTC legislation with improved national inspections systems and classification advice

Safety of donors, recipients and offspring would be strengthened through general safety and quality principles established at EU level, as under options 1 and 2, but the EU BTC legislation would also define common binding technical rules and specifications for their implementation, along with a mechanism for regular updates to respond to changing risks and technologies under Comitology rules through a system of **central regulation**.

The approach would be complemented by similar oversight measures as in option 2 except that no controls system audits by the Commission would be proposed. New measures relating to ensuring sufficiency and supporting innovation, once shown to be safe and beneficial for patients, would be as in Options 1 and 2.

### Comparing the impact of the policy options

An impact assessment has been carried out to support the preparation of this initiative and to provide a robust evidence base for the contents of the legal proposal(s). The impact assessment process has drawn evidence from comprehensive stakeholder consultation and two external studies conducted by contractors. It quantifies, as far as possible, the costs and benefits of the changes described in the options presented above.

Stakeholder consultation included two online surveys open for 12 weeks – one addressed to the public and one targeted at organisations familiar with the legislation. The consultations closed on April 14 2021.

The Public Consultation gathered a total of 214 replies. The breakdown of the respondents by activities reflected the key role of BTC establishments in the sector, as well as the role of healthcare providers and academia. Member State competent authorities, ministries and other public administration bodies were also well represented. Non-governmental organisations representing donors and patients and ethics bodies also responded, as well as private industry. The majority of the responding organisations work both in the blood and the tissues & cells sector (126), while 19 indicated to be active exclusively in the blood sector and 22 exclusively in the tissues & cells sector.

Across all stakeholder categories, the majority of respondents indicated that expert bodies (such as ECDC or EDQM) would be their preferred option for setting technical rules to effectively achieve safety and quality for patient protection. However, it is noted that BTC establishments also frequently selected ‘professionals’ for this role, e.g. when asked about setting the rules on the technical characteristics of BTC that will be provided to patients (49 establishments selected expert bodies, while 45 selected professionals in their answers). It is also noted that, when asked about elements that relate to oversight, e.g. criteria/templates to report Serious Adverse Reactions and Events, many respondents believe these should partly be set in EU law. A full report of the public consultation is available on the European Commission Have Your Say web pages<sup>2</sup>.

A series of 14 stakeholder workshops and hearings were held to explore in greater depth the key topics under consideration for the revision. Summaries of the results are published on the DG Santé website<sup>3</sup>. The external studies have costed the various measures defined in the policy options and assessed their efficacy to achieve the objectives of the revision. The ICF study has also developed a series of borderline cases studies through literature research and expert interview and the Deloitte study is exploring the future digital needs for the EU BTC framework.

The final Impact Assessment report, together with the legal proposal for the revision, the results of the targeted consultation and the external study report and will be published late in 2021 or early in 2022. Once the legal proposal is adopted by the Commission, it will be debated in the European Parliament and Council until the final text is agreed and published in the Official Journal of the European Union.

<sup>2</sup> [https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/12734-Revision-of-the-Union-legislation-on-blood-tissues-and-cells/public-consultation\\_en](https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/12734-Revision-of-the-Union-legislation-on-blood-tissues-and-cells/public-consultation_en)

<sup>3</sup> [https://ec.europa.eu/health/blood\\_tissues\\_organs/policy/revision\\_en](https://ec.europa.eu/health/blood_tissues_organs/policy/revision_en)

## MESENCHYMAL STROMAL CELL THERAPY IN DAILY CLINICAL PRACTICE: EXPERIENCES FROM ST. CATHERINE SPECIALTY HOSPITAL

Primorac D.<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup>, Molnar V.<sup>1</sup>, Matišić V.<sup>1</sup>, Zenić L.<sup>8</sup>, Polančec D.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>St. Catherine Specialty Hospital, 49210 Zabok/10000 Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>Josip Juraj Strossmeyer University of Osijek, School of Medicine, 31000 Osijek, Croatia

<sup>3</sup>Josip Juraj Strossmeyer University of Osijek, School of Medicine, 31000 Osijek, Croatia

<sup>4</sup>University of Split, School of Medicine, 21000 Split, Croatia

<sup>5</sup>University of Rijeka, School of Medicine, 51000 Rijeka, Croatia

<sup>6</sup>Eberly College of Science, The Pennsylvania State University, PA, USA

<sup>7</sup>University of New Haven, CT, USA

<sup>8</sup>Childrens' hospital "Srebrnjak", 10000 Zagreb, Croatia

In recent years, due to the increasing use of Mesenchymal stromal cells (MSCs) in clinical practice around the world, research on MSCs has become increasingly extensive and relevant. Adult stem cells (MSCs) can be found in a variety of tissues throughout the body. In vitro, they can differentiate into a range of cell types, whereas in vivo, they secrete immunomodulatory and trophic signaling molecules that promote local regeneration by secretion of anti-apoptotic, anti-scarring, angiogenic and mitotic signaling molecules, and inhibit bacterial growth by secreting antimicrobial molecules (including LL-37, human  $\beta$ -defensin-2, hepcidin and lipocalin-2). These immunomodulatory and paracrine mechanisms are responsible for their clinical effect, putting them in the focus of regenerative medicine.

Osteoarthritis is a prevalent disorder that can compromise any of the body's joints. It occurs in all age groups, but the elderly is more likely to be affected. There is presently no treatment that can stop osteoarthritis from developing or progressing, and the gold standard end-stage treatment is still total joint replacement surgery, which comes with its own set of risks and complications. As a result, novel techniques for treating individuals who are not yet at the end-stage of osteoarthritis but are still experiencing the most frequent symptoms of pain and joint dysfunction are being investigated on a daily basis. MSC research paves the path for the development of new tools for osteoarthritis management, since their paracrine action improves clinical outcomes in osteoarthritis patients, giving a much-needed minimally invasive therapeutic option.

The main effects of MSC therapy on knee osteoarthritis (OA) is pain reduction and mobility improvement measured by visual analog scale (VAS), Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index (WOMAC) and Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), while the reported effect on the articular cartilage has not been constant, with studies reporting various end effects regarding both volume and structure, measured by MRI or second-look arthroscopies.

In St. Catherine Specialty Hospital, intraarticular autologous MSC application is a standard procedure performed on a daily basis. Three clinical studies were published by our group. In the first study, 20 patients with knee OA were followed up a year after the first application of microfragmented lipoaspirate. In 17 out of 20 patients a statistically significant clinical improvement was shown in WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index), KOOS (Knee Osteoarthritis Scoring System) and VAS (Visual Analogue Scale) questionnaires (Hudetz et al. Early results of intra-articular micro-fragmented lipoaspirate treatment in patients with late stages knee osteoarthritis: a prospective study. Croat Med J. 2019. 13;60(3):227–236. doi: 10.3325/cmj.2019.60.227.). In the second and third study, we analyzed the glycosaminoglycan (GAG) content of the knee cartilage at application and 3, 6, 12 and 24 months after application of microfragmented lipoaspirate using a dedicated MRI sequence dGEMRIC (Delayed Gadolinium-Enhanced Magnetic Resonance Imaging of Cartilage) in 17 patients (32 knees). The majority of patients included in this study demonstrated increased GAG levels in the cartilage post-treatment up to 24 months, which was in line with VAS scores in these patients. These results suggested that the results of this method are long-lasting (Hudetz et al. The Effect of Intra-articular Injection of Autologous Microfragmented Fat Tissue on Proteoglycan Synthesis in Patients with Knee Osteoarthritis. Genes (Basel). 2017. 13;8(10):270. doi: 10.3390/genes8100270; Borić et al. A 24-Month Follow-Up Study of the Effect of Intra-Articular Injection of Autologous Microfragmented Fat Tissue on Proteoglycan Synthesis in Patients with Knee Osteoarthritis. Genes (Basel). 2019. 17;10(12):1051. doi: 10.3390/genes10121051).

Immunophenotyping of microfragmented adipose tissue and lipoaspirate cell content was also performed. We found that microfragmented adipose tissue contains mostly endothelial progenitor cells ( $CD31^+CD34^+$ ), pericytes ( $CD31^-CD34^+CD146^+$ ), supraadventitious adipose stromal cells ( $CD31^-CD34^+CD146^-$ ) and to a lesser extent

mature endothelial cell ( $CD31^+CD34^-$ ). The exact mechanism by which this clinical and biochemical improvement is made is still vastly unknown and is a matter of our ongoing research (Polančec et al. Immunophenotyping of a Stromal Vascular Fraction from Microfragmented Lipoaspirate Used in Osteoarthritis Cartilage Treatment and Its Lipoaspirate Counterpart. *Genes* (Basel). 2019; 21;10(6):474. doi: 10.3390/genes10060474).

During the ongoing coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic a wide variety of therapeutic agents have been developed to combat COVID-19. The systemic use of MSCs is an emerging therapeutic strategy for the treatment of severely ill patients with COVID-19. The results of GvHD treatment, a systemic inflammatory condition, with regards to safety and efficiency encouraged clinicians to use MSCs also for other conditions with a number of studies being carried out across medical specialties, including chronic obstructive pulmonary disease (COPD), acute respiratory distress syndrome (ARDS), emphysema and other. With the growing number of inflammatory indications, where MSCs treatment was used, it became evident that systemic MSC treatment, being autologous or allogeneic, is safe in the reported literature. Patients with COVID-19 usually present with fever, body aches, breathlessness, malaise, dry cough, sore throat and gastrointestinal issues as non-specific symptoms. The Clinical condition of patients can deteriorate with pneumonia which is followed by either recovery or severe disease (ARDS, acute kidney injury (AKI) and multi-organ failure). When found in such a proinflammatory environment, MSCs react by secreting molecules that inhibit the overaggressive reaction of the immune system and establish a stable microenvironment for regenerative processes. After intravenous application, MSCs can largely be found in lungs after 24h which means they can modulate excessive immune response on-site. Later, they can be traced, as they migrate to other organs and tissues where they can be detected from 24 hours up to 14 days.

To date, several clinical trials and case report studies have been conducted to determine the safety and efficacy of MSC application in COVID-19 patients which our group reviewed in a recent paper (Primorac et al. Mesenchymal Stromal Cells: Potential option for COVID-19 treatment. *Pharmaceutics*. 2021 Sep 16;13(9):1481. doi: 10.3390/pharmaceutics13091481.). In light of the previous research which found systemic MSC therapy both safe and effective for the treatment of systemic inflammatory conditions we treated a 50-year-old critical patient with COVID-19 pneumonia and ARDS (Primorac et al. Compassionate mesenchymal stem cell treatment in a severe COVID-19 patient: a case report. *Croat Med J*. 2021 Jun 30;62(3):288–296. doi: 10.3325/cmj.2021.62.288.). This case was the first of a person treated with MSCs for severe COVID-19 in Croatia. Progressive clinical worsening was observed in the patient from admission, which eventually led to the need for mechanical ventilation. As part of his treatment, the patient received corticosteroids, immunoglobulins and convalescent plasma; all of which were indicated for their anti-inflammatory properties. Remdesivir was also used, but with little success. We used ImmunoART™ (developed by Educell Ltd., member of Medical Biobank Swiss Institute SA (MBSI)) allogenic, HLA-incompatible and non-related bone marrow-derived MSCs in a dose of  $10^6/\text{kg}$ , delivered intravenously on three occasions during his stay in the ICU. Upon application, a reduction in leukocyte count, D-dimer levels, CRP levels and ferritin were observed, all of which are prognostic factors for COVID-19 severity.

These encouraging results provide a solid ground for COVID-19 patients suffering from severe and critical disease courses, who currently do not have any specific treatment options available to them, other than supportive care. Further research is needed to introduce systemic MSC application to routine clinical practice, but the research progress made in treating COVID-19 will undoubtedly bring this therapeutic option to patients who suffer from immune, degenerative and potentially other medical conditions.



## Simpozij 1 – Dobrovoljno davalanstvo i uzimanje krvi

### DARIVANJE KRVI U DOBA KORONE ISKUSTVA HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU

TOPIĆ ŠESTAN P.<sup>1</sup>, Čegec V.<sup>1</sup>, Mušlin T.<sup>1</sup>, Repušić Babacanli M.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za davalanstvo krvi

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnateljstvo

**Uvod:** Dana 21. veljače 2020. godine nulti bolesnik od COVID-19 u RH pristupio je akciji darivanja krvi u „Ericssonu“ i odbijen je radi povratka iz Italije (17. veljače 2020. godine obavijest liječnicima na pregledu o odgodi darivatelja nakon povratka iz zemalja u kojima je potvrđen SARS-CoV-2 među kojima je i bila Italija). 26.veljače nadležni epidemiolog obavljačava HZTM o potrebi samoizolacije djelatnika koji su bili u kontaktu sa oboljelim te izdvajanja doza pune krvi bliskih kontakata oboljelog. Od toga dana dolazi do bitnih promjena u funkcioniiranju Odjela za davalanstvo krvi koje uključuju usklađivanje organizacije rada i akcija darivanja krvi sa epidemiološkim mjerama, brojne apele radi smanjenih zaliha krvi, smanjen odaziv darivatelja na akcije radi bolesti i samoizolacije, poteškoće u nabavi materijala za rad (dezifikaciji), izolacije i samoizolacije terenskih ekipa, otkazivanje planiranih akcija i prikupljanje konvalescentne plazme. Pandemija COVID-19 ima veliki utjecaj na sve segmente rada u Odjelu za davalanstvo krvi i u konačnici je rezultirala smanjenim zalihama krvnih pripravaka.

**Cilj:** Prikazati utjecaj pandemije COVID-19 na provedbu i ostvarenje planiranih akcija darivanja krvi, broj prikupljenih doza i stanje zaliha krvi u 2020. godini u usporedbi sa rezultatima iz predpandemijske 2019. godine te izazove s kojima smo se susreli u Odjelu za davalanstvo krvi.

**Metode:** Prikazani su podaci iz Godišnjeg izvješća Odjela za davalanstvo krvi za 2020. godinu te uspoređeni sa podacima iz predpandemijske 2019. godine.

**Rezultati:** U 2020. godini pet terenskih ekipa i dvije stacionirane u HZTM-u prikupile su 86 354 doze pune krvi što je za 11 869 doza manje nego 2019. godine, kada su prikupljene 98 223 doze pune krvi. Godišnji plan potreba za krvnim pripravcima iskazan od strane bolnica prema kojima HZTM ima obvezu opskrbe s krvnim pripravcima u 2020. godini nije zadovoljen, prikupljeno je 10 251 doza manje od iskazane potrebe, koja je iznosila 96 605 doza krvi. Za razliku od 2020. godine u 2019. godini prikupljeno je 488 doza više od zahtijevanog (97 775). U 2020. godini isporučeno je 88 865 koncentrata eritrocita što je za 7 704 manje nego u 2019. godini kada je isporučeno 96 569 koncentrata eritrocita. Na darivanje krvi pristupilo je 12163 darivatelja manje (u 2020. godini 106 741 darivatelj, u 2019. godini 118 904 darivatelja krvi). Udio odbijenih darivatelja je za 1,71% veći u 2020. godini kada je odbijeno 20 387 (19,10%) u usporedbi sa 2019. godinom kada je odbijeno 20 681 (17,39%) darivatelja krvi. U 2020. godini organizirane su 892 akcije, 40 manje nego u 2019. godini (organizirane 932 akcije). Od toga je 728 akcija bilo u organizaciji vanjskih Gradskih društava Crvenog križa, kod kojih radi organiziranja izvanrednih akcija bilježimo porast (2019. godine organizirano 725 akcija). Gradsko društvo Crvenog križa Zagreb organiziralo je 135 akcija, što je 29 akcija manje nego 2019. godine (organizirali 164 akcije). HZTM u 2020. godini također bilježi 14 akcija darivanja manje u vlastitoj organizaciji (TEZA). U 2020. godini organizirano je 29 akcija dok su 2019. organizirane 43 akcije. Za razliku od pune krvi u HZTM-u na 3 stanična separatora Haemonetics MCS+ i 3 Amicusa izvedeno je 87 trombafereza više u 2020. (3 298) u usporedbi sa 2019. (3 211). U 2020. godini započeli smo prikupljanje konvalescentne plazme i izvedeno je 39 procedura.

**Zaključak:** Unatoč značajno smanjenom broju prikupljenih doza krvi u 2020. godini, smanjenom odazivu darivatelja na akcije, otkazivanju velikog broja akcija darivanja krvi, nemogućnošću uključivanja maturanata u prvo darivanje krvi i brojnim drugim problemima s kojima smo se susreli brzom prilagodbom novonastaloj situaciji koja je uključivala svakodnevno praćenje epidemiološke situacije u zemlji i svijetu te organizaciju rada

prema epidemiološkim preporukama, davanje pravovremenih informacija liječnicima na terenu, kontakte sa epidemiologima radi procjene ugroženosti djelatnika izloženih oboljelima, organizaciju rada „fiksnih“ terenskih ekipa, povlačenje većih zaliha materijala potrebnih za rad, povećanje broja trombafera radi zadovoljenja potreba za koncentratima trombocita i uvođenje novog postupka prikupljanja konvalescentne plazme za liječenje COVID-19 bolesnika, uspjeli smo osigurati sigurne krvne pripravke.

U ovim izazovnim vremenima kada COVID-19 mijenja čitavi svijet, pa tako i davalanstvo krvi, još jednom je dokazana uloga darivatelja krvi kao bazičnog čimbenika transfuzijske medicine.

## POSTDONACIJSKE INFORMACIJE

VUKT.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Služba upravljanja kvalitetom u transfuzijskoj medicini

### Uvod

Zbog cijelog niza svojih karakteristika, transfuzijska medicina zauzima posebno mjesto u području medicinske znanosti. Iz ovakvog položaja proizlazi i posebna skrb društvene zajednice ali i odgovornost transfuzijske službe za osiguranjem dostupnog, kvalitetnog i sigurnog transfuzijskog liječenja.<sup>1</sup>

Povijest transfuzijske medicine obilježena je stalnim tehnološkim napretkom i inovacijama. Primjena visoko osjetljivih testova u probiru davatelja, leukofiltracija krvnih pripravaka, postupci redukcije patogena i sustav hemovigilancije među najistaknutijim su mjerama koje su doprinijele značajnom smanjenju učestalosti brojnih rizika i unapređenju sigurnosti transfuzijskog liječenja.<sup>2</sup>

Postupak odabira davatelja koji obuhvaća predonacijsko informiranje, prikupljanje podataka upitnikom i razgovorom te procjenu zdravstvenog stanja pregledom ostaje međutim jedan od ključnih faktora sigurnosti, kako krvnih pripravaka za transfuzijsko liječenje tako i davatelja. Nažalost, postupak odabira nije potpuno učinkovit u dobivanju svih relevantnih informacija koje bi rezultirale pravovremenim odbijanjem davatelja. Neke informacije ostaju neotkrivene ili se za njih dozna tek naknadno, često na slijedećoj donaciji ili nakon više njih. Učestalost neotkrivenih informacija o davateljima koja bi rezultirala njihovim odbijanjem procjenjivana je anonimnim upitnicima u nekoliko studija. Kanadsko istraživanje provedeno na 40 000 davatelja koji su zamoljeni da ispune anonimni upitnik nekoliko tjedana nakon donacije, pokazalo je da je neotkriveni rizik možda bio prisutan u 4,3% davatelja koji prvi puta daruju krv i u 3,4% višestrukih davatelja.<sup>3</sup>

Postdonacijske informacije (PDI) su, unatoč njihove redovite i učestale pojave, rijetka tema stručnih skupova i publikacija. Objavljene studije dolaze prije svega iz SAD i Kanade. Europske studije su rijetke i uglavnom ih objavljaju francuski autori. To je posljedica činjenice da je Francuska kolijevka hemovigilancije i ima veliko iskušto u promicanju sigurnosti transfuzijskog liječenja. Praćenje učestalosti, vrste i uzroka postdonacijskih informacija iznimno je važno za donošenje mjera koje će unaprijediti učinkovitost postupka odabira davatelja.

### Definicija i učestalost PDI

PDI se može definirati kao bilo koja informacija dobivena od davatelja nakon donacije, a koja bi, da je bila poznata transfuzijskoj ustanovi tijekom procesa odabira, rezultirala odbijanjem davatelja.<sup>2</sup> U situacijama kada je ovakva informacija dobivena od neke druge osobe, pouzdanost iste treba biti pažljivo procijenjena. Neke definicije mogu se u određenoj mjeri razlikovati od navedene, što prije svega ovisi o tome da li je u vrijeme donacije rizik bio poznat davatelju ili ne. Neki autori definiciju PDI ograničavaju na informacije koje su u vrijeme postupka odabira bile poznate davatelju, ali zbog različitih razloga nisu otkrivene. Razumljiv je interes stručnjaka upravo za ovaj tip PDI, jer je identifikacijom i uklanjanjem uzroka istih moguće unaprijediti postupak odabira davatelja. Međutim, termin „postdonacijska informacija“ odnosi se i na bolesti i stanja čiji simptomi nastaju tek nakon davanja krvi, najčešće unutar nekoliko sati ili dana. Uglavnom se radi o simptomima zarazne bolesti, a informiranje transfuzijske ustanove o razvoju ovakvih simptoma predstavlja odgovorno ponašanje davatelja, sukladno uputama koje im ustanove koje prikupljaju krv pružaju.

Podaci o učestalosti PDI su rijetki, a njihovu usporedbu dodatno otežavaju i različite definicije. Prema izvješćima FDA, PDI su najčešće prijavljivano odstupanje bioloških proizvoda (eng. blood product deviation – BPD). U 2017. godini je 74,6% svih BPD bilo vezano uz prikladnost davatelja za davanje krvi, a gotovo u cijelosti

(97,1%) posljedica PDI.<sup>4</sup> Prema rezultatima objavljenih studija iz Kanade i USA<sup>5</sup>, Hrvatske<sup>6</sup> i Francuske<sup>7</sup>, učestalost PDI kretala se od 0,11% do 0,44% donacija.

### Karakteristike davatelja povezanih s PDI

Prema literaturnim podacima, PDI su učestalije kod muških davatelja, koji su stariji i višeg stupnja obrazovanja od propisno odbijenih davatelja.<sup>8</sup> Oni su predominantno višestruki davatelji, a jedno od mogućih objašnjenja je kako višestruki davatelji vjeruju da znaju sva pitanja i odgovarajuće odgovore, zbog čega površno čitaju upitnik. Prema Glynnu, davanje krvi motivirano testiranjem i povjerljivo isključivanje donacije (eng. „*confidential unit exclusion*“) rjeđi su kod davatelja u programu afereza u odnosu na višestruke davatelje pune krvi.<sup>9</sup> Obiteljski davatelji često nisu adekvatno informirani o stanjima koja ih čine neprikladnim za davanje krvi.<sup>10</sup>

### Klasifikacija PDI

PDI mogu biti klasificirane prema vremenu njihove detekcije. Vuk i suradnici pri tome razlikuju rane i kasne PDI, pri čemu u kategoriju ranih PDI uključuju informacije zaprimljene nakon donacije, ali prije slijedeće donacije.<sup>6</sup> Uglavnom se ove informacije zaprimaju u kratkom vremenu nakon donacije i odnose se na razvoj simptoma zarazne bolesti. U ovu kategoriju Vuk i suradnici ubrajaju i informacije dobivene tijekom donacije, u razgovoru s djelatnicima na uzimanju krvi. Kasne PDI otkrivaju se na slijedećoj donaciji ili nakon više njih i odraz su nesavršenosti postupka odabira. Prema rezultatima studije provedene u RH, 76,4% PDI identificirano je prilikom slijedećih donacija.<sup>6</sup> Za razliku od ranih PDI, većina pripravaka vezanih uz kasne PDI više nije dostupna na skladištu transfuzijske ustanove.

Velika većina PDI može se prema svojem tipu klasificirati u slijedeće kategorije: zarazne bolesti ili kontakt sa zaraženim osobama, povijest putovanja, kirurški zahvati, endoskopija/invazivni dijagnostički postupci, seksualni rizici, nesesualni rizici zaraze (tetovaža, piercing...), drugi medicinski razlozi (lijekovi, cjepiva, itd.). Tri najčešća tipa PDI u hrvatskoj studiji bili su nesesualni rizici kao što su tetoviranje i piercing (17,5%), kirurški zahvati (17,1%) i povijest putovanja (16,1%).<sup>6</sup>

Prema neobjavljenim podacima HZTM, PDI povezane s pandemijom COVID-19 postale su vodeće, uz smanjenje učestalosti drugih tipova PDI (posljedica edukacije, ali i smanjenja putovanja i drugih faktora povezanih s pandemijom COVID-19). Na učestalost PDI utječu i neki društveni trendovi, poput učestalijeg tetoviranja kod mlađe populacije.

### Uzroci PDI i mjere za smanjenje učestalosti neotkrivenih rizika

PDI mogu nastati kao posljedica čimbenika povezanih s davateljima, osobljem i organizacijom te edukacijskim materijalima i upitnikom. Neki uzročni čimbenici međusobno su ovisni i isprepleteni, što otežava procjenu utjecaja svakog od njih zasebno. Važan izvor informacija o uzrocima neotkrivanja različitih informacija tijekom postupka odabira su ankete među davateljima s povijesti PDI, anonimne ankete među davateljima te postdonacijsko savjetovanje davatelja pozitivnih na biljege krvlju prenosivih bolesti. U nastavku su navedeni vodeći uzroci pojave PDI te mjere kojima se njihova učestalost može smanjiti. Detaljniji pregled ovih uzroka i preventivnih mjera dostupan je u nedavno objavljenoj studiji.<sup>2</sup>

Čimbenici koji se odnose na davatelje uključuju: površno čitanje informativnih materijala i upitnika, manje pažnje posvećeno pitanjima koja se pojavljuju kasnije u upitniku, otežano prisjećanje datuma putovanja i drugih aktivnosti, pogrešno tumačenje ili nerazumijevanje pitanja, nerazumijevanje opasnosti, neispravna procjena razine vlastitih rizika, nelagoda u iznošenju informacija povezanih s pojedinim rizicima, želja za testiranjem, stav da se „sva krv ionako testira“ a testovi smatraju apsolutno pouzdanima, slobodni dani kao motivacija za davanje krvi, izrazita želja za davanjem krvi, izostanak uočavanja promjena u kriterijima odabira, i sl. Navedeni uzroci sugeriraju važnost trajnog ulaganja u edukaciju davatelja.

Od čimbenika vezanih uz edukacijske materijale treba izdvajati: suviše opsežne materijale s puno informacija, nisku motiviranost za čitanje materijala (osobito kod višestrukih davatelja), previd/pogrešno shvaćanje edukacijskih materijala i sl. Edukacijski materijali pomoći su davateljima u razumijevanju upitnika, ali i ostalih aspekata vezanih uz davanje krvi i zakonska su obveza u mnogim zemljama. Važno je da ovi materijali budu razumljivi, informativni i zanimljivi davateljima različitih dobnih skupina i razina obrazovanja. Ne smiju biti suviše dugački, a poželjno je i uključivanje slika. Važno je da ovi materijali sadrže informaciju kako testovi koji se koriste u ispitivanju biljega krvlju prenosivih bolesti ne mogu otkriti uzročnike u ranoj fazi infekcije te da naglase rizike infekcija čiji se uzročnici rutinski ne testiraju. Edukacijski materijali trebali bi biti validirani prije primjene.

Čimbenici primarno vezani uz upitnik uključuju: osjetljivu prirodu pojedinih pitanja, neodgovarajuću strukturu upitnika ili formulaciju pitanja, neadekvatno definirane pojmove, više pitanja unutar jednog pitanja, dugačka pitanja, pitanja temeljena na vremenu događaja/postupaka/aktivnosti koja nisu u kronološkom slijedu, način primjene upitnika i sl. Sve stroži zahtjevi pri odabiru davatelja rezultirali su povećanjem broja pitanja, što može imati negativan utjecaj na pažnju i motivaciju davatelja, osobito višestrukih. Sukladno tome, slijedeće mjere mogu pomoći u smanjenju PDI uzrokovanih ovim čimbenicima: razumljiva, jednostavna i izravna pitanja, grupiranje/smanjenje broja sličnih pitanja, primjena individualiziranih upitnika (prema spolu, dobi, vrsti i učestalosti donacija, različiti upitnici za nove i višestruke davatelje), pitanja složena logičkim slijedom, važnija pitanja postavljena ranije, jedna stavka po pitanju, prikladna duljina upitnika, samostalno ispunjavanje upitnika i primjena audio-kompjuterski asistiranog intervjua (ACASI).

Prilikom izrade upitnika treba uzeti u obzir načela kognitivne psihologije, kako bi se povećala pouzdanost dobivenih odgovora. Jednako tako, važna je i validacija upitnika prije rutinske primjene.

Neki uzroci mogu se pripisati osoblju i organizacijskim pitanjima, kao što su npr. pitanje privatnosti tijekom razgovora i povjerljivost podataka, kompetencije i edukacija osoblja, okruženje na mjestu davanja krvi i sl. Mjere kojima se smanjuje rizik PDI u ovom području uključuju: osiguravanje privatnosti tijekom intervjuja i povjerljivosti informacija, kontinuirano praćenje PDI i analiza podataka radi unapređenja prakse, izradu smjernica za upravljanje PDI, početnu i trajnu edukaciju i ospozobljavanje osoblja odgovornog za odabir davatelja te osiguranje alternativnih mesta testiranja u slučaju sumnje na rizik.

## Upravljanje PDI

Učinkovito upravljanje PDI zahtjeva blisku suradnju različitih dionika uključenih u ovaj proces i uspostavu pisanih postupaka koji opisuju slijed aktivnosti i definiraju odgovornosti za njihovu provedbu. Nakon zaprimanja PDI, potrebno je prikupiti što je moguće više relevantnih informacija kako bi se pomoglo u procjeni rizika i donošenju odluka o dalnjim aktivnostima i njihovom opsegu. Utvrditi treba na koje se donacije (jednu ili više njih) odnosi PDI, te procijeniti potencijalne rizike za kvalitetu i sigurnost pripravaka iz zahvaćenih donacija, odnosno za sigurnost davatelja. Ovisno o vrsti PDI, mogu se analizirati parametri kao što su: vrijeme proteklo od potencijalnog rizika i donacije, osjetljivost korištenih testova, mogućnost izvođenja dodatnih testova, mogućnost dobivanja medicinske dokumentacije od davatelja krvi, vrsta krvnog pripravka (klinička upotreba ili frakcioniranje), karakteristike krvnih pripravaka proizvedenih iz zahvaćenih donacija i njihov utjecaj na određeni patogen (redukcija patogena, vrijeme skladištenja..), itd.

Akcijski plan uključuje donošenje odluke o karanteni dostupnih krvnih pripravaka, povlačenje izdanih krvnih pripravaka, moguće dodatno testiranje uzoraka davatelja itd. Treba napomenuti da odluke uvijek trebaju biti u skladu sa zakonskim zahtjevima u određenoj zemlji. Novija studija o povlačenju krvnih pripravaka u SAD, temeljena na izvješćima FDA za razdoblje 2013–2017, pokazala je kako je 60% od 4700 postupaka povlačenja bilo povezano s odstupanjima vezanim uz davatelje.<sup>11</sup> Vodeći uzrok povlačenja u ovoj kategoriji bile su PDI.

Važna je i kvalitetna suradnja s bolničkim transfuzijskim ustanovama i kliničarima u slučaju povlačenja pripravaka i kada je indiciran look-back postupak. Ugovor s centrom za frakcioniranje mora definirati način i kriterije obavješćivanja o PDI.

Nakon što su provedene sve hitne aktivnosti, ustanova koja prikuplja krv mora utvrditi da li je PDI rezultat greške u procesu odabira davatelja. Ako se utvrde propusti, potrebno je poduzeti odgovarajuće korektivne radnje. Također je važno procijeniti prikladnost davatelja povezanog s PDI za daljnje donacije te sukladno tome provesti savjetovanje davatelja. Sve aktivnosti treba dokumentirati i povremeno evaluirati kako bi se identificirale prilike za poboljšanje.

## Upravljanje PDI u Europi

PDI se spominju u Direktivi 2004/33/EC (Prilog II, dio A – Podaci koje treba dostaviti potencijalnim davateljima krvi ili krvnih sastojaka), te u Smjernicama dobre prakse (6.1.12), koje su sastavni dio EDQM Vodiča za krv Vijeća Europe.<sup>12,13</sup> Više pojedinosti o upravljanju PDI nalazi se u EDQM Vodiču (Poglavlje 2). U svom 20. izdanju više je pažnje posvećeno PDI u odnosu na prethodna izdanja, a planiraju se daljnja poboljšanja.<sup>13</sup>

Unapređenje sigurnosti transfuzijskog liječenja temeljeno na edukaciji, odabiru i savjetovanju davatelja također je podržano s dvije rezolucije Vijeća Europe. Rezolucija CM/Res (2008)/5 o odgovornosti davatelja i ograničenjima davanja krvi i krvnih sastojaka naglašava važnost pružanja jasnih i odgovarajućih informacija budućim

davateljima, uključujući potrebu prijavljivanja PDI ako postoji sumnja u njihovu prikladnost ili u slučaju da se zdravstveno stanje davatelja promjenilo nakon donacije, kao i o posljedicama nepružanja svih relevantnih podataka tijekom postupka odabira.<sup>14</sup> Rezolucija CM/Res (2013) 3 o seksualnom ponašanju davatelja krvи koja ima utjecaj na sigurnost transfuzije promiče prikupljanje podataka o rizičnom spolnom ponašanju kroz standardizirani postdonacijski intervju s davateljima za koje je potvrđeno da su pozitivni na HIV, HBV, HCV i sifilis.<sup>15</sup>

### PDI i emergentne infekcije

Kontinuirano praćenje i nadzor emergentnih infekcija važni su za pravovremenu reakciju transfuzijskih službi u zaštiti sigurnosti i dostupnosti krvnih pripravka za transfuzijsko liječenje. U prilog tome govori i najnovija pandemija SARS-CoV-2. Iako su prijašnja iskustva s respiratornim virusima pokazala da je transfuzijski prijenos samo teoretski rizik, sustav hemovigilancije odgovoran je aktivirati svoje mehanizme u procjeni rizika svake nove infekcije. Pri tome je osim ispitivanja sumnji na transfuzijski prijenos važno i adekvatno upravljati PDI.

### Zaključak

PDI su odraz nedostataka, ograničenja i složenosti trenutnog procesa odabira davatelja. Upravljanje PDI važan je segment sustava hemovigilancije i zahtjeva blisku suradnju između banaka krvи, bolničkih transfuzijskih jedinica i kliničara. Veliku pažnju treba pridavati prevenciji, osobito edukaciji davatelja o važnosti pravovremenog pružanja svih relevantnih informacija o njihovom zdravlju i faktorima koji mogu utjecati na sigurnost darovane krvи.

### LITERATURA

1. Vuk T. When things go badly – managing quality problems and complaints in transfusion medicine. ISBT Science Series 2019;14: 84–89.
2. Vuk T, Garraud O, Politis C. Post-donation information management. Transfus Clin Biol 2021; <https://doi.org/10.1016/j.traci.2021.08.006>
3. Goldman M, Yi QL, Ye X, Tessier L, O'Brien SF. Donor understanding and attitudes about current and potential deferral criteria for high-risk sexual behavior. Transfusion 2011;51:1829–1834.
4. Food and Drug Administration (FDA). Biological product and HCT/P deviation reports—annual summary for fiscal year 2017. Available at: <https://www.fda.gov/media/114257/download>. Accessed: June 17, 2021.
5. Eder AF, Goldman M. Postdonation information and blood component retrievals: realigning blood center and hospital actions based on risk assessment. Transfus Med Rev 2014;28:226–234.
6. Vuk T, Ljubićić J, Gulan Harcer J, Očić T, Jukić I. Post-donation information management – contribution to the safety of transfusion treatment. Transfus Clin Biol 2019;26:353–354.
7. Hervé I, Simonet M, Rebibo D, Leconte des Floris MF, Taouqi-Le Cann M, Jbilou S i sur. La gestion des informations post-don:un élément fondamental de la sécurité transfusionnelle. Transfus Clin Biol 2010;17:296–300.
8. Wilkinson SL, Steele WR, Wright DJ, NHLBI Retrovirus Epidemiology Donor Study-II. Characteristics of post donation information donors and comparison with appropriately deferred donors. Transfusion 2011;51:1503–1510.
9. Glynn SA, Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Williams AE, Nass CC i sur. Demographic characteristics, unreported risk behaviors, and the prevalence and incidence of viral infections; a comparison of apheresis and whole blood donors. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. Transfusion 1998;38:350–358.
10. World Health Organization & International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies. (2010). Towards 100% voluntary blood donation: a global framework for action. World Health Organization. ISBN 9789241599696.
11. Alqemlas I, Shankar S, Handagama W, Felse PA. A cross-sectional study of prevalence, distribution, cause, and impact of blood product recalls in the United States. Blood Adv 2020;4:1780–1791.
12. Commission Directive 2004/33/EC of 22 March 2004 implementing Directive 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for blood and blood components. OJ, L91, 30/3/2004, p29.
13. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care of the Council of Europe): Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 20th edn. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM), 2020.
14. Resolution CM/Res (2008)5 on donor responsibility and on limitation to donation of blood and blood components. Dostupno na: [https://ekea.gr/wp-content/uploads/Resolution\\_CMRes20085\\_on\\_donor\\_responsibility\\_and\\_on\\_limitation\\_to\\_donation\\_of\\_blood\\_and\\_blood\\_components.pdf](https://ekea.gr/wp-content/uploads/Resolution_CMRes20085_on_donor_responsibility_and_on_limitation_to_donation_of_blood_and_blood_components.pdf). Pristupljeno: 19. travanj, 2021.
15. Resolution CM/Res (2013)3 on sexual behaviours of blood donors that have an impact on transfusion safety. Adopted by the Committee of Ministers on 27 March 2013 at the 1166th meeting of the Ministers' Deputies, 2013. Dostupno na: [https://www.edqm.eu/sites/default/files/medias/fichiers/resolution\\_cmres20133\\_on\\_sexual\\_behaviours\\_of\\_blood\\_donors\\_that\\_have\\_an\\_impact\\_on\\_transfusion\\_safety.pdf](https://www.edqm.eu/sites/default/files/medias/fichiers/resolution_cmres20133_on_sexual_behaviours_of_blood_donors_that_have_an_impact_on_transfusion_safety.pdf). Pristupljeno: 19. travanj, 2021.

## DARIVANJE KRVI TIJEKOM PANDEMIJE SARS-COV-2 I POTRESA U HRVATSKOJ

CRNJAK I.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>4</sup>, Hećimović A.<sup>3</sup>, Vuk T.<sup>2</sup>, Topić Šestan P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za davalštvo krvi

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Služba upravljanja kvalitetom u transfuzijskoj medicini

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za pripravu testnih reagencija

<sup>4</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnateljstvo

**Uvod:** Pandemija SARS-CoV-2 rezultirala je smanjenjem zaliha krvnih pripravaka u cijelom svijetu, pa i u Hrvatskoj. Na smanjenje broja darivatelja utjecali su brojni čimbenici (povećani broj oboljelih, samoizolacija, nemogućnost organiziranja akcija u pojedinim ustanovama, varijabilna potrošnja u bolnicama koja je ovisila o epidemiološkoj situaciji,...).

Od samog početka pandemije Hrvatska je suočena i sa brojnim potresima. Jedan od jačih pogodio je Zagreb krajem ožujka, a 29. prosinca potres jačine 6,2 stupnja s epicentrom u Petrinji uzrokova je, osim rušenja kuća, na žalost i ozljede i smrti stanovnika. Od toga trenutka brojni ljudi pristižu na darivanje krvi u HZTM, a tijekom narednih dana svjedočimo nezapamćenom odazivu darivatelja na svim akcijama u cijeloj RH.

**Cilj:** Cilj ovog rada je prikazati utjecaj pandemije i potresa na broj prikupljenih doza krvi u prosincu 2020. u odnosu na isto razdoblje predpandemijske godine, te usporediti darivatelje glede spola, broja darivanja i odgode/odbijanja tijekom navedenih vremenskih razdoblja.

**Metode:** Svi rezultati dobiveni su statističkom analizom podataka iz informatičkog sustava e-Delphyn. Broju doza prikupljenih u HZTM-u pribrojene su i doze prikupljene na terenskim akcijama. U statističkoj analizi rezultata korišten je test razlike proporcije.

**Rezultati:** U prosincu 2020. godine prikupljeno je 8279 doza krvi, što je unatoč nepovoljnoj epidemiološkoj situaciji, za 4,6% više od 7912 doza prikupljenih u prosincu 2019. ( $P<0,0001$ ). Potres je utjecao i na promjenu omjera zastupljenosti spolova među darivateljima krvi. Prosječna zastupljenost žena je oko 16%. Tijekom prosinca 2019. godine od ukupnog broja prikupljenih doza, njih 1329 (16.8%) darovale su žene, dok je tijekom prosinca 2020. ukupan udio žena bio 18.7% ( $P=0,0016$ ). Izdvojeno gledajući sam dan 30. prosinca 2020. taj postotak bio 31,9% veći nego istoga dana godinu ranije. Tijekom pandemijskog prosinca i potresa evidentiran je i statistički značajan porast odbijenih darivatelja ( $P<0,0001$ ) što je najvjerojatnije rezultat vrhunca epidemije, velikog broja novih davatelja te većeg broja žena, kao i značajna razlika u povećanju udjela osoba koje su prvi put darivale krv.

**Zaključak:** Iz prikazanih rezultata uočljivo je kako je u prosincu 2020. godine, unatoč nepovoljnoj epidemiološkoj situaciji, prikupljeno više doza krvi nego u istom razdoblje prethodne godine, posebno u posljednja 3 dana nakon potresa. Statistički značajan je porast udjela žena i novih darivatelja, te povećan broj odbijenih darivatelja. Sve to može se pripisati snažnoj motivaciji i solidarnosti građana koji su se uputili na brojne lokacije kako bi nakon razornog potresa u Petrinji osigurali dovoljne zalihe krvnih pripravaka.

## PRIKUPLJANJE KONVALESCENTNE PLAZME

MUŠLIN T.<sup>1</sup>, Hećimović A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za davalštvo krvi

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za pripravu testnih reagencija

**Cilj:** Prikupiti dovoljne količine konvalescentne COVID-19 plazme za izravnu kliničku primjenu u indiciranim slučajevima ili za proizvodnju derivata plazme (specifični immunoglobulin – CoV Ig).

**Metode:** Prikupljanje konvalescentne COVID-19 plazme postupkom afereze i/ili iz donacija pune krvi.

1. Animiranje dobrovoljnih darivatelja krvi

Početkom ljeta 2020. godine Odjel za prikupljanje krvi i promidžbu davalštva je putem medija, web stranice HZTM-a, letka distribuiranog po bolnicama, izravnog upita tijekom darivanja pune krvi osobama koje su preboljele COVID-19 infekciju, započeo animiranje redovitih i potencijalnih darivatelja za darivanje konvalescentne plazme.

## 2. Odabir darivatelja

Darivatelji konvalescentne COVID-19 plazme moraju zadovoljiti kriterije kao i redoviti darivatelji krvi i krvnih sastojaka na staničnom separatoru, uz zadovoljenje nekih dodatnih kriterija:

- dijagnoza COVID-19 infekcije potvrđena pozitivnim RT-PCR testom, SARS-CoV-2 antigenskim testom ili testom na SARS-CoV-2 protutijela
- 28 dana od prestanka simptoma COVID-19 infekcije
- asimptomatski sa laboratorijski dokazanom SARS-CoV-2 infekcijom-28 dana od uzimanja uzorka
- osobe sa tipičnim simptomima SARS-CoV-2 infekcije, ali nepotvrđene niti jednim testom mogu darivati ovisno o anamnističkim i epidemiološkim podacima
- cijepljene osobe koje su preboljele COVID-19 mogu darivati konvalescentnu plazmu (osobe koje su samo cijepljene ne).

Nakon inicijalnog liječničkog pregleda, kandidati za darivanje konvalescentne plazme postupkom afereze, daju uzorke krvi za KKS, jetrene probe (ALT, AST, ukupni proteini), te prema indikaciji uzorke za ALA/ATA (prethodne transfuzije/trudnoće/pobačaji), uzorke za testiranje na biljege krvlju prenosivih bolesti. Svim darivateljima koji nemaju krvnu grupu upisanu u e-Delphynu uzima se uzorak za imunohematološko testiranje. Tijekom same procedure uzima se uzorak za neutralizacijski test određivanje titra specifičnih protutijela na SARS-CoV-2 koji se provodi u Centru za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji Sveučilišta u Zagrebu, uz paralelni test određivanja C19 anti IgG u Odjelu za krvlju prenosive bolesti u HZTM.

Postupkom afereze kod darivatelja koji prvi puta daruju krv uzima se 220 ml plazme (1 doza), a kod višestrukih 450 ml plazme (2 doze) na aparatu Amicus, odnosno 400 ml ako se radilo na Haemonetics separatoru. Kod višestrukih darivatelja kojima je razina trombocita veća od 220 uz pripravak konvalescentne plazme moguće je bilo uzeti i koncentrat trombocita. Prva procedura izvedena 28. srpnja 2020.

Zbog povećane potražnje za konvalescentnom plazmom u travnju 2021. započeli smo sa odvajanjem plazme iz pune krvi kod muških darivatelja koji nisu primili transfuzije krvi tijekom života, a preboljeli su COVID-19 infekciju u protekla 4 mjeseca ili duže, ukoliko su cijepljeni.

**Rezultati:** Od 28. srpnja 2020. do 01. rujna 2021. godine provedena je 231 procedura prikupljanja konvalescentne plazme postupkom trombaferze i prikupljeno je 80.635 ml plazme, te 589 doza konvalescentne plazme iz pune krvi ili 150.870ml plazme.

**Zaključak:** Pravovremena uspostava metodologije, koja je uključivala promidžbu, edukaciju darivatelja, proces prikupljanja i skladištenja te uspostavu testiranja za procjenu neutralizacijskog kapaciteta pojedinih doza, omogućila je zadovoljavanje zahtjeva kliničara. U pravilu se plazma izdavala za bolesnike osljenjenog humorarnog imuniteta.

Kako je, na žalost, u tijeku četvrti val pandemije, uspostavljena metodologija omogućiti će nam vrlo brz odgovor na nove izazove.

## NAŠA ISKUSTVA U PRIKUPLJANJU KONVALESCENTNE PLAZME OD DOBROVOLJNIH DARIVATELJA KRVI

HADROVIĆ-PAVIŠIĆ Ž.<sup>1</sup>, Zubović Velepić S.<sup>1</sup>, Šerer Vičević M.<sup>1</sup>, Lukežić N.<sup>1</sup>, Buljević-Carević J.<sup>1</sup>, Balen S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Rijeka

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Pojam konvalescentne plazme poznat je kroz povijest u liječenju bolesnika s akutnim infekcijama. Na razini Europske Unije od lipnja 2020. godine prikuplja se COVID 19 konvalescentna plazma (CCP) za potrebe liječenja oboljelih od COVID 19 infekcije uključivši i našu Ustanovu. U periodu od 07.04.2021. do 02.06.2021. u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Rijeka (KZTM) prikupljeno je ukupno 196 doza sveže plazme od 193 muških dobrovoljnih darivatelja krvi (DK) te proizvedeno 153 doze CCP.

**Cilj:** Cilj naše retrospektivne analize je utvrditi povezanost između visine zadovoljavajućeg titra Sars-2 Cov IgG protutijela u odnosu na: težinu kliničke slike COVID 19 infekcije DK, dobi DK i vremenskog odmaka od preboljenja COVID 19 infekcije do uzimanja plazme.

**Metode i materijali:** Utvrđivanje titra Sars-2 Cov IgG protutijela analizirano je kvantitativnom metodom (na uređaju VIDAS) u Kliničkom zavodu za kliničku mikrobioligiju KBC Rijeka. Titar veći od 1.000 NT ED<sub>50</sub>/ml (cut off 1.000–1.300 NT ED<sub>50</sub>/ml) proglašen je zadovoljavajućim titrom neutralizacijskih protutijela Sars-2 Cov IgG, te su plazme s titrom većim od 1.000 NT ED<sub>50</sub>/ml proglašene konvalescentnom plazmom (CCP).

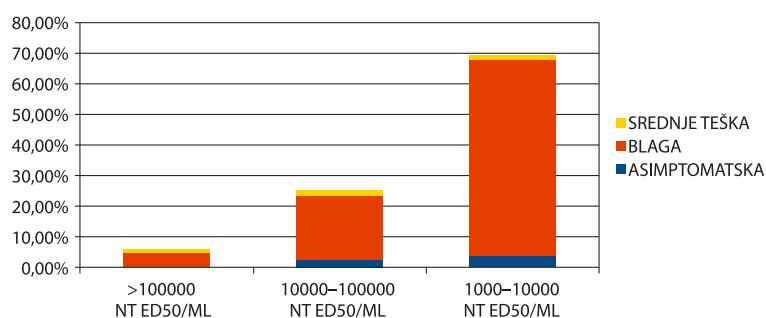
Kriterij odabira DK za uzimanje CCP bili su: muški spol i preboljenje COVID 19 infekcije više od mjesec dana. Podatke smo prikupili iz Registra davatelja krvi CCP KBC Rijeka, KZTM-a, u Jedinici prikupljanja krvi (JPK) koji sadrži potpisane pristanke DK za davanje plazme, obrasce o datumu pozitivnog testa na SARS-CoV-2, težini kliničke slike, uključivši podatke o cjepljenju protiv COVID 19 infekcije. U navedenom periodu prikupljeno je 196 doza plazme od 193 DK, od kojih je 190 doza (96%) proizvedeno iz pune krvi (PUK), a 6 doza (4%) proizvedeno postupkom plazmafereze. Od ukupno 196 doza plazme, 43 doze (22%) imale su titar Sars-2 Cov IgG protutijela manji od 1.000 NT ED<sub>50</sub>/ml te su proglašene plazmom za frakcije, dok su 153 doze (78%) s titrom većim od 1.000 NT<sub>50</sub>/ml proglašene CCP te su adekvatno skladištene i odvojene za kliničku uporabu. Prema vrijednosti visine titra neutralizacijskih protutijela Sars-2 Cov IgG podijelili smo na: nizak (1.000–10.000 NT ED<sub>50</sub>/ml), srednje visok (10.000–100.000 NT ED<sub>50</sub>/ml) i visok titar (više od 100.000 NT ED<sub>50</sub>/ml).

Prema stručnim smjernicama podjela kliničke slike COVID 19 infekcije dijeli se u 4 kategorije: asimptomatska, blaga, srednje teška i težak oblik bolesti. Uvidom u anamnističke podatke DK iz Registra DK težina kliničke slike obuhvaćala je sve oblike bolesti osim težeg oblika.

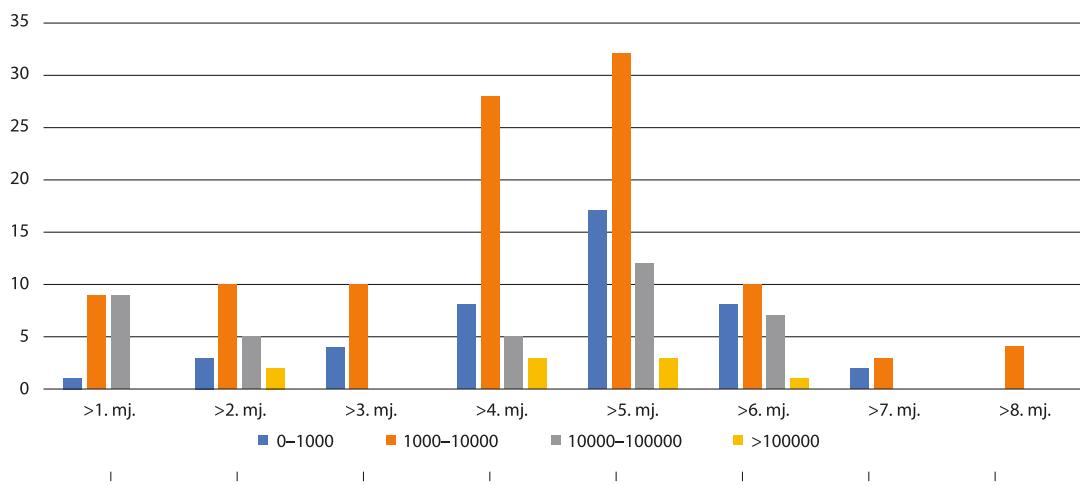
Dob DK podijelili smo u dvije skupine:

1. od 18–40 godina (mlađa dobna skupina),
2. od 40–65 godina (srednja životna dob).

#### Rezultati:



SLIKA 1. ODNOS VISINE TITRA NAUTRALIZACIJSKIH PROTUTIJELA SARS 2-Cov I KLINIČKE SLINE COVID 19 INFEKCIJE



SLIKA 2. ODNOS TITRA SARS CoV IgG U DK I ODMAKA OD PREBOLJENJA BOLESTI

**Zaključak:** U ispitivanoj populaciji DK najzastupljanija klinička slika preboljenja COVID 19 infekcije je blagi oblik (63,39%) s najčešćim titrom od 1.000–10.000 NT ED<sub>50</sub>/ml (Slika 1).

Uspoređivanjem visine titra Sars-2 Cov IgG neutralizirajućih protutijela kod ukupnog broja ispitivanih DK podjeljenih u dvije dobne skupine utvrđuje se da je titar viši u DK srednje životne dobi (38%) u odnosu na DK mlađe dobne skupine (23%), što se podudara s podatcima s Up to date platforme.

Analizom dobivenih podataka zaključili smo da visina titra Sars-Cov 2 protutijela ne korelira s težinom kliničke slike COVID 19 infekcije, kao ni visina titra i vrijeme od preboljenja (Slika 2).

## Simpozij 2 – Proizvodnja krvnih pripravaka

### BLOOD COMPONENTS PLANNING, PROCESSING AND REQUIREMENTS IN SPECIAL CIRCUMSTANCES

SAMARDŽIJA M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Osijek, Clinical Institute for Transfusion Medicine, University J. J. Strossmayer Osijek School of Medicine Osijek

*“A unit of whole blood collected from a donor is a precious asset.”*  
Jonathan Hardwick

A blood establishment is defined as any structure or body that is responsible for any aspect of the collection and testing of human blood or blood components, whatever their intended purpose, and their processing, storage, and distribution when intended for transfusion.

Blood establishments should establish and maintain quality systems involving all activities that determine the quality policy objectives and responsibilities and implement them by such means as quality planning, quality control, quality assurance, and quality improvement within the quality system, taking into account the principles of good manufacturing practice as well as the EC conformity assessment system.

Document Coronavirus Disease 2019 (COVID 19) aims to provide a risk assessment and management options for the safe and sustainable supply of substances of human origin (SoHo) to assist the EU / EEA Member States in responding to the threat. It has also been advocating for EU / EEA Member States to activate pandemic plans to prepare for large outbreaks and community transmission of COVID -19.

Blood and blood components are considered to be critical SoHo, as there usually no alternative therapies, they are often life – saving and there are limited possibilities for storage. Possible limitations in supply can be due to:

Temporary loss of donors – donors may be unable to donate because of:

1. Having COVID – 19,
2. Being in isolation,
3. Self – isolating after contact with a confirmed case of COVID – 19,
4. Practicing social distancing,
5. Restrictions in public transportation,
6. Work commitments,
7. Need to care for family members,
8. Reluctance to donate due to fear of being infected.

Other possible limitations in supply:

Temporary SoHo establishment staff absence

Clinical demand of SoHo (reduction in elective healthcare)

Supply of critical material and equipment (disrupted supply chain)

Mitigation measures:

- Donors information, donor selection, post – donation information and haemovigilance, quarantine of blood and blood components, temporary interruption or rescheduling of donations, pathogen reduction, etc.

Contingency planning and risk management must be implemented in transfusion services.

Blood establishments in Croatia produce blood components of high quality and safety for transfusion therapy. Red cell concentrate leukocyte depleted, aphaeresis plasma and platelets (buffy coats, additive solutions in components) Covid plasma, irradiated products and pathogen reduction or inactivation method are implemented in routine practice.

Education is a crucial component of lifelong learning and continuous improvement.

Without it, quality cannot be attained and maintained in a blood transfusion service, and professional capacity and leadership cannot be built for the future.

## MIRASOL® TEHNOLOGIJA REDUKCIJE PATOGENA U KONCENTRATIMA TROMBOCITA – ISKUSTVO HZTM-A

STRAUSS PATKO M.<sup>1</sup>, Radovčić M. K.<sup>2</sup>, Vinković M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• *Banka krvi*

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• *Odjel za krvne pripravke*

U HZTM-u su krajem 2013.g. instalirana dva aparata za Mirasol® iluminaciju, s namjerom uvođenja postupka redukcije patogena riboflavinom u koncentratima trombocita (KT), a po potrebi i u plazmi. Validacija postupka provedena je tijekom 2014. i 2015. godine, te su dobiveni rezultati pokazali zadovoljavajuću kvalitetu za KT i plazmu na način kako su se tada proizvodili, te je 2016. godine u HZTM-u uveden Mirasol® postupak za svježe zamrznutu plazmu (dobivenu iz pune krvi i aferezom) u rutinsku uporabu. Međutim, vrlo brzo je prekinuta proizvodnja jer nije bilo interesa od strane kliničara za takvim krvnim pripravkom.

Budući da je cilj implementacije redukcije patogena u KT bio produljenje roka valjanosti na 7 dana, a proizvođač je deklarirao takav rok samo za trombocite u hranjivoj otopini, dok su u HZTM-u tada KT bili u plazmi, morao se prvo promijeniti način proizvodnje KT.

Nakon što je proizvodnja KT u hranjivoj otopini uvedena u rutinski rad, početkom 2018.g. započela je validacija Mirasol® redukcije patogena za KT. Dobiveni rezultati su pokazali da dolazi do pada kvalitete trombocita u pripravcima iz pune krvi nakon 5 dana skladištenja u odnosu na kontrolne KT, iako su vrijednosti bile još uvijek unutar zadanih kriterija. Slični rezultati dobiveni su i za KT dobivene jednom vrstom staničnog separatora, dok za drugi tip separatora rezultati validacije nisu bili zadovoljavajući. Nakon višemjesečnog zajedničkog pokušaja prilagođavanja aparata od strane stručnjaka za Mirasol® tehnologiju, proizvođača separatora i djelatnika HZTM, došlo se do zaključka kako KT dobiveni tim separatorom nisu pogodni za Mirasol® redukciju patogena u KT.

Na kraju je donesena odluka kako će se Mirasol® postupak primijeniti samo na KT iz pune krvi. Za rutinski rad bilo je potrebno osigurati još dva aparata i ponoviti validaciju na njima, a budući da je od prethodne validacije prošlo više od dvije godine, odlučeno je i da se ponovi validacija na dva postojeća uređaja. Validacijom nisu uočene značajnije razlike u kvaliteti pripravaka dobivenih pojedinim aparatom, ali je uočen značajno lošiji swirling fenomen između 5. i 7. dana skladištenja u odnosu na validaciju provedenu dvije godine ranije. Zbog toga je dogovoren da će se prije konačne odluke oko uvođenja ovog postupka, ponoviti validacija u uvjetima rutinske proizvodnje (ne koristeći pool and split metodu, te u vremenu – popodnevni sati – kada se KT rutinski rade) i provesti klinička studija s tako proizvedenim KT.

Sve navedene aktivnosti su provedene, iako zbog COVID-19 pandemije znatno otežano. Međutim, rezultati koji su na kraju dobiveni zajedno s onima u prethodnim validacijama postavili su sumnju na opravdanost uvođenja Mirasol® tehnologije u rutinski rad u proizvodnji krvnih pripravaka u HZTM-u, te je do daljnjega primjena odgodjena

Razlog takve odluke je sljedeći:

1. Nije dokazana zadovoljavajuća kvaliteta KT dobivenih iz pune krvi (pool KT/BC/HO SBL) starosti do 7 dana, zbog čega nije zadovoljen kriterij da se produži rok s 5 na 7 dana (gubitak swirling fenomena).
2. Kako bi se kompenzirao gubitak trombocita samim postupkom redukcije patogena, mora se povećati broj doza slojeva leukocita i trombocita (engl. buffy coat, BC) u pripravku s 4 na 5 doza. To smanjuje ukupan broj pool-ova KT koji se dnevno može proizvesti iz prikupljenih doza pune krvi što značajno otežava upravljanje zalihama jer se održavanje potrebnih zaliha KT ne može kompenzirati produljenjem roka valjanosti, posebno pojedinih krvnih grupa.
3. Nemogućnost primjene postupka na jednom od aparata za trombaferetu.
4. Nemogućnost dorade tretiranih KT iz pune krvi (pranje i redukcija volumena) zbog pojava irreverzibilnih agregata i lažno pozitivnih mikrobioloških nalaza
5. Kliničkom studijom dokazan je značajno niži porast broja trombocita neposredno nakon transfuzije (CCI1, engl. corrected count increment, 1 sat nakon transfuzije) u odnosu na kontrolne KT.

Dodatni povod odluci je nedavno objavljen članak u stručnoj literaturi koji ukazuje na slabu/nedovoljnu učinkovitost postupka na neke klinički značajne bakterije u količinama koje se mogu naći u koncentratima trom-

bocita u realnoj situaciji, te iskustvo jednog europskog centra (koji smo kontaktirali) koji je ubrzo nakon implementacije Mirasol® postupka u KT, donio odluku o prekidu nezadovoljan njihovom kvalitetom.

## EVALUATION OF NEW NON-DEHP PLATELET POOLING KIT

FERENAC KIŠ M.<sup>2,1</sup>, Vitaić S.<sup>1</sup>, Glavaš K.<sup>1</sup>, Kujavec-Šljivac K.<sup>1</sup>, Matković D.<sup>2</sup>, Samardžija M.<sup>2,1</sup>, Samardžija M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Osijek

• *Clinical Institute of Transfusion Medicine*

<sup>2</sup>Faculty of Medicine

• *Josip Juraj Strossmayer University of Osijek*

<sup>3</sup>Diakonhjemmet Sykehus

**Introduction:** DEHP (di-(2-ethylhexyl) phthalate) is a plasticizer widely used in transfusion medicine medical devices to “soften” plastics and give PVC material the required flexibility. DEHP does not chemically bind to PVC so it leaches into blood products and in circulation of apheresis donors. It is metabolised mostly to mono-ethylhexyl phthalate (MEHP), which is a known toxin and endocrine disruptor. New regulatory restrictions for DEHP due to toxicity are incoming. In 2025. EC will ban DEHP with no exemption for medical devices including blood bags. Due to new regulation manufacturers are forced to make new bags without DEHP. The new pooling systems we tested are made entirely with non-DEHP components. All the tubing component dimensions and bag volumes are maintained the same as PVC-DEHP model that is presently used in routine.

**Aim:** Evaluate the quality of platelet pools (PP) prepared by using non-DEPH pooling kit.

**Methods:** 40 whole blood collections (Day 0) in quadruple top & bottom InLine CQ32250 (CompoFlow Quadruple, T&B, Fresenius Kabi) were performed on CompoGuard (Fresenius Kabi). Platelet pools (PP) were manufactured from 4 buffy coats (BC) on Day 1 with the non-DEHP CompoStop FLEX system (FT52600, Fresenius Kabi). PP were made by ABO group as in routine. After adding plasma all PP were centrifuged in the Thermo Scientific Cryofuge 6000i centrifuge and separated immediately after on CompoMAT G5 (Fresenius Kabi). Samples were tested for platelet content as well as residual WBCs and RBCs on Day 1 using Adam rWBC (NanoEnTek) and Mindray BC3600 (Shenzhen). On Day 6 we measured pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub> and glucose following the routine procedures.

**Results:** The 10 PLT pools were analyzed and results expressed as mean value +/- st. dev. Data given show mean volume of 331 +/- 9 ml, mean platelet yield 4.5 +/- 0.8 x10<sup>6</sup> cells/u. Residual leukocytes were all below 0.05 +/- 0.04. Mean pH for the 10 PP was 7.25 +/- 0.05, with a mean pO<sub>2</sub> 9.86 +/- 3.99, pCO<sub>2</sub> 2.95 +/- 0.21, HCO<sub>2</sub> 9.55 +/- 1.06 and glucose 15.7 +/- 1.16.

**Summary/Conclusions:** Platelet pools made by using non-DEHP pooling kit achieved excellent quality. All measured parameters complied with EDQM requirements and our internal standards. When more stringent regulation, concerning DEHP in blood bags, enters into force we will be obligated to use new products. According to EDQM standards all products and devices should be validated before use. By validating non-DEHP systems we contribute to the safety of future products, patients and blood donors.

## ISPITIVANJE KVALITETE KRVNIH PRIPRAVAKA PROIZVEDENIH IZ DOZA KRVI KOD KOJIH SU UOČENI SITNI UGRUŠCI NA IN-LINE FILTERU

VINKOVIĆ M.<sup>2,1</sup>, Radović M. K.<sup>1,3</sup>, Gulan-Harcet J.<sup>1</sup>, Ljubičić J.<sup>1</sup>, Vuk T.<sup>1</sup>, Tomičić M.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Osijek

<sup>3</sup>Farmaceutsko-biokemijski fakultet

**Uvod:** Tijekom 2019. i 2020. godine u Odjelu za proizvodnju krvnih pripravaka Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu (HZTM) praćene su donacije kod kojih je tijekom leukofiltracije (LF) koncentrata eritrocita (KE) uočena pojava sitnih ugrušaka na leukofilteru koja nije ometala proces LF. Krajem 2020. i početkom 2021. godine provedeno je detaljnije ispitivanje takvih pripravaka. Prihvaćeno trajanje donacije ograničeno je na 12 minuta. Sve donacije koje traju dulje, označavaju se prilikom uzimanja krvi, a djelatnici u proizvodnji tako označene donacije detaljnije gledaju na prisutnost ugrušaka prije prerade. Za venepunkcije (VP) koje traju dulje od

15 minuta, *e-Delphyn* automatski blokira proizvodnju svježe zamrznute plazme. Doze pune krvi s makroskopski uočenim ugrušcima proglašavaju se nesukladnima prije prerade. Ponekad se tijekom proizvodnje KE na takvim dozama, ali i na dozama urednog trajanja VP, uoče sitni ugrušci na leukofilteru koji ne ometaju proces LF, ali nije niti jasno zašto se isti javljaju. Ukoliko LF protekne uredno, KE se izdaju za liječenje.

**Cilj:** Ispitati kvalitetu pripravaka KE i plazme iz donacija kod kojih su uočeni sitni ugrušci na leukofilteru.

**Metode:** Analizirano je vrijeme trajanja VP za donacije iz 2019., 2020. i dijela 2021. godine, a u kojima su uočeni sitni ugrušci na leukofilteru za KE. Krajem 2020. i početkom 2021. detaljno je analizirano 10 pripravaka KE i 11 pripravaka plazme. Za KE su ispitani: volumen, hemoglobin, hematokrit, leukociti, hemoliza na isteku roka valjanosti te hemoglobin u supernatantu. Za plazmu su ispitani FVIII nakon otapanja i fibrinogen. Dobiveni rezultati uspoređeni su s rezultatima statističke kontrole krvnih pripravaka za 2020. godinu (isti parametri iz sukladnih doza kod kojih nisu uočeni ugrušci na leukofilteru). Za statističku analizu korišten je MedCalc® Statistical Software version 20.010; Ostend, Belgium.

**Rezultati:** Medijan trajanja VP u KE s uočenim ugrušcima na leukofilteru tijekom ispitivanog razdoblja bio je 11 minuta. Medijan trajanja VP na godišnjoj razini u HZTM (uključuje sve donacije pune krvi) tijekom 2019. i 2020. godine bio je 6 minuta.

Rezultati kontrole kvalitete za pripravke s ugrušcima i za standardne pripravke prikazani su u Tablici 1.

TABLICA 1. NALAZI KONTROLE KVALITETE ZA PRIPRAVKE S UOČENIM UGRUŠCIMA (U) I STANDARDNE PRIPRAVKE (S)

Koncentrat eritrocita	Prosječni (minimum – maksimum)		Broj testiranih doza	
	U	S	U	S
volumen (mL)	259,6 (241 – 284)	255 (213 – 304)	10	978
hemoglobin (g/dozi)	52,1 (45 – 61)	51 (36 – 66)	10	978
hematokrit (%)	63,3 (60 – 66,2)	64 (57 – 70)	10	978
leukociti (x106 /dozi)	0,09 (0 – 0,31)	0,09 (0 – 1,27)	10	976
hemoliza (%)	0,27 (0,14 – 0,37)	0,15 (0,02 – 0,47)	10	38
hemoglobin u supernatantu	1,38 (0,9 – 2,1)	/	10	/
Plazma	U	S	U	S
FVIII (IU/mL)	1,22 (1 – 1,7)	1,12 (0,72 – 1,7)	10	38
fibrinogen (g/L)	2,79 (1,9 – 4,2)	2,85 (2,1 – 4)	11	13

Mann-Whitney testom ispitano je postoji li statistički značajna razlika u ispitanim vrijednostima između te dvije skupine. Između KE nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima hematokrita ( $P = 0,566$ ), hemoglobina ( $P = 0,642$ ), volumena ( $P = 0,468$ ) niti leukocita ( $P = 0,945$ ). U dozama KE s uočenim ugrušcima uočena je statistički značajno veća hemoliza ( $Z = 3,443$ ,  $P < 0,001$ ).

Usporedbom pripravaka plazme iz dvije skupine nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima fibrinogena ( $P = 0,954$ ) niti FVIII ( $P = 0,216$ ).

**Zaključak:** Svi rezultati ispitanih parametara kontrole kvalitete kod pripravaka s uočenim ugrušcima bili su unutar vrijednosti zadanih specifikacijom. LF je jednako učinkovita kod svih pripravaka. Ipak, usporedbom dobivenih rezultata s rezultatima statističke kontrole standardnih pripravaka, uočava se statistički značajno veća hemoliza (najveća vrijednost je upola manja od gornje granice dozvoljenih vrijednosti) u KE s uočenim ugrušcima na leukofilteru. Pripravci s uočenim ugrušcima također imaju dulje trajanje VP u odnosu na sve donacije (11 minuta u odnosu na 6 minuta). Brojni su čimbenici koji mogu utjecati na produljenje trajanja VP (tehničari s manje iskustva, davatelji s tankim venama, vazospazam koji nastaje zbog straha od darivanja krvi...), a koje ovom analizom nije bilo moguće ispitati.

Iako je ovo ispitivanje rađeno na malom broju pripravaka s uočenim ugrušcima, svi pokazatelji govore u prilog tome kako su pripravci KE i plazme proizvedeni iz takvih donacija (pod uvjetom zadovoljenih kriterija propisanog maksimalnog trajanja donacije za pripravu pojedinih vrsta KP) sukladni za izdavanje i sigurni za primjenu u bolesnika.

## PLATELET GEL OBTAINED FROM BUFFY COATS IN REGENERATIVE MEDICINE

VUCETIC D.<sup>1</sup>, Gojkov D.<sup>1</sup>, Kozarski J.<sup>2</sup>, Đorđević B.<sup>2</sup>, Stepić N.<sup>2</sup>, Abazović D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute for transfusiology and hemobiology of Military Medical Academy

• Department for blood products

<sup>2</sup>Clinic for Plastic Surgery and Burns of Military Medical Academy,

• Department for burns

<sup>3</sup>Renova Clinic

• Department for blood products

**Background:** Platelets contain a number of growth factors, cytokines and chemokines actively involved in spontaneous wound healing and significantly improve dermal repair and vascularization. A significantly improved level of transfusion safety has contributed to the use of allogeneic blood products and offers novel therapeutic options for patients who can not easily undergo autologous blood processing – those who cannot be subjected to repeated bleeding (infants), patients with septicemia or hematological disorders, elderly subjects affected by comorbidities, or emergency orthopedic surgery patients who could benefit from platelet gel (PG) treatment.

**Aim:** We evaluated the clinical efficacy of allogeneic PG prepared with standard blood banking procedures from routine platelet concentrates (PCs) obtained from buffy coats.

The first aim of the study was at developing the newest procedure for the preparation of allogeneic PG and the second aim was to test the allogeneic PG and its clinical efficacy.

**Method:** we obtain buffy coats (BC-PC) from a single blood donor of an identical ABO group, separated from 450 mL of whole blood unit given by blood donor negative for transfusion-transmitted diseases. After counting platelets number, we take units with a platelet count of around 1000x 10<sup>3</sup>/μL (which proved to be enough) and subdivide them into 15 mL aliquots as requested with the original set and frozen in a -80°C mechanical freezer until use, for a maximum of 6 months.

To obtain the PG units, a frozen BC-PC aliquot was thawed at 37°C and activated with homemade allogeneic thrombin. PG was obtained by mixing 6 volumes of thawed BC-PC with one volume of calcium gluconate-activated plasma (allogeneic thrombin) and one volume of calcium gluconate (or, only calcium gluconate, 2 volumes, without thrombin). The activator solution was injected aseptically into the bag through a sterile bag port. After mixing the BC-PC aliquot and the activator by gentle agitation, the bag was let to rest at 22–25°C for 30–40 min, allowing for gelation to occur spontaneously.

**Results:** The chronic wound was treated with one or two PG applications per week, according to the clinical response and state of the wounds. Since PG recipients were likely to receive several aliquots across a period of some weeks, it was planned to use all 10 aliquots from a single BC-PC to treat one individual patient, thus minimizing residual infective risk and exposure to allogeneic constituents. The patient with the chronic wound (diameter 15cm length, 6cm width, and 1cm depth), Pemphigus (Imuran and Pronison treated), and diabetes mellitus, was treated during 12 platelet gel applications. A total of 26 platelet gel units were applied. After three months, the chronic wound was completely healed and the patient was discharged home.

**Conclusion:** platelet-derived wound healing factors were one of the first and most effective platelet-derived products successfully used for topical treatment of skin lesions. This novel kind of preparing platelet gel supports the efficacy and feasibility of allogeneic PG to treat chronic wounds in very elderly hypomobile patients for whom autologous blood processing was not possible.



# TRANSFUSION WORKFLOW



SAMPLE TRANSPORT



SAMPLE PREPARATION



SAMPLE STORAGE



SAMPLE ANALYSIS

[www.alphachrom.hr/workflow/](http://www.alphachrom.hr/workflow/)

authorized distributor

**Ortho**  
Clinical Diagnostics

**SARSTEDT**

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

**ALI  
FAX®**

AlphaChrom d.o.o.  
Karlovačka cesta 24, Blato HR-10000 Zagreb, Croatia  
t: 01 550 2200 | e: prodaja@alphachrom.hr  
[www.alphachrom.hr](http://www.alphachrom.hr)

Asolutic d.o.o.  
[www.asolutic.hr](http://www.asolutic.hr)



## Simpozij 3 – Krvlju prenosive bolesti

### INFEKTVNI RIZICI TRANSFUZIJSKOG LIJEČENJA U 21. STOLJEĆU

LUKEŽIĆ N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Rijeka

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

Sigurnost krvi ovisi o dobroj prevenciji prijenosa infektivnih bolesti. Zdravlje davatelja, tehnike uzimanja krvi, vrste testova koji se koriste za testiranje na biljege krvlju prenosivih bolesti i tehnologije inaktivacije patogena važni su čimbenici u osiguranju minimalnih rizika transfuzijskog liječenja u bolesnika.

Uzročnici krvlju prenosivih infektivnih bolesti su:

- Virusi: Hepatitis A, B, C, HIV  $\frac{1}{2}$ , CMV, HTLV  $\frac{1}{2}$ , Parvovirus B19, EBV, Herpes 6 i 8, West Nile, Zika, Torque Teno (TTV), Denga
- Bakterije: *Treponema pallidum*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Yersinia enterocolitica*, *Chlamydia pneumoniae*
- Paraziti: *Plasmodium malariae*, *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi*, *Babesia microti*
- Prioni (CJB, vCJB)

Testiraju se uzročnici koji se nalaze u davateljevoj krvi, imaju relativno dugu inkubaciju, tijek bolesti u davatelja je asimptomatski, prisutno je kliničko štovanje, ne ugibaju u konzerviranoj krvi i derivatima plazme i većina se prenosi i spolnim kontaktom ili transplacentarno. Krajem 20. i u 21. stoljeću dokazan je prijenos novih uzročnika krvnim pripravcima.

Za sve uzročnike koji se obvezno testiraju (HBV, HCV, HIV, TP) postoji ostatni rizik i temelji se na sposobnosti testova da otkriju infekciju u ranoj akutnoj fazi i infekciju virusnim varijantama. Ostatni rizik za prijenos krvlju HBV, HCV i HIV je 1:2 milijuna transfundiranih doza, za HTLV-I/II, CMV, WNV, ZIKV, uzročnike malarije i T. cruzi manje od 1 na 3 milijuna transfundiranih doza, za TP gotovo nema rizika (minimalni za koncentrate trombocita). Rizik za prijenos bakterija krvlju postoji kod koncentrata trombocita i iznosi 1:100 000.

**Hepatitis B virus (HBV)** je DNA Hepadna virus, građen od Dane-ove čestice omotane lipidnim omotačem unutar kojeg je kapsida i dvostruka uzvojnica DNA. Površinski HBsAg je otkriven 1965. i tada je nazvan Australija antigen. Zakonski je obavezno testiranje ovog biljega u krvi davatelja od 1971. godine.

Testiranje:

- HBsAg, EIA 3. generacije: window razdoblje 46 dana
- NAT HBV-DNA skraćuje window razdoblje na 15 dana; otkriva okultni hepatitis B, HBV mutante

Poznato je da je i nakon uvođenja NAT testiranja problem prijenosa HBV-a transfuzijama krvi ostao predominkantan i ostaje prisutan kao zdravstveni problem. Prevalencija HBV u Hrvatskoj je ispod 1% što nas svrstava u zemlje niske prevalencije (20–30 000 kronično zaraženih HBV-om). Prevalencija u Europi je između 0,5 i 2 % (oko 1,5 milijuna ljudi). Uvođenjem obveznog cijepljenja u RH početkom devedesetih za zdravstvene radnike, 1999. godine djece u 6. razredu osnovne škole i novorođenčadi 2007. godine, bilježimo pad broja novooboljelih (u posljednjih 5 god. godišnje 105 oboljelih od HBV, dok je 2020. zabilježeno 19 hepatitisa B).

U svijetu je oko 275 milijuna ljudi zaraženo hepatitism B.

**Hepatitis C virus (HCV)** je jednolančani RNA flavivirus s lipidnim omotačem. Sastoji se od proteina jezgre ili core proteina, proteina omotača, E1 i E2, te niza nestrukturalnih proteina.

Testiranje:

- Anti-HCV, EIA testovi 3. generacije, u RH je obavezno testiranje od 1993. godine
- NAT HCV RNA skraćuje window period na 5–14 dana (od 2013.)
- HCV Ag/At 15 dana nakon zaraze može otkriti virus i/ili at-HCV

Prevalencija HCV u RH je 0,5–0,9% (globalno 2–5%). Godišnje od HCV prosječno oboli 195 osoba (2020. zbog COVID-a 99). Europa i mediteranske zemlje imaju 12 milijuna kronično inficiranih ljudi, Azija i Pacifička regija 20 milijuna, Afrika 9 milijuna i SAD 5 milijuna inficiranih.

Terapija: DAAs (pan-genotypic direct-acting antivirals).

**Virus humane imunodeficijencije (HIV)** je jednolančani RNA retrovirus s lipidnim omotačem. U RH je obvezno testiranje od 1987. godine. Koriste se EIA testovi treće generacije (HIV ½ Ag/At Combo test) kod kojih je serokonverzija 16 dana. U HIV NAT testu window period je 5–12 dana. Od 1985. do prosinca 2020. u RH je utvrđeno 1827 HIV pozitivnih osoba (527 oboljelih, 235 umrlih od AIDS-a). Prevalencija pozitivnih osoba u RH je manje od 0,1% (kod davatelja krvi 2018. nađena su 2 pozitivna na 195 563 testiranih), što nas svrstava u zemlje niske učestalosti HIV infekcije. U EU stopa pozitivnih je 5,4/100 000.

**Treponema pallidum** (TP) je Gram negativna spiroheta koja obitava samo kod čovjeka i uzrokuje sifilis. Rizik prijenosa transfuzijama krvnih pripravaka je ekstremno malen jer TP ugibaju u skladištenoj krvi. Prijenos uzročnika primarno je spolnim putem, od majke na fetus i putem inficirane netestirane krvi (1. opisan slučaj 1941.) Testiranje je počelo 1945. godine. Koristi se TPHA hemaglutinacijski test ili EIA koji otkrivaju IgM i IgG at na TP. VDRL test otkriva sifilis lipoproteinska antitijela (IgG). Incidencija sifilisa u svijetu je 5,6 milijuna pozitivnih, a najugroženija je Afrika. U EU stopa pozitivnih je 5/100 000 i u porastu je 2015. – 2016. godine. EU je izdala prijedlog rezolucije o sifilisu jer su dva glavna soja uzročnika pokazala otpornost na azitromicin.

**Hepatitis D ili Delta (HDV)** je RNA virus koji oblaže HBsAg poput omotača i ne umnaža se bez njegova prisustva. Rasprostranjen je u Južnoj Americi, Africi, Rusiji, Aziji i mediteranskim zemljama. Otkriven je 1977. godine. Laboratorijski se dokazuje prisustvom anti-HDV antitijela IgG i IgM uz molekularnu dijagnostiku HDV RNA u ranoj fazi akutne infekcije. U kroničnoj infekciji znak je replikacije virusa. Prenosi se putem oštećene kože, inficiranim krvnim pripravcima i rijetko transplacentarno. Dijagnostika HDV-a se preporuča u HBsAg pozitivnih osoba s akutnom ili kroničnom infekcijom, posebice bolesnika na hemodializi, intravenskih narkomana i homoseksualaca. Kod tih skupina je ubrzana progresija kroničnog hepatitisa u jetrenu cirozu i hepatocelularni karcinom. 2020. WHO objavljuje da je oko 5% ljudi sa HBV infekcijom globalno koinficirano sa HDV-om.

**Hepatitis G (HGV)** je otkriven 1995. To je RNA Flavivirus visoko zastupljen u rizičnim skupinama (intravenski narkomani, hemofiličari, bolesnici na hemodializi i učestalo transfundirani bolesnici). U laboratorijskoj dijagnostici ovog virusa koristi se genomski PCR test kojim se dokazuje postojanje HGV RNA. Ne postoji odgovarajući screening test. Česta je koinfekcija sa HBV i HCV virusima ili s HIV-om.

**Hepatitis E (HEV)** je zaraza koja se većinom prenosi kontaminiranim vodom i nedovoljno termički obrađenom hranom. Uzročnik je RNA virus iz skupine Hepeviridae. Prijenos putem transfuzije krvi ili transplantiranim organima opisan je u imunokompromitiranih bolesnika. Prvi puta je opisan 2004. u Japanu u bolesnika koji je transfundiran tijekom kardiokirurškog zahvata te je istovjetan HEV genotip 4 detektiran u davatelja i primatelja krvi. Godine 2011. je u Kini dozvoljena uporaba HEV cjepiva (djeluje na genotip 1 i 4).

Rastući broj slučajeva prijenosa HEV doveo je do obaveze HEV RNA testiranja u Irskoj, UK, Nizozemskoj, Francuskoj, Njemačkoj, Španjolskoj, Austriji, Luksembourgu i Švicarskoj. U ostalim zemljama Europe razmatra se uvođenje ovog testa za davatelje krvi. Univerzalno testiranje se provodi u Irskoj, UK i Nizozemskoj, dok je u ostalim zemljama selektivno (za visoko rizične bolesnike). Danska i Švedska su u studijama zaključile da im na temelju incidencije HEV RNA u davatelja nije potrebno obvezno testiranje. HEV RNA detektirana je u 1:3 109 donacija u EU (testirano 3,2 milijuna uzoraka). Prevalencija HEV IgG u naših DDK je 20% (Grčka 0,3%, Francuska 52%).

WHO je u svibnju 2016. ustanovila Globalnu strategiju za hepatitise s ciljem da se do 2030. reducira broj novoinficiranih za 90% i smrtnih slučajeva za 65%.

**Humani T-limfotropni virus (HTLV) I i II** su onkogeni Delta retrovirusi koji se prenose inficiranim leukocitima, a moguć je i transfuzijski prijenos.

Japan, Karipske zemlje, Srednja i Južna Amerika, centralna i zapadna Afrika, Srednji Istok su endemska područja za ove viruse. Testiranje je u tim područjima obvezno od 1988. Globalno je ovim virusima inficirano 10–20 milijuna ljudi u kojih mogu uzrokovati leukemiju/ limfom T stanica, HTLV mijelopatiju, tropsku spastičnu paraparezu, infekcije. Ukoliko je prevalencija manje od 1:1 milijun donacija nije isplativo univerzalno testiranje, već treba razmišljati o leukofilraciji i inaktivaciji patogena u krvnim pripravcima.

**Citomegalovirus (CMV)** je stanični patogen iz skupine herpesvirusa koji uzrokuje simptome slične mononukleizi (uz hepatitis). Prevalencija antitijela na CMV u populaciji je 50–80%. Moguća je intrauterina zaraza ovim virusom koji uzrokuje kongenitalne malformacije u novorođenčeta.

**Epstein-Barr virus (EBV)** je virus iz skupine herpesvirusa, otkriven 1964. god. u Burkittovom limfomu. Uzrokuje infektivnu mononukleozu, non-Hodgkin i Hodgkin limfom, T limfom. Prevalencija At je oko 90% kod davatelja krvi.

**Herpesvirus 6 i 8 (HHV 6,8)** su stanični patogeni (Ly, Mo) koji se prenose slinom, seksualnim kontaktom, transplantacijama i transfuzijama krvnih pripravaka. HHV 6 izaziva bolest exanthema subitum, a HHV 8 Kapo-sijev sarkom. Infekcije CMV, HHV i EBV predstavljaju opasnost za imunokompromitirane ili imunodeficijentne osobe.

**Torque teno virus (TTV)** je virus iz obitelji Circoviridae i slučajno je otkriven 1997. u Japanu kod bolesnika s posttransfuzijskim hepatitisom. Prevalencija kod zdravih davatelja je 48–72%, u nekim zemljama do 100%, u davatelja krvi SAD-a i UK 10 %. Infekcija ovim virusom je često asimptomatska, ali su opisani slučajevi idiopat-ske upalne miopatije, karcinoma, lupusa, gastroenteritisa i aplastične anemije kod dokazanog TTV.

#### Creutzfeld-Jakob-ova bolest, varijanta (CJD, vCJD)

Prijenos uzročnika CJD krvlju opisan je u 3 slučaju u UK. Prenosi se transplantacijom dure mater i primje-nom ljudskog hormona rasta. VCJB se javlja kod ljudi koji su konzumirali zaraženo goveđe meso. Problem je dugi window period kod priona (20-ak godina).

**Humani parvovirus B19** je eritrovirus bez ovojnica koji inficira hematopoetske stanice. U zdrave djece iza-ziva respiratornu infekciju sa eritemom (5. bolest), u odraslih groznicu, svrbež, mialgiju i artropatiju, te kroničnu hemolitičku anemiju. Opasnost za razvoj bolesti imaju osobe sa kroničnim hemolitičkim bolestima, kombinira-nim imunodeficijencijama i AIDS-om.

Opisani su prijenos transfuzijama te intrauterini prijenos s posljedičnim fetalnim hidropsom i srčanom greš-kom. Prevalencija antitijela kod davatelja je 60%. Metode inaktivacije virusa nisu efikasne, stoga je veći rizik prijenosa virusa derivatima plazme.

**West Nile virus (WNV)** je RNA Flavivirus koji se prenosi ubodom komarca. Prvi put je izoliran 1937. u Ugandi, epidemija je 2002. bila u SAD-u i opisana su 23 slučaja prijenosa krvlju. U primatelja krvi se nakon 4 tjedna javljaju simptomi (povišenje temperature, groznicu, bolovi u zglobovima, osip, glavobolja), u starijih i imunokompromitiranih neuroinvazivni simptomi (meningitis, encefalitis). Uvođenjem NAT testiranja (2003.) u mjesecima pojave komaraca reducira se transfuzijski rizik. Zadnjih 15-ak godina od kada se vrši testiranje u SAD-u se pronađe 300–1000 WNV RNA pozitivnih donacija godišnje.

**Zika virus (ZIKV)** je RNA Flavivirus prvi put izoliran 1947. kod majmuna u Ugandi. Prije 2007. bio je karakterističan samo za tropsku Afriku i JI Aziju. Godine 2015. je započela velika epidemija, te je sada proširen u 60-ak zemalja (Karibi, Južna i Latinska Amerika, Azija). Zabilježeni su slučajevi lokalnog prijenosa i u mnogim država-vama Europe (spolni put). WHO je 2016. proglašila Zika virusnu infekciju javnozdravstvenim događajem od međunarodnog značaja zbog grupiranja neuroloških poremećaja i malformacija u novorođenčadi. Od kolovoza 2016. u SAD-u se testiraju donacije na ZIKV RNA (na 4 milijuna je nađeno 9 pozitivnih). U Francuskoj Polineziji su u epidemiji zabilježena 73 slučaja Guillain-Barréov sindroma. Prenosi se ubodom komarca Aedes, transpla-centarno, krvlju, a čak su zabilježeni i prijenosi spolnim putem. Asimptomatskih slučajeva je 60–80%. Simptomi febrilne bolesti su osip, glavobolja, mialgije, artralgije konjuktivitis.

**Denga arbovirus (DENV)** se rijetko prenosi krvlju. Uzrokuje Denga groznicu (hemoragijsku). Od 2016. u SAD-u je opisano 5 slučajeva prijenosa transfuzijom, u Brazilu 2012. šest slučajeva.

**Chikungunya arbovirus (CHIKV)** je sličan DENV i uzrokuje artralgičnu sliku bolesti. Raširen je u tropskim krajevima (J.Amerika i Karibi) i teoretski se može prenijeti krvlju (studija iz Tajlanda).

**Malaria** je bolest koju uzrokuje unutareritrocitni parazit *Plasmodium* koji inficira jetru i eritrocite uzroku-jući masivnu hemolizu, groznicu, anemiju. Prvi put je opisan 1911. To je najčešći parazit koji se prenosi transfuzijom (globalno od 1911. do 2015. prijavljeno 100 slučajeva prijenosa krvlju u neendemičnim krajevima, 2 slučaja 2015. u SAD-u), a moguće je i intrauterini prijenos. Endemska je bolest u tropskom i subtropskom području centralne i južne Amerike, Afrike, jugoistočne Azije, a u ostatku svijeta su importirani slučajevi. Uzročnik preživljava u skladištenoj krvi, a kombinacija riboflavina i UV svjetlosti reducira mogućnost prijenosa malarije bez oštećenja eritrocita.

**Chagas-ovu bolest** uzrokuje parazit *Trypanosoma cruzi* koja obitava u centralnoj i Južnoj Americi i Meksiku. Više od 20 milijuna ljudi u SAD-u su kronični nosioci. Prenose ga stjenice, a moguće je prijenos transfuzijama i transplantacijama. Simptomi infekcije su lokalizirani bolni čvorić – chagoma, groznicu, limfadenopatija, hepato i splenomegalija anemija, miokarditis, simptomi GIT-a. U kroničnoj fazi se javlja kardiomiopatija. Rizik prije-nosa transfuzijom ovisi o parazitemiji kod asimptomatskih davatelja, te o imunološkom stanju primatelja. Prvi puta je opisan prijenos 1952. Screening u neendemičnim zeljama se provodi u SAD-u, Kanadi, Španjolskoj, UK, Francuskoj, Švicarskoj i Australiji.

**Toxoplazmoza** je bolest uzrokovana Toxoplazmom gondii koja se razmnožava u crijevu mačaka. Seroprevalencija antitijela je 20–40% zdravih odraslih osoba. Simptomi su limfadenopatija, mialgije, hepatosplenomegalija. Rizične skupine su imunodeficijentne osobe (AIDS) i fetusi zaražene majke.

Prevencija prijenosa HTLV I i II, CMV, EBV, HERPES VIRUSA 6 i 8, Trypanosome cruzi, Toxoplazme gondii je leukofiltracija krvnih pripravaka.

**Babesiosis** je bolest uzrokovana Babesiom microti koju prenosi inficirani krpelj. Uzročnik je unutareritrotični parazit, a simptomi bolesti su slični malariji. Moguć je razvoj hemolitičke anemije, renalne insuficijencije, RDS-a, DIK-a, trombocitopenije i smrti (posebno u imunokompromitiranih i splenektomiranih bolesnika). Opisan je prijenos transfuzijama (prvi slučaj 1979.) i transplantacijama (SAD endemska transmisija od 2004. do 2008. 63 slučaja, do sada preko 200 sa smrtnošću 18–19%). Problem su asimptomatski DK i neefikasnost leukoredukcije. Nema laboratorijskih screening testova (serološke i PCR pretrage).

**Leischmania donovani** je uzročnik bolesti kala-azar čiji su simptomi hepatosplenomegalija, citopenija, gubitak težine, groznica, hipergamaglobulinemija. Obitava u zemljama Afrike, JI Azije, Indiji. Opasnost je koinfekcija u AIDS bolesnika.

**Bakterijske infekcije** prenesene krvnim pripravcima (TTBI) predstavljaju rastući problem u transfuzijskoj medicini, uglavnom zbog porasta potrošnje koncentrata trombocita. Učestalost infekcije ovisi o vrsti bakterije i patogenosti, te o kliničkom stanju bolesnika. Definicija TTBI se temelji na dokazu uzročnika u krvnom pripravku i primatelju.

Ostatni rizik prijenosa bakterija koncentratima trombocita je 1:5000, odnosno 1:30 000 za koncentrate eritrocita. U SAD-u se temeljem rezultata studije (1999.–2017.) dokazalo smanjenje septičkih reakcija uzrokovanih koncentratima trombocita sa 492 na 82/1 milijun doza nakon uvođenja detekcije kontaminacije prije izdavanja (2004.). U zemljama Afrike je kontaminacija iznad 17%.

Bakterije davateljeve kože ili osoblja (*Propionibacterium acnes*, *Yersinia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Serratia*) su najčešće identificirane kao uzročnici zaraze. *Staphylococcus aureus* je najbrojniji uzročnik smrtnih slučajeva zbog kontaminirane krvi.

Dobrom anamnezom davatelja, dobrom proizvođačkom praksom i primjenom brzih laboratorijskih metoda otkrivanja bakterija te metodama redukcije patogena moguće je prevenirati prijenos bakterijskih infekcija.

**Zaključak:** Rastućom globalnom migracijom stanovništva krajem 20. i u 21. stoljeću razvila se mogućnost prijenosa novih uzročnika krvlju.

U budućnosti su potrebne velike komparativne studije za pronalaženje sigurnih tehnika koje se mogu koristiti kod inaktivacije patogena u krvnim pripravcima, kao i pronalaženje sigurnih laboratorijskih dijagnostičkih testova u cilju prevencije prijenosa mnogobrojnih uzročnika krvlju.

## LITERATURA

1. Tapiwa Blessing M, Shi-Woei L. An economic reappraisal of hepatitis B virus testing strategy for blood donors in Taiwan. Vox sanguinis. 2020;116:564–573.
2. HZZJZ Svjetski dan hepatitisa 2021.
3. WHO Hepatitis C, D 2021.
4. CDC Symptoms, Diagnosis & Treatment West Nile virus 2021.
5. “<https://hr.wikipedia.org/w/index.php?title=Mononukleoza&oldid=5830192>” 2021.
6. “<https://hr.wikipedia.org/w/index.php?title=Alphatorquevirus&oldid=1032054120>” 2021.
7. Busch M P, Bloch E M, Kleinman S. Prevention of transfusion-transmitted infections. The American Society of Hematology. Blood 2019;133:17.
8. Hao Bi, Ru Yang, Chunchen Wu and Jianbo Xia. Hepatitis E virus and blood transfusion safety. Epidemiol Infect. 2020;148.
9. Boland F, Martinez A, Pomeroy L, Flaherty ON. Blood Donor Screening for Hepatitis E Virus in the European Union. Transfusion Medicine and Hemotherapy 2019;46:95–103.
10. HZZJZ Zika virusna infekcija nove informacije 2016.
11. Radolf J D. Treponema, Medical Microbiology. 4th edition. 1996.
12. Roman L, Armstrong B, Smart E. Donation testing and transfusion transmissible infections. ISBTScienc Series VoxSang. 2020;15:192–206.

## PROCJENA ZNAČAJA ANTI-HBC TESTA U ALGORITMU TESTIRANJA NAT INICIJALNO REAKTIVNIH DONACIJA

BABIĆ I.<sup>1</sup>, Maslović M.<sup>1</sup>, Miletić M.<sup>4</sup>, Grubešić D.<sup>2</sup>, Bingulac-Popović J.<sup>1</sup>, Đogić V.<sup>1</sup>, Jagnjić S.<sup>2</sup>, Jukić I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za molekularnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za dijagnostiku krvlju prenosivih bolesti

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Ravnateljstvo

<sup>4</sup>Dom zdravlja Zagrebačke županije, ispostava Velika Gorica

- Medicinsko-biokemijski laboratorij

**Uvod/cilj:** Okultna infekcija virusom hepatitisa B (OBI) u dijagnostičkom je smislu karakterizirana izostankom detekcije HBs antiga, izrazito niskom i fluktuirajućom količinom HBV DNA te prisutnim anti-HBc IgG protutijelima. Procleix Ultrio Plus i Procleix Ultrio Elite testovi za molekularni probir dobrovoljnih davalatelja krvi (DDK) na pojedinačnoj donaciji (ID-NAT, NAT engl. Nucleic Acid Testing) na nukleinske kiseline virusa HBV, HCV i HIV-a pokazuju visoku specifičnost u rutinskom izvođenju i nisku pojavnost lažno pozitivnih rezultata. Testiranje ukupnih anti-HBc protutijela kao biljega hepatitisa B sastavni je dio algoritma ID-NAT HBV/HCV/HIV probira DDK-a u RH. Provodi se za donacije s negativnim rezultatom serološkog probira, koje su inicijalno reaktivne (IR) u ID-NAT probiru. Niski titar HBV DNA u OBI infekciji uzrokuje smanjenu reproducibilnost rezultata ID-NAT probira u retestiranju te pozitivan rezultat anti-HBc testa dodatno upućuje na moguću prisutnost OBI. Dobrovoljni darivatelji krvi sa zaključno pozitivnim rezultatom ID-NAT probira i/ili pozitivnim nalazom anti-HBc protutijela isključuju se iz davalštva. Cilj ovog rada bio je pregled rezultata i procjena vrijednosti testiranja ukupnih anti-HBc protutijela kao dodatnog testa u ID-NAT probiru, te usporedba skupine DDK-a s OBI infekcijom (zaključno ID-NAT pozitivan rezultat, IR:RR) i DDK-a koji su imali ID-NAT neponovljeno reaktivni rezultat (IR:NRR) uz anti-HBc IgG pozitivan rezultat.

**Materijali i metode:** Korišteni su podaci o rezultatima ID-NAT i anti-HBc testiranja DDK-a za razdoblje od 2013. do 2019. godine te podaci o spolu i godištu DDK-a s pozitivnim rezultatima anti-HBc testiranja. Za DDK-a s pozitivnim rezultatom testa za ukupna anti-HBc protutijela, provodilo se dodatno testiranje na sve serološke biljege HBV infekcije. ID-NAT testiranje (Procleix Ultrio Plus, Procleix Ultrio Elite, Grifols, Španjolska) provedeno je u Odjelu za molekularnu dijagnostiku HZTM-a. Odjel za dijagnostiku krvlju prenosivih bolesti HZTM-a proveo je serološka testiranja na HBV biljege: anti-HBc ukupni (Architect Anti-HBc II, Abbott, SAD i Vidas Anti-HBc Total II, BioMerieux, Francuska) i anti-HBs testiranje (Architect, Abbott, SAD) te HBsAg (Monolisa HBsAg ULTRA, Bio-Rad, SAD), anti-HBc IgM, HBeAg, i anti-HBe (Vidas, BioMerieux, Francuska). Za obradu rezultata korišteni su statistički testovi statističkog softvera MedCalc v2.014.

**Rezultati:** DDK s OBI infekcijom su većinom muškarci (53/62, 85,5 %), prosječno stari 56 godina, dok su DDK s IR:NRR rezultatom ID-NAT probira i IgG anti-HBc protutijelima u prosjeku značajno mlađi (49 god., p=0,0002) te također većinom muškarci (70/77, 90,0 %). U skupini DDK koji su IgG anti-HBc pozitivni te im je titar anti-HBs negativan ili < 100 IU/L, statistički je značajan veći broj DDK-a s OBI infekcijom (p<0,0001). Incidencija detekcije OBI u DDK-a pokazuje značajni pad od 2013. do 2019. godine. Razlika između velikog broja novootkrivenih OBI slučajeva u prvim godinama nakon uvođenja ID-NAT probira značajna je kad se uspoređuju 2013. i 2014. godina s godinama koje slijede (p<0,0001). Detekcija DDK-a s ID-NAT IR:NRR pozitivnim nalazom te pozitivnim anti-HBc IgG protutijelima ujednačena je iz godine u godinu za period od 2013. do 2019. godine.

**Zaključak:** Testiranje biljega anti-HBc predstavlja dodanu vrijednost u ID-NAT HBV/HCV/HIV probiru i povećava osjetljivost testiranja i detekcije slučajeva OBI infekcije kod DDK-a. Zaštitni titar anti-HBs protutijela (> 100 IU/L) mogao bi se dovesti u vezu s izrazito niskim titrom virusa u OBI infekciji koji nije moguće detektirati Procleix Ultrio Plus i Procleix Ultrio Elite testovima u ponovljenim testiranjima nakon inicijalno pozitivnog rezultata ID-NAT probira (ID-NAT IR:NRR, anti-HBc pozitivan). Testiranje anti-HBc protutijela u algoritmu ID-NAT probira DDK predstavlja dodatni kriterij za izdvajanje nositelja OBI infekcije iz davalštva te sigurnije transfuzijsko liječenje.

## REZULTATI PROBIRNIH TESTOVA NA MALARIJU KOD DOBROVOLJNIH DARIVATELJA KRVI (DDK) U REPUBLICI HRVATSKOJ (RH) U PERIODU OD SIJEĆNJA 2016. DO LISTOPADA 2021.

JAGNIĆ S.<sup>1</sup>, Grubešić D.<sup>1</sup>, Jagić A.<sup>1</sup>, Račić K.<sup>1</sup>, Đurašković D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Malaria je ozbiljna i u nekim slučajevima smrtonosna zarazna bolest koju uzrokuje parazit Plasmodium. Prenosi se ubodom zaražene ženke komarca Anopheles, a može se prenijeti i transfuzijom zaražene krvi. Kod ljudi bolest uzrokuju četiri vrste: Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium malariae i Plasmodium ovale. U RH je malaria iskorijenjena još 1964. te se nakon toga bilježe samo uvezeni slučajevi tj. nastali u krajevima gdje je malaria endemična. Od 15.09.2015. u RH se provodi testiranje na malariju ELISA/EIA testovima za detekciju anti-Plasmodium spp. protutijela za davatelje krvi koji su bili izloženi riziku od zaraze nakon što je prošlo minimalno 4 mjeseca od povratka iz malaričnih područja ili 6 mjeseci od povratka, ako je osoba imala nespecifične febrilitete koji mogu upućivati na malariju. Testiranje se izvodi u HZTM-u. Cilj ovog rada je analizirati rezultate testova pretraživanja na malariju u periodu od 2016. do listopada 2021. godine u RH te odrediti udio pozitivnih uzoraka (davatelja) koji su dobili šifru MAL u transfuzijskom sustavu e-Delphyn i time su trajno odbijeni kao DDK.

**Metode:** U razdoblju od siječnja 2016. do listopada 2021. izvršeno je testiranje uzoraka iz svih transfuzijskih centara u RH testovima pretraživanja anti-Plasmodium spp. protutijela. U 2016. testiranje je provedeno s testom Malaria Ab (Dia.Pro), a od 2017. prvi test je Captia™ Malaria EIA (Trinity Biotech), dok Malaria EIA (Bio-Rad) i Malaria Ab (Dia.Pro) se koriste kod opetovanja reaktivnih rezultata. Odabir uzoraka DDK kao i način testiranja je proveden prema Preporukama za postupanje s davateljima u riziku od malarije (2015), Preporukama za postupanje s davateljima u riziku od zaraze malarijom u transfuzijskoj djelatnosti RH (2016) i (2020).

**Rezultati:** Rezultati probirnih testova na malariju su prikazani u Tablici 1.

TABLICA 1. REZULTATI PROBIRNIH TESTOVA NA MALARIJU

Godina	Broj testiranih uzoraka DDK ukupno u RH	Broj inicijalno reaktivnih (IR) uzoraka (%)	Broj opetovano reaktivnih (RR) uzoraka (%)	Broj DDK sa šifrom MAL (%)
2016.	641	28 (4,3)	6 (0,93)	6 (0,93)
2017.	944	8 (0,84)	3 (0,31)	1 (0,1)
2018.	1297	2 (0,15)	1 (0,07)	1 (0,07)
2019.	1838	17 (0,92)	14 (0,76)	12 (0,65)
2020.	2136	17 (0,79)	12 (0,56)	9 (0,42)
Do 10. 2021.	1339	9 (0,67)	5 (0,37)	3 (0,22)
Ukupno	9384	81 (0,86)	41 (0,43)	31 (0,33)

U periodu od 5 godina i 10 mjeseci u HZTM-u je testirano 9384 uzorka na malariju. 81 uzorak je bio inicijalno reaktivan (0,86 %) dok je samo 31 uzorak na kraju proglašen pozitivan s testovima pretraživanja na anti-Plasmodium spp. protutijela što čini 0,33% svih primljenih uzoraka na testiranje. Ti darivatelji su dobili šifru MAL.

**Zaključak:** Broj uzoraka krvi DDK za testiranje na malariju je svake godine sve veći te je od 2016. do 2020. godine testirano 641, 944, 1297, 1838 odnosno 2136 uzoraka DDK. U 2021. godini do 10. mjeseca je testiran manji broj uzoraka (u odnosu na isto razdoblje u 2020.) vjerojatno zbog pandemije virusom SARS-CoV-2 koja je ograničila putovanja u druge zemlje pa tako i one koje su endemične za malariju. Uvođenjem 2017. god. još dva testa na anti-Plasmodium spp. protutijela povećala se specifičnost testa, a time i broj prihvaćenih donacija kao i DDK koji mogu darivati krv. U razdoblju od 5 godina i 10 mjeseci 31 darivatelju je dodijeljena šifra MAL koja znači da je DDK trajno odbijen za darivanje krvi.

## TRACE-BACK POSTUPAK: PRIKAZ SLUČAJA

ŠERER VIČEVIĆ M.<sup>1</sup>, Lukežić N.<sup>1</sup>, Ćubelić I.<sup>1</sup>, Balen S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Rijeka

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

marta.serer.vicevic@gmail.com

Sigurnost transfuzijskog liječenja u 21. stoljeću dosegla je vrlo visoki stupanj, no i dalje postoji rizik od neželjenih transfuzijskih reakcija kao što su transfuzijom prenosene zarazne bolesti. Ukoliko kliničar posumnja da je bolesniku prenesena zarazna bolest transfuzijom krvnih pripravaka u transfuzijskoj djelatnosti pokreće se trace-back postupak. Pojam "TRACE-BACK" (hrv. praćenje) je postupak istraživanja izvješća o ozbiljnoj štetnoj reakciji kod primatelja krvnog pripravka kako bi se identificiralo davatelja/e krvnog sastojka (DK) kao mogući uzročnik ozbiljne štetne reakcije, odnosno trace back je skup postupaka koji se provode kada se za laboratorijski potvrđenu zarazu postavi objektivna sumnja da je uzrokovana transfuzijom zaraženog krvnog pripravka, a kako bi se ista isključila ili potvrdila. Svrha postupka je isključivanje zaraženog davatelja krvi iz davalštva te obavljanje i ispitivanje svih primatelja krvnih pripravaka pripadajuće donacije ovog davatelja o mogućoj zarazi. Trace-back postupak uključuje: identifikaciju davatelja krvi za koje postoji sumnja da su transfuzijom prenjeli infekciju na primatelja krvi, povlačenje svih pripravaka koji su još na zalihamu za izdavanje, a priređene su iz doza potencijalno zaraženog davatelja, blokiranje svih potencijalno zaraženih DK za daljnje davanje i njihovo testiranje te analiza rezultata i izvještavanje. U transfuzijskom informatičkom sustavu e-Delphyn dostupni su svi podaci vezani uz DK koji se pozivaju na kontrolna testiranja krvi prema predviđenim algoritmima na biljege HBV/HCV/HIV, sifilis, malarija, bakterije ovisno o kojoj se infekciji radi. Po završetku postupka utvrđuje se jeli došlo do prijenosa zaraze transfuzijom krvnih pripravaka s davatelja na primatelja te se o tome obavijesti Klinika/Odjel/Bolnica koja je prijavila zarazu.

### PRIKAZ SLUČAJA KBC Rijeka

27.04.2020. hematolog usmenim putem prijavljuje sumnju na prijenos virusnog hepatitisa B krvnim pripravcima pacijentici V.B (1957.) iz Čabra. Bolesnica boluje od hematološke maligne bolesti (akutne mijeloične leukemije pod kemoterapijom). Boravi na Klinici za internu medicinu. U laboratorijskim nalazima izdvaja se: alterirani hepatogram uz HBV DNA poz (6 000000 kopija), HBs Ag poz, HBc IgM poz, anti-HBe poz, anti-HBs poz 13.07 IU/ml što ukazuje na akutnu infekciju hepatitis B virusa.

22.04.2020. bolesnica je premještena u KBC Rijeka iz Sveučilišnog Kliničkog centra Ljubljana gdje je od 09.04.2021. liječena zbog febriliteta, hepatopatije, ikterusa, opće slabosti, anemije. Tada je transfundirana s dva koncentrata eritrocita.

Zbog osnovne maligne bolesti bolesnica je imunokompromitirana i višestruko transfuzijski liječena unatrag 2 godine.

Od 19.09.2019. do 04.03.2020. primila je 14 koncentrata eritrocita, 6 "pool-eva" trombocita (dobivenih iz graničnog sloja-24 donora) i 3 koncentrata trombocita dobivena postupkom trombaferoze.

28.04.2020. u KBC Rijeka, u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Rijeka pokrenut je TRACE-BACK postupak. Ukupan broj davatelja uključen u postupak je 41. Svi su se odazvali na testiranje.

25 DK pozvano je telefonskim i pisanim putem na kontrolno testiranje za HBV biljege (NAT i serološki testovi na HBV) jer nisu davali krv nakon inkriminiranih donacija. Kontrolni uzorci su testirani u našem Zavodu (HBsAg, anti-HCV, anti-TP, HIV Ag/At) a u HZTM-u su testirani NAT probirnim testom kao i serološkim testovima na HBV.

Kod 16 davatelja testirani su arhivski uzorci posljednjih donacija na HBV biljege (bez HBsAg) u HZTM-u.

Svi ispitivani DK su blokirani za davanje krvi do prispjeća nalaza kontrolnog testiranja i testiranja arhivskih uzoraka. Niti u jednom uzorku nije pronađen pozitivitet u NAT testu ili serološkom testiranju (osim pozitivnih anti-HBs protutijela kao posljedica cijepljenja).

U Sveučilišnom kliničkom centru Ljubljana u kojem je bolesnica bila transfuzijski liječena pokrenut je TRACE BACK postupak te su utvrdili da nije došlo do prijenosa zaraze krvnih pripravcima.

TRACE BACK postupak u KBC Rijeka završen je 07.09.2020. Utvrđeno je da kod bolesnice nije došlo do prijenosa HBV infekcije putem trasfuzije krvnih pripravaka.

## LOOK-BACK POSTUPCI U HRVATSKOM ZAVODU ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU U PERIODU 2016.–2020. GODINE

STOJIĆ VIDOVIC M.<sup>1</sup>, Ljubičić J.<sup>1</sup>, Grubešić D.<sup>1</sup>, Babić I.<sup>1</sup>, Topić Šestan P.<sup>1</sup>, Vuk T.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Look-back (LB) postupci se provode kada se utvrdi da je višestruki dobrovoljni davatelj krvi (DDK) zaražen uzročnikom krvlju prenosivih bolesti. U tom slučaju provjeravaju se pripravci proizvedeni iz njegove zadnje negativne donacije krvi. Look-back postupci provode se u HZTM prema „Preporukama za provođenje look-back i trace-back postupaka u transfuzijskoj djelatnosti RH“, HZTM 2016., na način da se pozivaju i testiraju primatelji zadnje negativne donacije sada zaraženog darivatelja. U slučaju nemogućnosti testiranja primatelja identificiranog krvnog pripravka u slijedećem koraku testira se arhivski uzorak donacije koja je prethodila zadnjoj negativnoj.

**Cilj:** Analizirati broj LB postupaka i zastupljenost pojedinih biljega krvlju prenosivih bolesti u njihovom ukupnom broju u periodu 2016.–2020., te utvrditi karakteristike darivatelja krvi uključenih u LB postupke. Utvrditi ukupan broj primatelja transfundiranih pripravaka priređenih iz zadnjih negativnih donacija DDK zahvaćenih LB postupcima, te odaziv primatelja na testiranje kao i rezultate testiranja. Ovo istraživanje prikazuje biljege krvlju prenosivih bolesti za koje postoji obveza testiranja u RH iako se prema procjeni postupak provodi i za ostale uzročnike koji se prenose krvlju. Vremenski period između sadašnje donacije (darivatelj zaražen) i zadnje negativne čiji su primatelji pozivani u okviru L-B nije bio vremenski ograničen za period 2016.–2020.g, a najdulji vremenski period između trenutne i zadnje negativne donacije iznosio je 6 godina i 2 mjeseca.

**Metode:** Korišteni su arhivski podaci i baza podataka HZTM, e-Delphyn program.

**Rezultati:** U periodu 2016.–2020.g., provedeno je 15 LB postupaka, od kojih najviše 6 za primatelje krvnih pripravaka zadnje negativne donacije darivatelja kod kojih je otkrivena okultna infekcija virusom hepatitisa (HBV-OBI), 3 LB postupka za HIV, 3 za HCV, 2 za sifilis, te 1 LB postupak za HBV infekciju u window periodu (HBV DNA pozitivna/svi serološki biljezi negativni). Karakteristike DDK uključenih u LB postupke prikazane su u Tablici 1. Identificirano je 27 primatelja krvnih pripravaka od kojih je 11 (41%) preminulo od posljedica osnovne bolesti, prije provođenja LB postupka, a 14 ih (52%) je pristupilo testiranju, dok 2 (7%) primatelja nisu bila dostupna. U 12 primatelja transfuzijskog liječenja koji su pristupili testiranju nije bilo prijenosa krvlju prenosivih bolesti, dok je kod jedanog primatelja postojala kronična HBV infekcija ranije dijagnosticirana. Kod jednog primatelja uočen je status ranijeg kontakta kojeg nije bilo moguće povezati s transfuzijskim liječenjem (anti-HBc i anti-HBe pozitivni, HBV DNA i HBsAg negativni).

TABLICA 1. KARAKTERISTIKE DDK UKLJUČENIH U LB POSTUPKE

Broj L-B postupaka 2016.-2020. (N) i karakteristike DDK uključenih u L-B	KRVLU PRENOSIVA BOLEST				
	HBV-OBI	HBV	HIV	HCV	Sifilis
N	6	1	3	3	2
Prosječna dob DDK	56	30	30	41	30
Spol DDK	M	M	M	2M 1Ž	M
Prosječan broj donacija	55	12	12	20	8
Savjetovalište N (%) odaziva	4 (66%)	1 (100%)	2 (66%)	2 (66%)	2 (100%)
Mogući rizici (operacije, stomatološki zahvati..)	3	0	0	0	0
Ne navode rizik	1	0	0	1	1
Rizično spolno ponašanje	0	1	2	1	1

**Zaključak:** U LB postupcima koje je proveo HZTM u periodu 2016.–2020.g., uočava se najveći broj HBV-OBI LB postupaka koji su pronađeni u prve dvije godine, te smanjenje njihovog broja u tri zadnje godine našeg istraživanja. LB postupci za HIV, HCV i sifilis su podjednake učestalosti. U navedenom periodu nije bilo prijenosa bolesti s darivatelja na primatelje što među ostalim može ukazivati na dobru selekciju darivatelja pri pregledu kao i izvrsne osjetljivosti odabranih testova.

Tijekom provođenja LB postupaka uočena je dobra suradnja sa specijalistima transfuzijske medicine koji su zaposleni u bolničkim sustavima, koja se zasnivala na težnji da se postupci provedu u cijelosti.

## Simpozij 4 – Hemostaza

### TROMBOZA I KRVARENJE U BOLESNIKA S KARCINOMOM I KRONIČNOM BOLESTI JETRE

VUČEMILOT.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Sestre Milosrdnice

• Zavod za transfuzijsku i regenerativnu medicinu

Venska tromboembolija (VTE) čest je uzrok morbiditeta i mortaliteta u bolesnika s rakom (22). Takvi bolesnici imaju četiri do sedam puta veći rizik za početni VTE od bolesnika bez raka. Nadalje, bolesnici s rakom imaju tri puta veći rizik od ponavljanja VTE, dvostruko veći rizik od krvarenja povezanog s antikoagulantnim lijekovima i 10 puta veći rizik od smrti od pacijenata s VTE koji nemaju rak (22,23). Slijedom toga, prevencija i liječenje VTE u bolesnika s rakom bili su i jesu u središtu značajnih istraživanja.

Objavljene su brojne smjernice i dokumenti sa smjernicama usredotočeni na trombozu povezanu s rakom koji se primjenjuju u svakodnevnom rutinskom radu s bolesnicima kod kojih se provodi bilo koji od oblika onkološkog liječenja (operacija, kemoterapija, radioterapija) (23). Ciroza jetre, završni stadij svake kronične bolesti jetre nije samo glavni čimbenik za razvoj hepatocelularnog karcinoma već i ograničavajući čimbenik za antikancerogenu terapiju. Ciroza jetre može ograničiti kirurške i intervencijske pristupe liječenju raka, utjecati na farmakokinetiku lijekova protiv raka, povećati nuspojave kemoterapije, učiniti pacijente osjetljivima na hepatotoksičnost i na kraju rezultirati konkurentnim rizikom za morbiditet i mortalitet.

Znanje o koagulacijskom poremećaju u bolesnika s kroničnom bolesti jetre mijenjalo se zadnjih desetak godina. Dugo se smatralo da bolesnici s cirozom jetre imaju tendenciju ili sklonost epizodama krvarenja zbog smanjene sinteze čimbenika koagulacije (1,2). Jetra ima nekoliko uloga i u primarnoj i u sekundarnoj hemostazi. To je mjesto gdje se sintetiziraju fibrinogen i faktori koagulacije II, V, VII, IX, X, XI, XII i XIII (2). Faktor VIII sintetiziraju prvenstveno sinusoidne endotelne stanice te u manjoj mjeri endotelne stanice pluća, bubrega, slezene i mozga (25). Sustav koagulacije sastoji se od složene ravnoteže između prokoagulantnih i antikoagulantnih komponenti i fibrinolitičkog sustava. Ovaj sustav funkcioniра tijekom hemostatskog procesa i nudi vrlo brz odgovor na endotelne ozljede s naslagama fibrina, agregacijom trombocita i stvaranjem ugurušaka. U zdravog pojedinca, događaji koagulacije suzbijaju se antikoagulantnim djelovanjem endogenih inhibitora koagulacije koji sprječavaju širenje uguruška, minimiziraju lokalnu ishemiju i potiču lizu nakon što se postigne hemostaza. U kontekstu bolesti jetre ova ravnoteža se mijenja što rezultira dominacijom jedne od dvije komponente. To se u nekim bolesnika može manifestirati kao hiperkoagulacija, a u drugih kao prekomjerno krvarenje (3). Iako nedostatak prokoagulantnog faktora u kroničnoj bolesti jetre može biti odgovoran za sklonost krvarenja bolesnika s cirozom, također je dokazana smanjena proizvodnja endogenih antikoagulansa poput proteina C, proteina S, trombomodulina i tPA (1,2,3). Ciroza jetre također smanjuje proizvodnju proteina što rezultira smanjenjem pričuvnih čimbenika s obje strane sustava. To smanjuje sposobnost kompenzacije čak i malih varijacija u hemostazi krvi što u nekim okolnostima može pogodovati hiperkoagulabilnosti. Primjer za to može biti smanjenje rezervi proteina C. Ciroza predstavlja konstantno stanje sistemskog vazodilatacije koja posebno pogoda splahnčko korito što doprinosi razvoju vaskularne staze. To je popraćeno visokim koncentracijama prokoagulantnih čimbenika koji pridonose velikoj prevalenciji tromboze portalne vene (26). Istodobno smanjenje prokoagulantnih i antikoagulantnih čimbenika, zajedno s povećanom razinom faktora VIII (tablica 1), mogla bi objasniti zašto bolesnici s kroničnom bolesti jetre nisu zaštićeni od arterijske i venske tromboze (6).

TABLICA 1.

Changes that alter hemostasis	Changes that promote hemostasis
Thrombocytopenia	High concentration of FVW
High production of ON and prostacyclins	High levels of VIII factor
Low levels of factors II, V, VII, IX, X and XI	Reduction of protein C Protein S, antithrombin and α <sub>2</sub> macroglobulin Low levels of plasminogen
Disfibrinogenemia Deficiency of vitamin K Low levels of α <sub>2</sub> antiplasmin, XIII and TAFI factors High levels of tPA.	
Alterations in the hemostatic system in patients with liver disease (taken and modified from: Lisman T, Caldwell SH, Burroughs AK, Northup PG, Senzolo M, Stravitz RT, et al. Hemostasis and thrombosis in patients with liver disease: the ups and downs. J Hepatol. 2010 Aug; 53(2):362–71).	

Klinička manifestacija prevladavanja hiperkoagulabilnosti je i makrovaskularna tromboza koja se može pojaviti kao plućna tromboembolija, kao duboka venska tromboza ili kao tromboza portalne vene. Budući da u kliničkoj praksi dajemo veći značaj abnormalnostima zgrušavanja koje potiču krvarenje, ove se komplikacija rjeđe dijagnosticiraju prije nego se razviju (4,19).

Sve više se u literaturi opisuje hemostatski „rebalans“ u cirozi jetre. Bolesnici s kroničnom bolešću jetre imaju abnormalnosti duž prokoagulantnog i antikoagulantnog puta (4). Iako rutinski hemostatski testovi, kao što su broj trombocita, protrombinsko vrijeme (PV), aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV) i međunarodni normalizirani omjer (INR), mogu ukazivati na sklonost krvarenju, različita su istraživanja pokazala da njihove vrijednosti nisu povezane i ne predviđaju rizik od tromboze ili krvarenja. Njihova učinkovitost i klinička korelacija su loši, osobito ako se uzme u obzir činjenica da trenutni laboratorijski testovi ne daju sveobuhvatan uvid u sustav koagulacije (20).

Sustav hemostaze bolesnika s cirozom je "uravnotežen" budući da promjene na jednom putu koagulacije uzrokuju kompenzacije promjene na drugom putu (vidi tablicu 1) (1,3). U cirozi jetre uobičajeno je pronaći trombocitopeniju i nedostatke u funkcijama trombocita (14), koji su nadoknađeni visokim razinama von Willebrandovog faktora (30) i smanjenom razinom proteaze (koja degradira ovaj čimbenik) (15). Rezultat toga je poboljšanje prianjanja trombocita što je dokazano in vitro ispitivanjem (15,14). Tripodi i njegovi suradnici pokazali su da je stvaranje trombina u bolesnika s cirozom normalno i da se ne razlikuje značajno od osoba bez poremećaja jetre, kada je broj trombocita između 50.000 i 60.000 trombocita po mililitru, iako je optimalna proizvodnja 100.000 trombocita ili više po mililitru (1,3).

Rezultati konvencionalnih testova slabo su povezani s početkom i trajanjem krvarenja nakon biopsije jetre ili drugih potencijalno hemoragičnih postupaka (8,15). Rezultati tih testova također slabo koreliraju s pojmom gastrointestinalnog krvarenja, prototipa hemoragičnih događaja u bolesnika s uznapredovalim stadijem bolesti jetre. Dodatni dokazi koji govore protiv kliničke važnosti koagulacijskih defekata otkrivenih konvencionalnim laboratorijskim pretragama pri određivanju sklonosti krvarenja kod ovih bolesnika mogu se izvući iz povijesti transplantacije jetre. U prošlosti je ovaj veliki kirurški zahvat zahtijevao masivne transfuzije plazme i drugih krvnih proizvoda kako bi se ispravile uočene abnormalnosti u testovima hemostaze (procjene koagulacije, trombocita i fibrinolize) napravljeni prije operacije. Potreba za transfuzijom je, međutim, s vremenom znatno opala, ne zbog neke značajne promjene u lijekovima, već zbog poboljšanih kirurških zahvata (1,15). Randomizirana klinička ispitivanja koja su uključivala bolesnike s kroničnom bolesti jetre pokazala su da snažni prokoagulansi, poput rekombinantnog aktiviranog faktora VII, ne uspijevaju kontrolirati krvarenje iz gornjeg probavnog trakta (12,13) ili krvarenje tijekom transplantacije jetre. Studije pokazuju da plazma bolesnika s cirozom stvara toliko trombina (konačni enzim koagulacije) kao i plazma zdravih ispitanika, pod uvjetom da se trombin mjeri metoda koje odražavaju djelovanje prokoagulansa i antikoagulansa (24). Proizvodnju trombina in vivo i in vitro regulira trombomodulin, transmembranski protein smješten na vaskularnim endotelnim stanicama koji djeluje kao glavni fiziološki aktivator proteina C (26). Plazma i reagensi koji se koriste za mjerjenje protrombinskog vremena ne sadrže trombomodulin. Sukladno tome, ovaj test mjeri količinu trombina koji se stvara u plazmi u funkciji pokretača prokoagulansa, ali ne i trombin koji inhibiraju pokretači antikoagulansa, osobito protein C, koji se u potpunosti ne aktivira u odsutnosti trombomodulina. Vjerojatno je i ovo razlog zašto test protrombinskog vremena i srodnii testovi uistinu ne predstavljaju ravnotežu koagulacije in vivo te su nedovoljni za procjenu rizika od krvarenja u tim stečenim stanjima, kao što su koagulopatije u bolesti jetre i neonatalne koagulopatije, u kojima postoji ravnoteža zbog istodobnog smanjenja prokoagulansa i antikoagulansa (2).

Bez sumnje, bolesnici s uznapredovalim stadijem bolesti jetre imaju izražene simptome krvarenja, osobito u gastrointestinalnom traktu. Ipak, evaluaciju te tendencije krvarenja samo na temelju abnormalnih razina konvencionalnih biomarkera koagulacije treba razmotriti s oprezom. Budući da su testovi koji se obično koriste za procjenu ravnoteže koagulacije usredotočeni na abnormalnosti prokoagulansa, ne pokazuju tu "ravnotežu" i ne bi se trebali smatrati korisnim alatima za predviđanje krvarenja ili drugih trombotičnih komplikacija. Iz tog razloga oni nisu prikladni alati za donošenje odluka za pacijente s cirozom jetre (6,17).

Kad se bolesnici procjenjuju pomoću testa stvaranja trombina, rezultati ne pokazuju hipokoagulabilnost. Objasnjenje sklonosti krvarenju trebalo bi potražiti u temeljnim stanjima poput portalne hipertenzije, endotelne disfunkcije, bakterijske infekcije i zatajenja bubrega (15).

Procjena hemostaze u bolesnika s kroničnom bolešću jetre na osnovi kliničkih zbivanja u različitim situacijama dovodi u pitanje tvrdnju da velika koagulopatija u tih bolesnika vodi dosljedno do krvarenja. U određenim okolnostima kao što je prisutna maligna bolest i operacija maligne bolesti rizik od tromboembolijskih događaja može biti veći od rizika krvarenja. Tromboza portalne vene ili drugo sijelo VTE ograničava mogućnosti liječenja

onkološkog bolesnika s cirozom te treba razmisliti o primarnoj prevenciji niskomolekularnim heparinom ili antagonistima vitamina K (20,15).

Protein C je protein ovisan o vitaminu K, pa bi liječenje antagonistima vitamina K moglo dodatno smanjiti razinu ovog prirodnog prisutnog antikoagulansa u bolesnika s cirozom jetre, povećavajući rizik od tromboze (1). Svakako treba razmotriti i ovu činjenicu, pogotovo kod uznapredovalog stadija jetrene bolesti. Noviji izravni inhibitori trombina i inhibitori faktora X (npr. Dabigatran, rivaroksaban i apiksaban) za razliku od antagonistia vitamina K ne smanjuju razinu proteina C, ne zahtijevaju praćenje, ne ovise o antitrombinu kao niskomolekularni heparini, međutim bolesnici s bolesti jetre nisu uključeni u studije za ispitivanje ovih lijekova.

Prema najnovijim smjernicama, antikoagulacijske mogućnosti koje se preporučuju za liječenje VTE-a povezano s rakom uključuju sheme s jednim lijekom (npr. LMWH ili DOAC-i) (monoterapija) i režime s više od jednog lijeka (npr. LMWH + DOAC-i) (kombinirana terapija). LMWH, UFH, fondaparinuks, rivaroksaban ili apiksaban mogu se koristiti za početnih 5 do 10 dana antikoagulacije u bolesnika s rakom s akutno dijagnostiranom VTE u odsutnosti teškog oštećenja bubrega. LMWH je preferiran u odnosu na druge. DOAC se mogu koristiti u bolesnika s rakom bez teškog oštećenja bubrega, gastrointestinalog ili genitourinarnog maligniteta ili rizika od krvarenja, prethodnih operacija tankog crijeva ili jakih interakcija između lijekova (23).

Relativni nedostatak oba pokretača koagulacijskog sustava čini ravnotežu krhkoum u bolesnika s jetrenom bolesti i može je dovesti do krvarenja ili tromboze, ovisno o prevladavajućim čimbenicima rizika. Bolesnike s kroničnom bolesti jetre, VTE i uz prisutnu malignu bolest treba liječiti antikoagulansima kao i svakog drugog bolesnika.

## LITERATURA

1. *Tripodi A, Primignani M, Mannucci PM.* Abnormalities of hemostasis and bleeding in chronic liver disease: the paradigm is challenged. *Intern Emerg Med* 2010;5(1): 7–12.
2. *Northup PG.* Hypercoagulation in liver disease. *Clin Liver Dis* 2009;13(1):109–16.
3. *Tripodi A.* The coagulopathy of chronic liver disease: is there a causal relationship with bleeding? *No. Eur J Intern Med* 2010;21(2): 65–9.
4. *Gomez K, McVey JH.* Tissue factor initiated blood coagulation. *Front Biosci* 2006;11:1349–59.
5. *Crawley JT, Zanardelli S, Chion CK, Lane DA.* The central role of thrombin in hemostasis. *J Thromb Haemost* 2007;5(Suppl 1): 95–101.
6. *Lisman T, Caldwell SH, Burroughs AK, Northup PG, Senzolo M, Stravitz RT i sur.* Hemostasis and thrombosis in patients with liver disease: the ups and downs. *J Hepatol* 2010;53(2):362–71.
7. *Tellez-Avila FI, Chavez-Tapia NC, Torre-Delgadillo A.* [Coagulation disorders in cirrhosis]. *Rev Invest Clin* 2007;59(2):153–60.
8. *Ewe K.* Bleeding after liver biopsy does not correlate with indices of peripheral coagulation. *Dig Dis Sci* 1981;26:388–93.
9. *Vieira da Rocha EC, D'Amico EA, Caldwell SH i sur.* A prospective study of conventional and expanded coagulation indices in predicting ulcer bleeding after variceal band ligation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:988–93.
10. *Bosch J, Thabut D, Bendtsen F i sur.* Recombinant factor VIIa for upper gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis: a randomized, double-blind trial. *Gastroenterology* 2004;127:1123–30.
11. *Bosch J, Thabut D, Albillas A i sur.* Recombinant factor VIIa for variceal bleeding in patients with advanced cirrhosis: a randomized, controlled trial. *Hepatology* 2008;47:1604–14.
12. *Lodge JP, Jonas S, Jones RM i sur.* Efficacy and safety of repeated perioperative doses of recombinant factor VIIa in liver transplantation. *Liver Transpl* 2005;11:973–9.
13. *Planinsic RM, van der Meer J, Testa G i sur.* Safety and efficacy of a single bolus administration of recombinant factor VIIa in liver transplantation due to chronic liver disease. *Liver Transpl* 2005;11:895–900.
14. *Giannini EG, Savarino V.* Thrombocytopenia in liver disease. *Curr Opin Hematol* 2008;15:473–80.
15. *Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V i sur.* An imbalance of pro- vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2009;137:2105–11.
16. *Garcia-Tsao G, Bosch J.* Management of varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *N Engl J Med* 2010;362:823–832[Erratum, N Engl J Med 2011;364:490.]
17. *Northup PG, McMahon MM, Ruhl AP i sur.* Coagulopathy does not fully protect hospitalized cirrhosis patients from peripheral venous thromboembolism. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1524–152.
18. *Sogaard KK, Horvath-Puhó E, Gronbaek H, Jepsen P, Vilstrup H, Sorensen HT.* Risk of venous thromboembolism in patients with liver disease: a nationwide population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2009;104:96–101.
19. *Saleh T, Matta F, Alali F, Stein PD.* Venous thromboembolism with chronic liver disease. *Am J Med* 2011;124:64–8.
20. *Aldawood A, Arabi Y, Aljumah A i sur.* The incidence of venous thromboembolism and practice of deep venous thrombosis prophylaxis in hospitalized cirrhotic patients. *Thromb J* 2011;9:1–1.
21. *Zocco MA, Di Stasio E, De Cristofaro R i sur.* Thrombotic risk factors in patients with liver cirrhosis: correlation with MELD scoring system and portal vein thrombosis development. *J Hepatol* 2009;51:682–9.
22. *Streiff MB, Holmstrom B, Angelini D, Ashrani A, Bockenstedt PL, Chesney C i sur.* NCCN guidelines insights: Cancer-associated venous thromboembolic disease, version 2.2018. *J Natl Compr Cancer Netw.* 2018;16(11):1289–303.

23. Key NS, Khorana AA, Kuderer NM, Bohlke K, Lee AYY, Arcelus JI i sur. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with Cancer: ASCO clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2020;38(5):496–520.
24. Tsoukalas N, Tsapakidis K, Galanopoulos M, Karamitrousis E, Kamposioras K, Tolia M. Real world data regarding the management of cancer-associated thrombosis. *Curr Opin Oncol.* 2020;32(4):289–94.
25. Hollestelle MJ, Geertzen HG, Straatsburg IH, van Gulik TM, van Mourik JA. Factor VIII expression in liver disease. *Thromb Haemost* 2004;91(2): 267–75.
26. Artiko V, Obradovic V, Petrovic M, Perisic M, Stojkovic M, Sobic-Saranovic D i sur. Hepatic radionuclide angiography and Doppler ultrasonography in the detection and assessment of vascular disturbances in the portal system. *Hepatogastroenterology* 2007; 54(75):892–7.

## PRIMJENA SREDNJIH DOZA NISKOMOLEKULARNIH HEPARINA ZA PREVENCIJU TROMBOEMBOLIJA U COVID-19 BOLESNIKA

BOŠNJAK B.<sup>1</sup>, Samardžija M.<sup>1</sup>, Major Radin A.<sup>1</sup>, Mitka A.<sup>1</sup>, Vidović S.<sup>1</sup>, Perković D.<sup>1</sup>, Brkić Barbarić D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Osijek

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Od početka pandemije uočena je visoka učestalost tromboembolija u pacijenata hospitaliziranih radi COVID-19. Stručna javnost je odmah prihvatile potrebu primjene tromboprofilakse u svih hospitaliziranih bolesnika. I nadalje je otvoreno pitanje doziranja niskomolekularnih heparina (NMH) u prevenciji tromboembolizma i smrtnosti.

**Cilj:** Ispitati učinkovitost i sigurnost tromboprofilakse srednjim dozama NMH u COVID-19 bolesnika sa srednje teškom i teškom bolesti.

**Ispitanici i metode:** Retrospektivnom analizom obuhvaćeno je 98 pacijenata koji su liječeni prema internom algoritmu tromboprofilakse za COVID-19 bolesnike. Za bolesnike sa srednje teškim i teškim oblikom bolesti predviđeno je korištenje srednjih doza NMH. Kada se koristio enoksaparin, standardna profilaktička doza podrazumijevala je 20, 40, 60 mg za pacijente tjelesne mase <50, 50–90, >90 kg. Terapijska doza je 1 mg/kg/2x dnevno. Doze između ovih predstavljaju srednje profilaktičke doze. U slučaju težeg bubrežnog zatajenja i povećanih rizika krvarenja doze su u svakoj kategoriji bile reducirane za 25–50%. U slučaju korištenja drugog NMH doze su ekvivalentno prilagođene. Primarna mjera ishoda je pojava tromboembolijskog događaja u arterijskoj ili venskoj cirkulaciji te diseminirano. Sekundarni ishodi su pojava krvarenja i smrt bilo kojeg uzroka.

**Rezultati:** Istraživanje je provedeno na 98 ispitanika, od kojih je 55 (56,1 %) muškaraca i 43 (43,9 %) žena, bez značajne razlike u raspodjeli prema težini bolesti. Od ukupno 88 (89,8 %) ispitanika starijih od 50 godina, njih 59 (95,2 %) ima teški oblik COVID-19 (Fisherov egzaktni test, P = 0,04). Nema značajne razlike u tromboembolijskim događajima u odnosu na težinu COVID-19 (Tablica 1).

TABLICA 1.

	Broj (%) ispitanika prema težini COVID-19			P*
	Srednje teški oblik	Teški oblik	Ukupno	
	(n = 36)	(n = 62)	(n = 98)	
Spol				
Muškarci	17 (47,2)	38 (61,3)	55 (56,1)	0,21
Žene	19 (52,8)	24 (38,7)	43 (43,9)	
Dob				
≤ 50 godina	7 (19,4)	3 (4,8)	10 (10,2)	0,04
> 50 godina	29 (80,6)	59 (95,2)	88 (89,8)	
Duboka venska tromboza	1 (2,8)	0	1 (1)	0,37
ICV/IM	0	1 (1,6)	1 (1)	> 0,99
DIK	0	3 (4,8)	3 (3,1)	0,3

\*Fisherov egzaktni test

Od 98 ispitanika njih 9 (9,2 %) je primalo profilaktičku dozu NMH, 60 (61,2 %) je primalo srednju dozu, a na terapijskoj dozi NMH bilo je 29 (29,6 %) ispitanika. Ukupno se bilježi 5 (5 %) trombotičkih nuspojava, po 1 (1 %) ispitanik s dubokom venskom trombozom i moždanim udarom, dok ih je 3 (3,1 %) imalo DIK, bez značajne razlike u raspodjeli u odnosu na razinu tromboprofilakse. Niti jedan ispitanik nije imao plućnu emboliju niti ostale arterijske tromboze. S obzirom na prisutna krvarenja, blaga krvarenja su značajnije prisutna kod ispitanika na terapijskoj dozi, kod 4 (13,8 %) ispitanika (Fisherov egzaktni test,  $P = 0,01$ ). Ozbiljno ali ne ugrožavajuće krvarenje imao je jedan ispitanik na profilaktičkoj dozi. Ukupno je 26 (26,5 %) pacijenata umrlo, nešto manje kod primjene srednjih doza, no razlike u raspodjeli, iako postoje, nisu statistički značajne (Tablica 2).

TABLICA 2.

	Broj (%) ispitanika				P*
	Profilaktičke doze	Srednje doze	Terapijske doze	Ukupno	
	(n = 9)	(n = 60)	(n = 29)	(n = 98)	
Duboka venska tromboza	1 (11,1)	0	0	1 (1)	0,09
ICV/IM	1 (11,1)	0	0	1 (1)	0,09
DIK	0	0	3 (10,3)	3 (3,1)	0,07
Krvarenja					
Blaga	0	0	4 (13,8)	4 (4,1)	0,01
Ozbiljna	1 (11,1)	0	0	1 (1)	0,09
Smrtni ishod					
Ne	5 (55,6)	49 (81,7)	18 (62,1)	72 (73,5)	0,06
Da	4 (44,4)	11 (18,3)	11 (37,9)	26 (26,5)	

\*Fisherov egzaktni test

**Zaključak:** Ukupno mali broj ispitanika ne dopušta nam zaključivati o utjecaju intenziviranja tromboprofilakse na pojavnost tromboembolija i smrtnost, te je istraživanje potrebno napraviti na više ispitanika.

## IZAZOV U LIJEĆENJU TROMBOEMBOLIZMA KOD PACIJENATA S NASLJEDNOM HIPODISFIRINOGENEMIJOM – ISKUSTVA KBC OSIJEK

PERKOVIĆ D.<sup>1</sup>, Brkić Barbarić D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Osijek

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Urođeni nedostatak ili poremećaj funkcije fibrinogena je rijedak koagulacijski poremećaj. Klasificira se kao kvantitativni i kvalitativni oblik. Kvintitativni oblik podrazumijeva hipofibrinogenemiju i afibrinogenemiju, a karakteriziran je smanjenom razinom ili potpunim nedostatkom fibrinogena. Kvalitativni oblik definira se kao disfibrinogenemija, a karakteriziran je normalnom razinom disfunkcionalnog fibrinogena ili hipodisfibrinogenemija, koji je karakteriziran sniženom razinom disfunkcionalnog fibrinogena.

Fibrinogen je glikoprotein veličine 340 kD, građen je od 3 polipeptidna lanca A-α, B-β i γ, a ima ključnu ulogu u prokoagulantnom i fibrinolitičkom putu (4). Sintezu fibrinogena kodiraju 3 gena (FGA, FGB, FGG), koji se nalaze na četvrtom kromosomu (4q).

Mehanizam nastanka tromboze kod nasljedne hipodisfibrinogenemije nije u potpunosti razjašnjen. Prema jednoj hipotezi zbog nedostatka/disfunkcije fibrinogena dolazi do povećane koncentracije slobodnog trombina u cirkulaciji, koji zatim uzrokuje pojačanu aktivaciju trombocita, te izostaje kompetitivna inhibicija agregacije trombocita slobodnim fibrinogenom.

**Prikaz slučaja:** Pacijentica (68 godina) hospitalizirana 01.05. 2021. na Zavod za kardiologiju radi neprovirane duboke venske tromboze desne noge. U lab.nalazima po prijemu evidentirana je snižena razina fibrino-

gena (<0.3 g/L) uz produljen PV (0.26, 2.38 INR) i povišene D-dimere (6543 ug/L FEU). Nakon supstitucije krioprecipitatom započeto je liječenje terapijskim dozama NMH. Četrnaest dana po otpustu u terapiju je uveden oralni antikoagulans-rivaroksaban a 20 mg 1x dnevno. Dosadašnja antikoagulantna terapija nije komplikirana krvarenjem.

Dodatnom obradom sustava hemostaze pacijentici je isključena nasljedna trombofilija i antifosfolipidni sindrom.

Iz osobne anamneze: imala je dvije uredne trudnoće i dva operacijska zahvata, nakon kojih nije pojačano krvarenje. Unazad nekoliko godina poznat kolitis uz polipozu kolona.

Iz obiteljske anamneze: sinu (30 godina) tijekom prijeoperacijske obrade tumora testisa verificirana hipodisfibrinogenemija.

**Rasprrava:** Klinička slika pacijenata sa nasljednom hipodisfibrinogenemijom prema istraživanju Casini i sur. varira od asimptomatskih slučajeva (22%) preko sklonosti krvarenju (45%) do paradoksalno tromboembolijskih incidenata(43%) (1). Asimptomatski slučajevi se najčešće dijagnosticiraju tijekom pripreme za operacijski zahvat ili tijekom rutinskih kontrola. Laboratorijska dijagnostika osim fibrinogena u plazmi (koagulacijska metoda) i fibrinogen antigena (imunohistokemijska metoda) uključuje i određivanje kompletnog koagulograma: protrombinskog vremena, trombinskog vremena, aktivnog parcijalnog protrombinskog vremena, te broja trombocita. Na nasljednu hipodisfibrinogenemiju ukazuje niska razina fibrinogena u plazmi i niska razina fibrinogen antigena (omjer funkcija/antigen<0.7).

Za konačnu potvrdu hipodisfibrinogenemije potrebno je genetičko testiranje mutacija gena za fibrinogen.

Dosad su identificirane 32 mutacije u tri gena koja kodiraju za fibrinogen; 10 (31%) u FGA genu, 5 (16%) u FGB genu i 17(53%) u FGG genu. Određene mutacije gena za fibrinogen su povezane sa sklonošću arterijskim i venskim trombotskim incidentima (Dusart, Caracas, Ijmuden, NewYork, Napulj).

Krvarenje kod pacijenta sa hipodisfibrinogenemijom je u najvećim slučajevima blago. Sklonošću krvarenju su najviše pogodene žene generativne dobi (opstetričke komplikacije) i pacijenti sa pridruženim drugim koagulopatijama uključujući hemofilijske i trombocitopatije.

Prikazana pacijentica je član jedne od dvije obitelji na području istočne Hrvatske kod kojih je više članova razvilo tromboembolijske komplikacije. Kod ukupno osam članova iz obje obitelji dijagnosticirana je hipodisfibrinogenemija. (Tablica 1)

TABLICA 1.

	Fbg/Akt Ref. vrijed. (1,8–4,4 g/L)	Fbg/Ag Ref. vrijed. (1,8–3,5 g/L)	KOMPLIKACIJE KRVARENJA	TROMBOEMBOLIJSKE KOMPLIKACIJE	ANTIKOAGULANTNA TERAPIJA
<b>1. OBITELJ</b>					
PACIJENTICA (1953.)	1,0, najniže 0,3	–	NE	DVT phemoropoplitealis (5/2021.)	Rivaroksaban a 20 mg 1x dnevno
SIN (1991.)	0,6	1,3	NE	NE	
<b>2. OBITELJ</b>					
PACIJENTICA (1948.)	0,7		NE	DVT cruris recidivans (2004., 2019.)	2004, varfarin/6 mj., 2019. rivaroksaban a 20mg 1x dnevno /1.5 god., potom apiksaban 2.5 mg 2x dnevno.
KĆER (1975.)	–	–	NE	NE	
BRAT (1957.)	0,6			DVT cruris	Rivaroksaban a 20 mg 1x dnevno
NEĆAK (1981.)	0,6	1,4		DVT cruris recidivans (2001., 2015.)	Apiksaban a 2.5 mg 2x dnevno
NEĆAK (1988.)	0,6	1,3		NE	
NEĆAK (1997.)	0,6	1,2		NE	

**Zaključak:** U našim kliničkim slučajevima u liječenju duboke venske tromboze kod pacijenata sa hipodisfibrinogenemijom odabrali smo antikoagulante iz skupine DOAC-a (rivaroksaban i apiksaban). U liječenju smo koristili puno terapijske doze navedenih lijekova, te prema našem iskustvu nisu zabilježene značajnije komplikacije krvarenjem.

Prema istraživanjima kod pacijenata sa hipodisfibrinogenemijom, koji su razvili tromboembolijski incident indicirana je dugotrajna antikoagulantna terapija.

S obzirom na primjenu antikoagulantne terapije u koagulopatiji, koja se može prezentirati i krvarenjem, takvi pacijenti zahtijevaju redovite kontrole i dugotrajno praćenje.

## TESTIRANJE ANTIHEPARINSKIH PROTUTIJELA U BOLESNIKA NA IZVANTJELESNOJ MEMBRANSKOJ OKSIGENACIJI

GOJČETA K.<sup>1</sup>, Tomac G.<sup>1</sup>, Rimac V.<sup>1</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Bojančić I.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Izvantjelesna membranska oksigenacija (engl. *Extracorporeal Membrane Oxygenation, ECMO*) postupak je izvantjelesne mehaničke cirkulacijske ili respiracijske potpore kod bolesnika sa životno ugrožavajućim oblicima zatajivanja srca ili pluća. Za bolesnike na ECMO-u važno je sprječavanje zgrušavanja krvi u uređaju radi održanja protoka krvi i izmjene plinova. Dodatni rizik je kontakt bolesnikove krvi s umjetnim površinama što pogoduje pokretanju koagulacijske kaskade. Smjernice preporučuju kontinuiranu primjenu nefrakcioniranog heparina što u bolesnika može izazvati heparinom uzrokovano trombocitopeniju (engl. *Heparin-induced thrombocytopenia, HIT*) kao tešku imunosno posredovanu nuspojavu primjene lijeka. HIT je uzrokovana protutijelima koja su usmjerena na kompleks heparina i trombocitnog faktora 4 (engl. *platelet factor 4, PF4*).

**Cilj:** Budući da se u bolesnika na ECMO-u standardno primjenjuje heparin radi sprječavanja zgrušavanja krvi, oni imaju povećan rizik za razvoj HIT-a. Cilj ove studije je utvrditi učestalosti antiheparinskih protutijela u bolesnika na ECMO-u.

**Materijali i metode:** Studija je provedena u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od siječnja 2018. do rujna 2021. godine. Uključeni su bili odrasli kardiološki bolesnici na ECMO-u u kojih je postavljena sumnja na HIT. Za sve bolesnike napravljena je procjena vjerojatnosti HIT-a prema sustavu bodovanja 4T zbroj (engl. *T4 score*) prema kojem su bolesnici podijeljeni u 3 skupine: skupina 1 – bolesnici s malenom (zbroj  $\leq 3$ ), skupina 2 – umjerenom (zbroj 4–5) i skupina 3 – velikom (zbroj 6–8) vjerojatnošću za HIT. Svim bolesnicima učinjeno je određivanje antiheparinskih protutijela ELISA testom (IgG anti-heparin/PF4 antibody-based ELISA, LIFE CODES; Immucor, USA). Test je pozitivan ako je izmjerena optička gustoća (engl. *optical density, OD*)  $>0,400$ . Prema OD bolesnici su podijeljeni u skupinu malog rizika trombogenih komplikacija i HIT-a (OD od 0,400 do 0,999) i skupinu visokog rizika (OD  $>1,000$ ). Svim pozitivnim bolesnicima napravljen je funkcionalni test protočnom citometrijom kojim se mjeri aktivacija trombocita. Ako je izmjereno više od 10% CD62 pozitivnih trombocita u populaciji CD41 pozitivnih stanica pri niskoj koncentraciji heparina i  $\geq 50\%$  inhibicije trombocitne aktivacije pri visokoj koncentraciji heparina smatra se pozitivnim.

**Rezultati:** U studiju su bila uključena 62 kardiološka bolesnika na ECMO-u od kojih je 59 (95%) bilo na vensko-arterijskom uređaju, a 3 (5%) na vensko-venskom. Medijan dana na ECMO-u bio je 8,5 dana (2–51). Muškaraca je bilo 74%, a žena 26%. Medijan dobi ispitivane populacije bio je 63 (raspon 21–81) godine. Prema 4T zbroju 23 (37%) bolesnika su bila u skupini 1, 38 (61%) u skupini 2 i 1 (2%) u skupini 3. Medijan broja trombocita na dan testiranja bio je  $55 \times 10^9/L$  (raspon 15–250  $\times 10^9/L$ ).

Antiheparinska protutijela ELISA testom dokazana su u 9/62 (15%) bolesnika, od kojih je jedan prema 4T zbroju bio u skupini 1, a 8 u skupini 2. Od svih pozitivnih bolesnika, 3 ih je imalo  $OD < 1.000$ , a 6  $OD > 1.000$ . U 2 bolesnika s  $OD 0,429$  i  $OD 0,668$  nije zamijenjen heparin s fondaparinuxom. Funkcionalni test bio je pozitivan u 3/9 bolesnika s  $OD > 1$ , svi prema 4T zbroju iz skupine 2. Umrlo je 4/9 bolesnika; oba u kojih nije ukinuta terapija heparinom, a niti jedan iz skupine s pozitivnim funkcijanskim testom.

Zanimljivo je da bolesniku iz skupine 3 prema 4T zbroju nisu dokazana antiheparinska protutijela ELISA testom.

**Zaključak:** Učestalost antiheparinskih protutijela u bolesnika na ECMO-u u našoj studiji odgovara podacima iz literature. Funkcijski test je bio pozitivan samo u bolesnika s OD>1,000 s pozitivnom prediktivnom vrijednosti testa 50% pa kao i drugi autori predlažemo da se razmotri podizanje granične vrijednosti za ELISA test. Klinički sustav bodovanja za vjerojatnost HIT-a u ovoj skupini bolesnika nije korelirao s laboratorijskim rezultatima na što su upozorila i druga istraživanja. U skladu s time treba razmotriti uvođenje osjetljivijih kliničkih sustava bodovanja za vjerojatnost HIT-a za bolesnike na ECMO-u.

## VTE DURING CHEMOTHERAPY – WHEN TO SUSPECT AND WHEN TO PROTECT?

SKOKO M.<sup>1</sup>, Vučemilo T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Center Sestre Milosrdnice

• Department for transfusion and regenerative medicine

**Introduction:** Patients with cancer have an increased risk of both arterial and venous thrombotic events compared with the general population. Chemotherapeutic agents contribute to that risk. Anticancer agents may damage the endothelium, decrease anticoagulants or increase procoagulants leading to activation of coagulation, or activate platelets. The incidence rate of arterial thromboembolism (ATE) and venous thromboembolism (VTE) in patients with cancer is estimated to be 2% to 5% and 4% to 20%, respectively.

**Methods:** We reviewed profile of 35 patients who were treated with chemotherapy at the University hospital for Tumors from April 2020. until August 2021. and during that treatment clinically suspected for DVT. They were all clinically presented with unilateral swelling of an arm or a leg during chemotherapy. We reviewed and compared next data: the age, sex, type of tumor, type of chemotherapy, level of DD, Doppler results and Khorana score prior a chemotherapy treatment.

**Results:** Mean age was 64,4. There were 63% female patients and 27% male. Doppler confirmed 15 deep vein thrombosis (dvt) events, and 18 patient were diagnosed as no dvt. Mean value of the DD in patients with DVT was 7,5, from 1,4 mg/L to 26mg/L, and in group without dvt the mean value was 2,4, from 0,35 do 7,6. 28% patients were classified as Khorana score 2 but only 42% percent of them developed dvt, same percent of confirmed dvts among Khorana 0 risk patients. 65% of patients who were confirmed with dvt were treated for colorectal carcinoma. 46% were receiving capecitabine, and 23% received immunotherapy with classic oral chemotherapy.

**Conclusion:** After clinical suspicion of dvt the levels of DD in most cancer patients were increased. Significant difference was shown among confirmed and unconfirmed dvt patients. Levels of DD in patients with no signs of dvt were also elevated, like previously studied by Jing Yu and al. It is suggested that the current D-dimer reference range is unsuitable for cancer patients, which limits the application of D-dimer testing in laboratory diagnosis and the prevention of tumor venous thrombosis and venous thromboembolism (VTE). Most of the cancer patient on chemotherapy have increased level of D-dimers. Diluted tests for D-dimers help to differentiate high-risk patients but the imaging diagnostic test are necessary for the confirmation.

Khorana score in most patients who developed dvt was 0. That rise the question of periodic evaluation of risk factors for dvt in patient receiving chemotherapy. Individual evaluation is necessary for including prophylaxis at the right time using available applications like ISTH app for treatment and prophylaxis of VTE in cancer patients (<https://www.itaccme.com/>).

When to suspect – cancer patient receiving chemotherapy with unilateral swelling of a lower or upper limb, pain is usually absent, D-dimer in diluted range, usually over 5mg/L.

When to protect – periodical evaluation during chemotherapy. Clinical symptoms, stage of disease, type of therapy, D-dimer level and, if needed, Doppler ultrasound imaging.

**Keywords:** chemotherapy, D-dimer (DD), venous thromboembolism (VTE)

## USPOREDBA METODE IMUNOFLUORESCENCIJE (PSIFT-M) I METODE VEZANJA TROMBOCITNIH ANTIGENA POMOĆU MONOKLONSKIH PROTUTIJELA (MAIPA-EIA) ZA ODREĐIVANJE ANTITROMBOCITNIH AUTOPROTUTIJELA U BOLESNIKA S IMUNOM TROMBOCITOPENIJOM (ITP)

NOVOSEL M.<sup>1</sup>, Brkić N.<sup>2</sup>, Kajfeš M.<sup>1</sup>, Kovačević M.<sup>1</sup>, Mitrović Z.<sup>3</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>4</sup>, Jagnjić S.<sup>5</sup>, Tomičić M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>HZTM

- Odjel za dijagnostiku trombocita, leukocita i hemostazu

<sup>2</sup>Opća županijska bolnica Vinkovci

- Odjel za transfuziju

<sup>3</sup>Klinička bolnica Dubrava

- Odjel za hematologiju

<sup>4</sup>HZTM

- Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>5</sup>HZTM

- Odjel za dijagnostiku krvlju prenosivih bolesti

**Uvod:** Imuna trombocitopenija (ITP) je imunološki posredovan smanjen broj trombocita u krvi bolesnika. Prema međunarodnim preporukama za dijagnostiku i liječenje ITP-a, na bolest se treba posumnjati kada je vrijednost broja trombocita  $\leq 100 \times 10^9/L$ , bez drugih poznatih razloga za trombocitopeniju. Laboratorijsko ispitivanje prisutnosti antitrombocitnih autotutijela, vezanih na trombocite i slobodnih u plazmi ispitanika, metodom vezanja trombocitnih antigena pomoću monoklonskih protutijela (MAIPA), može doprinijeti konačnom postavljanju dijagnoze ITP-a.

**Cilj:** Cilj ovog ispitivanja je retrospektivno analizirati i usporediti rezultate određivanja antitrombocitnih autotutijela IgG razreda kod bolesnika sa ITP-om pomoću dvije metode (imunofluorescencija i MAIPA). Prema rezultatima određivanja glikoproteinske specifičnosti autotutijela odabrati monoklonska protutijela za rutinsku primjenu u MAIPA testu.

**Materijal i metode:** U razdoblju od početka 2011. godine do ožujka 2020. godine u Odjelu za dijagnostiku trombocita, leukocita i hemostazu Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu, učinjeno određivanje antitrombocitnih autotutijela (ATA) za 88 bolesnika sa dijagnozom ITP-a, upućenih iz Zavoda za hematologiju KB Dubrava, Zagreb. Raspon broja trombocita u krvi bolesnika tijekom liječenja bio je od 0 do  $122 \times 10^9/L$ .

Uzorci krvi ispitanika: po 2 epruvete od 6 mL s antikoagulansom EDTA za svakog bolesnika.

U svim uzorcima krvi određen je broj trombocita na hematološkom brojaču stanica KXN21, Sysmex i određena ATA.

ATA su određena primjenom dvije metode. Metoda I bila je manualni test imunofluorescencije (PSIFT-M), direktni (DT) i indirektni test (IT), mod. prema von dem Borne-u. Metoda II bila je enzimsko-imunološki test s monoklonskim protutijelima, usmjerenim na trombocitne glikoproteinske komplekse (MAIPA-EIA, GPIIb/IIIa i GPIb/IX), DT i IT, mod. prema Kiefel-u. Od siječnja 2011. do rujna 2017. godine, metoda za dokazivanje ATA bila je metoda I (55 bolesnika). Od listopada 2017. godine ona je zamijenjena Metodom II (33 bolesnika). Rezultat testa za ATA izviješten je kao pozitivan ako je DT i/ili IT bio pozitivan. Rezultat testa za ATA bio je negativan ako je DT i IT bio negativan, ili je IT bio negativan, a DT nije učinjen. MAIPA-EIA (DT i/ili IT) test može biti pozitivan sa oba ili jednim monoklonskim protutijelom: anti-CD41a (GPIIb/IIIa), anti-CD42a (GPIb/IX).

**Rezultati:** Test za ATA učinjen je za 88 bolesnika. U 55 od 88 (62%) bolesnika izveden je metodom I (PSIFT-M, DT, IT), a u 33 od 88 (38%) metodom II (MAIPA-EIA, DT, IT).

Test za ATA izведен metodom I (PSIFT-M, DT, IT) bio je pozitivan u 19 od 55 (35%) bolesnika, a metodom II (MAIPA-EIA, DT, IT) u 25 od 33 (76%) bolesnika s ITP-om.

Srednja vrijednost broja trombocita u skupini ispitanika kod kojih su dokazana ATA metodom PSIFT-M bila je  $34 \times 10^9/L$ , a u skupini ispitanika čiji su uzorci testirani metodom MAIPA-EIA bio je  $35 \times 10^9/L$ . Rezultati pokazuju značajno veću osjetljivost MAIPA-EIA metode.

Rezultati pozitivnog MAIPA-EIA testa (direktnog i/ ili indirektnog) u 25 bolesnika, prema trombocitnoj glikoproteinskoj specifičnosti za oba primjenjena monoklonska protutijela; anti-CD41a (GPIIb/IIIa) i anti-CD42a (GPIb/IX) prikazani su u Tablici 1.

**TABLICA 1. RASPODJELA ISPITANIKA PREMA GLIKOPROTEINSKOJ SPECIFIČNOSTI AUTOPROTUTIJELA DOKAZANIH U MAIPA METODI (DT I/ILI IT) (N=25)**

Rezultat MAIPA-EIA testa:	IT	Broj ispitanika
DT +		
MAIPA-DT pozitivan s	MAIPA-IT pozitivan s	
GPIIb/IIIa, GPIb/IX	GPIIb/IIIa, GPIb/IX	2
GPIIb/IIIa, GPIb/IX	GPIIb/IIIa	2
GPIIb/IIIa	GPIIb/IIIa	1
GPIb/IX	GPIb/IX	1
GPIIb/IIIa; GPIb/IX	MAIPA-IT negativan	7
GPIIa/IIIb	negativan	4
GPIb/IX	negativan	4
MAIPA-DT negativan	MAIPA-IT pozitivan s	
negativan	GPIIb/IIIa	3
negativan	GPIb/IX	1
Ukupno		25

MAIPA-EIA=Test vezanja trombocitnih antigena pomoću monoklonskih protutijela; EIA=enzimski imunološki eseji, DT=direktni test; IT-indirektni test; GP=trombocitni glikoproteinski kompleks IIb/IIIa i Ib/IX- trombocitni glikoproteinski kompleks Ib/IX

U 19 od 25 (76%) ispitanika test MAIPA-EIA bio je pozitivan s monoklonskim protutijelom na GPIIb/IIIa, a samo s GPIb/IX bio je pozitivan u 6 od 25 (24%).

Oba monoklonska protutijela, anti-CD41 i anti-CD42a, pokazala su zadovoljavajuću specifičnost.

**Zaključak:** Test za određivanje antitrombocitnih autoprotutijela IgG razreda (ATA) izveden metodom I (PSIFT-M, DT, IT) bio je pozitivan u 19 od 55 (35%) bolesnika, a metodom II (MAIPA-EIA, DT, IT) u 25 od 33 (76%) bolesnika s ITP-om. Metoda MAIPA izvedena kao direktni i indirektni test, u usporedbi s metodom PSIFT-M, pokazala je značajno veću osjetljivost. Ona omogućuje i određivanje glikoproteinske specifičnosti autoprotutijela. Oba monoklonska protutijela, anti-CD41a (GPIIb/IIIa) i anti-CD42a (GPIb/IX), zadovoljavajuće su specifičnosti i mogu se koristiti u rutinskoj primjeni.

## Simpozij 5 – Imunohematologija

# SEROLOŠKE KARAKTERISTIKE AUTOPROTUTIJELA I DIJAGNOSTIKA AUTOIMUNOSNE HEMOLITIČKE ANEMIJE

RAOS M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

### Uvod

Autoimunosna hemolitička anemija (AIHA) je rijetka autoimunosna bolest karakterizirana hemolizom povezanom s prisustvom imunoglobulina (Ig) G, IgM ili IgA i/ili komponenata komplementa sustava na eritrocitima bolesnika. Učestalost AIHA-e procjenjuje se od 1 do 3 na 100 000 stanovnika godišnje. Mehanizmi koji su uključeni u razvoj AIHA-e nisu u potpunosti poznati<sup>1</sup>.

Prema serološkim karakteristikama autotutijela, može podijeliti na topnu (65% do 70%), hladnu (20% do 25%) i miješanu (8%) AIHA-u (**tablica 1**). Klasično, topnu AIHA-u karakterizira prisustvo IgG na eritrocitima bolesnika i/ili u serumu koji reagira u indirektnom antiglobulinskom testu (IAT), a hladnu AIHA-u karakterizira prisutnost C3d na eritrocitima bolesnika te IgM autotutijela u visokom titru na 4°C (> 64) i/ili temperaturnom rasponu od 30°C ili većim u serumu bolesnika. Međutim, svi slučajevi AIHA-e se ne uklapaju u ove kategorije. Hladna AIHA se može podijeliti na bolest hladnih aglutinina uzrokovana hladnim IgM autotutijelima (eng. Cold Agglutinin Disease, CAD) i parkosizmalna hladna hemoglobinurija (eng. Paroxysmal Cold Haemoglobinuria, PCH) uzrokovana bifazičnim IgG autotutijelima. Klinički, AIHA može biti primarna (50%) ili sekundarna, najčešće u sklopu limfoproliferativnih poremećaja (20%), autoimune bolesti (20%), tumora i infekcija (**tablica 2**)<sup>2</sup>.

TABLICA 1. SEROLOŠKE KARAKTERISTIKE AUTOPROTUTIJELA U BOLESNIKA S AUTOIMUNOM HEMOLITIČKOM ANEMIJOM

	Topla AIHA	CAD CAS	PCH	Miješana AIHA
Ig	IgG	IgM	IgG	IgG+IgM
DAT poly	+	+	+	+
DAT mono anti-IgG	+	-	-	+
DAT mono anti-C3d	+ ili -	+	+	+
IAT	+	-	-	+
Eluat	+	-	-	+
Temperaturni raspon	Optimalno na 37°C	Optimalno na 4°C	Bifazično 4°C→37°C	Obično ≥30°C
Titar protutijela	Nije primjenjivo	≥64	<64	≥64 (<64)
Specifičnost protutijela	Polispecifično Rh/ostali	I/i	P	Polispecifično Rh/ostali, I/i

CAD (eng. Cold Agglutinin Disease), bolest hladnih aglutinina; CAS (eng. Cold Agglutinin Syndrome), sindrom hladnih algutinina; PCH (eng. Paroxysmal Cold Haemoglobinuria), parkosizmalna hladna hemoglobinurija; Ig, immunoglobulin; DAT poly, polispecifični direktni antiglobulinski test; DAT mono, monospecifični direktni antiglobulinski test; IAT, indirektni antiglobulinski test

Osnovni test za dijagnostiku AIHA-e je direktni antiglobulinski test (DAT), kojim se primjenom polispecifičnog antihumanog gamaglobulina (AHG) otkrivaju na eritrocite vezana IgG protutijela i/ili aktivirane komponente komplementa. Primjenom monospecifičnog antihumanog gamaglobulina otkrivaju se na eritrocite vezani IgG, IgM, IgA i C3d/C3c komponente komplementa. Nužno je naglasiti da negativan DAT, ukoliko su prisutni znakovi hemolize, ne isključuje AIHA-u. U tom slučaju potrebno je prethodno isključiti ostale nasljedne i stecene uzroke hemolize.

DAT nije specifičan test za AIHA-u, već može biti pozitivan uslijed nekih stanja i bolesti (maligne bolesti, autoimunosne bolesti, infekcije, bolesti jetre i bubrega), kao posljedica liječenja imunoglobulinima (intravenski gamaglobulini, Rh imuni gamaglobulini, antitimocitni globulini), a može se raditi i o aloprotutijelima u nedavno

TABLICA 2. PODJELA AUTOIMUNOSNIH HEMOLITIČKIH ANEMIJA

<b>Toplo reaktivno autoprotutijelo</b>
– Primarna topla AIHA
– Sekundarna topla AIHA
– maligna bolest (CLI, limfom, solidni organ), infekcija (HCV, HIV, CMV, VZV), autoimmune bolesti (SLE, RA, PBC, ulcerozni kolitis), imunodeficijencije (CVID), stanje nakon transplantacije
<b>Hladno reaktivno autoprotutijelo</b>
<i>a) Posredovano hladnim aglutinimima</i>
– Primarna bolest hladnih aglutinina (Cold Agglutinin Disease, CAD)
– Sekundarni sindrom hladnih aglutinina (Cold Agglutinin Syndrome, CAS)
– maligna bolest (CLI, limfom, solidni organ) infekcija ( <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , virusne infekcije – IM, EBV, CMV, HCV, HIV, VZV, Rubella virus, Parvo B19), autoimmune bolesti
<i>b) Posredovano hladnim hemolizinima</i>
– Primarna paroksizmalna hladna hemoglobinurija (Paroxysmal Cold Haemoglobinuria, PCH)
– Sekundarna paroksizmalna hladna hemoglobinurija (Paroxysmal Cold Haemoglobinuria, PCH)
– infekcija (Influenza, CMV, IM, Adenovirus, VZV, Morbilli virus, Mumps virus, <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenza</i> , <i>E. coli</i> )
<b>Miješana hladno i toplo reaktivna autoprotutijela</b>
– Primarna miješana AIHA
– Sekundarna miješana AIHA
– maligna bolest (limfom), autoimmune bolesti (SLE), infekcija

CLL, kronična limfocitna leukemija; CMV, citomegalovirus; CVID, obična varijabilna immunodeficijencija; EBV, Epstein Barr virus; HCV, virus hepatitis C; HIV, virus humane imunodeficijencije; VZV, varicella zoster virus; IM, infekcione mononukleozna; PBC, primarna biljarna ciroza; RA, reumatoidni artritis; SLE, sistemski lupus eritematodes

transfundiranih pacijenata kod odgođene hemolitičke transfuzijske reakcije (engl. Delayed Haemolytic Transfusion Reaction, DHTR), u pacijenata nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica zbog prenešenih limfocita darivatelja (engl. Lymphocyte Passinger Syndrome, LPS) i u novorođenčadi kod hemolitičke bolesti novorođenčadi (eng. Haemolytic Disease of the Foetus and Newborn, HDFN)<sup>3</sup>.

Indirektnim antiglobulinskim testom (IAT) se otkrivaju u plazmi prisutna slobodna IgG protutijela. U otprije jedne trećine pacijenata uz autoprotutijela, prisutna su i aloprotutijela, koja ukoliko ostanu neotkrivena, mogu uzrokovati hemolitičku transfuzijsku reakciju (eng. Haemolytic Transfusion Reaction, HTR). Specifičnim i vrlo kompleksnim metodama imunohematološkog ispitivanja, posebice metodama adsorpcije i određivanjem ertrocitnih antigena fenotipiranjem, odnosno genotipiranjem eritocitnih sustava krvnih grupa, moguće je razlikovati prisutna aloprotutijela od autoprotutijela.

Za dijagnostiku hladnih AIHA-a potrebno je napraviti titar i temperturni raspon IgM protutijela (4°C, 20°C, 30°C i 37°C) ili Donath-Landsteinerov test za otkrivanje bifazičnih IgG protutijela (prvo inkubacija na 0°C, potom na 37°C).

Ostale pretrage uključuju krvnu sliku (snižene vrijednosti hemoglobina uz povišen broj retikulocita, kao znak povećanog stvaranja eritrocita u koštanoj srži, ili snižen broj retikulocita u stanjima iscrpljenog kapaciteta koštane srži, npr. u infekcijama ili nakon kemoterapije, biokemijske pokazatelje hemolize (povišenu laktat dehidrogenazu, povišeni bilirubin, posebice nekonjugirani, sniženi haptoglobin) i periferni razmaz krvi (pojava sferocita). Obzirom da AIHA može biti sekundarna bolest u sklopu neke primarne bolesti, obavezno je utvrditi i osnovnu bolest<sup>4</sup>.

Pravilo rukovanje uzorcima i precizna imunohematološka dijagnostika vrlo je važna za razlikovanje pojedinih vrsta AIHA i njihovo liječenje. Liječenje se uglavnom temelji na nacionalnim smjernicama, a 2019. godine izdane su smjernice međunarodnih stručnjaka za liječenje AIHA-e.<sup>5</sup> U liječenju toplih AIHA najčešće se primjenjuju kortikosteroidi, a u težim slučajevima i rituksimab. Kod hladnih AIHA liječenje je potrebno u težim slučajevima, a sastoji se od primjene rituksimaba, uz ili bez primjene bendamustina. Kod životno ugroženih pacijenata, kojima se navedenom terapijom ne može održati prihvatljiva vrijednost hemoglobina, kao pomoćna terapija

mogu se primjeniti intravenozni imunoglobulini (IVIG), postupci plazmafereze, transfuzijsko liječenje eritrocitnim pripravcima i eritropoetin (EPO), samo u slučajevima retikulocitopenije. U kliničkim istraživanjima je nekoliko lijekova za liječenje tople i hladne AIHA-e, npr. inhibitori kinaze koji su odobreni za liječenje imune trombocitopenije (ITP) i inhibitori komplementa koji se uspješno primjenjuju za liječenje paroksizmalne hoćne hemoglobinurije (eng. Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria, PNH).

### Vrste autoimunosnih hemolitičkih anemija

#### Topla autoimunosa hemolitička anemija

Kod tople AIHA-e autoprotofijela optimalno reagiraju na temperaturi od 37°C. U gotovo svim slučajevima na eritrocitima bolesnika prisutna su samo IgG autoprotofijela, koja su najčešće usmjerena na eritrocitne antigene Rhesus (Rh) sustava krvnih grupa. Aktivacija komponenata komplementa se pojavljuje u gotovo polovici slučajeva tople AIHA-e, što je karakterizirano prisutnim C3d komponentama komplementa na eritrocitima. Uz IgG autoprotofijela, na eritrocitima bolesnika mogu biti prisutna IgA ili IgM autoprotofijela, a u iznimno rijetkim slučajevima eritrociti su obloženi samo s IgA ili IgM autoprotofijelima<sup>6</sup>.

Obzirom su IgM autoprotofijela niskog afiniteta, često budu odvojena od eritrocita, a na eritrocitima ostaju aktivirane samo C3d komponente komplementa, ili rijetko DAT može biti negativan. Topla IgM autoprotofijela optimalno reagiraju na 37°C u serumu i eluatu, ali imaju nizak titar (<64) na 4°C<sup>7</sup>. AIHA uzrokovana toplim IgM autoprotofijelima može se lako pomiješati s miješanom AIHA-om ili s AIHA-om uzorkovanom hladnim IgM autoprotofijelima širokog temperaturnog raspona djelovanja.

Dok je za topalu AIHA-u karakteristična ekstravaskularna hemoliza potaknuta IgG autoprotofijelima, gdje bolesnici uz osnovnu bolest najčešće razvijaju simptome anemije, kod intravaskularne hemolize, uzrokovane toplim IgM autoprotofijelima, simptomi su teži i veći je postotak smrtnosti.

U bolesnika s topalom AIHA-om opažaju se smetnje određivanja eritrocitnih antigena zbog obloženosti eritrocita IgG autoprotofijelima, te smetnje otkrivanja klinički značajnih aloprotofijela zbog prisutnih IgG autoprotofijela u serumu bolesnika. Kod vezanih IgG autoprotofijela, u testiranju se mogu koristiti serumi s niskim sadržajem proteina (monoklonski reagensi), koji ne zahtijevaju IAT za određivanje eritrocitnih antigena ili metode za odvajanje IgG s eritrocita, kao što je obrada sa ZZAP-om (kombinacija DTT-a i papaina), klorokin difosfatom (CPD) i EDTA glicinskom kiselinom<sup>8</sup>. Zbog smetnji određivanja fenotipa, kod bolesnika s AIHA-om danas je sve više u primjeni određivanje genotipa eritrocitnih sustava krvnih grupa.

Specifični postupci testiranja koji se koriste za otkrivanje klinički značajnih aloprotofijela uz prisutna autoprotofijela, uključuju adsorpcijske testove. Autolognom (nakon uklanjanja IgG prototijela s eritrocita bolesnika) i alogenom (ukoliko bolesnik nije transfundiran <3 mjeseca) adsorpcijom uklanjaju se autoprotofijela iz serumu bolesnika, ostavljajući aloprotofijela u adsorbiranom serumu radi njihovog otkrivanja i identifikacije. Određivanje eritrocitnih antigena je korisno za predviđanje koja klinički značajna aloprotofijela mogu biti potencijalno prisutna u serumu bolesnika. Uslijed visoke stope aloimunizacije u transfuzijskom liječenju bolesnika s AIHA-om preporuča se primjeniti transfuzijsko liječenje antigen podudarnim eritrocitnim pripravcima, najmanje po CcEe, K, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, te po mogućnosti Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup> i Ss antigenima<sup>9</sup>. Genotipiranje se sve više primjenjuje za transfuzijsko liječenje antigen podudarnim eritrocitnim pripravcima po cijelom fenotipu (CcEe, K, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup> i Ss), umjesto zahtjevnih adsorpcijskih postupaka<sup>10</sup>.

#### Hladna autoimunosa hemolitička anemija

##### Bolest hladnih aglutinina

CAD je uzrokovana hladnim IgM autoprotofijelima u titru ≥64 (najčešće >1024), čija je optimalna temperatura djelovanja na 4°C, ali može biti >30°C. U vrlo rijetkim slučajevima CAD-a, titar autoprotofijela može biti <64, ali su IgM autoprotofijela širokog temperaturnog raspona djelovanja (>30°C). Hladna IgM autoprotofijela sa širim temperaturnim rasponom djelovanja jače su patogena<sup>11</sup>.

IgM autoprotofijela usmjerena su na „I“ ili „i“ antigene na eritrocitnoj membrani. IgM autoprotofijela aktiviraju komplement i mogu uzrokovati ekstravaskularnu ili intravaskularnu hemolizu. IgM autoprotofijela se odvajaju od eritrocita, stoga se na eritrocitima otkrivaju samo aktivirane komponente komplementa.

Većina bolesnika s CAD-om ima kroničan oblik AIHA-e koji ovisi o sezoni, npr. izlaganju hladnoći ili virusnoj infekciji. Uz uobičajene simptome anemije kod bolesnika se često javlja Raynaudov sindrom i akrocijanoza koja uključuje prste, nos i uši.

Hladna IgM autoprotutijela uzorkuju smetnje u određivanju krvne grupe. Usljed oblaganja eritrocita s IgM autoprotutijelima, u uzorku se može opaziti fenomen spontane aglutinacije. IgM autoprotutijela se mogu ukloiniti s eritrocita pranjem u fiziološkoj otopini zagrijanoj na 37°C ili obradom eritrocita s 0,01 M ditiotreitolom (DTT) ili 2-merkaptoetanolom (ME)<sup>8</sup>. Jaka hladna autoprotutijela također mogu praviti smetnje u otkrivanju klinički značajnih aloprotutijela. Smetnje se mogu izbjegići primjenom zagrijane tehnike, a umjesto AHG serum, predlaže se primijeniti anti-IgG<sup>8</sup>. Međutim, potreban je oprez jer slabo reaktivna aloprotutijela i aloprotutijela koja aktiviraju komplement mogu biti propuštena. Za uklanjanje hladnih autoprotutijela rijetko je potrebno napraviti hladnu adsorpciju.

### Paroksizmalna hladna hemoglobinurija

PCH karakteriziraju bifazična autoprotutijela IgG razreda koja se na niskim temperaturama vežu za eritrocite, a na višim temperaturama aktiviraju komponente komplementa i uzrokuju intravaskularnu hemolizu. IAT je obično negativan, a samo komponente komplementa su vezane za eritrocite. Bifazični IgG može se otkriti samo ako se eritrociti operu u hladnoj fiziološkoj otopini i testiraju hladnim reagensom<sup>8</sup>. Za otkrivanje bifazičnih IgG autoprotutijela potrebno je napraviti Donath-Landsteiner test. Važno je napomenuti da je zbog nedostatka komplementa testiranjem moguće dobiti lažno negativne rezultate<sup>8</sup>.

PCH se najčešće pojavljuje kod djece kao sekundarna prolazna akutna bolest bolest. Nekoliko minuta ili sati nakon izlaganja hladnoći, bolesnik razvija bolove u ledima ili nogama, grčeve u trbuhi i glavobolju. Nakon pojave simptoma može se opaziti hemoglobinurija, hemoglobinemija i hiperbilirubinemija. Osim toga, anemija je teška i progresivna. Svi simptomi mogu proći za par sati ili mogu potrajati par dana.

Za dijagnostičku obradu hladne AIHA; CAD i PCH, potrebno je uzimanje uzorka, transport i rukovanje na 37° C, sve dok se serum i eritrociti ne odvoje<sup>8</sup>.

### Miješana autoimunosna hemolitička anemija

Miješana AIHA ima obilježja tople i hladne AIHA-e, a sastoji se od kombinacije toplih IgG i hladnih IgM autoprotutijela. IgM autoprotutijela najčešće su širokog temperaturnog raspona djelovanja (>30°C)<sup>12</sup>. Jaka hladna autoprotutijela ili ona sa širom reaktivnošću mogu ometati reaktivnost toplih autoprotutijela koja su prisutna u slučajevima miješane AIHA-e. Tipično se nalazi reaktivnost u svim fazama testiranja, pa se za topla autopro-tutijela testiranje preporuča provesti zagrijanom tehnikom uz primjenu anti-IgG reagensa, ili se rijetko mora napraviti hladna adsorpcija. Bolesnici s miješanom AIHA-om najčešće imaju kronični oblik bolesti s teškom hemolizom.

### DAT-negativna autoimunosna hemolitička anemija

U rijetkim slučajevima, DAT može biti negativan kod bolesnika s AIHA-om. Razlog negativnog DAT-a može biti vrlo mala količina vezanih IgG, odnosno na eritrocite vezana samo IgA ili IgM autoprotutijela što se ne može otkriti standardnim testiranjem<sup>12</sup>. U DAT-negativnim AIHA-ama, pranje eritrocita na 4°C ili u otopini niske ionske jakosti omogućava otkrivanje IgG niskog afiniteta<sup>8</sup>. U testiranju je često potrebno primijeniti druge metode koje mogu otkriti niže količine vezanih IgG protutijela, npr. protočnu citometriju ili koncentriranje eluata, odnosno, primijeniti IgA ili IgM monospecifične reagense.

### Zaključak

AIHA je rijetka bolest imunosnog sustava koju karakterizira hemoliza vlastitih eritrocita uzrokovanja autopro-tutijelima i/ili aktiviranim komponentama komplementa. Ovisno o osnovnoj bolesti, AIHA može biti primarna ili sekundarna, a prema serološkim karakteristikama autopro-tutijela, dijeli se na toplu, hladnu i miješanu. Dijagnoza bolesti postavlja se na temelju pozitivnog rezultata direktnog antiglobulinskog testa i prisutnih labo-ratorijskih pokazatelja hemolize. Za liječenje, uz pravilno rukovanje uzorcima i preciznu imunohematološku dijagnostiku nužnu za razlikovanje pojedinih vrsta AIHA, potrebna je i dijagnostika osnovne bolesti.

### LITERATURA

1. Petz LD, Garratty C. Immune hemolytic anemia. 2nd ed. 2004. Churchill Livingstone.
2. Raos M, Pulanić D, Lukić M, Vinković M, Golubić Ćepulić B. Klasifikacija autoimunih hemolitičkih anemija. Bilten Krohema 2019;2(11):29–30.
3. Barcellini W. Pitfalls in the diagnosis of autoimmune haemolytic anaemia. Blood Transfus. 2015;13(1):3–5.

4. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A; British Society for Haematology. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. Br J Haematol. 2017;176(3):395–411.
5. Jäger U, Barcellini W, Broome CM i sur. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: recommendations from the First International Consensus Meeting. Blood Rev 2020;41:100648.
6. Klein HG and Anstee DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine, 12th ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.; 2014.
7. Arndt PA, Leger RM, Garratty G. Serologic findings in autoimmune hemolytic anemia associated with immunoglobulin M warm autoantibodies. Transfusion. 2009;49(2):235–42.
8. Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, Westhoff CM. AABB Technical Manual. 18th ed. Bethesda, Maryland: AABB; 2014.
9. Sapatnekar S, Figueroa PJ. How to use molecular red blood cell antigen typing to supplement pretransfusion testing? Transfusion 2014;54:1452–8.
10. Raos M, Lukic M, Pulanic D, Vodanovic M, Golubic Cepulic B. The role of serological and molecular testing in the diagnostic and transfusion treatment of autoimmune haemolytic anaemia. Blood Transfus. 2021; DOI: 10.2450/2021.0235-21. Ahead of print.
11. Berentsen S. Cold Agglutinin disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program; 2016(1):226–31.
12. Mayer B, Yürek S, Kiesewetter H, Salama A. Mixed-type autoimmune hemolytic anemia: differential diagnosis and a critical review of reported cases. Transfusion. 2008;48(10):2229–34.
13. Sachs UJH, Röder L, Santoso S, Bein G. Does a negative direct antiglobulin test exclude warm autoimmune haemolytic anaemia? A prospective study of 504 cases. British Journal of Haematology. 2006;132:651–661.

## MOGUĆA POVEZANOST ALELA SUSTAVA HLA U OSOBA S ANTIERITROCITNIM AUTOPROTUTIJELIMA RAZREDA IgG

KRUHONJA GALIĆ Z.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>2</sup>, Jagnjić S.<sup>3</sup>, Bingulac-Popović J.<sup>4</sup>, Đogić V.<sup>4</sup>, Kundid R.<sup>4</sup>, Kirin V.<sup>4</sup>, Hećimović A.<sup>5</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Ravnateljstvo

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za krvlju prenosive bolesti

<sup>4</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za molekularnu dijagnostiku

<sup>5</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za proizvodnju testnih reagencija

**Uvod:** Humani leukocitni antigeni (HLA) reguliraju imunološke reakcije. Dosadašnja istraživanja utvrdila su povezanost polimorfizama gena sustava HLA s nastankom autoimunih bolesti. Autoimuna hemolitička anemija (AIHA) je rijetka multigenska autoimuna bolest u kojoj različiti tipovi autoprotofutijela usmjereni na antigene eritrocitne membrane uzrokuju smanjenje životnog vijeka eritrocita. Češće se javlja u osoba s limfoproliferativnim i autoimunim bolestima, ali antieritrocitna autoprotofutijela razreda IgG detektiraju se tijekom prijetransfuzijskog ispitivanja bolesnika s različitim dijagnozama sa i bez znakova hemolize kao i kod trudnica, ali i kod zdravih osoba bez poznatog razloga. Dosadašnja istraživanja nisu dokazala povezanost antieritrocitnih autoprotofutijela s određenim aleлом sustava HLA.

**Cilj:** Ispitati alele sustava HLA u skupini bolesnika i trudnica s antieritrocitnim autoprotofutijelima razreda IgG (skupina AA) i usporediti ih s alelima sustava HLA u dobrovoljnih darivatelja krvi (kontrolna skupina) te utvrditi moguću povezanost alela sustava HLA s antieritrocitnim protutijelima razreda IgG.

**Metode:** Skupinu AA činilo je 100 ispitanika, a kontrolnu skupinu 190 dobrovoljnih darivatelja krvi s negativnim rezultatom direktnog antiglobulinskog testa. Za imunohematološko ispitivanje korištene su LISS/ Coombs, DC Screening I i IgG1/IgG3 mikrokartice (BioRad, Cressier sur Morrat, Švicarska). Ispitani su aleli lokusa HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQA1, -DQB1, metodom lančane reakcije polimerazom, korištenjem specifične oligonukleotidne početnice specifične za sekvencu (SSP, engl. Sequence Specific Primer) (Olerup SSP, Švedska). Specifičnost svake pojedine amplifikacije provjerena je pomoću tablica za interpretaciju, koje su priložene uz svaki komercijalni HLA-SSP set i pomoću HELMBERG SCORE Software. Usporedba rezultata je učinjena pomoću aplikacije MedCalc – version 16.2.1. Učestalost gena i alela dobivena je direktnim brojanjem. Za usporedbu dobivenih rezultata korišten  $\chi^2$  test. Kao granica razine statističke značajnosti postavljena je vrijednost  $p<0,05$ . Zbog izraženog polimorfizma gena sustava HLA, dobivena p vrijednost korigirana je po Bonferroniju. Snaga testa izračunata je kao omjer izgleda (engl. odds ratio, OR) uz interval pouzdanosti (engl. confidence interval, CI) od 95%.

**Rezultati:** U usporedbi s kontrolnom skupinom, statistički značajno češći u skupini AA bili su alel *HLA-B\*57* ( $p=0,0003$ ,  $p_k=0,008$ , OR 5,05, 95% CI 1,93 – 13,24)) i alel *HLA-DQB1\*03:03* ( $p=0,001$ ,  $p_k=0,017$ , OR 5,21, 95% CI 1,83 – 14,84). U skupini AA nađena je veća učestalost alela *DRB1\*07* ( $p=0,018$ ,  $p_k=0,210$ ) i alela *DQA1\*02* ( $p=0,018$ ,  $p_k=0,103$ ), ali bez statističke značajnosti. Aleli *HLA-B\*57*, *DRB1\*07:01*, *DQA1\*02:01* i *DQB1\*03:03* su bili u neravnoteži udruživanja te su se pojavili u istom haplotipu. U skupini AA češće se pojavio haplotip *B\*57-DRB1\*07:01-DQA1\*02:01-DQB1\*03:03*, ali ne na razini statističke značajnosti.

**Zaključak:** Usporedbom rezultata HLA PCR-SSP tipizacije uzoraka skupine AA te zdravih ispitanika kontrolne skupine, utvrđena je moguća povezanost alela *B\*57* i *DQB1\*03:03* s pojmom antieritrocitnih autoprotutijela razreda IgG odnosno sa stvaranjem autoimunog odgovora na eritrocitne antigene.

## MOLEKULARNO ODREĐIVANJE ALELA RHD U POPULACIJI RHD NEGATIVNIH DAVATELJA KRVI SJEVEROZAPADNE HRVATSKE

LILIĆ M.<sup>1</sup>, Jaklin G.<sup>2</sup>, Gojčeta K.<sup>3,4</sup>, Raos M.<sup>3,4,5</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>3,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

• Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Molekularne bioznanosti

<sup>2</sup>Opća bolnica Varaždin

• Odjel za transfuzijsku medicinu

<sup>3</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>4</sup>Zdravstveno veleručilište Zagreb

<sup>5</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>6</sup>Sveučilišni odjel zdravstvenih studija Sveučilišta u Splitu

**Uvod:** Cilj ovog istraživanja bio je opisati varijante alela *RHD* u populaciji sjeverozapadne Hrvatske, njihovu učestalost i haplotipove s genom *RHCE* kod pojedinog ispitanika.

**Metode:** U dvogodišnjem razdoblju krv je u Općoj bolnici Varaždin darovalo 11688 dobrovoljnih davatelja, od kojih je 2301 (19,68%) proglašeno RhD negativnima.

Seroško određivanje RhD antiga radilo se prema Nacionalnim smjernicama za imunohematološko testiranje davatelja krvi. U ovom istraživanju sudjelovalo je ukupno 735 nesrodnih davatelja iz Međimurske i Varaždinske županije. Nasumično odabranih 704 davatelja bilo je RhD negativno, dok ih je 31 bio negativan u direktnoj aglutinaciji, a pozitivan u indirektnom antiglobulinskem testu (IAT).

Svi davatelji su testirani na prisutnost egzona gena *RHD* metodom PCR-a u stvarnom vremenu, FluoGene (Inno-train Diagnostik, Njemačka). Uzrorci fenotipa ccee testirani su najprije probirnim testom za egzone 3, 5 i 10 gena *RHD*. Svim uzorcima s C+ i/ili E+ testirani su svi egzoni gena *RHD*. Onim uzorcima koji su bili pozitivni za pojedine egzone napravljen je i test za zigotnost, te test za panel klinički najznačajnijih slabih alela *RHD*. Svim uzorcima pozitivnim na barem neke od egzona gena *RHD* sekvencirana je DNA.

Kod uzoraka u skupini RhD negativnih davatelja kod kojih je otkrivena varijanta gena sustava Rh naknadno je napravljen i test adsorpcije / elucije.

**Rezultati:** Od 704 serološki RhD negativnih uzoraka, njih 589 (83,7%) fenotipa ccee, bilo je negativno za egzone 3, 5, i 10 gena *RHD* u probirnom testiranju, te su proglašeni *RHD* negativnima (delecija gena *RHD*, *RHD\*01N.01*).

U ostalih 115 uzoraka (16,3%) metodom PCR u realnom vremenu potvrđen je serološki nalaz Rh fenotipa (C+ i/ili E+). I u toj je skupini 112 uzoraka bilo potvrđeno *RHD* negativno, jer nije utvrđena reaktivnost za bilo koji egzon gena *RHD*. U dva hemizigotna uzorka fenotipa Ccee pronađene su DEL varijante gena *RHD*: *RHD\*DEL44* (*RHD\*01EL.44*, hibridni alel strukture *RHD-D-CE(4-9)-D*) i *RHD\*DEL32* (*RHD\*01EL.32*, s točkastom intronskom mutacijom u intronu 1, c.149-29 G>C). Jedan uzorak koji je potvrđen kao homozigot za deleciju gena *RHD*, pokazivao je pozitivan signal za egzon 1 gena *RHD*. Radi se o varijanti gena *RHCE*, hibridu s genom *RHD*, strukture *RHCE\*D-CE(2-10)*.

Kod sva tri uzorka s varijantama gena Rh sustava testom adsorpcije / elucije je dokazana prisutnost RhD epitopa kod pojedinog davatelja.

Učestalost svakog alela u populaciji RhD negativnih davatelja iznosi po 0,07% odnosno 1:1408 (uz 95% interval pouzdanosti 1:55608 – 1:253). Učestalost svakog alela unutar skupine D- C+ i/ili E+ ispitanika iznosi po 0,43% odnosno 1:230 (uz 95% interval pouzdanosti 1:1626 – 1:33).

U populaciji 31 serološki slabih D uzoraka, većina je slabi D tip 1 (*RHD\*01W.01*, 64,5%), a od ostalih sedam pronađenih alela *RHD* značajno je istaknuti slabi D tip 40 (*RHD\*01W.40*, 3,2%).

**Zaključak:** Pronađeni aleli gena Rh sustava prvi puta su opisani u Hrvatskoj.

Prema podacima iz literature, ovo je prvi puta da je u populaciji europskog porijekla dokazana ekspresija antigena RhD za alel *RHD\*DEL44*.

Alel *RHCE\*D-CE(2-10)* dosad je sporadično opisan u Kini i u Sloveniji. U ovom istraživanju po prvi puta je kod osobe s tim aleлом dokazana prisutnost RhD epitopa. S obzirom na zemljopisnu blizinu slovenskog slučaja, moguće je da postoji lokalni bazen ovog alela.

U skupini IAT pozitivnih uzoraka je također po prvi puta u Hrvatskoj pronađen iznimno rijedak slabi D tip 40.

Molekularno testiranje davatelja krvi omogućiće sigurniju primjenu krvnih produkata, te spriječiti neželjenu imunizaciju stvarno RhD negativnih pacijenata RhD pozitivnom dozom krvi koja je u serološkom testiranju reagirala neaktivno.

## NESTANAK KLINIČKI ZNAČAJNIH ANTIERITROCITNIH ALOPROTUTIJELA

BOGDANIĆ D.<sup>1</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Plenković F.<sup>1</sup>, Liker M.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Poznato je kako klinički značajna antieritrocitna protutijela mogu s vremenom pasti ispod praga osjetljivosti testa što može dovesti do odgođene hemolitičke transfuzijske reakcije (DHTR). Postojanost protutijela i njihovo otkrivanje *in vitro*, ovisi o karakteristikama pacijenata i antieritrocitnih protutijela, te o učestalosti i tehnikama prijetransfuzijskog ispitivanja. Razumijevanje vremenske dinamike antieritrocitnih protutijela u krvi pacijenta može pridonjeti pravodobnom otkrivanju antieritrocitnih protutijela.

**Cilj:** Cilj ovog rada bio je istražiti nestajanje klinički značajnih antieritrocitnih protutijela u aloimuniziranih pacijenata radi unapređenja algoritma prijetransfuzijskog ispitivanja.

**Metode:** Retrospektivno su analizirani podaci aloimuniziranih pacijenata u KBC-a Zagreb u razdoblju od 2011. do 2019. godine. Od ukupno 1504 aloimuniziranih pacijenata, u analizu su uključeni samo oni pacijenti kojima je nakon početne aloimunizacije učinjen barem još jedan test pretraživanja antieritrocitnih protutijela u indirektnom antiglobulinskom testu (IAT). Pacijenti s višestrukim imunizacijama koji su imali više datuma imunizacije i/ili nestanka protutijela izuzeti su iz analize. Budući da komercijalni test eritrociti ne izražavaju uvijek rijetke antigene, pacijenti s anti-C<sup>w</sup> ili -Lu<sup>a</sup> također su isključeni iz analize. Ako je IAT naknadnim testiranjem bio negativan, smatralo se da aloprotutijelo više nije prisutno u krvi pacijenta. U slučaju svakog daljnog pozitivnog IAT-a tijekom prijetransfuzijskog ispitivanja je napravljena identifikacija antieritrocitnih protutijela ( $\geq 72$  sata) i zabilježene su nove aloimunizacije.

**Rezultati:** U istraživanje su uključena 584 aloimunizirana pacijenata s 748 protutijela, od kojih 65,8% žena. Medijan dobi bio je 65 (0–93) godina, a 61,9% pacijenata bilo je  $\geq 60$  godina. Od ukupno aloimuniziranih pacijenata, njih 449 (76,9%) je imalo jednostruku, a 135 (23,1%) višestruku imunizaciju; 110 (18,8%) dvostruku, 21 (3,6%) trostruku i 4 (0,7%) četverostruku imunizaciju. Postojanost protutijela zabilježena je u 425 (73,3%) pacijenata, od čega se u većini slučajeva (65,4%) radilo o pacijentima koji su bili aloimunizirani prije bolničkog liječenja. Najčešće postojano protutijelo bilo je anti-D specifičnosti. Medijan praćenja postojanosti protutijela iznosio je 147 (1 do 6589) dana. Nestanak protutijela zabilježen je u 159 (27,2%) pacijenata, od kojih se u većini slučajeva (63,5%) radilo o aloimuniziranim pacijentima imuniziranim tijekom bolničkog liječenja. Najčešće je nestalo protutijelo anti-Jk<sup>a</sup> specifičnosti. Medijan praćenja nestanka protutijela iznosio je 105 (1 do 3433) dana.

**Zaključak:** Mnoga antieritrocitna protutijela ne budu otkrivena prijetransfuzijskim ispitivanjem. Razlozi su što se prijetransfuzijsko ispitivanje provodi ne vodeći računa o vremenskom okviru imunosnog odgovora na strane eritrocitne antigene i nedostaje kontrolni IAT-a nakon transfuzijskog liječenja i trudnoća u optimalnom vremenskom okviru za dokazivanje protutijela. Broj imuniziranih pacijenata može se smanjiti preventivnom primjenom antigen podudarnih eritrocitnih pripravaka.



# IH-Complete. Create Your World.

**Because** Your Staffing Needs are Changing



Walk-away systems



Reduced maintenance time



Ready-to-use reagents and diluents



Streamlined training

**Because** Productivity is Your Concern



Improved processing time



Enhanced security and traceability



Reduced hands-on-time

**Because** in Transfusion, Uncertainty is not an Option



Delivering safe and accurate results



Optimized productivity with IH-Central



Maximized efficiency

**Because** in Transfusion, Emergency does not Wait



Technology innovations to reduce turnaround time



Fully integrated back-up systems



24/7 ready-to-start availability



Intelligent STAT management

## Simpozij 6 – COVID-19

### TEST NEUTRALIZACIJE SARS-COV-2 KAO KLJUČ ZA UVODENJE SEROTERAPIJE U LIJEĆENJU COVID-19 U HRVATSKOJ

HALASSY B.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu

• Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji

<sup>2</sup>Centar izvrsnosti za virusnu imunologiju i cjepiva

• CIPZB

Plazma preboljelih se upotrebljava danas, kao i više puta u povijesti u razdobljima epidemija, da bi se liječili pacijenti oboljeli uslijed zaraze novim i nepoznatim patogenima. Iako se takav oblik terapije generalno smatra korisnim i učinkovitim na temelju niza opisanih primjera, znanstvena i medicinska zajednica još uvijek nema definitivan dokaz njezine učinkovitosti na temelju pažljivo dizajniranih i randomiziranih kliničkih studija. Kad su takve provedene u nekoliko navrata, nisu uspjele pokazati korist plazme u odnosu na placebo. Razlozi leže većinom u specifičnim okolnostima u kojima se plazma koristi. U epidemijskim vremenima borimo se protiv nepoznatog uzročnika, kada ne postoje reagensi, standardi, i metodologija za ispitivanje djelotvornosti antitijela, ili se tek razvijaju. Stoga se rezultati dobiveni različitim, nestandardiziranim testovima ne mogu adekvatno procjenjivati i otežavaju uspredbe kako unutar jedne studije, tako posebice među različitim. Protekle dvije godine bile su period široke i obilate primjene plazme u liječenju pacijenata s COVID-19, ali do sada dostupni rezultati različitih studija nisu međusobno usporedivi zbog razlika u načinima procjene količine i kvalitete antitijela u plazmama korištenim za liječenje, od kojih niti jedna metoda nije kalibrirana prema međunarodnom standardu.

U predavanju će biti opisan pristup uspostavi karakterizacije antitijela u epidemijskim vremenima, na način koji omogućava iskazivanje svih rezultata testiranja u jedinicama međunarodnog standarda za antitijela na SARS-CoV-2 virus, onog trenutka kad on postane dostapan znanstvenoj i stručnoj javnosti. Uspostavili smo test neutralizacije divljeg tipa virusa SARS-CoV-2 (BSL3 patogen), kao najrelevantniji u procjeni zaštitne moći antitijela. Da bi se osigurala maksimalna ponovljivost, koristili smo sistem izrade banki svih bioloških komponenti: SARS-CoV-2 virusa, stanica i vlastitog (in-house) standarda specifičnih antitijela. Upotreba vlastitog standarda za anti-SARS-CoV-2 antitijela i njegova kalibracija prema prvom WHO međunarodnom standardu, čim je postao dostupan u proljeće 2021, omogućila je iskaz rezultata u međunarodno usporedivim jedinicama.

Neutralizirajuća antitijela za SARS-CoV-2 virus u osoba koje su COVID-19 preboljele bila su u rasponu od 4 do 2869 mL<sup>-1</sup> (0.55 to 3.46 log IU mL<sup>-1</sup>), i značajno su korelirala s težinom simptoma u razdoblju bolesti. Količina neutralizirajućih antitijela u oboljelih polagano opada odmakom vremena, u prosjeku 1.4 x u mjesec dana. Inaktivacija temperaturno-labilnih komponenti seruma zagrijavanjem uzrokovala je pad neutralizirajuće moći od 2.3x, ukazujući da antitijela induciraju aktivnost temperaturno labilnog komplementa i retrutiraju i proteine komplementa u borbi protiv virusa.

U Hrvatskoj je prikupljanje konvalescentne plazme započelo u srpnju 2020 u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu, uspostava metodologije za karakterizaciju antitijela u rujnu 2020, a prve doze plazme za liječenje su upotrebljene u prosincu 2020. Do danas je iz tog transfuzijskog centra izdano oko 700 doza COVID-19 konvalescentne plazme, kojima je liječeno oko 130 pacijenata. 99% svih pripravaka korišteno je u liječenju bolesnika s hematološkim malignitetima, čiji je imunološki sustav značajno oslabljen uslijed osnovne bolesti i njenog liječenja. Pacijenti bez vlastitih antitijela u krvi bili su pogodan eksperimentalni sustav u kojem smo pokazali uspješnost transfuzije neutralizirajućih antitijela jednom ili više doza konvalescentne plazme, koje sadrže minimalno 35 IU mL<sup>-1</sup>.

Istraživanje je rezultat zajedničke suradnje Centra za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu, te Klinike za infektivne bolesti dr. Fran Mihaljević. Financirano je sredstvima Hrvatske zaklade za znanost (projekt IP-CORONA-04-2053) i Europskog fonda za regionalni razvoj (projekt KK.01.1.01.0006 "Jačanje kapaciteta CERVirVac-a za istraživanja u virusnoj imunologiji i vakcinologiji").

## STVARANJE PREDUVJETA ZA PRIKUPLJANJE COVID-19 KONVALESCENTNE PLAZME U HRVATSKOM ZAVODU ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU

HEĆIMOVIĆ A.<sup>1</sup>, Halassy B.<sup>2</sup>, Vinković M.<sup>1</sup>, Ravlić S.<sup>2</sup>, Mušlin T.<sup>1</sup>, Radovčić M. K.<sup>1</sup>, Novosel M.<sup>1</sup>, Topić Šestan P.<sup>1</sup>, Vuk T.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji Sveučilišta u Zagrebu

**Uvod:** Malo je dostupnih terapeutskih mogućnosti bilo početkom pandemije. Nisu postojali specifični lijekovi, o cjepivu se tek razmišljalo i tražila su se gotova rješenja. Iskustvo iz prethodnih izbjivanja s koronavirusima pokazuje da konvalescentna plazma (KP) sadrži neutralizacijska antitijela (NAb) te da je njihova primjena bila korisna. Pandemija COVID-19 bila je jasna situacija gdje bi plazma preboljelih, a kasnije i cijepljenih osoba bila vrijedan resurs u liječenju oboljelih. S vremenom je objavljeno više randomiziranih kontroliranih studija koje nisu pokazale korist primjene ovog oblika liječenja u imunokompetentnih osoba. No, postoje jasni pokazatelji i brojna pojedinačna izvješća u korist njene primjene u bolesnika s oslabljenim humorarnim imunitetom. Temeljem toga dopušta se upotreba KP samo visokog titra, u ranom tijeku bolesti te kod bolesnika s oslabljenim humorarnim imunitetom.

Na natječaj kojeg je Republika Hrvatska interventno raspisala „Upravljanje zaraznim bolestima uzrokovanim koronavirusima te društvenim i obrazovnim aspektima pandemije (IP-CORONA-2020-04)” prijavljen je i prihvaćen za financiranje projekt pod nazivom Stvaranje preduvjeta za uvođenje SARS-CoV-2 seroterapije u Hrvatskoj (CoVIg). Projekt je ostvaren suradnjom Centra za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu i Klinike za infektivne bolesti u Zagrebu.

**Cilj:** Predstaviti uspostavu metodologije za prikupljanje plazme osoba koje su preboljele bolest te vrednovanje njihove sposobnosti neutraliziranja SARS-CoV-2 i procijeniti povezanost demografskih karakteristika i ozbiljnost bolesti darivatelja (DDK) s razinom protutijela.

**Materijali i metode:** Uvjet za prikupljanje KP bio je preboljenje COVID-19 unazad 4 mjeseca ili neograničeno ukoliko je DDK i cijepljen. Svi ostali kriteriji za DDK morali su biti ispunjeni. Svaka donacija bila je podvrgnuta testiranju neutralizacijskim testom za kvantifikaciju SARS-CoV-2 NAb, a kasnije VIDAS SARS CoV-2 serološkim testom koji je prethodno uskladen s neutralizacijskim testom. Neutralizacijska sposobnost plazme potvrđena je ako su vrijednosti bile iznad 1400 ED50/ml ili 1,3 TV (test value). Analizirane su plazme prikupljene postupkom afereze (AF) u razdoblju od 28. srpnja 2020. do 28. ožujka 2021. te iz pune krvi (PUK), prikupljene od 03.05. do 30.06.2021.

Za procjenu titra i demografskih karakteristika, ozbiljnosti bolesti kao i procijepljenosti u statističkoj analizi korišteni su Mann-Whitney, Kruskal-Wallis i  $\chi^2$  test. Statistička značajnost prihvaćena je uz  $P < 0,05$ .

**Rezultati:** Tablica 1.

TABLICA 1. BROJ DOZA KONVALESCENTNE PLAZME, KARAKTERISTIKE DARIVATELJA PREMA DOBI, SPOLU I TITRU

	Afereza		Puna krv	Ukupno
broj doza	256		464	720
nesukladne	64		140	204
(nizak titar, ostalo) broj (%)	-25%		-30,20%	-28,30%
medijan dobi	36		40	
	(18–62)		(18–67)	
spol	60,60%	30,40%	100%	
	muškarci	žene	muškarci	
visok titar	75%		91,20%	

Razina titra nije se statistički razlikovala po spolu: AF ( $P = 0,262$ ,  $Z = 1,12$ ).

Titar se nije razlikovao između krvnih grupa (za AF  $P = 0,842$ ,  $\chi^2 = 0,83$ ; za PUK  $P = 0,693$ ,  $\chi^2 = 1,45$ ).

Titar se nije razlikovao s obzirom na težinu simptoma (za AF  $P = 0,072$ ,  $\chi^2 = 6,99$ ; za PUK  $P = 0,279$ ,  $\chi^2 = 2,56$ ).

Od sukladnih KP dobivenih iz PUK, 66% doza prikupljeno je od cijepljenih DDK. Medijan titra kod necijepljenih DDK bio je 6,03 (0 – 63,87), a kod cijepljenih 42,26 (0,44 – 66,07),  $P < 0,001$ ,  $Z = 15,59$ .

**Zaključak:** Od proglašenja epidemije 11.03.2020. pa do uspostave procesa prikupljanja i uspostave neutralizacijskog testa u BSL3 uvjetima prošlo je manje od četiri mjeseca. Prva KP izdana je 17. prosinca 2020. i do 30.06.2021 izdano je 416 doza za 126 bolesnika.

Procjena neutralizacijske sposobnosti VIDAS SARS CoV-2 testom značajno je, zbog bolje protočnosti testa u odnosu na neutralizacijski test, pridonijela povećanju zaliha i bržem izdavanju pripravaka.

Zbog konstantnog rasta zahtjeva za KP prikupljanje KP iz PUK bio je iskorak u zadovoljavanju zahtjeva.

91,2 % plazmi iz PUK te 75% plazme dobivene AF zadovoljavalo je titrom. Razlika u udjelima visokog titra posljedica je većeg broja cijepljenih DDK u drugom tromjesečju 2021. godine.

Uspostavljanje metodologije prikupljanja i testiranja KP u vrijeme pandemije iskustvo je koje će doprinijeti kvalitetnom i brzom odgovoru u slučaju pojave novih pandemija.

## FATALNO INTRAKRANIJALNO KRVARENJE U BOLESNIKA S TROMBOCITOPENIJOM I POZITIVNIM PF4 PROTUTIJELEM NAKON CIJEPLJENJA PROTIV COVID-19 CJEPIVOM CHADOX1 NCOV-19 – PRIKAZ SLUČAJA

BOBAN A.<sup>1</sup>, Tomac G.<sup>2</sup>, Rimac V.<sup>2</sup>, Grgić Medić M.<sup>1</sup>, Zibar K.<sup>1</sup>, Kraljević I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinika za unutarnje bolesti

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** U Europskoj uniji registrirana su četiri cjepiva protiv COVID-19, akutne zaražne bolesti s multiorgan-skim komplikacijama uzrokovane virusom prvi puta opisanim 2019. godine, nazvanim teški akutni respiratori sindrom koronavirus 2 (SARS-CoV-2). Cijepljenje cjepivom koje kao vektor koristi adenovirus, kao što je ChAdOx1 nCoV-19 (Astra Zeneca) i Ad26.COV.2.S (Johnson&Johnson), u vrlo malog broja bolesnika dovodi do razvoja trombocitopenije praćene po život opasnim venskim trombozama na neuobičajenim mjestima, te ponekad intrakranijskim krvarenjem. Ovaj novi sindrom je prozvan cjepivom inducirana trombotična trombocitopenija, engl. VITT (vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia). VITT karakteriziraju pozitivna trombocitna PF4 protutijela u odsutnosti heparina, kao što je ranije opisano u rijetkim "spontanim" ili autoimnim heparin induciranim trombocitopenijama (HIT).

Ovdje prikazujemo slučaj bolesnika koji je nakon cijepljenja ChAdOx1 nCoV-19 cjepivom razvio trombocitopeniju, krvarenje u obje nadbubrežne žlijedze, te masivno intrakranijalno krvarenje s fatalnim završetkom.

**Prikaz slučaja:** Tridesetjednogodišnji do tada zdravi bolesnik javio se u bolnicu zbog bolova u donjem dijelu leđa. Deset dana ranije je primio ChAdOx1 nCoV-19 cjepivo, nakon čega je postao febrilan uz simptome slične gripi u trajanju od 24h. Četvrtog dana od cijepljenja je dobio proljev, a sedmog egzarcebaciju kroničnog sinusitisa, zbog čega je uzimao azitromicin. Po prijemu u bolnicu desetog dana od cijepljenja verificirana je trombocitopenija ( $Trc 77 \times 10^9/L$ ), te povišeni d-dimeri (12.6 mg/L). Na MSCT-u abdomena je opisano krvarenje u obje nadbubrežne žlijedze, te je bolesnik zbog rizika nastanka adrenalne insuficijencije premješten u našu ustanovu.

Po premještaju se kod bolesnika bilježi produbljivanje trombocitopenije (trombociti  $66 \times 10^9/L$ ), uz d-dimere 17.62 mg/L i uredan koagulogram (PV 0,85, APTV 25,8, fibrinogen 5,2 g/L). Zbog prokoagulantnog statusa i suspektne venske tromboze prema nalazu MSCT-a, u terapiju je uveden enoksaparin. Drugog dana boravka u našoj ustanovi bolesnik postaje smeten i dezorientiran, te se hitnom neuroradiološkom obradom verificira obilno intrakranijalno krvarenje i suspektna tromboza sagitalnog sinusa. Bolesnik je primio transfuziju koncentrata trombocita i rFVIIa, međutim postaje anizokoričan i komatozan (GCS 4). Učinjen je hitni neurokirurški zahvat kojem se odstrani hematom, međutim nekoliko sati po zahvatu bolesnik postaje nestabilan i umire unatoč potporim mjerama.

Obduksijski nalaz je opisao difuzni edem mozga, akutno krvarenje lijeve fronto-temporalno-parijetane regije i cerebeluma, te difuzno subarahnoidalno krvarenje. Nije nađeno znakova tromboze cerebralnih sinus, kao niti bubrežnih ili mezenterijalnih vena. Mikroskopske analize nisu našle znakova mikroangiopatskih promjena mozga niti ostalih parenhimskih organa.

Nalaz vezanih i slobodnih antitrombocitnih protutijela kod bolesnika je bio negativan, dok je testiranje na HIT protutijela učinjeno 47 dana nakon smrti, nakon što je publiciran rad koji opisuje pozitivna HIT protutijela u bolesnika koji su razvili trombocitopeniju i venske tromboze nakon cijepljenja protiv COVID-19. Enzimsko imunološki test za otkrivanje antitrombocitnih protutijela (PF4 IgG Kit; GTI Diagnostics, Waukesha, Wisconsin, USA) je pokazao pozitivan rezultat (OD (450 nM): 1.618; granica pozitivnog testa >0.400). Učinjen je i funkcionalni test na protočnom citometru, kojim su dokazana protutijela na PG4 koja aktiviraju trombocite.

**Zaključak:** Ovo je prvi opisani slučaj VITT-a kod kojega nije došlo do razvoja venske tromboze. Klinička slika po život opasnog krvarenja i nedostatak tromboze opisani ovdje upućuju na široki spektar prezentacije VITT-a, te ukazuju na potrebu razlikovanja ovog sindroma od imunotrombocitopenije, koja je također opisana kao nuspojava nakon cijepljenja protiv COVID-a.

## TRANSFUZIJSKO LIJEČENJE SARS-COV-2 POZITIVNIH BOLESNIKA U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU ZAGREB

LUKAČ A.<sup>1</sup>, Liker M.<sup>1</sup>, Plenković F.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Od 28. prosinca 2020. godine u Kliničkom bolničkom centru Zagreb (KBC Zagreb) organizirana su dva odjela za liječenje SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika u Klinici za plućne bolesti Jordanovac (COVID odjel i COVID odjel intenzivne i postintenzivne skrb). Prema dosadašnjim podatcima potrošnja krvnih pripravaka (KP) u COVID-19 bolesnika relativno je mala, 3,4 %, a podataka o potrošnji KP u skupini hematoloških bolesnika nema.

**Cilj:** Cilj je rada retrospektivno analizirati potrošnju KP u SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika i utvrditi primjenjeni udio KP u liječenju ove skupine bolesnika u odnosu na ukupnu potrošnju KBC-a Zagreb, indikacije za njihovo liječenje te razlike u transfuzijskom liječenju hematoloških i ostalih bolesnika.

**Metode:** Koristeći bolnički informacijski sustav (BIS) i transfuzijski informatički sustav (Hemotools), analizirani su podatci o bolesnicima hospitaliziranim u COVID odjelima te podatci o transfundiranim KP od 1. siječnja 2021. godine do 12. srpnja 2021. godine. Bolesnici su dalje praćeni u dvjema skupinama (hematološki i ostali bolesnici). Koncentrati trombocita (KT) računati su u broju pripravaka. Težina bolesti procijenjena je u pet kategorija (asimptomatska infekcija, blagi oblik, srednje teški, teški i kritični oblik bolesti) prema kliničkim kriterijima definiranim prema Smjernicama za liječenje oboljelih od koronavirusne bolesti 19 (COVID-19) Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske. P vrijednost računata je koristeći t-test, Mann-Whitney test i Fisherov egzaktni test u GraphPad Prism 9.2.0. statističkom softveru.

**Rezultati:** Ukupno je hospitalizirano 348 SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika, od kojih je 112 (32%) liječeno KP. Njima je transfundirano 985 KP, što čini 3% (985/36570) ukupno transfundiranih KP u KBC-u Zagreb u istom razdoblju. Hematološki bolesnici činili su 42 % bolesnika (47/112) te su primili 53 % (519/985) KP. Imunokompromitiranih bolesnika bilo je 52 % od ukupnog broja bolesnika (58/112). Hematološki bolesnici činili su 79 % (46/58) ukupnog broja imunokompromitiranih bolesnika te su primili većinu (89 %, 90/101) pripravaka konvalescentne plazme. U skupini hematoloških bolesnika manji je broj onih sa srednje teškom, teškom i kritičnom kliničkom slikom (45 %, 21/47) u usporedbi s ostalim bolesnicima (62 %, 40/65), no ta razlika nije statistički značajna ( $p=0,13$ ). Ukupna je smrtnost u skupini transfundiranih bolesnika 37% (41/112). Smrtnost u skupini hematoloških bolesnika (43 %, 20/47) nije značajno veća ( $p=0,32$ ) u odnosu na skupinu ostalih bolesnika (32 %, 21/65). Broj bolesnika na mehaničkoj ventilaciji nije se značajno razlikovao među skupinama (hematološki bolesnici 30 %, 14/47; ostali bolesnici 28%, 18/65;  $p=0,16$ ). Bolesnici su ukupno primili 504 koncentrata eritrocita (KE), 304 KT, 72 svježe smrznute plazme (SSP) i 4 krioprecipitata (tablica 1). U skupini hematoloških bolesnika najčešća indikacija za transfuziju KE i KT bila je anemija (84 %, 145/172), odnosno trombocitopenija (93 %, 229/247), a u skupini ostalih bolesnika krvarenje (KE 60 %, KT 86 %). U obje je skupine SSP najčešće transfundirana zbog krvarenja (hematološki 60 %, ostali 79%). Svi pripravci krioprecipitata transfundirani su zbog krvarenja kod jednog bolesnika u skupini ostalih bolesnika.

TABLICA 1. TRANSFUNDIRANI KRVNI PRIPRAVCI (N UKUPNO 985)

Krvni pripravak	Svi bolesnici		Hematološki bolesnici		Ostali bolesnici	
	N doza (N bolesnika)	median (min – max)	N doza (N bolesnika)	median (min – max)	N doza (N bolesnika)	median (min – max)
Koncentrat eritrocita	504 (89)	3 (1–92)	172 (32)	3 (1–28)	332 (57)	3 (1–92)
Koncentrat trombocita	304 (36)	5 (1–43)	247 (25)	7 (1–43)	57 (11)	3 (1–25)
Svježe zamrznuta plazma	72 (20)	3 (1–15)	10 (4)	2 (1–5)	62 (15)	2 (1–15)
Svježe zamrznuta plazma – C19	101 (34)	2 (1–9)	90 (26)	2,5 (1–9)	11 (8)	1 (1–2)
Krioprecipitat	4 (1)	4 (4–4)	0		4 (1)	4 (4–4)
<b>Ukupno</b>	<b>985</b>		<b>519 (52,7%)</b>		<b>466 (47,3%)</b>	

**Zaključak:** Potrošnja KP u SARS-CoV-2 pozitivnih bolesnika mala je u odnosu na potrošnju u KBC-u Zagreb, međutim, više od trećine ovih bolesnika bilo je liječeno KP. Suprotno očekivanju, hematološki bolesnici nisu dobili značajno više KP, ali su očekivano primili više KT, dok su ostali bolesnici primili više KE. Konvalescentna plazma uglavnom je transfundirana hematološkim bolesnicima. Najčešća indikacija za KE i KT kod hematoloških bolesnika bile su anemija i trombocitopenija, a u ostalih je bolesnika najčešća indikacija bila krvarenje, najviše iz gastrointestinalnog trakta.

## COVID-19 CONVALESCENT PLASMA AS LONG-TERM THERAPY IN IMMUNODEFICIENT PATIENTS?

RNJAK D.<sup>1</sup>, Ravlić S.<sup>2</sup>, Šola A.<sup>3</sup>, Halassy B.<sup>2</sup>, Šemnički J.<sup>3</sup>, Šuperba M.<sup>3</sup>, Hećimović A.<sup>4</sup>, Kurolt I.<sup>5</sup>, Mačak Šafranek Ž.<sup>5</sup>, Polančec D.<sup>6</sup>, Bendelja K.<sup>2</sup>, Mušlin T.<sup>4</sup>, Jukić I.<sup>4</sup>, Vuk T.<sup>4</sup>, Zenić L.<sup>6</sup>, Artuković M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika za plućne bolesti Jordanovac, KBC Zagreb

• Pulmologija

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu

• Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji

<sup>3</sup>Specijalna bolnica za plućne bolesti

• Pulmologija

<sup>4</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Transfuziologija

<sup>5</sup>Klinika za zarazne bolesti "Dr Fran Mihaljević"

• Infektologija

<sup>6</sup>Dječja bolnica Srebrnjak

• Pedijatrija

The patients with hematological malignancies are a vulnerable group to COVID-19, due to the immunodeficiency resulting from the underlying disease and oncological treatment that significantly impair cellular and humoral immunity. For this group of patients, there is growing evidence that COVID-19 convalescent plasma therapy might be an effective treatment, although exact proof is missing since they are mostly excluded from clinical trials. This is the therapeutic principle that is most widely used only in the early period of encountering the novel infective pathogen, when the methods of antibody assessment, as well as other relevant methodology for the disease diagnostics and monitoring, have not been properly developed and validated yet.

Here we report on the beneficial impact of passive immunotherapy with convalescent plasma to treat a prolonged, active COVID-19. A 53-year old man was diagnosed with nasopharyngeal diffuse large B-cell lymphoma in 2018. Chemotherapy following autologous stem cell transplantation and radiotherapy of Waldeyer's ring was administered, and maintenance therapy with an antiCD20 monoclonal antibody rituximab was continued. Five weeks after the last rituximab administration COVID-19 was diagnosed, and on the fifth day of the disease, the patient was hospitalized. Chest RTG revealed bilateral interstitial lung infiltrates with respiratory insufficiency; oxygen therapy with prophylactic LMWH, dexamethasone, and proton-pump inhibitor was initiated. During

the hospitalization, the patient was constantly febrile with a gradual worsening of dyspnea and clinical deterioration. The control tests showed the progression of bilateral pneumonia in chest RTG and an increase in CRP with neutropenia. All blood cultures were sterile, head, neck, chest, abdomen and pelvic computed tomography did not show any signs of lymphoma relapse. In serology testing, specific SARS-CoV-2 antibodies were not detected, SARS-CoV-2 RT-PCR test of the nasopharyngeal swab on day 45 was still positive and an infective virus was detected in nasopharyngeal culture. Considering all the above-described and still active COVID-19 even after 45 days from the onset of symptoms, therapy with ABO-compatible COVID-19 convalescent plasma was applied. A total of six units of COVID-19 convalescent plasma, and the therapy with remdesivir. Following COVID-19 convalescent plasma therapy, the patient was afebrile, with a decline in CRP and regression on chest RTG. On the 98th day of the disease, the patient presented again with a fever, dyspnea, and yellow sputum expectoration. A chest RTG showed bilateral pneumonia progression. The patient was hospitalized, there were no specific SARS-CoV-2 antibodies in control tests, while SARS-CoV-2 was detected by RT-PCR test of blood, nasopharyngeal swab, and culture. Due to a still active COVID-19, after more than 100 days from the onset of symptoms, two units of COVID-19 convalescent plasma were administered, along with the antibiotic therapy following the sputum antibiogram. After the convalescent therapy, oxygen therapy was reduced, CRP level decreased and the patient was afebrile with regression of pneumonia in chest RTG. Besides the standard of care monitoring, neutralizing antibody titers in patients' serum samples were quantified.

During the immunotherapy period, peripheral blood flow cytometry immunophenotyping was conducted to characterize lymphocyte subpopulations. The phases of clinical improvements and worsening coincided with transfused neutralizing antibodies rises and drops in the patient's systemic circulation, proving their contribution in controlling the disease progress. A therapeutic approach based on convalescent plasma transfusion transformed a prolonged, active COVID-19 into a partly manageable chronic disease.

## Simpozij 7 – Stanična terapija

# STANIČNA TERAPIJA – OD KOŠTANE SRŽI DO PERSONALIZIRANE IMUNOTERAPIJE

BOJANIĆ I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

### Uvod

Stanične terapije jedna su od najuzbudljivijih inovacija u medicini u posljednjem desetljeću budući da nude izlječenje bolesti za koje se dosadašnja klinička praksa pokazala neuspješnom. Razvoj ovih terapija omogućen je istovremenim napretkom biotehnoloških metoda i poboljšanim razumijevanjem bioloških mehanizama na kojima se zasniva njihova učinkovitost i sigurnost. Upravo je dugogodišnje iskustvo u području transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS) pomoglo u prikupljanju ključnih informacija o biologiji krvotvornih matičnih stanica (KMS), histokompatibilnosti i interakciji imunosnih stanica koje upravljaju sudbinom transplantiranih stanica (1).

Transplantacija KMS se godinama uspješno koristi u liječenju mnogih bolesti krvotvornog i imunosnog sustava i prvi je primjer primjene regenerativne medicine u kliničkoj praksi. Danas se kao adoptivna imunološka terapija uspješno primjenjuju mnoge stanice imunosnog sustava, a odnedavno kao oblik personalizirane imuno-terapije koriste se i genetski modificirane imunosne stanice i to kao dodatak ili zamjena za TKMS.

### Povijest transplantacije krvotvornih matičnih stanica

Prva istraživanja KMS-a potaknula je potreba za liječenjem zatajenja koštane srži i leukemije nakon bombardiranja u Hirošimi i Nagasakiju kada su prepoznati biološki učinci zračenja (2,3). Koštana srž identificirana je kao izvor stanica koje se mogu transplantirati i regenerirati hematopoezu. Donnall Thomas i suradnici prvi su 1959. godine infundirali koštanu srž dvojici bolesnika s uznapredovalom leukemijom nakon supraletalnih doza zračenja i dokazali oporavak hematopoeze. Za uspjeh transplantacije ključno je bilo otkriće glavnog sustava tkivne podudarnosti HLA (engl. Human Leucocyte Antigen), koji omogućuje odabir HLA podudarnog darivatelja. Prisutnost KMS-a u perifernoj krvi u mišjim modelima opisana je 1960-tih, a nakon razvoja uređaja za aferezu dokazano je da leukociti prikupljeni iz periferne krvi sadrže jedinice koje stvaraju kolonije (eng. colony forming units, CFU) za koje se danas zna da su kratkotrajni krvotvorni progenitori. Otkriće granulocitnog faktora koji stimulira stvaranje kolonija (G-CSF) 1984. godine dovelo je do njegove primjene u mobilizaciji KMS-a u perifernu krv. Danas se najčešće koriste periferne KMS zbog jednostavnijeg načina prikupljanja i bržeg oporavka hematopoeze u odnosu na koštanu srž (1).

Krv iz pupkovine kao treći izvor KMS-a otkrivena je 1980-ih nakon nuklearne nesreće u Černobilu. Prva transplantacija krvi iz pupkovine učinjena je 1988. godine za liječenje dječaka s Fanconijevom anemijom. Iako je uspjeh transplantacije krvi iz pupkovine u djece potaknuo njezinu primjenu i u odraslih, glavno ograničenje bio je i ostao mali broj KMS i spor oporavak hematopoeze (4).

Kako bi se pronašli davatelji za čak 70% pacijenata koji nemaju HLA potpuno podudarnog srodnika, organizirani su registri dobrovoljnih darivatelja KMS-a koji međusobno surađuju i podatke o svojim potencijalnim darivateljima prijavljuju u Svjetsku organizaciju darivatelja koštane srži (eng. World Marrow Donor Association, WMDA) (1). Unatoč naporima registara, samo 50% pacijenata pronađe nesrodnog darivatelja, a taj je udio promjenjiv među različitim etničkim skupinama. Otkriće krvi iz pupkovine kao alternativnog izvora KMS-a potaknulo je organizaciju javnih banaka nesrodne krvi iz pupkovine koje su značajno povećale broj nesrodnih darivatelja, osobito za pacijente pedijatrijske dobi. Kako je sve više nesrodnih darivatelja dostupno diljem svijeta, broj alogenih TKMS povećao se za gotovo 30% u posljednjem desetljeću. Transplantacijske aktivnosti uvelike se razlikuju između razvijenih zemalja i zemalja u razvoju budući da zahtjevaju visoku razinu medicinske infrastrukture i ljudskih resursa potrebnih za uspješnu provedbu ovog složenog postupka (5).

### Izvori krvotvornih matičnih stanica i metode optimizacije prinosa i sadržaja stanica

Aspirati koštane srži, mobilizirana periferna krv i krv iz pupkovine danas se rutinski koriste kao izvori za TKMS-a i kao ishodišne stanice za proizvodnju drugih staničnih terapija (3). Broj cirkulirajućih KMS-a pove-

ćava se korištenjem mobilizirajućih sredstava, poput G-CSF-a i/ili pleriksafora, antagonista CXCR4 kemokinskog receptora 4CR4. Sadržaj CD34+ stanica najmanji je u krvi iz pupkovine, a najveći u mobiliziranim perifernim KMS prikupljenim aferezom. Sva tri izvora sadrže T-stanice koje mogu izazvati GVHD kada se koriste za alogenou transplantaciju. T-stanice prisutne su u najmanjem broju u krvi iz pupkovine, a uz to se smatraju imunološki naivnima. Apsolutni broj limfocita, monocita, T-stanica i dendritičnih stanica kao i omjer CD4/CD8 T-stanica značajno je veći u pripravcima perifernih KMS mobiliziranih G-CSF-om nego u koštanoj srži. Ako su darivatelj i primatelj podjednake tjelesne težine u koštanoj srži nalazi se u pravilu dovoljan broj CD34+ stanica, ali oporavak hematopoeze je dulji nego nakon perifernih KMS. Primjena G-CSF-a prije vađenja koštane srži može ubrzati oporavak hematopoeze, a smanjiti GVHD. S obzirom na stanične karakteristike, HLA podudarnost najmanje je restriktivna za transplantaciju krvi iz pupkovine, a prati ju i najniža stopa akutnog i kroničnog GVHD-a. Nažalost, KMS iz pupkovine zbog malog broja CD34+ stanica prati i najsporiji oporavak hematopoeze. Mnogi su agensi testirani za ex vivo ekspanziju krvi iz pupkovine, ali većina nije uspjela povećati količinu KMS-a odgovornih za dugotrajnu repopulaciju hematopoeze pa je jedina opcija za njenu primjenu kod odraslih za sada istodobna transplantacija dvije doze (4).

Rutinska obrada transplantata KMS provodi se radi optimizacije volumena i uklanjanja krvnih komponenti u slučaju nepodudarnosti u ABO sustavu krvnih gurpa (3). Složenje obrade koriste se za optimizaciju staničnog sastava prema zahtjevima individualnih protokola transplantacije. Obrada transplantata KMS-a uglavnom je usmjerena na uklanjanje T-stanica kako bi se prevladala HLA barijera i smanjila aloreaktivnost. Rana istraživanja koristila su selekciju CD34+ stanica kao ex vivo metodu obrade, međutim potpuno uklanjanje T-stanica, uključujući donorske memorijalne T-stanice, rezultiralo je odgođenim oporavkom hematopoeze i imunosnih stanica te posljedično visokom smrtnosti povezanom s transplantacijom zbog teških infektivnih komplikacija. Posljednjih godina selektivno uklanjanje neželjenih stanica poput CD3+/CD19+ stanica ili TcRαβ+/CD19+ stanica pruža mogućnost prilagodbe transplantata potrebama pojedinog pacijenta, a budući da nakon obrade preostaju NK stanice, γδ T-stanice, T memorijalne stanice i T regulatorne stanice imunološki oporavak je brži, a učestalost GVHD-a manja.

### **Indikacije za transplantaciju krvotvornih matičnih stanica**

**Transplantacija autolognih KMS-a** najčešće se koristi za liječenje pacijenata s multiplim mijelom, limfomima i nekim solidnim tumorima. Princip liječenja autolognom TKMS je primjena visokih, supraletalnih doza kemoterapije ili kemoradioterapije s ciljem nadvladavanja rezistencije tumora i postizanja izlječenja, dok se transplantacijom prethodno uzetih KMS-a samo prevladava ireverzibilna toksičnost intenzivne terapije za krvotvorni sustav. Kako je imunosni sustav dio krvotvornog sustava, autolognom TKMS nastoje se korigirati i autoimuni poremećaji (6). Dosadašnja istraživanja su pokazala da primjena visokih doza citostatika i transplantacije autolognih KMS-a uspješno modulira reaktivnost imunoloških stanica protiv autolognih tkiva i poboljša kliničko stanje pacijenata s multiplom sklerozom, sistemskom sklerozom i Chronovom bolesti rezistentnim na standardne metode liječenja. Protokoli za autoimune bolesti koriste selekciju CD34+ stanica u pripremi autolognih transplantata s ciljem uklanjanja imunokompetentnih limfocita i drugih vrsta stanica koje potencijalno mogu uzrokovati bolesti. Uništavanjem disfunkcionalnog autoreaktivnog imunološkog sustava i njegovom obnovom pomoću auto-TKMS, dokazano je ponovno pokretanje "resetiranje" imunosnog sustava koji se očituje promjenama u repertoaru T i B stanica kao i u regulaciji staničnih funkcija.

**Transplantacijom alogenih KMS-a** većinom se liječe pacijenati s malignim hematološkim bolestima, uglavnom akutnim leukemijama iako se indikacije sve više proširuju te uključuju nemaligne bolesti kao što su hemoglobinopatije, sindrome kongenitalne ili stečene insuficijencije koštane srži, primarne imunodeficiencije i naslijedne metaboličke poremećaje kojima nedostaje učinkovita nadomjesna enzimska terapija (7). Za uspješno presadivanje alogenih KMS-a, pacijent mora prije transplantacije primiti neki oblik kondicioniranja, a u hematološkim malignim bolestima obično se koristi kemoterapija i zračenja cijelog tijela, koji također djeluju protiv osnovne bolesti. Glavna prednost alogene TKMS je kontrola zaostalih malignih stanica njihovim prepoznavanjem od strane imunosnih stanica darivatelja, tzv. graft vs leukemia (GVL) učinak, što je povezano s nižom stopom relapsa, ali nažalost i većom toksičnošću od autologne TKMS. Klinički rizici koji prate alogenu TKMS su produljena imunodeficiencija, odbacivanje transplantata i bolest transplantata protiv domaćina (GVHD). Kako se bolje razumije GVL reakcija, češće se koristi priprema s manje intenzivnim dozama kemoterapije i zračenja, što smanjuje toksičnost i mortalitet povezan s transplantacijom i omogućuje primjenu kod starijih i pacijenata s komorbiditetima koji ne bi mogli podnjeti mijeloablativnu terapiju. Primjena "megadoza" CD34+ stanica i

modificiranih imunosupresivnih protokola, osobito poslijetransplantacijskog ciklofosfamida kojim se provodi in vivo deplecija T-stanica, dopustila je kršenje donedavno općeprihvачene dogme kako je transplantacija alogenih KMS moguća samo u slučaju potpune podudarnost u HLA antigenima darivatelja i primatelja (8). Mogućnost transplantacije KMS-a prikupljenih od haploidentičnih srodnih darivatelja sada omogućuje pronaalaženje jednog ili više potencijalnih darivatelja za gotovo sve primatelje.

### **Primjena imunoloških efektornih stanica**

Alogena TKMS smatra se imunoterapijom jer je antitumorska učinkovitost, tzv. GVL reaktivnost posredovana međudjelovanjem imunoloških efektornih stanica darivatelja i pirmatelja. Glavna populacija stanica odgovorih za uspjeh i neuspjeh TKMS potječe iz  $\alpha\beta$  T-stanica. Međutim i druge efektorne stanice kao što su NK stanice i regulatorne T-stanice (Treg) moduliraju učinkovitost GVL-a (9). Infuzije limfocita darivatelja (DLI) koriste se profilaktički ili kao preventivno liječenje trajne minimalne ostatne bolesti, dok se u kombinaciji s kemoterapijom koriste za liječenje recidiva nakon TKMS-a.

U kliničkoj praksi, transplantati alogenih KMS većinom se primjenjuju bez dodadne obrade i sadrže veliki broj T-stanica. Potpuno uklanjanje T-stanica dovodi do izostanka GVHD-a, ali po cijenu povećane učestalosti recidiva i odgođenog imunološkog oporavka, što često uzrokuje neprihvaćanje ili odbacivanja transplantata. Iskušane su mnoge već spomenute tehnike selektivnog uklanjanja neželjenih podskupina T-stanica metodama negativne i/ili pozitivne selekcije kako bi se unaprijedila kvaliteta i učinkovitost pripravka KMS i DLI-a. One predstavljaju inovativne pristupe staničnoj terapiji, koji su danas dostupni i u rutinskoj kliničkoj praksi zbog automatizacije obrade stanica in vitro. Tehnologije prijenosa gena nude dodatne mogućnosti promicanja korisnog GVL-a uz obuzdavanje štetnog GVHD-a. Infuzija darivateljevih T-stanica koje izražavaju suicidalni gen timidin kinazu ili ikaspazu 9 pokazala se učinkovita u akutnom GVHD-u (1).

### **Imunoterapija u liječenju GVHD-a**

Budući da je GVHD u velikoj mjeri refraktoran na konvencionalno liječenje, idealan je za ispitivanje novih staničnih terapija kao što su ekstrakorporalna fotofereza, Treg-stanice i mezenhimske stanice. Ekstrakorporalna fotofereza je imunomodulatorna terapija i danas je neizostavan postupak liječenja GVHD-a koji ne reagira na medikamentoznu terapiju, a učinak se ostvaruje putem limfocita i monocita izloženih psoralenu i UVA zračenju. Treg-stanice su snažni posrednici imunološke tolerancije, a primjenjene u profilaksi smanjuju incidenciju akutnog GVHD-a bez neželjenih učinaka (10). Mezenhimske stanice također imaju snažnu imunosupresivnu aktivnost, ali za razliku od Treg-stanica koje mogu prevenirati nastanak GVHD-a, pokazale su se djelotvornima samo u liječenju GVHD-a (11).

### **Antivirusna adoptivna terapija T limfocitima**

Nepotpun oporavak T-stanica nakon TKMS pogoršan GVHD-om povezan je s oslabljenim odgovorima na reaktivaciju herpes virusa poput CMV-a i EBV-a i adenovirusa, a to je potaknulo razvoj antivirusnih staničnih terapija proizvedenih od darivateljevih stanica. Nakon prve uspješne primjene CMV-specifičnih klonova T-stanica još 1992. godine, ubrzo su slijedile T-stanice specifične za EBV i adenoviruse. Kako in vitro izolacija specifičnih T-stanica nije uspješna kod darivatelja koji nisu bili izloženi uzročnicima bolesti, proizvode se i djelomično podudarne, virusno specifične T-stanice dobivene od zdravih ispitanika, tzv. treće strane koje su odmah dostupne. Budući da su samo djelomično HLA podudarne, ove virusno specifične T-stanice obično ne prežive dugo u primatelju, ali je najčešće to dovoljno dugo da se premosti period do imunološkog oporavka (12).

### **Modificirane T-stanice s antitumorskim učinkom**

Napredak u razumijevanju imunoloških reakcija rezultirao je razvojem staničnih terapija izvan okruženja TKMS-a. Adoptivna antitumorska terapija ex vivo eksplandiranim ili modificiranim autolognim T-stanicama intenzivno se istražuje (13). Međutim, relativno niska učestalost imunoloških stanica s antitumorskim djelovanjem, poput limfocita koji infiltriraju tumor, ograničila je njihov klinički uspjeh. Jedna od najatraktivnijih mogućnosti koju nude suvremene tehnologije prijenosa gena je genetsko preusmjeravanje autolognih ili alogenih T-stanica protiv tumorskih antigena ekspresijom ili tumor specifičnih receptora T-stanica (eng. T cell receptor, TCR) ili kimeričnih antigenih receptora (eng. chimeric antigen receptor, CAR). Posljednjih godina zabilježeni su impresivni klinički uspjesi CAR T-stanica usmjerenih na CD19 u djece i odraslih oboljelih od malignih bolesti B stanica i za sada su odabrena dva takva lijeka koja sadrže autologne CAR T-stanice. Intenzivno se

istražuju alogene CAR T-stanice koje bi bile odmah dostupne, ali i otvorile pitanja učinkovitosti, sigurnosti zbog pojave GVHD-a, kao i in vivo postojanosti.

Personalizirani lijekovi kao što su CAR T-stanice proizvode se iz pripravaka stanica prikupljenih u bolničkim ustanovama, a budući da su tijekom proizvodnje stanice podvgnute značajnim modifikacijama finalni proizvodi svrstavaju se u područje medicinskih proizvoda za naprednu terapiju i moraju se proizvoditi prema dobroj proizvođačkoj praksi uobičajenoj za farmaceutsku industriju. Komercijalizacija ovih inovativnih terapija otvara dosad neviđena medicinska, etička, finansijska pitanja dostupnosti lijeka, te odgovornosti svih dionika, dok regulatorna tijela traže praćenje sigurnosti i učinkovitosti u "stvarnim" uvjetima (14).

### Zaključak

Tijekom posljednjeg desetljeća znanstvena i biotehnološka otkrića omogućila su procvat stanične terapije i njenu primjenu u brojnim medicinskim disciplinama. Suvremene stanične terapije ne samo da dio svog razvoja duguju TKMS-u, već obećavaju i poboljšanje primjenjivosti, sigurnosti te učinkovitosti TKMS-a, a mogle bi ju čak i zamijeniti. Hoće li one ostvariti očekivanja ovisi ne samo o znanstvenom i biotehnološkom razvoju, već i o tome hoće li se prevladati logistički, ekonomski i regulatorni izazovi koje njihova proizvodnja i primjena donose (1).

### LITERATURA

1. Chabannon C, Kuball J, Bondanza A i sur. Hematopoietic stem cell transplantation in its 60s: A platform for cellular therapies. *Sci Transl Med*. 2018 Apr 11;10(436):eaap9630.
2. Barriga F, Ramírez P, Wietstruck A, Rojas N. Hematopoietic stem cell transplantation: clinical use and perspectives. *Biol Res* 2012;45:307–16.
3. Panch SR, Szymanski J, Savani BN, Stroncek DF. Sources of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Methods to Optimize Yields for Clinical Cell Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:1241–9.
4. Gluckman E. History of cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009;44:621–6.
5. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C i sur.; European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the EBMT: monitoring of activities and trends over 30 years. *Bone Marrow Transplant* 2021;56:1651–64.
6. Snowden JA, Badoglio M, Labopin M i sur.; EBMT Autoimmune Diseases Working Party; Paediatric Working Party; JACIE-ISCT. Evolution, trends, outcomes, and economics of hematopoietic stem cell transplantation in severe autoimmune diseases. *Blood Adv* 2017;1:2742–55.
7. Mahmoud HK, Elhaddad AM, Fahmy OA i sur. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant hematological disorders. *J Adv Res*. 2015;6:449–58.
8. Kanakry CG, Fuchs EJ, Luznik L. Modern approaches to HLA-haploidentical blood or marrow transplantation. *Nat Rev Clin Oncol* 2016;13: 10–24.
9. Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science* 2015;348:62–8.
10. Edinger M, Hoffmann P, Ermann J i sur. D4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting GVHD after bone marrow transplantation. *Nat Med* 2003;9:1144–50.
11. von Dalowski F, Kramer M, Wermke M i sur. Mesenchymal stromal cells for treatment of acute steroid-refractory GVHD: Clinical responses and long-term outcome. *Stem Cells* 2016;34:357–66.
12. O'Reilly RJ, Prockop S, Hasan AN i sur. Virus-specific T-cell banks for 'off the shelf' adoptive therapy of refractory infections. *Bone Marrow Transplant* 2016;51:1163–72.
13. Cui X, Liu R, Duan L i sur. CAR-T therapy: Prospects in targeting cancer stem cells. *J Cell Mol Med*. 2021 Sep 28. Epub ahead of print.
14. Chabannon C, Hildebrandt M, Scheding S i sur. Regulation of advanced therapy medicinal products will affect the practice of haematopoietic SCT in the near future: A perspective from the EBMT cell-processing committee. *Bone Marrow Transplant* 2015;50:321–3.

## UTJECAJ TALIDOMIDA U UVODNOJ TERAPIJI NA MOBILIZACIJU I PRIKUPLJANJE KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA U BOLESNIKA S MULTIPLIM MIJELOMOM

JURENEC S.<sup>1</sup>, Mandac Smoljanović I.<sup>2</sup>, Zatezalo V.<sup>2</sup>, Radić-Krišto D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinička bolnica Merkur

• Odjel za anesteziju, reanimatologiju i intenzivno liječenje

<sup>2</sup>Klinička bolnica Merkur

• Zavod za hematologiju

**Uvod:** Multipli mijelom je maligna bolest porijekla B limfocita, karakterizirana proliferacijom monoklonalnih plazma stanica u koštanoj srži koje proizvode monoklonalni imunoglobulin te posljedičnom disfunkcijom organa. Pacijenti podobni za transplantaciju KMS primaju induksijsku terapiju, tri do četiri ciklusa. Nakon postizanja barem vrlo dobre parcijalne remisije (VDPR) pristupa se mobilizaciji perifernih KMS. **Talidomid** je derivat glutaminske kiseline. Ima antiangiogenu i imunomodulatornu aktivnost te direktni utjecaj na mijelomske stanice. Postupak prikupljanja perifernih KMS se provodi nakon primjene visokih doza ciklofosfamida, uz primjenu G-CSF-a. Cilj je prikupiti dva puta po  $\geq 3,5 \times 10^6$  CD 34+/kg TT, minimalno dva puta po  $2 \times 10^6$  CD34+/kg TT.

**Cilj:** Analizirati i usporediti uspješnost i učinkovitost mobilizacije i prikupljanja KMS nakon provedene uvodne terapije s i bez talidomida u ovisnosti o dobi bolesnika i broju linija uvodne terapije (LUT). Kod bolesnika koji su primili više LUT analizirati utjecaj dobi na navedene parametre.

**Metode:** Retrospektivno smo analizirali podatke 169 bolesnika oboljelih od multiplog mijeloma koji su od 01.01.2015. do 15.09.2021., nakon primljene uvodne i mobilizacijske kemoterapije i čimbenika rasta pristupili postupku prikupljanja KMS. S obzirom na broj LUT koju su dobili, bolesnike smo podijelili u dvije grupe: bolesnici s jednom i više LUT. Bolesnike liječene jednom LUT podijelili smo na one koji u uvodnoj terapiji jesu ili nisu dobili talidomid. Skupine smo podijelili po dobi, odnosno starije i mlađe od 60 godina. Analizirali smo trajanje mobilizacije, broj CD34+ stanica u krvi na dan leukafereze, broj postupaka leukafereze, broj prikupljenih CD34+ stanica, vrstu GCSF-a. Najčešće korišteni uvodni protokoli su VCD, VTD, VAD. Nakon uvodne terapije kojom se postigla barem VDPR, provodi se mobilizacija KMS. Mobilizaciju smo provodili kombinacijom kemoterapije (ciklofosfamid) i čimbenika rasta granulocita (filgrastima, pegfilgrastima, lipefilgrastima, plerixafora). Dan poslije kemoterapije bolesniku je primijenjen pegfilgrastim ili lipefilgrastim. Kada broj leukocita poraste iznad  $1 \times 10^9/L$ , određuje se broj CD34+stanica u krvi, a kada apsolutni broj bude  $\geq 10 \times 10^6/L$ , pristupa se leukafeze. Ako ne dođe do adekvatnog porasta broja KMS u krvi, mobilizacija se potakne filgrastimom i eventualno plerixaforom. U postuku leukafereze procesuirano je dva do pet volumena krvi.

**Rezultati:** Samo jednu LUT primilo je 128 bolesnika. Nije bilo značajne razlike u trajanju mobilizacije između onih koji su primili talidomid, mlađi (9,6 dana), stariji (10,03 dana) i onih koji nisu, mlađi (9,23 dana),

TABLICA 1.

Primili jednu LUT				
	Bez talidomida		S talidomidom	
	$\leq 60$ godina	Stariji od 60 god	$\leq 60$ godina	Stariji od 60 god
Broj bolesnika	51	58	13	6
Trajanje mobilizacije u danima	9,6 (8-14)	10,03 (7-15)	9,23 (8-10)	9,3 (8-10)
Prosječan broj CD34+ stanica u krvi na dan leukafereze ( $\times 10^6/L$ )	55,49 (7,25-249,3)	49,96 (6,74-191,22)	70,61 (9-211,24)	63,14 (12,56-165,36)
Prosječan broj postupaka leukafereze po pacijentu	1,2 (1-2)	1,3 (1-3)	1,3 (1-3)	1,3 (1-2)
Prosječan broj prikupljenih CD34+ stanica ( $\times 10^6/kg$ TT)	10,18 (1,07-36,99)	9,56 (0,84-31,47)	10,46 (1,11-17,66)	9,8 (3,75-12,11)
Vrsta GCSF – broj mobiliziranih pacijenata	peg.filgrastim- 48  peg.filgrastim+ filgrastim- 3	peg.filgrastim- 41 peg.filgrastim+ filgrastim- 16 peg. filgrastim+ +filgrastim+ + plerixafor- 1	peg.filgrastim- 11  peg.filgrastim+ filgrastim- 2	peg.filgrastim- 4  peg.filgrastim+ filgrastim- 2

TABLICA 2.

Primili više LUT		
	≤ 60 godina	Stariji od 60 god
Broj bolesnika	24	17
Trajanje mobilizacije (dani)	9,79 (8-17)	10,11 (8-13)
Prosječan broj CD34+stanica u krvi na dan leukaferoze ( $\times 10^6/L$ )	50,33 (11,18-184)	28,44 (7-144)
Prosječan broj postupaka leukaferoze po pacijentu	1,3 (1-2)	1,59 (1-3)
Prosječan broj prikupljenih stanica ( $\times 10^6/kg$ TT)	9,54 (0,61-25,41)	8,46 (0,5-15,78)
Vrsta GCSF – broj mobiliziranih pacijenata	peg.filgrastim- 17 peg.filgrastim+ filgrastim- 5 peg.filgrastim+filgrastim+ + plerixafor- 3	peg.filgrastim- 11 peg.filgrastim+ filgrastim- 5 peg.filgrastim+ + filgrastim+ + plerixafor- 1

stariji (9,3 dana). Na dan leukaferoze prosječan broj KMS u krvi bio je viši kod bolesnika koji su primali talidomid (mlađa skupina  $70,61 \times 10^6/L$ , starija  $63,14 \times 10^6/L$ ) u odnosu na one koji nisu (mlađa skupina  $55,49 \times 10^6/L$ , starija  $49,96 \times 10^6/L$ ), bez značajnije razlike među dobnim skupinama. Broj postupaka leukaferoze bio je podjednak u svim skupinama kao i prosječan broj prikupljenih stanica po bolesniku (9,6 do  $10,5 \times 10^6/kg$  TM). U mobilizaciji 16 starijih bolesnika koji nisu primali talidomid dodatno je primijenjen filgrastim, a kod jednog bolesnika, uz filgrastim je primijenjen i plerixafor. Zbog malog broja bolesnika u starijoj skupini s talidomidom (6), ne može se raditi usporedba sa skupinom bez talidomida s obzirom na vrstu GCSF-a korištenog u mobilizaciji. U skupini bolesnika koji su liječeni s više linija uvodne terapije analiziran je 51 bolesnik. Trajanje mobilizacije je u obje dobne skupine bilo podjednako (mlađa 9,8 dana, starija 10,1 dan). U skupini starijih bolesnika broj KMS u krvi na dan leukaferoze bio je manji u odnosu na mlađe ( $28,44$  vs.  $50,33 \times 10^6/L \times 10^6/L$ ), kao i prosječan broj prikupljenih stanica ( $8,46$  vs.  $9,54 \times 10^6/kg$ ). Prosječan broj postupaka leukaferoze u starijoj skupini je bio veći (1,59 vs 1,3). (tablice 1. i 2.)

**Zaključak:** Naši rezultati retrospektivne analize potvrđuju da talidomid ne utječe na uspješnost mobilizacije. Kod pretratiranih pacijenata dob je bila značajan faktor koji je utjecao na broj CD34+ stanica u krvi, prosječan broj prikupljenih stanica kao i trajanje mobilizacije.

## NEŽELJENE REAKCIJE PRILIKOM TRANSPLANTACIJE ALOGENIČNIH KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA

FRIŠČIĆ N.<sup>1</sup>, Bojanić I.<sup>1</sup>, Mazić S.<sup>1</sup>, Duraković N.<sup>2</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup>KBC Zagreb

• Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti

**Uvod:** Iako se transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) smatra općenito sigurnim postupkom, neželjene reakcije (NR) prilikom infuzije pripravka krvotvornih matičnih stanica (KMS) i dalje su česte kod pacijenata podvrgnutima postupku TKMS. Učestalost pojave NR prilikom infuzije pripravka KMS ovisi o obilježjima primatelja KMS (npr. spol, dob, dijagnoza) kao i sastojcima pripravka: staničnim (npr. granulociti) i/ili nestaničnim sastojcima (npr. dimetil-sulfoksid (DMSO)). NR mogu biti u rasponu od blagih pa do životno ugrožavajućih reakcija kao što su respiratorne i kardiovaskularne reakcije te imunološke reakcije poput sindroma otpuštanja citokina. Cilj ovog rada je, na temelju retrospektivne obrade podataka, odrediti incidenciju, stupanj i

potencijalne prediktivne čimbenike za pojavu NR prilikom alogenične TKMS u odraslih i pedijatrijskih pacijenata u KBC Zagreb.

**Metode:** Istraživanje je obuhvatilo analizu podataka o tijeku infuzije pripravaka stanica za pacijente transplantirane pripravcima koštane srži te svježih i krioprezerviranih perifernih KMS u razdoblju od srpnja 2013. do srpnja 2021. godine upisanih u informacijski sustav T.C.S. i bolnički informacijski sustav BIS. Periferne KMS prikupljene su postupkom leukaferese nakon mobilizacije granulocitnim faktorom rasta (G-CSF), a KS je prikupljena standardnim postupkom prikupljanja u operacijskoj sali. Pripravci perifernih KMS krioprezervirani su uz dodatak krioprotektivne otopine koja sadrži 5% ljudski albumin i DMSO te pohranjeni u plinovitoj fazi tekućeg dušika. Za infuziju pripravaka KMS korišten je standardni sistem za transfuziju, a krioprezervirani pripravci su prethodno odmrznuti u vodenoj kupelji ili uređaju za suho odmrzavanje. Svi pacijenti su prije infuzije pripravka primili premedikaciju prema standardnom bolničkom protokolu. Nadzor tijeka TKMS kod pacijenata uključivao je praćenje vitalnih znakova i znakova toksičnosti tijekom postupka TKMS. NR su razvrstane prema *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE) verzija 5.0.

**Rezultati:** Analizirani su podaci 507 pacijenata kojima je infundirano ukupno 780 pripravaka KMS-a; 110 ih je primilo pripravak svježe koštane srži (KS), 298 pripravak svježih perifernih KMS i 99 pripravak krioprezerviranih perifernih KMS. Obilježja pacijenata navedena su u Tablici 1. NR su se javile kod 14,5% pacijenata koji su primili KS, 13,1% pacijenata koji su primili pripravke svježih perifernih KMS te 23,2% pacijenata koji su primili krioprezervirane periferne KMS ( $p=0,051$ ). Spol, dijagnoza i ABO podudarnost nisu utjecali na pojavu reakcija nakon infuzije KS, svježih perifernih KMS ni krioprezerviranih perifernih KMS, ali pokazalo se da dob utječe na pojavu NR kod infuzije pripravka krioprezerviranih perifernih KMS ( $p=0,03$ ) (Tablica 1.).

TABLICA 1. OBILJEŽJA PACIJENATA I NEŽELJENE REAKCIJE TIJEKOM TRANSPLANTACIJE ALOGENIČNIH KMS

Pacijenti (n)		Koštana srž		Periferne KMS svježe		Periferne KMS krioprezervirane				
		DA	NE	P	DA	NE	P			
NR*	DA	7 (11,5%)	54 (88,5%)	<i>0,308</i>	20 (12,8%)	136 (87,2%)	<i>0,886</i>	7 (14,6%)	41 (85,4%)	<i>0,059</i>
Spol	M	9 (18,4%)	40 (81,6%)	<i>0,277</i>	19 (13,4%)	123 (86,6%)	<i>0,96</i>	16 (31,4%)	35 (68,6%)	<i>0,03</i>
	Ž	35,5(1-67)	27,5 (0-70)		49,0 (6-62)	49,0(1-70)		37,0 (4-64)	51,0 (1-68)	
ABO podudarnost	Identični	7(11,9%)	52 (88,1%)	<i>0,661</i>	22 (11,8%)	164 (88,2%)	<i>0,074</i>	12 (28,6%)	30 (71,4%)	<i>0,533</i>
	Mala	4(21,1%)	15 (78,9%)		6 (11,3%)	47 (88,7%)		5 (22,7%)	17 (77,3%)	
	Obostrana	1 (9,0%)	10 (91,0%)		6 (33,3%)	12 (66,6%)		1 (8,3%)	11 (91,7%)	
	Velika	4 (19,0%)	17 (81%)		5 (12,2%)	36 (87,8%)		5 (21,7%)	18 (78,3%)	
Dijagnoze	ALL	0	21(100%)	<i>0,334</i>	9 (14,3%)	54 (85,7%)	<i>0,781</i>	4 (23,5%)	13 (76,5%)	<i>0,167</i>
	AML	7 (20,6%)	27 (79,4%)		18 (12,9%)	122 (87,1%)		10 (23,3%)	33 (76,7%)	
	Mb Hodgkin	1(11,1%)	8 (88,8%)		1 (16,6%)	5 (83,3%)		0	0	
	NHL	0	12 (100%)		0	12 (100%)		1 (25%)	3 (75%)	
	MDS	3 (25%)	9 (75%)		6 (20%)	24 (80%)		4 (30,8%)	9 (69,2%)	
	Ostalo**	5 (20%)	16 (80%)		4 (9,5%)	38 (90,5%)		3 (15,8%)	16 (84,2%)	

\* NR = neželjene reakcije, \*\* Aplastična anemija, CML, CLL, BAL, MM, OMF, OMS, SCID, hemofagocitna histiocitoza kronična granulomatozna bolest

Prema CTCAE klasifikaciji zabilježene su NR od 1. stupnja do 4. stupnja (Tablica 2.), od kojih su NR 1. stupnja bile najčešće unutar sve tri skupine pripravaka. NR 1. stupnja čine 61,5%, NR 2. stupnja 33,3%, NR 3. stupnja 2,6%, a NR 4. stupnja 2,6 % od ukupnog broja NR. Nije zabilježena niti jedna NR 5. stupnja. Najčešće NR 1. stupnja bile su porast temperature do 39,0 stupnjeva, mučnina i crvenilo kože/osip, a porast tlaka do 160/100 mmHg, povraćanje i porast temperature iznad 39,0 stupnjeva bile su najčešće NR 2. stupnja. NR 3. i 4. stupnja uključivale su teške poremećaje kardiovaskularnog, respiratornog i imunološkog sustava koji su zahtjevali zbrinjavanje pacijenata u Jedinici intenzivnog liječenja.

TABLICA 2. STUPANJ I VRSTA NEŽELJENIH REAKCIJA TIJEKOM TRANSPLANTACIJE ALOGENIČNIH KMS

		Koštana srž	Periferne KMS svježe	Periferne KMS krioprezervirane	Ukupno
1. stupanj	Vrsta NR*				
	porast temperature 38,0–39,0°C	4	14	0	18
	mučnina	2	3	2	7
	crvenilo kože/osip	1	2	3	6
	zimica	1	2	0	3
	vrućina	0	0	3	3
	kašalj/grebanje u grlu	0	0	3	3
	bol (u prsima/trbuhu)	1	0	2	3
	glavobolja	0	1	1	2
2. stupanj	asimptomatski pad tlaka	0	0	1	1
	porast temperature 39,0–40,0	0	9	0	9
	povraćanje	1	2	6	9
3. stupanj	hipertenzija $\leq 160/100$ mmHg	5	3	2	10
	hipertenzija $> 160/100$ mmHg	0	1	0	1
4. stupanj	Takotsubo kardiomiopatija	1	0	0	1
5. stupanj	sindrom otpuštanja citokina	0	2	0	2
	smrtni ishod	0	0	0	0
Pacijenti (n)		16	39	23	78

\*NR = neželjene reakcije

**Zaključak:** Prilikom TKMS može doći do pojave NR, a najčešće su se javile kod pacijenata koji su primili krioprezervirane periferne KMS. Iako se najčešće radi o NR 1. stupnja koje prolaze spontano ili na primjenu minimalne terapije, potreban je poseban oprez s obzirom da su zabilježene i teške, životno ugrožavajuće reakcije. Smatramo da je nadzor pacijenata prilikom TKMS od strane medicinskog osoblja nužan kako bi se navedene NR na vrijeme prepoznale i liječile s ciljem sprječavanja razvoja dalnjih komplikacija ili smrtnog ishoda.

## EKSTRAKORPORALNA FOTOFEREZA NAKON TRANSPLANTACIJE PLUĆA U KBC ZAGREB (2014–2021.)

MAZIĆ S.<sup>1</sup>, Bojanic I.<sup>1</sup>, Burnać I. L.<sup>1</sup>, Džubur F.<sup>2</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup><sup>1</sup>KBC Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup>KBC Zagreb

• Klinika za plućne bolesti Jordanovac

**Uvod:** Transplantacija pluća je terapijska opcija za pacijente s terminalnom plućnom bolesti međutim uspjeh transplantacije je narušen razvojem kronične disfunkcije transplantata (CLAD, engl. Chronic lung allograft dysfunction). Najčešći oblik CLAD-a je sindrom obliterirajućeg bronholitisa (BOS, engl. Bronchiolitis obliterans syndrome) koji razvije gotovo polovica pacijenata unutar 5 godina te je ujedno i vodeći uzrok smrtnosti nakon jedne godine od transplantacije. Kod BOS-a se, zbog fibroproliferativnog odgovora na razini malih dišnih puteva, razvija funkcionalni defekt ventilacije koji se definira kao smanjenje forsiranog respiratornog volumena u 1 sekundi (FEV<sub>1</sub>) na  $\leq 80\%$  koje traje duže od 3 tjedna uz isključenje drugih uzroka plućne disfunkcije. Inicijalna terapija BOS-a uključuje pojačanu imunosupresiju uz imunomodulaciju makrolidnim antibioticima. Prema

preporukama američkog stručnog društva za aferezu (ASFA) ekstrakorporalna fotofereza (ECP) se uključuje u drugoj terapijskoj liniji kod pacijenata s teškim refraktornim BOS-om kako bi se stabilizirao ili usporio gubitak plućnih funkcija.

ECP ostvaruje imunomodulacijski učinak putem vlastitih mononuklearnih stanica (MNS) koje, nakon izlaganja psoralenskoj fotoaktivnoj tvari i UV-A svjetlu, odvodi u apoptozu. Daljnim, kompleksnim i ne sasvim razjašnjjenim interakcijama postiže se promjena citokinskog profila iz proupatnog u protuupalni uz razvoj T regulacijskih limfocita i diferencijacije monocita u dendritičke stanice.

Cilj ovog rada je prikazati primjenu ECP kod pacijenata nakon transplantacije pluća u proteklih 7 godina u KBC Zagreb.

**Metode:** ECP se u KBC Zagreb provodi od 2006. godine "off-line" tehnikom (otvoreni sustav). Ovaj postupak zahtjeva prikupljanje produkta MNS leukaferezom na staničnom separatoru Spectra Optia, kojem se, nakon razrjeđivanja fiziološkom otopinom dodaje fotoaktivna tvar 8-methoxypsoralen (Uvadex). Pripravak se ozračuje u uređaju za UV-A zračenje (Macogenic-Macopharma) i potom reinfundira pacijentu. Postupak traje 5–6 sati. Od 2019.g. na raspolaganju je i zatvoreni sustav ECP; "in line" tehnika na separatoru Therakos Cellex koji kroz 2–3 sata izdvaja, ozrači i reinfundira MNS pacijentu. Provodi se 6 ciklusa ECP svaki drugi tjedan, potom se pacijenti reevaluiraju i prema potrebi ponavljaju terapiju.

**Rezultati:** U periodu od 2014.–2021. godine ECP je provedena kod 13 pacijenata s transplantiranim plućima od kojih je bilo 8 žena i 5 muškaraca medijana dobi 54 godine (raspon 26–70). Razlozi za transplantaciju bili su cistična fibroza (N 2), idiopatska plućna fibroza (N 5), sekundarna plućna fibroza (N 1), idiopatska plućna hipertenzija (N 3), sekundarna plućna hipertenzija (N 1) i alveolarna mikrolitijaza (N 1). Kod većine pacijenata (N 12, 92%) se radilo o razvoju kroničnog BOS-a uz pogoršanje plućnih funkcija dok je jedna pacijentica upućena zbog akutnog odbacivanja dva mjeseca nakon transplantacije. Medijan vremena od transplantacije do prve ECP iznosi je 48 mjeseci (raspon 2–104).

Venski pristup je kod većine pacijenata ostvaren putem perifernih vena (11, 85%), jedna pacijentica je zahtjevala postavljanje centralnog venskog katetera a kod druge je korištena kombinacija periferne vene i IV uvodnice. Ukupno su učinjena 223 postupka ECP, medijan provođenja terapije bio je 3 mjeseca (raspon 1–24) a medijan broja provedenih postupaka po pacijentu iznosio je 14 (raspon 3–46). Otvorenim sustavom je tretirano 7 pacijenata (54%) a zatvorenim 6 (46%) pacijenata.

Kod 5 pacijenata je nastupilo pogoršanje (retransplantacija ili smrtni ishod unutar 1 g.), 5 pacijenata je stabilizirano a kod 3 pacijenta su predviđeni ciklusi ECP još u tijeku.

**Zaključak:** ECP svoj terapijski učinak ostvaruje kroz duže vrijeme te zahtjeva suradnju pacijenta, pulmologa i tima na odjelu za aferezu kako bi se održala motiviranost tijekom višemjesečne terapije. ECP se pokazala sigurnom i dobro podošljivom terapijom. Uvođenje zatvorenog sustava ECP skraćuje vrijeme boravka pacijenta na našem zavodu i dodatno olakšava organizaciju ambulantnog liječenja. Novije spoznaje ukazuju da bi ECP mogla ostvariti povoljan učinak i kod pacijenata u ranijim fazama BOS-a što otvara mogućnost preventivnog djelovanja i boljih ishoda.

## PROJEKT TRANSPLANTACIJE KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA ZA AUTOLOGNU PRIMJENU – KBC SPLIT

BOGDANIĆ D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zavod za transfuzijsku medicinu, Klinički bolnički centar Split

• Odjel za citaferezu i krioprezervaciju

Pripreme za ostvarivanje mogućnosti liječenja hematoloških bolesnika transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (KMS) u KBC Split započele su osnivanjem multidisciplinarnog tima za provođenje transplantacije u veljači 2008. god. uz vodstvo i pomoć prof.dr.sc. Borisa Labara, pročelnika Zavoda za hematologiju KBC Zagreb. U prosincu 2008. god. potpisana je ugovor o međusobnoj suradnji između KBC Zagreb i KBC Split u svrhu edukacije djelatnika za postupke prikupljanja, obrade, čuvanja i reinfuzije KMS. U lipnju 2010. god. obavljena je primopredaja prostora u prizemlju na lokaciji Križine koji je adaptiran za potrebe transfuzijskog dijela transplantacijskog programa. U studenom 2010. god. završena je edukacija djelatnika, nabavljena potrebna oprema i u ožujku 2011. osnovan je novi Odjel za citaferezu i krioprezervaciju. Riješenje za ispunjavanje uvjeta i odobrenje

za obavljanje djelatnosti izdano je 24. lipnja 2011. god. U siječnju 2012. god. prijavljen je ozbiljan štetan događaj u OCK-u koji je onemogućio početak rada već akreditirane djelatnosti uzimanja, obrade i pohrane KMS u KBC Split. Nepravilnosti su otklonjene u listopadu 2012. god., ali su svi instalirani uređaji kao i ventilacijski sustav stavljeni u stanje mirovanja iz razloga finansijske uštede i nije se započelo s radom te je uslijedio gubitak Odobrenja za rad 24. lipnja 2015. god. U 2016. god. dolazi do reaktivacije projekta i ponovne edukacije djelatnika te nabave potrebne opreme. Konačno slijedi ponovno odobrenje za obavljanje djelatnosti prikupljanja, uzimanja, testiranja, obrade, očuvanja, pohrane i raspodjele krvotvornih matičnih stanica za autolognu primjenu 20. listopada 2020. god. Prva bolesnica, primljena radi prikupljana matičnih stanica u studenom 2020. god. imala je pozitivan nalaz SARS-CoV-19 te nije obavljeno prikupljanje.

Prvi postupak prikupljanja, obrade i zamrzavanja KMS obavljen je 24. 01. 2021. god. kod bolesnice s multiplim mijelom nakon primjene ciklofosfamida i filgrastima. Tijekom dva dana prikupljeno je  $8,48 \times 10^9/L$  CD34+ stanica po kilogramu tjelesne težine što je zamrznuto u 4 vrećice. Nakon kondicioniranja prema protokolu MEL200 bolesnicije 23.02. učinjena reinfuzija matičnih stanica. Tijekom neutropenijske bolesnice je primala filgrastim, zbog anemije jednu dozu ozračenih koncentrata eritrocita a zbog trombocitopenija 2x8 doza ozračenih koncentrata trombocita. Broj granulocita  $>0,5 \times 10^9/L$  postignut je 12. dan od reinfuzije, broj trombocita  $>50 \times 10^9/L$  postignut je 34. dan nakon reinfuzije.

Do sada je obrađeno 8 bolesnika s ukupno 18 postupaka prikupljanja KMS te 5 reinfuzija prema dogovoru s hematolozima.

S obzirom na sadašnje mogućnosti planiramo provoditi 10–15 transplantacija godišnje, prvenstveno u bolesnika s multiplim mijelomom. U ovom trenutku ograničavajući čimbenik je postojanje samo dvije sterilne jedinice pri Zavodu za hematologiju.

**Simpozij 8 – Tkivno bankarstvo****RAD BANKE TKIVA U OKVIRU U HRVATSKE BANKE TKIVA I STANICA**

VIDOVIĆ I.<sup>1</sup>, Rončević Krajina M.<sup>1</sup>, Golemović M.<sup>1</sup>, Škific M.<sup>1</sup>, Leskovar I.<sup>1</sup>, Tutić Lazić S.<sup>1</sup>, Popović T.<sup>1</sup>, Brezak J.<sup>2</sup>, Crnogača K.<sup>3</sup>, Delimar D.<sup>3</sup>, Šafrađin I.<sup>4</sup>, Biočina B.<sup>4</sup>, Škegrov I.<sup>5</sup>, Kalauz M.<sup>5</sup>, Šarić D.<sup>6</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

- *Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Hrvatska banka tkiva i stanica*

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

- *Odjel za koordinaciju transplantacija i eksplantacija*

<sup>3</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

- *Klinika za ortopediju*

<sup>4</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

- *Klinika za kardijalnu kirurgiju*

<sup>5</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

- *Klinika za očne bolesti*

<sup>6</sup>Klinička bolница Sveti Duh

- *Klinika za očne bolesti*

Potrebe za transplantacijom tkiva u našoj zemlji, kao i u cijelom svijetu u svakodnevnom su porastu. Iako transplantacija tkiva najčešće ne spašavaju život, presadci tkiva omogućuju najveću terapijsku dobit i unaprjeđenje kvalitete života primatelja. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije trenutno je oko 20 milijuna osoba slijepo zbog različitih bolesti rožnice. Prema podacima iz Nacionalne transplantacijske mreže (NTM) u Hrvatskoj na listi čekanja za transplantaciju rožnice nalazi se oko 350 pacijenta. S ciljem ujednačavanje kvalitete i sigurnosti tkiva i stanica za presadivanje te uspostavljanja jedinstvenog modela upravljanja djelatnostima uzimanja, pohranjivanja i raspodjele darovanih tkiva na nacionalnoj razini, Vlada Republike Hrvatske 2011. donijela je Nacionalni plan razvoja tkivnog bankarstva kojim se predviđa osnivanje nacionalne banke tkiva. Trebalo je proći još nekoliko godina da se ona i ustroji. Obzirom da je Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb (KBC Zagreb) imao dugogodišnje iskustvo u pohrani tkiva i stanica, na zahtjev Ministarstva zdravstva unutar Kliničkog zavoda 2016. godine osnovana je Hrvatska banka tkiva i stanica (HBTS). U sklopu HBTS djeluje Banka tkiva, Odjel za prikupljanje i pohranu stanica, Banka krvi iz pupkovine, Banka reproduktivnog tkiva, Banka humanog mlijeka i Odjel za kontrolu kvalitete tkiva i stanica. Banka tkiva prikuplja očno, kardiovaskularno i koštano-mišićno tkivo, te amnijsku membranu. Osnovni ciljevi Banke tkiva su povećanje dostupnosti i kvalitete liječenja presadivanjem tkiva, prikupljanje i raspodjela tkiva sukladno nacionalnim potrebama te razvijanje svijesti cjelokupnog stanovništava o potrebama za tkivima i važnosti darivanja tkiva. Neophodan uvjet za uspješnu transplantaciju tkiva je pronaalaženje darivatelja i prikupljanje odgovarajućeg tkiva. Zakonski propisi koji određuju način prikupljanja tkiva razlikuju se od zemlje do zemlje. Većina europskih zemalja, među kojima je i Hrvatska, odlučila je slijediti preporuke Europskog vijeća iz 1978. kojima se preporučuje princip tzv. prepostavljenog pristanka (eng. opting-out), koji polazi od pretpostavke da je osoba pristala na darivanje organa i tkiva ako za života nije dala izričitu pisani zabranu. U Hrvatskoj se mogućim darivateljem organa i tkiva smatra svaka preminula osoba koja se za života tome nije izričito protivila. Iako naš zakon ne propisuje obvezu traženja dozvole za uzimanje organa i tkiva od obitelji umrle osobe, u praksi se poštuje stav obitelji. S obzirom na nedostatak tkiva za presadivanje i listu čekanja za transplantaciju rožnica Ministarstvo zdravstva u listopadu 2015. donijelo je odluku o imenovanju nacionalnog tima za tkiva te uspostavlja program uzimanja očnog tkiva od darivatelj nakon prestanka rada srca (eng. Donor after Cardiac Death – DCD) u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, Kliničkom bolničkom centru Sestara milosrdnica, Kliničkoj bolnici Sveti Duh i Kliničkoj bolnici Dubrava u kojima su imenovani koordinatori za prikupljanje tkiva. Sustav dojave u navedenim ustanovama treba osigurati da svaka umrla osoba u donorskoj bolnici bude prepoznata kao mogući darivatelj u vremenskom okviru koji dozvoljava uzimanje tkiva. Program je uvelike doprinio unaprijedenu darivanja i dostupnosti očnog tkiva za transplantaciju ali i razvijanju svijesti o potrebama za tkivom i među zdravstvenim djelatnicima, boljoj organizaciji i provođenju aktivnosti u okviru kontinuirane edukacije iz područaja uzimanja tkiva te stvaranje čvrše koordinacijske mreže za uzimanje i presadivanje tkiva na nacionalnoj razini. Banka tkiva aktivno surađuje s transplantacijskim koordinatorima i ili

koordinatorima za tkiva u postupku prikupljanja odgovarajućih podataka o karakteristikama darivatelja potrebnih da bi se ocijenila njegova prihvatljivost za darivanje tkiva, u svrhu omogućavanja pravilne procjene rizika i smanjenje rizika za primatelja te učinkovite dodjele tkiva kao i s timovima za uzimanje (eksplantaciju) tkiva u donorskoj bolnici. Obzirom da HBTS djeluje kao središnja banka za raspodjelu tkiva i stanica unutar Republike Hrvatske prikuplja, pohranjuje i raspodjeljuje više vrsta tkiva uključujući očno, kardiovaskularno i mišićno-koštano tkivo sukladno važećim zakonskim direktivama i pravilnicima. Očno tkivo uzima se isijecanjem rožnica *in situ* ili uzimanjem očnih jabučica od darivatelj nakon smrti mozga (eng. Donor after Brain Death – DBD) i DCD darivatelja. Rožnice se uzimanju *in situ*, isijecanjem kornoskrernalnog prsten te izravnom pohranom u mediju za hipotermičku pohranu. Očne jabučice se nakon uzimanja pohranjuju u vlažnu komoru te se u Banci obrađuju i nakon isijecanja korneoskleralnog prstena pohranjuju u isti medij. Rožnice se u mediju za hipotermičku pohranjuju na temperaturi 4 °C, do maksimalno 7 dana te se tijekom pohrane evaluiraju; procjena svih slojeva rožnice na biomikroskopu, endotela rožnice na spekularnom mikroskopu i određivanje debljine rožnice. Kriterij prihvatljivosti rožnice za kliničku primjenu je gustoća endotelnih stanica  $\geq 2200 \text{ st/mm}^2$  te promjer čiste centralne zone  $\geq 8 \text{ mm}$ . Rožnice koje kvalitetom zadovoljavaju uvjete za pohranu prebacuju se u kulturu tkiva te se čuvaju u mediju koji sadrži antibiotike (penicilin i streptomici) i antimikotik (amfotericin B) na temperaturi 31°C, najduže 28 dana. Sterilnost rožnice čuvane u kulturi tkiva kontrolira se tri puta uzimanjem uzorka medija u kojem se čuva. Sve mikrobiološke kontrole tkiva moraju biti sterilne prije izdavanja. Rožnica se čuva u mediju za kulturu tkiva do trenutka kada se dodjeljuje pacijentu, potom se neposredno prije izdavanje na završetku pohrane u kulturi tkivo dodatno evaluira; procjenjuje se vijabilnosti (tripansko modriло), morfologija i gustoća endotelnih stanica koristeći invertni svjetlosni mikroskop te se uzima druga mikrobiološka kontrola medija. Nakon čega se rožnice pohranjene u transportni medij (medij sadrži dekstran) na sobnoj temperaturi, tijekom 5 dana. Banka tkiva priprema rožnice za lamelarnu keratoplastiku (eng. Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty, DSAEK) uz korištenje mikrokeratoma Gebauer. Bjeloočnica se obrađuje nakon isijecanja rožnice i pohranjuje u 70 %-tnom etilnom alkoholu na temperaturi od 22 °C. Rok valjanosti presadaka je 12 mjeseci. Prilikom obrade tkiva, uzimaju se uzorci za mikrobiološku kontrolu tkiva koja mora biti sterilna prije izdavanja bjeloočnica. U suradnji sa Klinikom za ženke bolesti i porode KBC Zagreb, 2019. godine Banka je započela postupak obrade posteljice i proizvodnje presadaka amnijske membrane za kliničku primjenu. Amnijska membrana se pohranjuje u krioprotективnu otopinu (50 %-tni glicerol) na temperaturi od -80°C tijekom 12 mjeseci. Mikrobiološki se testira svaka faza obrade, nalazi mikrobioloških kontrola uzoraka tkiva nakon dekontaminacije te dekontaminacijska i krioprotективna otopina moraju biti sterilni. Prosječno se iz jedne posteljice može proizvesti 10 do 15 presadaka amnijske membrane promjera 4,7 cm (postavljene na okruglom nitroceluloznom nosaču). U sklopu Banke tkiva 2016. pokrenut je program prikupljanja glave bedrene kosti od živih darivatelja na Klinici za ortopediju KBC-a Zagreb. Glave (GBK) i spongioze (SBK) bedrene kosti su kirurški ostaci i prikupljaju se za vrijeme operacije od bolesnika kojima se ugrađuje endoproteza kuka. Prilikom samog postupka uzimanja GBK i SBK radi pohrane za alogenu primjenu aseptično se uzimaju uzorci za mikrobiološku kontrolu i patohistološku analizu koji se dostavljaju u Banku tkiva zajedno s tkivom te se po zaprimanju tkiva šalju u Klinički zavod za mikrobiologiju KBC Zagreb. Svježe zamrznuti koštani presadci GBK i SBK pohranjuju se na temperaturi od -80 °C tijekom 5 godina. Za izdavanje tkiva, svi nalazi mikrobiološkog testiranja moraju biti sterilni. Kardiovaskularno tkivo se uzima od 2011. godine od dvije vrste darivatelja; DBD i živih darivatelja (primatelji transplantata srca; recipient of heart transplant; RHT). Samo u KBC Zagreb se prikuplja tkivo RHT darivatelja, a tkivo DBD darivatelja se prikuplja putem Nacionalne transplantacijske mreže od darivatelja organa čija srca nisu pogodna za transplantaciju, a njihova mehanička funkcija je očuvana. U Banci se nakon kirurške obrade, anatomske pregleda i mjerjenja tkiva, funkcionalnih testova (u slučaju srčanih zalistaka) i uzimanje kontrolnih uzoraka za mikrobiološke i patohistološke analize, tkivo se mikrobiološki dekontaminira tijekom 24–48 sata. Ukoliko je tkivo morfološki zadovoljavajuće, nakon dekontaminacije uranja se u krioprotективnu otopinu (10% DMSO u mediju TCM199), dvostruko pakira te se kontrolirano zamrzava u uređaju za zamrzavanje prema zadanim protokolom te se pohranjuje u plinovitoj fazi tekućeg dušika (<140°C). Rok valjanosti je tkiva je 5 godina.

U razdoblju od 2016. do 2020. godine Banka tkiva je ukupno je zaprimila 3395 tkiva od 1730 darivatelja, od čega je zaprimljeno 2590 (76,2%) presadaka očnog tkiva, 730 (21,5%) GBK i SBK, te 67 (1,97%) kardiovaskularnog tkiva. Za kliničku primjenu ukupno je izdano 2097 presadaka od čega je 1594 presadka očnog tkiva (rožnica N 1546 i bjeloočnica N 48), 44 amnijske membrane, 417 koštano-mišićnog tkiva (417 (GBK N 209, SBK 208) i 43 presadaka kardiovaskularnog tkiva. Najveći broj rožnica raspodjeljeno je u Kliniku za očne bolesti Kliničke bolnice Sveti Duh (N 802) i Kliničkog bolničkog centra Zagreb (N 343).

Tijekom proteklih pet godina Banka tkiva susrela se s dva velika izazova; s jedne strane ima društvenu obvezu omogućiti povećanje dostupnosti i kvalitete presadaka tkiva, a s druge strane nedovoljno informacija o postupku darivanju tkiva, potrebama za tkivom i važnosti darivanja tkiva među cjelokupnim stanovništvom Hrvatske. Djelovanje HBTS pa tako i Banke tkiva u okviru Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb pokazalo je brojne prednosti; prije svega medicinsko znanje specijalista transfuzijske medicine u procjeni darivatelja, praćenju sigurnosti i ishoda liječenja; poznavanje tehničkih zahtjeva i infrastrukture potrebne za obradu i čuvanje tkiva, razumijevanje postupaka proizvodnje presadaka iz ljudskog tiva, te dugogodišnje iskustvo u području osiguranja kvalitete. Ne može se zanemariti niti znanje i iskustvo magistara molekularne biologije i prvostupnika medicinsko laboratorijske dijagnostike koji su nezamjenjivi članovi tima. To se zasigurno odrazilo na povećanje prikupljanja tkiva i dostupnosti presadaka te kvalitetu liječenja presađivanjem tkiva. Kako bi u budućnosti ostvarili naš osnovni cilj, a to je samodostatnost na nacionalnoj razini kojom se osigurava dostupnost presadaka tkiva svim pacijentima kojima treba liječenje transplantacijom, nužno je ne samo kontinuirano razvijati djelatnosti Banke tkiva već treba razviti društvenu svijesti o potrebama za tkivom i mogućnostima darivanja. Za aktivnosti u zajednici posebno je značajna suradnja s medijima i korištenje suvremenih komunikacijskih kanala kao što je internet i društvene mreže u cilju informiranja građana o važnosti darivanja tkiva. Potrebna je i bolja organizacija u edukaciji svih zdravstvenih djelatnika u okviru njihove trajne izobrazbe. Također je nužno uspostaviti bolji sustav kvalitete u presađivanju tkiva; ustrojiti praćenje indikatora kvalitete u prepoznavanju, realizaciji darivatelja i uzimanju tkiva, te procjeni indikacija, racionalnoj primjeni kao i u ishodima transplantacije.

## LITERATURA

1. Plan razvoja tkivnog bankarstva („Narodne novine“ broj 60/11)
2. Odluka o imenovanju nacionalnog tkiva za tkiva, Klasa: 011-02/15-01/205, Urbroj: 534-02-2-2/1-15-2, Zagreb, 28. listopad 2015.
3. Rješenje o uspostavi Hrvatske banke tkiva i stanica, Klasa: UP/I-543-02/16-02/01, Urbroj: 534-06-2/1-16-01, Zagreb, 19. veljače 2016.
4. Zakon o primjeni ljudskih tkiva i stanica („Narodne novine“ broj 144/12)
5. Pravilnik o načinu rada koordinatora u postupcima uzimanja i presađivanja dijelova tijela u svrhu liječenja („Narodne novine“ broj 51/06)
6. Pravilnik o uvjetima u pogledu prostora, stručnih radnika, medicinsko-tehničke opreme i sustava kvalitete za obavljanje djelatnosti prikupljanja, uzimanja, testiranja, obrade, očuvanja, pohrane i raspodjele ljudskih tkiva i stanica („Narodne novine“ broj 80/13)
7. Pravilnik o načinu praćenja ozbiljnih štetnih događaja i ozbiljnih štetnih reakcija u području primjene ljudskih tkiva i stanica, načinu vođenja evidencije i rokovima izvješćivanja te sadržaju i obliku tiskanice godišnjeg izvješća („Narodne novine“ broj 54/13)
8. EDQM Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application 4th Edition 2019

## OSNIVANJE PRVE BANKE JAJNIKA U SUSTAVU JAVNOG ZDRAVSTVA U HRVATSKOJ

VILAJ M.<sup>1</sup>, Bilić K.<sup>2</sup>, Popović T.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>, Ježek D.<sup>4,3,1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

• Medicinski fakultet

<sup>3</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

• Zavod za histologiju i embriologiju

<sup>4</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

• Znanstveni centar Izvrsnosti za reproduktivnu i regenerativnu medicinu

**Uvod:** Učestalost pojavljivanja dobroćudnih i zloćudnih tumora u Hrvatskoj kod pacijenata u odrasloj kao i u mladoj, tzv. predpubertetskoj dobi, sve je veća. Radi se o bolestima koje zahtjevaju žurno i sveuobuhvatno liječenje koje, ovisno o prirodi tumora, može između ostalog uključivati i kemoterapiju i/ili zračenje. Kemoterapija i zračenje mogu imati gonadotoksični učinak na spolne žlijezde što dovodi do njihovog preuranjenog zatajenja te, u konačnici, neplodnosti. Tkivo jajnika posebno je osjetljivo na agresivne tretmane liječenja tumora i nekih benignih bolesti pa očuvanje plodnosti u tih pacijentica postaje novi prioritet u reproduktivnoj medicini. Naime, kod onkoloških pacijentica kod kojih gonadotoksično liječenje mora započeti odmah kao i kod pacijentica predpubertetske dobi, jedina mogućnost očuvanja plodnosti je kriopohrana neoštećenih dijelova tkiva jajnika.

Metode kriopohrane tkiva jajnika i njegovog autolognog presađivanja uspostavljene su u brojnim reproduktivnim centrima diljem Europe (Slika 1.). Njihovom primjenom rođeno je već više od 200 djece. Upravo zbog obećavajućih rezultata, u Hrvatskoj već dulje vrijeme postoji veliki interes za uvođenje pohrane tkiva jajnika u kliničku praksu. U tu svrhu, 2020. godine osnivana je Banka reproduktivnog tkiva unutar Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC-a Zagreb. Navedena Banka za sada obuhvaća Banku sjemenika koja prikupljanja i pohranjuje tkiva sjemenika, dok su završne pripreme za Banku jajnika u tijeku.



SLIKA 1. BANKE TKIVA JAJNIKA UNUTAR EUROPSKE UNIJE  
I UJEDINJENOG KRALJEVSTVA; PREUZETO IZ BILIĆ I SUR., 2021.

**Metode:** Prvi korak u osnivanju Banke jajnika napravljen je 2019. godine održavanjem radionice o kriopohrani tkiva jajnika za djelatnike Hrvatske banke tkiva i stanica u KBC-u Zagreb. Radionica je u teorijskom dijelu pružila uvid u uvjete koje treba zadovoljiti za osnivanje Banke jajnika. U praktičnom dijelu radionice djelatnici su obučeni za obradu i kriopohranu tkiva jajnika.

Jedan od kritičnih postupaka u pohrani tkiva jajnika je transport tkiva od ustanove u kojoj je tkivo prikupljeno do ustanove u kojoj će biti obrađeno. Za preživljjenje folikula i izbjegavanje ishemijskog oštećenja transportiranog tkiva, prijenos tkiva treba biti u kontroliranim uvjetima na temperaturi od 2°C do 8°C. U tu svrhu, validirani su spremnici za prijenos tkiva jajnika kako bi se odredilo maksimalno vrijeme trajanja transporta u različitim ambijentalnim uvjetima.

Obrada tkiva jajnika radi se unutar mikrobiološkog sigurnosnog kabineta smještenog u čistoj sobi klase B. Postupak pripreme tkiva za kontrolirano zamrzavanje uključuje odvajanje kore jajnika u kojoj su smještene folicule od srži i podjelu očišćene kore na manje dijelove. Ovaj postupak radi se na rashladnim pločama. Stoga je učinjena validacija rashladnih ploča za obradu tkiva kako bi se utvrdio vremenski okvir u kojem ploče održavaju temperaturu pogodnu za obradu tkiva.

**Rezultati:** Djelatnici su teorijski i praktično obučeni za obradu, zamrzavanje i kriopohranu tkiva jajnika.

Učinjena je validacija spremnika za transport tkiva jajnika koja je pokazala da u uvjetima sobne temperature (20–25°C) transport može trajati maksimalno 17 sati ako se u spremnik (Blueline bag volumena 10 L) smjesti rashladno tijelo (delta T TempShell, 2–8°C) hlađeno 48h na 4°C.

Rezultati provedene validacije rashladnih ploča za obradu tkiva pokazuju da je rashladno tijelo koje se stavlja u rashladnu ploču dovoljno ohladiti 48h na -20°C kako bi obrada tkiva jajnika bila u optimalnim temperaturnim uvjetima.

**Zaključak:** Osnivanje Banke jajnika sa ciljem uvođenja zaštite fertiliteta u onkoloških bolesnika pohranom tkiva jajnika sve je bliže realizaciji. Kriopohrana tkiva jajnika zahtijeva specijaliziranu opremu i obučeno osoblje za pripremu, zamrzavanje te pohranjivanje kore jajnika. Do sada nabavljena oprema i kritični postupci su validi-

rani kako bi se omogućili optimalni uvjeti pripreme i pohrane tkiva. Završni koraci koju su trenutno u tijeku uključuju nabavu opreme koja nedostaje i konačnu pripremu dokumentacije za dobivanje odobrenja za rad nadležnog tijela.

## OBILJEŽJA PRVIH 112 DARIVATELJICA HRVATSKE BANKE HUMANOG MLJEKA

NOVOSELAC J.<sup>1</sup>, Leskovar I.<sup>1</sup>, Radović N.<sup>1</sup>, Nuić M.<sup>1</sup>, Mihojević V.<sup>1</sup>, Jelečki A.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

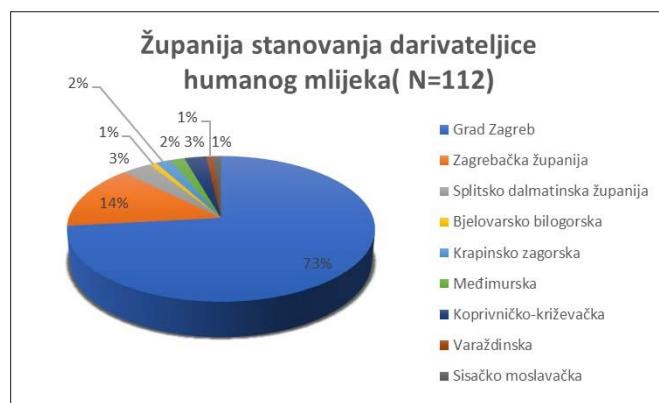
• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Pasterizirano humano mlijeko je hrana i lijek za prijevremeno rođenu djecu. Banka humanog mlijeka (Banka) osnovana je u studenom 2019. unutar Hrvatske banke tkiva i stanica Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb. S pasterizacijom mlijeka se započelo nakon dobivanja dozvole inspekcije Ministarstva zdravstva u siječnju 2020. Rad Banke počiva na dobroj volji i višku mlijeka koje daruju majke djece do navršene godine dana. Da bi postala darivateljicom humanog mlijeka (DHM), majka treba zadovoljiti opće kriterije probira i testiranja živih darivatelja tkiva, te one specifične koje se odnose na darivateljice mlijeka. Prije početka te kroz cijelo razdoblje darivanja, važno je pratiti rizike i okolnosti iz njihovih života koje mogu utjecati na kvalitetu mlijeka.

**Cilj:** Cilj istraživanja je prikazati obilježja DHM u prvoj hrvatskoj Banci humanog mlijeka s odobrenjem za rad prema Zakonu o primjeni ljudskih tkiva i stanica.

**Metode:** U ovom retrospektivnom opservacijskom istraživanju analizirali smo prikupljene podatke o prvih 112 DHM koje su završile ciklus darivanja do 1. listopada 2021. Podaci su prikupljeni iz upitnika koje ispunjavaju darivateljice te dokumentacije koju vode djelatnici Banke.

**Rezultati:** DHM su bile prvenstveno iz grada Zagreba i Zagrebačke županije, kao što prikazuje [slika 1](#). Za to područje postoji organiziran prijevoz i prikup mlijeka te vađenje krvi u domu darivateljice. Za dostavu mlijeka darivateljica iz drugih županija prijevoz je organiziran individualno i uglavnom u privatnoj organizaciji. Prosječna dob DHM je 31 godina (raspon 21–43), a mlijeko su počele darivati u prosjeku 13 tjedana nakon poroda (raspon 0 do 47), a prestale s 27 tjedana (raspon 1 do 52). Porod većine darivateljica bio je vaginalni (71%), djeca rođena iz prve trudnoće (57%). Od 112 DHM, njih 15 (13%) rodilo je djecu prije navršenih 37 tjedana gestacije. Upravo iz te skupine majki imamo dvije s najvećom ukupnom količinom darovanog mlijeka. Obje su rodile u 26 tjednu gestacije, te darovale 41,7 odnosno 25,5 L mlijeka. Od tri DHM djeca su preminula nakon poroda, po dvoje djece rođene iz blizanačke trudnoće prije termina, jedno iz jednoplodne trudnoće u terminu.



SLIKA 1.

Ukupna količina mlijeka koju je ovih 112 DHM darovalo je 933 L, što je prosječno 8,3 L (medijan 6,5 raspon 0,5–41,7 L).

Naćini na koji su majke čule za Banku su za njih 62 (55%) internetske objave odnosno društvene mreže, televizija i radio 12 (11%), rodilište 9 (8%), primarna zdravstvena služba (pedijatrija, ginekologija, patronaža) 18 (16%), prijatelji 8 (7%), nije poznato u 3 slučaja (2%).

Načini izdajanja bili su električnom izdajalicom 54 DHM (48%), mehaničkom 43 (38%) te ručno 12 (11%).

Najčešći razlog prestanka darivanja je nedostatak viška mlijeka: 64 DHM (57%), vlastitom odlukom zbog nedostatka vremena 14 (12%), zbog navršenih godinu dana starosti djeteta 12 (11%), 2 (2%) zbog ranijeg povratka na posao, organizacijski razlozi (žive izvan Zagreba, privremeno ili stalno), nemogućnost pohrane/dostave mlijeka 12 (11%), nezadovoljavajuće mikrobiološke kontrole mlijeka 3 (3%) (jedna je sama odlučila, dvjema je Banka predložila prestanak darivanja), epidemiološki razlozi 3 (3%) (obustava prikupljanja za vrijeme općeg zatvaranja u ožujku 2020. zbog SARS-CoV-2 pandemije), zbog privremenog odbijanja za vrijeme kojeg su DHM smanjile laktaciju 2 (2%).

**Zaključak:** Banka već je u prvim mjesecima rada opravdala svoje postojanje i pokazala postojanje velikog interesa majki za darivanje, kao i pedijatrijskih odjela za korištenje darovanog mlijeka.

Poznavanje načina dobivanja informacija o Banci važno je zbog daljnje promidžbene aktivnosti darivanja i unaprjeđenja rada.

Banka djeluje kao nacionalna banka i izdaje mlijeko u sve hrvatske bolnice. Međutim mlijeko prikuplja većinom u Zagrebu. Nadamo se da će se u budućnosti to promijeniti te da će svaka majka sa viškom vlastitog mlijeka u Hrvatskoj biti u mogućnosti ga darivati.



## Simpozij 9 – Transfuzijsko liječenje

### PATIENT BLOOD MANAGEMENT MIT ILI STVARNOST

TOMIĆ MAHEČIĆ T.<sup>1</sup>, Karmelić D.<sup>1</sup>, Bračun L.<sup>1</sup>, Lojna K.<sup>1</sup>, Šitum I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Klinika za anesteziologiju reanimatologiju i intenzivno liječenje

#### PBM definicija

Patient Blood Management (PBM) je opće prihvaćen internacionalni pojam bez zadovoljavajućeg prijevoda na hrvatski jezik. „Upravljanje krvlju pacijenta“, ili „Suvremena perioperativna skrb“ su nedovoljno adekvatni termini za razumijevanje koncepta. PBM je skup postupaka, utemeljenih na znanstvenim dokazima, za optimiziranje ishoda bolesnika, kod medicinskih i kirurških procedura, koji uključuju dobro planiranje i kliničke intervencije za očuvanje bolesnikove vlastite krvi. (1) Ovaj koncept ima za cilj, kroz multidisciplinarnu koordiniranu skrb za svakog bolesnika, otkriti i liječiti anemiju, minimalizirati rizik od gubitka i potrebu za nadoknadom krvi. Recentni znanstveni dokazi pokazuju kako PBM značajno poboljšava ishode i sigurnost bolesnika uz smanjenje troškova liječenja i duljinu boravka u bolnici. (2) Unatoč ogromnom potencijalu za poboljšanje zdravstvenih sustava (3), rezoluciji 63.12 Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) iz 2010. kojom se podržava PBM kao koncept, te objavljivanja jednog od strateških ciljeva „Ovkira djelovanja WHO-a za krvne pripravke 2020.–2023.“ u veljači 2020. koji poziva na „učinkovitu provedbu PBM-a“ (4), PBM još nije široko prihvaćen.

#### PBM kao mit?

Kako objasniti sve poteškoće kod implementacije PBM unatoč svim znanstvenim dokazima? Govorimo li ovdje o mitu? PBM i mitovi imaju doista zajedničkih crta: širenje i implementacija ideje PBMa/ ključna društvena, vjerska i kulturna uloga mita potiče njegovo širenje; međukulturalnost ideje PBM-a/ situacije u koje junaci ulaze s drugim likovima zapravo svojom stereotipnošću nadilaze granice pojedinih kultura; dokazi / znamo kako znanost nije neosjetljiva na mitsko mišljenje (op.a. Edip). Slikovito, PBM je daleko od mita osim iz kuta onoga tko implementira koncept u zajednicu sa ustaljenim navikama, iz osobnog iskustva mogu reći kako je to angažman jednog Sizifa. S istom ustrajnošću ali sa modificiranim završetkom.

#### PBM kao stvarnost?

Od prve uporabe termina PBM, kada je australski hematolog James Isbister shvatio kako fokus transfuzijske medicine treba preorientirati s krvnih proizvoda na pacijente (5), danas, uz osiguranje sigurnosti i kvalitete krvi i njenih komponenti, se orientiramo prema širem konceptu, holističkoj i multidisciplinarnoj skrbi za svakog pacijenta. Individualizirano transfuzijsko liječenje i farmakoterapija, nisu ograničeni samo na perioperativni period, nego se mogu primijeniti na sve terapijske mjere i discipline gdje je gubitak krvi moguć i gdje su krvni derivati dio osnovnog liječenja (6).

PBM primarno prepoznaje pacijente s potencijalnim rizikom za transfuziju i optimizira ih kako bi se reducirao rizik anemije i alogene transfuzije.

#### PBM u perioperacijskom periodu

U razvijenim zemljama 5% resursa za zdravstvo troši se na transfuzijsko liječenje i liječenje komplikacija transfuzije, što ga svrstava među skuplje terapije u medicini općenito.

Kod elektivnih operacija, 94% svih transfuzija koncentrata eritrocita (KE) se može predvidjeti analiziranjem 3 parametra:

- preoperativne razine hemoglobina (Hb),
- mogućeg gubitka krvi zbog prirode zahvata te
- vrijednosti Hb koji je prag za transfuziju. (7)

Transfuzija krvi je terapijska mjera koja u dobroj indikaciji spašava život, ali većina novih retrospektivnih analiza i studija povezuje nekritičnu primjenu krvnih derivata s povećanom učestalošću perioperativnih komplikacija (8), kao povećani rizik za srčani udar, alergijske i imunološke transfuzijske reakcije, infekcije, TACO (sa

transfuzijom povezano cirkulatorno preopterećenje), TRALI (sa transfuzijom povezana akutna ozljeda pluća) i transfuzijom povezana imunomodulacija (TRIM). (9)

### Tri temeljna stupa PBM-a

1. preoperativna optimalizacija volumena eritrocita
2. redukcija uzorkovanja krvi i intraoperativnog gubitka krvi
3. povećanje individualne tolerancije na anemiju te standardizacija pravova za transfuzijsko liječeњe.

#### 1. stup – optimalizacija volumena eritrocita

Prevalencija anemije ( $Hb \leq 130 \text{ g/L}$ ) u populaciji je više od 30 % te ima značajne medicinske i ekonomske posljedice. Preoperativna anemija kod bolesnika u većini slučajeva je blage do umjerene težine, a ovisi o dobi bolesnika, osnovnoj bolesti te planiranom kirurškom zahvatu. (10) Prisutnost preoperativne anemije negativno utječe na ishod pacijenta bez obzira na ostale pridružene bolesti, te ju je važno rano dijagnosticirati. Najčešći uzroci preoperativne anemije su nedostatak željeza i anemija kronične bolesti, što nutričijskim i farmakološkim mjerama kojima potičemo eritropoezu, možemo korigirati, te bi kirurški zahvat trebalo odgoditi kada je god to moguće do optimalizacije bolesnika. (11,12)

Anemični bolesnici koji idu na kirurški zahvat kod kojih se očekuje gubitak krvi veći od 500 ml, odnosno procijenjena mogućnost transfuzije KE veća od 10%, upućuju se u ambulantu za perioperativnu optimalizaciju bolesnika, što ranije, a najmanje 3 do 4 tjedna prije planiranog zahvata. Svaku postojeću anemiju bi trebalo korigirati, čak i ukoliko je vezana direktno uz razlog za kirurški zahvat.

U svakodnevnoj praksi preoperativna anemija se ponekad ignorira i planirane operacije se nastavljaju bez ikakvih korektivnih terapijskih mjera, jednako tako se anemične pacijente nedovoljno informira prije operacije o povećanom riziku kirurškog i anestezioškog postupka te o dijagnostičkim i terapijskim mogućnostima.

#### 2. stup – kontrola gubitka krvi

Perioperativni gubitak krvi je neovisni rizični čimbenik za povećani morbiditet i mortalitet, ovisno o vremenu trajanja krvarenja i brzini gubitka krvi te je imperativ zaustaviti krvarenje što prije kako bi se spriječio svaki daljnji gubitak krvi (1,13).

U operacijskoj sali kod elektivnih kirurških bolesnika, možemo utjecati na veliki dio čimbenika koji značajno smanjuju rizik krvarenja. Preoperativno planiranje kirurške intervencije, odabir kirurškog pristupa, moderne tehnike kao minimalno invazivna kirurgija te intraoperativno korištenje modernih uređaja, korištenje fibrinskog ljepila te drugih suvremenih hemostatika lako se implementiraju u svakodnevnu praksu.

Profilaktička primjena antifibrinolitika dovodi do smanjenja perioperativnog gubitka krvi i do smanjenja potreba za transfuzijom. Traneksamična kiselina se danas rutinski primjenjuje u kardijalnoj i transplantacijskoj kirurgiji te kod velikih vaskularnih zahvata i u poli-traumatiziranih bolesnika.(14) U profilaktičkim dozama nuspojave su vrlo rijetke.

Dvojna antitrombocitna terapija, koja se danas često koristi kao i novi antitrombotici povećavaju rizik perioperativnih krvarenja pa ih je važno pravovremeno preoperativno dokinuti.

Nužno je posebnu pozornost posvetiti održavanju normotermije, acido-bazne ravnoteže, normokalcemije te stabilne cirkulacije intraoperativno. Kratkotrajna provokacija višim tlakovima prije kirurškog zatvaranja rane služi kako bi se evidentirala mjesta potencijalnih krvarenja.

Korištenje uređaja za intraoperativno sakupljanje krvi te retransfuziju dodatno smanjuje potrebu za alogenim transfuzijama. Ponovnu transfuziju intraoperativno skupljene krvi ograničava činjenica da se značajno gube faktori zgrušavanja krvi i trombociti. Stabiliziranje koagulacijske neravnoteže je ponekad uz dostupne analitičke metode vrlo zahtjevan posao. Uredaji uz bolesnika, odnosno POC (point-of-care) uređaji (kao npr ROTEM) omogućuju analizu viskoelastičnih svojstava krvi, uključujući i fibrinolitički kapacitet. Korištenjem tih uređaja zajedno s adekvatnim perioperacijskim planiranjem i procjenom rizika krvarenja u konačnici se značajno reducira primjena krvnih pripravaka.

Kod masivnih krvarenja, ukoliko je gubitak značajan te iznosi više od 50% ukupnog volumena krvi, situaciju dodatno pogoršava agresivna terapija tekućinama koja uzrokuje dilucijsku koagulopatiju te posljedično može dovesti do multiorganskog zatajenja, uz hitnu kiruršku hemostazu nužna je rana primjena koagulacijskih faktora. (13)

### **3. stup-optimalizacija tolerancije na anemiju**

Pad u vrijednostima hemoglobina u krvi ima za posljedicu smanjeni transportni kapacitet kisika i smanjenu dostavu kisika na periferiji. To dodatno opterećuje kardiovaskularni sistem i koronarnu opskrbu. Preoperativno je važno adekvatno i na vrijeme prevenirati kardijalne rizične faktore. Posebna se pozornost mora posvetiti i plućnoj funkciji te se bolesnik može preoperativno oksigenirati u svrhu poboljšanja tkivne oksigenacije i bolje tolerancije na anemiju. (15)

Kako je primarni cilj transfuzijskog liječenja poboljšanje transportnog kapaciteta za kisik i posljedično porast tkivne i sistemske dostupnosti kisika, uz dobar perioperativni monitoring možemo u elektivnih bolesnika primjenjivati restriktivnije pragove za transfuzijsko liječenje.

Posebna se pozornost posvećuje i antibiotskoj profilaksi te pravovremenom liječenju infekcija.

Po današnjim spoznajama, odluka o transfuzijskom liječenju mora biti kombinirana procjena kliničkih parametara i procjena promjena tkivne oksigenacije. (16) Nužno je izbjegavati bespotrebne transfuzije te standardizirati i unaprijediti transfuzijsku praksu.

### **PBM u Hrvatskoj**

Najčešće veliki projekti, kao što je implementacija PBMa počinju kao manji pilot projekti, lakše ostvarivi, sa ciljem kako bi poboljšani ishod bolesnika i ostvarene uštede dodatno motivirali timove za konkretnije i opsežnije formalne projekte. (17)

Kako bi bila uspješna implementacija programa PBM na nivou bolnice, potrebna je multidisciplinarna suradnja i podrška bolničkog vodstva. PBM može rezultirati uštem od troškova u cijeloj bolnici, jer se očekuje da će PBM smanjiti dugoročne zdravstvene troškove kroz manje izravne izdatke, smanjenje komplikacija i kraće vrijeme hospitalizacije ali potrebna je i svijest o početnim troškovima implementacije PBM-a. (18) Kako bi se koncept učinio primjenjivim i sveobuhvatnim, treba započeti s lakše ostvarivim ciljevima kao što su povećanje svijesti o PBM-u, multidisciplinarna suradnja (specijalisti transfuzijske medicine, kirurzi, anesteziolozi, hemato-lozi i intenzivist), minimaliziranje perioperacijskog gubitka krvi, racionaliziranje upotrebe krvi i krvnih derivata, te, što je najvažnije, stalno educiranje kliničara. Na KBC Zagreb uspješno smo ostvarili i dio težih ciljeva; poboljšali smo protokole za masivnu transfuziju, primjenjujemo restriktivne kriterije transfuzije, primjenjujemo strategije transfuzije s jednom dozom KE i ažurirali smo maksimalne količine naručene krvi po pojedinom kirurškom zahvatu.

Nekoliko je područja još uvijek potrebno unaprijediti. Prvi je nedostatak baze podataka odnosno adekvatne evidencije PBM-a za sustavno prikupljanje i evaluaciju podataka. Drugi veliki problem u Hrvatskoj je što je krv "besplatna" (prikupljanje, testiranje I čuvanje krvi imaju svoju cijenu) za bolničke ustanove te su ostali troškovi i intervencije (na primjer terapija željezom) dodatno financijsko opterećenje. Druga prepreka u liječenju anemije najčešće je kratak vremenski okvir za preoperativnu procjenu anemije kod pacijenata za elektivne kirurške zahvate, te pritisak da se operacija ne odgodi. Ambulanta za perioperacijsku optimalizaciju bolesnika, zbog nedostatka anesteziologa u pandemijskim vremenima, zasad omogućava ispravljanje preoperativne anemije barem jednom dijelu bolesnika.

S poboljšanjem epidemiološke situacije i novim EU projektima na temu PBMa, cilj je za KBC Zagreb razviti se kao „centar izvrsnosti“ za PBM.

### **Zaključak**

U vremenu pandemije i vremenu smanjenog proizvodnog učinka, osim na balans ponude i potražnje krvi i krvnih derivata treba misliti i na sigurnost krvnih derivata, odnosno mogući prijenos virusa putem darovane krvi. Dio populacije će biti zaražen SARS-CoV-2, a asimptomatski. U nedostatku ispitivanja nukleinskih kiselina (NAT) davatelja krvi na SARS-CoV-2, ne možemo isključiti, iako u ovom trenutku teoretski, mogući prijenos transfuzijom krvi. Stoga se suočavamo sa značajnim nepoznanim, a samo će buduće studije razjasniti stvarne rizike od SARS-CoV-2 koji se prenosi transfuzijom, ako ih ima (19–21). Kao potporu konceptu Europske komisije izdala je smjernice za izradu nacionalnih programa „Building national programmes of Patient Blood Management in the EU“. Odgađanje implementacije PBM znači da zdravstveni sustavi odustaju od ušteda makroekonomskih razmjera na razini cijelog sustava. (22) To je alarmantnije u zemljama s ozbiljnim ograničenjima resursa. Zbog velike heterogenosti u EU, usporedba strategija implementacije PBMa u zemljama s niskim, srednjim i visokim BDPom trebala poticati međusobno učenje i razmjenjivati inovativne strategije u samoj implementaciji (23). PBM je svakako „novo normalno“, naša realnost, jučer, danas i sutra.

## LITERATURA

1. Shander A, Van Aken H, Colomina MJ, Gombotz H, Hofmann A, Krauspe R i sur. Patient blood management in Europe. Br J Anaesth. 2012 Jul;109(1):55–68. doi: 10.1093/bja/aes139.
2. Althoff FC, Neb H, Herrmann E, Trentino KM i sur. Multimodal Patient Blood Management Program Based on a Three-pillar Strategy: A Systematic Review and Meta-analysis. Ann Surg. 2019 May;269(5):794–804. doi: 10.1097/SLA.0000000000003095.
3. Kleinerüschkamp A, Meybohm P, Straub N, Zacharowski K, Choorapoikayil S. A model-based cost-effectiveness analysis of Patient Blood Management. Blood Transfus. 2019 Jan;17(1):16–26. Doi: 10.2450/2018.0213-17.
4. World Health Organization. WHO Action framework to advance universal access to safe, effective and quality assured blood products. 2020–2023. 2020. p. 48.
5. Isbister JP. Clinicians as gatekeepers: what is the best route to optimal blood use? Dev Biol (Basel). 2007;127:9–14.
6. Desai N, Schofield N, Richards T. Perioperative Patient Blood Management to Improve Outcomes. Anesth Analg. 2018 Nov; 127(5):1211–1220. Doi: 10.1213/ANE.0000000000002549.
7. Gombotz H, Rehak PH, Shander A, Hofmann A. Blood use in elective surgery: the Austrian benchmark study. Transfusion. 2007 Aug;47(8):1468–80. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01286.x.
8. Meier J, Kozek-Langenecker S, Filipescu D, Pitarch JVL, Mallett S, Martus P i sur. ESA clinical trials network 2012: ETPOS--European transfusion practice and outcome study. Eur J Anaesthesiol. 2013;30(5):199–201. doi: 10.1097/EJA.0b013e32835f0052.
9. Isbister JP, Shander A, Spahn DR, Erhard J, Farmer SL, Hofmann A. Adverse blood transfusion outcomes: establishing causation. Transfus Med Rev. 2011;25(2):89–101. doi: 10.1016/j.tmrv.2010.11.001.
10. Krishnasivam D, Trentino KM, Burrows S, Farmer SL, Picardo S, Leahy MF i sur. Anemia in hospitalized patients: an overlooked risk in medical care. Transfusion. 2018;58(11):2522–2528. doi: 10.1111/trf.14877.
11. Piednoir P, Allou N, Driss F i sur. Preoperative iron deficiency increases transfusion requirements and fatigue in cardiac surgery patients: a prospective observational study. Eur J Anaesthesiol. 2011;28:796–801.
12. Miles LF, Kunz SA, Na LH i sur. Postoperative outcomes following cardiac surgery in non-anaemic iron-replete and iron-deficient patients—an exploratory study. Anaesthesia. 2018;73:450–458.
13. Kozek-Langenecker SA, Ahmed AB, Afshari A, Albaladejo P, Aldecoa C, Barauskas G i sur. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European society of anaesthesiology: first update 2016. Eur J Anaesthesiol. 2017;34(6):332–395. doi: 10.1097/EJA.000000000000630.
14. Ker K, Edwards P, Perel P i sur. Effect of tranexamic acid on surgical bleeding: systematic review and cumulative meta-analysis. BMJ. 2012;344:e3054.
15. Meier J, Gombotz H. Pillar III--optimisation of anaemia tolerance. Best Pract Res Clin Anaesthesiol. 2013 Mar;27(1):111–9. doi: 10.1016/j.bpa.2013.02.005.
16. Tomic Mahecic T, Dünser M, Meier J. RBC Transfusion Triggers: Is There Anything New? Transfus Med Hemother. 2020 Oct;47(5):361–368. doi: 10.1159/000511229. Epub 2020 Sep 24.
17. Gombotz H, Hofmann A, Norgaard A, Kastner P. Supporting patient blood management (PBM) in the EU – a practical Implementation guide for hospitals. Luxembourg: European Commission – Directorate-General for Health and Food Safety; 2017. p. 67.
18. Hofmann A, Norgaard A, Kurz J, Choorapoikayi S, Meybohm P, Zacharowski K i sur. Building national programmes of Patient Blood Management (PBM) in the EU. A guide for health authorities. Luxembourg: European Commission; 2017. p. 87.
19. Shander A, Goobie SM, Warner MA, Aapro M, Bisbe E, Perez-Calatayud AA i sur; International Foundation of Patient Blood Management (IFPBM) and Society for the Advancement of Blood Management (SABM) Work Group. Essential Role of Patient Blood Management in a Pandemic: A Call for Action. Anesth Analg. 2020 Jul;131(1):74–85. doi: 10.1213/ANE.0000000000004844.
20. Chang L, Yan Y, Wang L. Coronavirus Disease 2019: coronaviruses and blood safety. Transfus Med Rev. 2020;S0887–7963(20)30014–30016.
21. AABB Interorganizational Task Force on Domestic Disasters and Acts of Terrorism. Statement on Coronavirus and Blood Donation. AABB (Advancing Transfusion and Cellular Therapies Worldwide). Available at: [www.aabb.org/advocacy/regulatorygovernment/Pages/Statement-on-Coronavirus-and-Blood-Donation.aspx](http://www.aabb.org/advocacy/regulatorygovernment/Pages/Statement-on-Coronavirus-and-Blood-Donation.aspx). Accessed March 23, 2020.
22. Spahn DR. Patient Blood Management: What Else? Ann Surg. 2019 May;269(5):805–807. doi: 10.1097/SLA.0000000000003186.
23. Hofmann A, Spahn DR, Holtorf AP; PBM Implementation Group. Making patient blood management the new norm(al) as experienced by implementors in diverse countries. BMC Health Serv Res. 2021 Jul 2;21(1):634. doi: 10.1186/s12913-021-06484-3.

## EVALUATION OF PLATELET COUNT AND PLATELET FUNCTION ANALYZER – 100 TESTING FOR PREDICTION OF PLATELET TRANSFUSION FOLLOWING CORONARY BYPASS SURGERY

BOGDANIĆ D.<sup>1</sup>, Bogdanić N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Center Split

• Department of Transfusion Medicine

<sup>2</sup>University Hospital for Infectious Diseases "Dr Fran Mihaljević"

• Department of Infectious Diseases

**Background:** Platelet transfusions are commonly administered to treat bleeding in cardiac surgery. The platelet count following administration of PLT units is the standard method for assessing effectiveness of PLT transfusion therapy. It is difficult to use standard methods for assessing the effectiveness of PLT transfusions in cardiac surgery patients due to the complexity of hemostasis disorders, heparinization, hemodilution, and residual effect of antiplatelet therapy.

The aim of this study was to compare platelet (PLT) count and values of collagen adenosine diphosphate closure time (cADP-CT) measured by Platelet Function Analyzer (PFA) for prediction of PLT transfusion therapy following coronary bypass surgery.

**Materials and methods:** For this prospective observational study, 66 patients scheduled for coronary artery bypass grafting (CABG) who received early PLT transfusions (within 60 minute after operation) were enrolled. To assess changes in platelets, count and function, two time points were selected: 15 minutes (min) before and 30 – 60 min after end of PLT transfusion. The patients were divided into transfused and non-transfused with further PLT in the 48 h postoperatively.

We used the receiver operating characteristics (ROC) curve to investigate whether the PLT count and cADP-CT values were predictors of PLT transfusion.

**Results:** Out of 80 cardiac surgery patients, 8 patients were excluded due to the insufficient blood sample for PFA-100 testing and 6 patients due to re-operation for postoperative bleeding. The majority of patients were men (83%), the median age was 67 years, and high percentage of patients had a history of hypertension (74%) and hyperlipidemia (62%). Blood loss postoperatively was 470 (range 100–1860) mL/24 h and 265 (range 45–1000) mL/25–48 h. Of the 66 patients, 15 (23%) received FFP, 23 (35%) PLT, and 28 (42%) received two or more RBC units in the first 48 hours of the postoperative period. The positive predictive values (PPV) of PLT count and cADP-CT after PLT transfusion for further PLT transfusion were 33% and 86% respectively, with a PLT count threshold of  $\leq 200 \times 10^9/L$  and cADP-CT threshold of  $\geq 118$  s. The comparison among the ROC curves showed statistical difference ( $p=0.0002$ ). In multiple regression analysis cADP-CT was the strongest predictor for number of PLT transfusion doses in the 48 h postoperatively.

**Discussion/Conclusion:** In CABG patients, the results of cADP-CT after PLT transfusion have a better predictive capacity for further PLT transfusions than the PLT count. We concluded that the incorporation of cADP-CT into transfusion algorithms in CABG patients would be useful to guide PLT transfusions. This test can be used to set the indications for PLT transfusions, to assess the effectiveness of PLT transfusions therapy and to estimate the number of PLT transfusions doses with respect to the values of cADP-CT before PLT transfusion.

## KRETANJE UČESTALOSTI ODGOĐENIH SEROLOŠKIH I ODGOĐENIH HEMOLITIČKIH TRANSFUZIJSKIH REAKCIJA U PROŠLOM DESETLJEĆU

MAJCEN K.<sup>1</sup>, Bojanic I.<sup>2</sup>, Lukić M.<sup>2</sup>, Plenković F.<sup>2</sup>, Raos M.<sup>2</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OB "Dr. Ivo Pedišić"

• Odjel za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Odgođena serološka ili odgođena hemolitička transfuzijska reakcija (engl. delayed serologic transfusion reaction – DSTR i delayed hemolytic transfusion reaction – DHTR) posljedica su sekundarnog imunosnog odgovora kod osoba koje su ranije imunizirane na eritrocitne antigene a u vrijeme prijetransfuzijskog ispitivanja razina protutijela u krvi bolesnika je ispod praga osjetljivosti testa. Javljuju se 24 sata do 28 dana nakon transfuzije.

**Cilj:** Cilj rada je bio utvrditi kretanje učestalosti DSTR i DHTR u desetogodišnjem razdoblju u populaciji bolesnika liječenih koncentratima eritrocita u Kliničkom bolničkom centru Zagreb (KBC Zagreb).

**Metode:** U ovom istraživanju za DSTR i DHTR korištene su definicije:

DSTR je definirana razvojem novih, klinički značajnih antieritrocitnih protutijela u roku 24 sata do 28 dana nakon transfuzije, bez pojave kliničkih simptoma ili laboratorijskih znakova hemolize u primatelja.

DHTR je definirana razvojem novih, klinički značajnih antieritrocitnih protutijela u roku 24 sata do 28 dana nakon transfuzije s kliničkim simptomima i/ili laboratorijskim znakovima hemolize

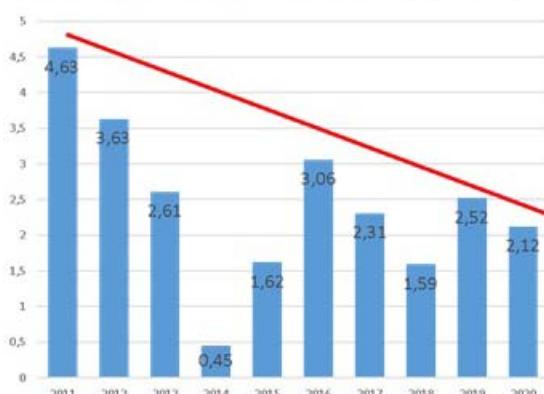
Radi prikupljanja podataka o DSTR/DHTR retrospektivno je analizirana informatička baza transfuzijskih reakcija u KBC Zagreb za razdoblje od 1. siječnja 2011. do 31. prosinca 2020. Ukoliko su bili potrebni, dodatni klinički podaci prikupljeni su iz bolničkog informacijskog sustava (BIS). Prikupljeni su podaci o dobi, spolu, dijagnozi, prethodnom transfuzijskom liječenju, ranijim imunizacijama, laboratorijskim znakovima hemolize (hemoglobin, broj retikulocita, LDH, bilirubin, haptoglobin), imunohematološkom testiranju (otkrivanje antieritrocitnih protutijela u indirektnom antiglobulinskom testu (IAT), direktni antiglobulinski test (DAT), specifičnost aloprotutijela u krvi i eluatu), vremensko razdoblje koji je protekao od zadnje transfuzije do razvoja DSTR ili DHTR. U svakog bolesnika uspoređeni su imunohematološki nalazi prije i nakon transfuzijskog liječenja.

Iz analize su isključeni bolesnici koji su transfuzijski liječeni u drugim ustanovama, a DSTR/DHTR su otkriveni u KBC Zagreb.

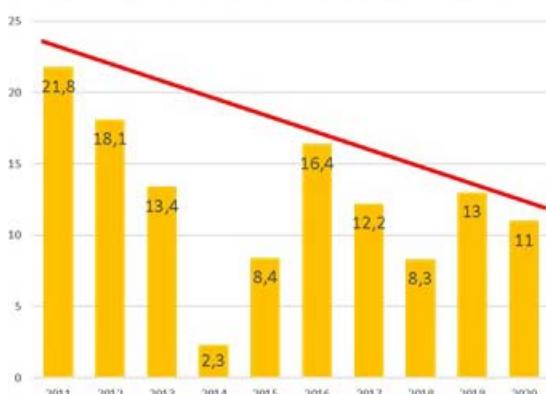
**Rezultati:** U desetogodišnjem razdoblju 60 bolesnika je imalo DSTR/DHTR: 48 DSTR i 12 DHTR (omjer 4:1). U trenutku dijagnoze DSTR/DHTR u njihovoj krvi je otkriveno 70 antieritrocitnih protutijela od kojih je DSTR uzrokovalo 55 protutijela, a DHTR 14. Omjer DHTR i DSTR bio je 1:4.

Za desetgodišnje razbolje incidencija DSTR/DHTR na 10.000 transfundiranih doza bila je 2,47. Najviša je na internističkim odjelima 2,93, a slijede kirurški 2,3 i ginekološki 2,2 dok na pedijatrijskim odjelima nije zabilježena niti jedna DSTR/DHTR. Kretanje incidencija na 10.000 transfundiranih doza i 10.000 transfundiranih bolesnika prikazana je na [slici 1](#).

Incidenčija DSTR/DHTR na 10000 doza



Incidenčija DSTR/DSHR na 10000 bolesnika



SLIKI 1. KRETANJE DSTR/DHTR U RAZDOBLJU 2011.–2020.

Specifičnosti antieritrocitnih protutijela koja su uzrokovala DSTR i DHTR prikazane su u Tablici 1. Anti-E protutijelo je najčešće uzrokovalo DSTR, anti-Jka DHTR. Anti-E je identificirano u ukupno 21 slučaju, od toga 19 slučajeva DSTR ( $19/48=39,50\%$ ) i 2 DHTR ( $2/12=16,6\%$ ). Anti-K je nađen u 18 slučajeva (17 DSTR-14/48=35,41% i 1 DHTR-1/12= 8,33%). Anti-Jka je identificiran u ukupno 16 slučajeva (8 DHTR-8/12=66,66% i 8 DSTR-8/48=16,66%).

**Zaključak:** Incidencija DSTR i DHTR u našoj ustanovi je u padu. Razlog tome je uvođenje osjetljivijih tehnika i automatizacije u prijetransfuzijsko ispitivanje kao i uvođenje profilaktične antigene podudarnosti (engl. *Prophylactic antigen match* – PAM) za skupine bolesnika kronično ovisnih o transfuzijama.

Najveća incidencija DSTR/DHTR je u internističkim bolesnika što ne čudi jer su oni češće ovisni o transfuzijama pa je rizik imunizacije veći. S druge strane zbog osnovne bolesti ili liječenja mogu imati smanjenu količinu protutijela što može biti razlogom nemogućnosti otkrivanja antieritrocitnih protutijela u prijetransfuzijskom ispitivanju. Važno je kritički razmotriti svaku indikaciju za transfuzijsko liječenje jer i kod negativnog IAT-a i podudarnih križnih reakcija postoji mogućnost razvoja DSTR ili DHTR.

TABLICA 1. SPECIFIČNOST ANTIERITROCITNIH PROTUTIJELA PREMA VRSTI REAKCIJE

Specifičnost	DSTR		DHTR	
	serum	eluat	serum	eluat
E	19	16	2	1
K	17	16	1	1
Jka	8	6	8	7
c	3	2	1	1
Jkb	0	0	1	0
Fyb	2	2	0	0
C	2	2	0	0
Fya	2	2	0	0
e	1	1	0	0
D	1	1	0	0

## INDIKACIJE I UČINKOVITOST LIJEČENJA HOSPITALIZIRANIH HEMATOLOŠKIH BOLESNIKA KONCENTRATIMA TROMBOCITA

LIKER M.<sup>1</sup>, Bašić Kinda S.<sup>2</sup>, Mikulić M.<sup>2</sup>, Rončević P.<sup>2</sup>, Boban A.<sup>2</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Duraković N.<sup>2</sup>, Bojančić I.<sup>1</sup>, Aurer I.<sup>2</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za hematologiju

**Uvod:** Bolesnicima sa trombocitopenijom induciranim kemoterapijom transfuzije koncentrata trombocita (KT) primjenjuju se sa ciljem liječenja ili prevencije krvarenja. Prevencija krvarenja provodi se u bolesnika sa izrazito niskim brojem trombocita i prije invazivnih zahvata radi povećanog rizika krvarenja. KT primjenjuju se u prevenciji krvarenja ako je broj trombocita manji od  $10 \times 10^9/l$  odnosno  $20 \times 10^9/l$  ukoliko bolesnici imaju dodatne rizike za krvarenje (npr. infekcija, temperatura, koagulacijski poremećaji). Prije invazivnih zahvata kod trombocitopeničnih bolesnika minimalni broj trombocita ovisi o tome koliki rizik za krvarenje ima svaki pojedini zahvat.

Učinkovitost transfundiranih KT procjenjuje se izračunom porasta broja trombocita (eng. count increment, CI), korigiranog porasta broja trombocita (eng. corrected count increment, CCI) i međutransfuzijskim razmakom (eng. intertransfusion interval, ITI). Ukoliko je CCI nakon 1 sat  $\geq 7,5 \times 10^9/l$  ili nakon 24 sata  $\geq 4,5 \times 10^9/l$  smatra se da učinak transfuzije KT zadovoljavajući.

**Cilj:** Analizirati indikacije i pragove za transfuzije KT, usporediti CI i CCI nakon transfuzije 1 i 2 pool-a KT te kod različitih skupina hematoloških bolesnika: bolesnici koji su primali samo kemoterapiju, autotransplantirani i alotransplantirani.

**Metode:** Prospektivno su analizirane sve transfuzije KT na Zavodu za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb od 14.02. do 14.04.2020. Bolesnicima je određivan broj trombocita 1 sat i 16–24 sata nakon transfuzije. Za izračun korištene su slijedeće formule:

$$CI = \text{broj trombocita nakon transfuzije} - \text{broj trombocita prije transfuzije}$$

$$CCI = \text{broj trombocita nakon transfuzije} - \text{broj trombocita prije transfuzije} \times PT(m^2) / \text{broj transfundiranih trombocita} (10^{11}), PT (m^2) = \sqrt{\text{visina (cm)} \times \text{težina (kg)}} / 3600 \text{ (Mosteller formula)}$$

$$ITI = \text{broj dana do slijedeće transfuzije KT}$$

Za izračun broja trombocita uzete su srednje vrijednosti dobivene mjerjenjem u Odjelu kontrole kvalitete Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu za 2019. god., a koje za KT dobivene iz pune krvi (1 pool – 4 doze) iznosi  $3 \times 10^{11}$ , a za KT dobivene aferezom  $6 \times 10^{10}$ /dozi. Svi transfundirani KT bili su ozračeni u HZTM neposredno prije izdavanja.

**Rezultati:** U studiju je uključeno 64 bolesnika: 28 (43,7%) žena i 36 (56,3%) muškaraca, u dobi od 20 do 78 god (medijan 59 god). Inicijalno su bila uključena još tri bolesnika ali su zbog razvoja refraktornosti na transfuzije KT izuzeti iz studije. Bolesnici su dobili 277 transfuzije KT: 43 (15,5%) transfuzije KT dobivenih aferezom i 234 (84,5%) transfuzije KT dobivenih iz pune krvi. Od svih zahtjeva za transfuzije KT 172 (62,1%) je bilo na 1 pripravak (4 doze), a 105 (37,9%) na 2 pripravka (8 doza) KT. Indikacije za transfuzije su bile: 246 (88,8%) prevencija krvarenja zbog niskog broja trombocita 16 (5,8%) krvarenje, 15 (5,4%) prevencija prije zahvata. Pragovi za transfuzijsko liječenje bili su: u rasponu broja trombocita od  $0-9 \times 10^9$  33 (11,9%),  $10-19 \times 10^9$  131 (47,3%),  $20-29 \times 10^9$  52 (18,8%) i  $30-109 \times 10^9$  61 (22,0%) transfuzija. CI, CCI i ITI nakon transfuzije 1 i 2 pool-a KT prikazani su u tablici 1. Broj transfundiranih KT i CCI kod različitih skupina hematoloških bolesnika prikazani su u tablici 2.

TABLICA 1. UČINKOVITOST LIJEČENJA NAKON PRIMJENE 1 I 2 POOL-A KT

	1 pool			2 pool		
	Transfuzija (N)	mean ± SD	median (min-max)	Transfuzija (N)	mean ± SD	median (min-max)
CI nakon 1 sata	126	$26,1 \pm 15,9$	$23,0 (2,0 - 90,0)$	47	$50,5 \pm 25,1$	$44,0 (-1 - 98,0)$
CI nakon 24 sata	133	$16,6 \pm 14,2$	$14,0 (-6 - 96)$	57	$30,3 \pm 21,3$	$28,0 (-9,0 - 94)$
CCI nakon 1 sata	126	$16,7 \pm 9,6$	$15,3 (1,2 - 53,9)$	47	$16,9 \pm 9,3$	$14,8 (-0,3 - 52,9)$
CCI nakon 24 sata	133	$10,5 \pm 8,9$	$8,7 (-3,7 - 62,1)$	57	$9,3 \pm 6,5$	$8,3 (-3,1 - 28,7)$
ITI	109	$2,2 \pm 1,2$	$2,0 (0,0 - 7,0)$	47	$2,3 \pm 1,6$	$2,0 (0,0 - 8,0)$

TABLICA 2. BROJ TRANSFUNDIRANIH KT I CCI U RAZLIČITIH SKUPINA HEMATOLOŠKIH BOLESNIKA

Skupina bolesnika	Bolesnika (N)	KT/Bolesnik (N)	CCI nakon 1 sat						CCI nakon 24 sata								
			average $\times 10^9/l$	<7.5 $\times 10^9/l$		>7.5 $\times 10^9/l$		Ukupno transfuzija (N)	average $\times 10^9/l$	<7.5 $\times 10^9/l$		>7.5 $\times 10^9/l$		Ukupno transfuzija (N)			
				Transfuzija		Transfuzija				Transfuzija		Transfuzija					
				N	%	N	%			N	%	N	%				
Autotransplantacija	15	3,3	$16,1 \pm 9,3$	3	10,7	25	89,3	28	$11,5 \pm 8,2$	4	14,8	23	85,2	27			
Kemoterapija	22	5,0	$15,9 \pm 10,9$	14	16,3	72	83,7	86	$9,7 \pm 9,0$	27	28,4	68	71,6	95			
Alotransplantacija	13	9,3	$14,8 \pm 8,7$	12	21,4	44	78,6	56	$6,7 \pm 8,3$	30	44,8	37	55,2	67			
Ukupno	50	5,6	$15,0 \pm 9,6$	29	17,1	141	82,9	170	$8,7 \pm 8,0$	61	32,3	128	67,7	189			

**Zaključak:** Najčešća indikacija za transfuziju KT bila je prevencija krvarenja zbog niskog broja trombocita, najčešći broj trombocita za koji je indicirano transfuzijsko liječenje bio je u rasponu od  $10-19 \times 10^9/l$ , a najčešće je naručen 1 pripravak. Sve skupine hematoloških bolesnika imale su veliki udio transfuzija s nezadovoljavajućim učinkom. Skupina alotransplantiranih bolesnika imala je najveću potrošnju KT po bolesniku, ali nažalost u prosjeku i najslabiji CCI i najveći udio transfuzija KT sa nezadovoljavajućim CCI.

## Simpozij 10 – Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini

### UPRAVLJANJE RIZICIMA I ZNAČAJ U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI

VUKT.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Služba upravljanja kvalitetom u transfuzijskoj medicini

Murphy's law – “If anything can go wrong it will...

#### Uvod

Život je sam po sebi rizičan i svaka naša aktivnost praćena je određenim stupnjem rizika. Rizici su prisutni posvuda (financijski, gospodarski, socijalni,...). Svi rizici nisu jednako značajni, a različita je i individualna percepcija rizika, ovisno o prethodnim iskustvima u sličnim situacijama. Kada se suočimo s rizikom, moramo donijeti odluku o dalnjem postupanju. Ponekad smo u tome uspješni, a ponekad ne. Čini se, dakle, da je upravljanje rizikom ono što radimo u svakodnevnom životu. Možda ne koristimo formalne definicije i ne slijedimo strukturirane protokole, ali osnovni principi su isti.

Za razliku od privatnog života u kojem postoji odgovornost za pojedinca, obitelj i sl., u profesionalnom životu postoji odgovornost za zaposlenike, kupce/korisnike, dobavljače i na kraju za cijelu zajednicu. To također implicira potrebu veće predanosti upravljanju rizicima. Stoga ne iznenađuje da brojne tvrtke imaju odjele za upravljanje rizicima i menadžere koji su u potpunosti predani ovom važnom poslu.

U zdravstvenom sustavu rizici mogu utjecati na zdravlje i živote ljudi, zbog čega je upravljanje rizicima u ovom sustavu od osobitog značaja. Stručnjaci u transfuzijskoj medicini oduvijek su ozbiljno razmatrali rizike. Najmoćnija pokretačka snaga u prevenciji rizika povezanih s transfuzijskim liječenjem bila je pojava HIV-a 80-ih godina prošlog stoljeća. Otkriće HIV-a promjenilo je percepciju sigurnosti krvnih pripravaka i rezultiralo usvajanjem principa predostrožnosti u transfuzijskoj medicini. Specifični rizici u području transfuzijske medicine također su doprinijeli implementaciji sustava kvalitete i sustava hemovigilancije.

#### Povijest upravljanja rizicima

Prema nekim povjesničarima, najraniji koncept upravljanja rizicima razvio se iz teorije igara i vjerojatnosti. Temelji moderne analize rizika postavljeni su u doba renesanse. Vjerojatno najvažnija bila je suradnja Blaisea Pascala i Pierrea de Fermata 1654. godine, koja je postavila temelje teorije vjerojatnosti. Bernoullijev zakon velikih brojeva iz 1713. godine bio je sljedeće veliko otkriće. Dvadeset godina kasnije (1733.), de Moivre je razvio normalnu distribuciju i teoriju vjerojatnosti. Godine 1763. objavljen je Bayes-ov matematički model koji vjerojatnost događaja temelji na prethodnom znanju. Rad ovih znanstvenika samo je dio povijesti upravljanja rizicima, ali od presudne važnosti za postignuća stručnjaka koji su nastavili istraživanja na ovom području. Knjiga „Against the Gods: The Remarkable Story of Risk“, koju je 1996. godine objavio Peter L. Bernstein, sveobuhvatan je pregled povijesti rizika.<sup>1</sup> U ovoj knjizi autor naglašava da je kontrola rizika temeljna razlika u pristupu upravljanju rizicima u moderno doba u odnosu na prošlost. Prema „Risk Management: History, Definition, and Critique“ (Dionne G), suvremenim pojmovi i studije o upravljanju rizicima javljaju se nakon Drugoga svjetskog rata.<sup>2</sup> Strategija upravljanja rizicima u početku je usvojena u gospodarstvu i ekonomiji. Upravljanje rizicima u zdravstvenom sustavu uvedeno je primarno radi poboljšanja sigurnosti pacijenata i kvalitete zdravstvene zaštite, ali i radi prevencije finansijskih rizika i tužbi.

#### Kako definirati rizik i upravljanje rizicima?

Postoji nekoliko definicija rizika, a njihovo značenje i tumačenje mogu biti različiti za pojedince ili organizacije. Neke se definicije rizika temelje na vjerojatnostima, druge na očekivanim vrijednostima, neke na neizvjesnosti, a druge na ciljevima. Oxford English Dictionary definira rizik kao situaciju koja uključuje izloženost opasnosti, ISO 31000 kao učinak neizvjesnosti na ciljeve<sup>3</sup>, a ISO/IEC Guide 51 kao kombinaciju vjerojatnosti nastanka štete i ozbiljnosti te štete<sup>4</sup>. Rizik može nastati iz unutarnjih i vanjskih (gospodarskih, političkih...) čim-

benika. Važno je da svaka organizacija odredi vanjske i unutarnje čimbenike, ciljeve koje treba postići i rizike koji mogu nastati u njihovoj realizaciji.

Postoji i nekoliko definicija upravljanja rizicima. Prema ISO 31000, upravljanje rizicima definira se kao „koordinirane aktivnosti za usmjeravanje i kontrolu organizacije obzirom na rizike.<sup>3</sup> Prema ICH Q9 – Quality Risk Management, upravljanje rizicima za kvalitetu je “sustavni proces za identifikaciju, procjenu i kontrolu rizika za kvalitetu farmaceutskog proizvoda kroz životni ciklus proizvoda”.<sup>5</sup> Prema „GPG for blood establishments“ (EDQM Blood Guide), upravljanje rizicima za kvalitetu dio je sustava kvalitete koji osigurava da se izvedba procesa, sustavi praćenja i ocjene kvalitete temelje na riziku.<sup>6</sup>

### Značaj upravljanja rizicima

U svijetu brzih promjena i razvoja, upravljanje rizicima sve je važnije. Upravljanje rizicima omogućava ostvarjenje ciljeva organizacije i stabilnost poslovanja, kreiranje sigurnog okruženja za zaposlenike i korisnike. Svojim preventivnim pristupom omogućava pravovremeno prepoznavanje potencijalnih rizika i olakšava donošenje odluka kojima će oni biti sprječeni ili umanjen njihov učinak.<sup>7</sup>

### Ciljevi upravljanja rizicima

Slično definiciji rizika, ciljevi upravljanja rizicima mogu biti različiti za pojedine djelatnosti i organizacije. Međutim, neki su ciljevi zajednički većini njih. To su na primjer:

- unapređenje kvalitete i sigurnosti
- smanjenje grešaka, incidenata, štetnih događaja
- smanjenje troškova i optimalno korištenje resursa
- smanjenje varijabilnosti u procesima
- smanjenje nesigurnosti u promjenama
- identifikacija prilika
- smanjeni rizik od tužbi
- korištenje stečenog znanja i iskustva u budućim sličnim situacijama
- usklađenost sa zakonskim propisima, zahtjevima za licenciranje i akreditaciju
- alat za edukaciju djelatnika (podizanje svijesti o rizicima)

### Mogući problemi i negativni učinci

Uz cijeli niz pozitivnih učinaka, upravljanje rizicima može biti praćeno određenim problemima i negativnim učincima, kao što su:

- složenost postupka
- odabir pogrešnih alata i tehnika
- subjektivnost procjene
- razina angažmana neproporcionalna razini rizika
- izostanak timskog rada
- nedostatna edukacija

### Klasifikacija rizika

Postoji nekoliko načina na koje se rizici mogu klasificirati. U literaturi se može pronaći podjela na rizike na strateškoj i na operativnoj razini. Oni mogu biti unutrašnji i vanjski, ovisno o faktorima koji na njih utječu. Prema pojavnosti, rizici se mogu klasificirati na statičke (stalno prisutne) i dinamičke (koji nastaju uslijed nepredvidljivih promjena). Također se koristi i podjela na mjerljive i nemjerljive rizike. Rizici se mogu klasificirati i prema tipu njihovog učinka (učinak na financije, zdravlje i sigurnost, okoliš, ugled organizacije i sl.).

### Karakteristike uspješnog upravljanja rizicima

Upravljanje rizicima pripada strateškim ciljevima organizacije i važan je segment sustava upravljanja. Provedbu upravljanja rizicima treba podržati uprava organizacije i smatrati je alatom za stalno unapređenje. Upravljanje rizicima treba biti integrirano u organizacijske procese i korišteno u procesu donošenja odluka. Pri tome treba naglasiti važnost timskog rada. Važno je da se upravljanje rizicima provodi kontinuirano, uključujući i

kontinuiranu evaluaciju. Znanje je važan preduvjet za postizanje uspješnog upravljanja rizicima. Zbog toga je važno da principi upravljanja rizicima budu predmet početne i trajne edukacije djelatnika. Upravljanje rizikom treba biti dinamično i reagirati na promjene.

Potrebno je definirati načine komunikacije, alate i sl. Oni moraju biti opisani u dokumentu organizacije. Primjena informacijske tehnologije omogućava lakše upravljanje rizicima u smislu prikupljanja i obrade podataka, brže komunikacije i sl.

### **Metode i alati za upravljanje rizicima**

Uz različite neformalne načine procjene i upravljanja rizicima, dostupan je i niz dobro definiranih alata, kao što su: Failure Mode Effects Analysis (FMEA), Failure Mode, Effects and Criticality Analysis (FMECA), Fault Tree Analysis (FTA), Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP), Hazard Operability Analysis (HAZOP), Preliminary Hazard Analysis (PHA). Važno je odabrati prikladni alat koji adekvatno identificira i rangira rizike te dokumentira radnje za tretman rizika. Stupanj formalnosti upravljanja rizicima ovisi o složenosti i kritičnosti problema. Različiti statistički alati mogu podržati i olakšati proces upravljanja rizicima.

Failure Mode Effects Analysis (FMEA) jedan je od najpouzdanih alata za upravljanje rizicima. Razvijen je od strane američke vojske 50-ih godina prošlog stoljeća, ima preventivni pristup, temelji se na poznavanju procesa i primjenjuje od dizajna, preko razvoja do završnog proizvoda/procesa. Razina potencijalnog rizika (**RPR**) funkcija je tri čimbenika: posljedice (**P**), vjerojatnosti pojavljivanja opasnosti (**V**) i mogućnosti detekcije opasnosti (**D**), a izračunava se prema jednostavnoj formuli:  $RPR = P \times V \times D$ .

Razina prihvatljivosti rizika procjenjuje se kao "nizak/srednji/visok" ili "prihvatljiv/prihvatljiv uz smanjenje/neprihvatljiv" i sl. Čest je prikaz u bojama radi lakše interpretacije ("semafor") – uobičajeno zeleno, žuto, crveno, ali neki dodaju i nijanse (najčešće svijetlo zeleno, narančasto). Unutar pojedinih boja mogu se zadati dodatni uvjeti, što ovisi o samom procesu na koji se procjena rizika odnosi. Mreža matrice obično je 5 x 5, ali mogu biti manje (3 x 3, 4 x 4) ili veće (7 x 7, 10 x 10), ovisno o potrebama organizacije. Na temelju dobivenih brojčanih podataka za RPR, prema potrebi (razina rizika), radi se plan aktivnosti. Nakon provedbe plana aktivnosti niti jedna razina potencijalnog rizika ne bi smjela biti u crvenoj zoni.

Ocjenvivanje rizika ima svoja ograničenja. Iako određeni rizik može imati značajan negativan utjecaj, izračun može rezultirati nižom ocjenom zbog niske učestalosti. Ovo jasno ukazuje na važnost uključivanja kompetentnih stručnjaka kako bi se osiguralo da vjerojatnost takvog rizika bude svedena na minimum te na važnost razmišljanja izvan okvira dobivenih rezultata.

### **Proces upravljanja rizicima**

#### **Identifikacija (prepoznavanje) rizika**

Cilj je pronalaženje, prepoznavanje i opisivanje rizika koji mogu imati utjecaj na ostvarivanje ciljeva organizacije. Prepoznavanje rizika može biti reaktivno (prijava reklamacija, nesukladnosti, štetnih događaja, nalazi audita...) ili proaktivno (temeljem predviđanja, učenja iz tuđih iskustava i pogrešaka i sl.). Pri tome se mogu koristiti različiti alati i tehnike, kao što su: Brainstorming, Delphi tehnika intervjuiranja, analiza korijenskih uzroka (eng. root-cause analysis), SWOT analiza, analiza pretpostavki (eng. assumption analysis), dijagrami uzroka i posljedice (eng. cause and effect diagrams), dijagrami tijeka (eng. flowcharts).

#### **Analiza rizika**

Analiza rizika osigurava podatke za njihovo vrednovanje i donošenje odluka o istima. To se prije svega odnosi na karakteristike rizika, razinu rizika, izvor rizika, posljedice, vjerojatnost pojave i sl. Tehnike analize mogu biti kvalitativne, kvantitativne ili kombinacija ovih metoda. Treba imati na umu da čak i jednostavni događaji, ako su učestali i ponavljajući zahtijevaju pažnju.

#### **Evaluacija rizika**

Cilj evaluacije rizika je usporedba razine rizika utvrđene tijekom analize s utvrđenim kriterijima. Evaluacija rizika pomaže u donošenju odluke za koje je rizike potrebno poduzeti mjere te utvrditi prioritete u provedbi tih mjer. Odluke trebaju uzeti u obzir stvarne i percipirane posljedice za vanjske i unutarnje dionike. Odluke mogu uključivati: izostanak daljnjih postupanja, razmatranje mogućnosti postupanja (tretman rizika), provedbu daljnjih analiza, održavanje postojećih kontrola, preispitivanje ciljeva.

## Kontrola rizika (djelovanje u odnosu na rizik)

Rizik se može kontrolirati na nekoliko načina: izbjegavanje rizika (ne započeti ili prestati s obavljanjem aktivnosti koje povećavaju izglede za rizik), uklanjanje izvora rizika, dijeljenje rizika – podjela rizika s nekom od zainteresiranih strana (npr. angažiranje vanjskih dobavljača za pojedine aktivnosti), smanjenje rizika (analiza i uvođenje mogućih zaštitnih mjera za smanjenje rizika, procjena preostalog rizika i donošenje odluke o prihvatljivosti ostatnog rizika), prihvatanje rizika – donošenje odluke o nepoduzimanju radnji za otklanjanje ili smanjenje rizika informiranim odlukom. U nekim situacijama se rizik može prihvatiti i iskoristiti kao prilika.

### Praćenje rizika

Praćenje rizika je kontinuirani proces koji uključuje prikupljanje informacija i njihovu analizu (ovdje treba naglasiti važnost indikatora kvalitete) te procjenu potrebe za izmjenama statusa pojedinih rizika.

### Dokumentiranje i izvještavanje

Ciljevi ovih aktivnosti su:

- komunikacija o aktivnostima i rezultatima upravljanja rizicima u cijeloj organizaciji
- osiguranje informacija za donošenje odluka
- unapređenje aktivnosti upravljanja rizicima
- unapređenje kvalitete dijaloga s dionicima i pružanje podrške rukovodstvu u ispunjavanju njihovih odgovornosti

## Upravljanje rizicima u transfuzijskoj medicini

Osnovni ciljevi u transfuzijskoj medicini su kvalitetno, sigurno i učinkovito transfuzijsko liječenje. Sukladno tome, potrebno je prepoznati rizike koji prijete ostvarenju ovih ciljeva i poduzeti odgovarajuće mjere za njihovo uklanjanje/smanjenje.

Stručnjaci u transfuzijskoj medicini oduvijek ozbiljno razmatraju rizike. Pojava HIV-a 80-ih godina prošlog stoljeća promijenila je percepciju sigurnosti transfuzijskog liječenja i bila je najsnažnija pokretačka snaga u prevenciji rizika koja je učvrstila temelje načela predostrožnosti u transfuzijskoj medicini. Ovaj princip jedan je od prvih proaktivnih načina razmišljanja u javnoj sferi. Princip predostrožnosti daje smjernice za donošenje odluka na koje se odgovorna tijela mogu pozvati u okolnostima kada nedostaju znanstveni dokazi o određenom riziku. Naime, neuspjeh u aktivnom izbjegavanju rizika može dovesti do štete za ljudi ali i povećati troškove.

Rizici u transfuzijskoj medicini mogu se grubo podijeliti na one vezane uz davatelje, pacijente, zaposlenike i procese. Većina rizika u transfuzijskoj medicini proizlazi iz biološkog porijekla krvnih pripravaka (krvlju prenosive infekcije, imunološki uzrokovane transfuzijske reakcije) te mogućnosti nastanka grešaka (složenost procesa, brojni sudionici u transfuzijskom lancu, itd.).<sup>7</sup> Tijekom godina učinjen je značajan napredak u prevenciji i smanjenju rizika u transfuzijskoj medicini. To prije svega možemo zahvaliti dinamičnom znanstveno-tehnološkom napretku koji je rezultirao brojnim novim spoznajama i inovacijama te implementacijom sustava kvalitete koji uključuje Dobru praksu i upravljanje rizicima za kvalitetu. Značajan doprinos unapređenju sigurnosti bila je implementacija sustava hemovigilancije u cijelom transfuzijskom lancu.

Upravljanje rizikom nije dakle novi koncept u transfuzijskoj medicini, ali je njegov značaj dodatno naglašen posljednjih godina promocijom upravljanja rizicima i donošenja odluka temeljeno na riziku. Tako se primjerice u Good Practice Guidelines (GPG), čiji je zahtjev uspostava sustava kvalitete koji se temelji na riziku, riječ „rizik“ spominje čak 47 puta.<sup>6</sup>

Prema B-QM (Blood Quality Management) radnoj grupi EDQM, nalazi audita i inspekcija u proteklim godinama jasno pokazuju da zahtjevi za upravljanje rizikom, izmjenama te validacijom/kvalifikacijom podliježu različitim tumačenjima, kao i da transfuzijske ustanove, regulatorna tijela i inspektori imaju različita očekivanja u pogledu njihove praktične primjene. Tijekom konferencije održane 2017.g. u organizaciji EDQM, naglašen je značaj procjene rizika u aktivnostima validacije/kvalifikacije te kontroli izmjena.<sup>8</sup>

Procjena rizika pomaže u definiranju područja kvalifikacije, kritičnih elemenata i uspostavi kvalifikacijskih parametara. Jednako tako može pomoći i u standardizaciji postupaka kvalifikacije na način da je svaki tip opreme kategoriziran s unaprijed definiranim kvalifikacijskim parametrima. Pristup temeljen na riziku može svesti kvalifikacijski postupak na optimalnu mjeru (razina angažmana razmjerna razini rizika), a primjenjuje se i na

ponovnu provedbu postupka kvalifikacije. Tako se podaci o povijesti opreme, odstupanjima, popravcima, promjenama i održavanju koriste u definiranju opsega rekvalifikacije.

Veliki značaj u prevenciji rizika ima i sustav kontrole izmjena (eng. "change control"). Ovaj sustav omogućava procjenu učinka svake promjene na procese, kvalitetu i sigurnost proizvoda, implementaciju promjena na kontrolirani i koordinirani način te identifikaciju i smanjenje rizika. Nekontrolirane promjene predstavljaju značajan rizik gubitka validiranog statusa procesa/opreme.

Istraživanje nesukladnosti, odstupanja u kvaliteti i ostalih događaja također mora biti provedeno na principima upravljanja rizicima, što omogućava definiranje opsega istraživanja i analize korijenskih uzroka te provedbe odgovarajućih korektivnih mjera.

### Zaključak

Svaka djelatnost praćena je rizicima koji predstavljaju prijetnju ostvarenju ciljeva. U transfuzijskoj medicini i zdravstvenom sustavu u cijelosti, rizici mogu imati vrlo ozbiljne posljedice što dodatno nameće potrebu sustavnog bavljenja rizicima. To je osobito važno u današnje vrijeme kada je sustav zdravstvene zaštite složeniji nego ikada, uz dinamični razvoj novih tehnika i proizvoda, stalne promjene regulatornih zahtjeva, organizacijske promjene i ekonomske izazove. Aktivan pristup upravljanju rizicima, uz stalnu prilagodbu novim izazovima, garancija je stabilnosti poslovanja i zadovoljstva zaposlenika i korisnika proizvoda i usluga.

### LITERATURA

1. Bernstein PL. Against the Gods: The Remarkable Story of Risk, 1996.
2. Dionne G. Risk management: history, definition, and critique, 2013. Dostupno na SSRN: <https://ssrn.com/abstract=2231635> ili <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.2231635>
3. ISO 31000:2018 Risk management — Guidelines. Dostupno na: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:31000:ed-2:v1:en>
4. ISO IEC Guide 51:2014(en) Safety aspects — Guidelines for their inclusion in standards. Dostupno na: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:guide:51:ed-3:v1:en>
5. European Medicines Agency. ICH guideline Q9 on quality risk management, EMA/CHMP/ICH/24235/2006. EMA 2015. Dostupno na: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use\\_en-3.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-3.pdf)
6. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care of the Council of Europe): Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 20th edn. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM), 2020.
7. Vuk T, Qiu Y, Bust L, Strengers P, Seidl C. Quality monitoring and risk management in blood transfusion services. ISBT Science Series 2018;13:284–289.
8. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care of the Council of Europe). Sharing best practices: Quality risk management, change control, validation and qualification in blood establishments. Proceedings of the workshop 17–19. October 2017, Strasbourg, France.

## UPRAVLJANJE REKLAMACIJAMA U HZTM (2014 – 2020)

LJUBIČIĆ J.<sup>1</sup>, Gulan Harcet J.<sup>1</sup>, Vuk T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Upravljanje reklamacijama važan je segment upravljanja kvalitetom. Sustavna analiza učestalosti i uzroka reklamacija, identifikacija potencijalnih rizika te provedba odgovarajućih korektivnih i preventivnih mjera doprinos su stalnog unapređenja kvalitete i sigurnosti proizvoda i usluga te zadovoljstva kupaca/korisnika.

**Cilj:** Cilj studije je prikazati rezultate upravljanja reklamacijama u Odjelu za osiguranje kvalitete u transfuzijskoj medicini Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu i naglasiti važnost upravljanja reklamacijama kao alata za kontinuirano unaprjeđenje kvalitete.

**Metode:** Retrospektivno su za period od 7 godina (2014–2020) analizirani zapisi o zaprimljenim reklamacijama, prema sljedećim kategorijama: raspodjela reklamacija prema njihovom tipu, stupnju kritičnosti, opravdavnosti te udjelu pojedinog tipa reklamacije u odnosu na odgovarajući denominator.

**Rezultati:** U ispitivanom periodu zaprimljeno je ukupno 577 reklamacija, od kojih se većina (45,9%) odnosi na pozitivan direktni antiglobulinski test (DAT) u koncentratima eritrocita, a s opadajućom učestalosti slijedile su reklamacije na nalaze laboratorijskih testiranja (23,4%), kvalitetu krvnih pripravaka (13,9%), reklamacije vezane za uzimanje krvi/zadovoljstvo darivatelja krvi (4,5%), označavanje krvnih pripravaka (3,6%), distribuciju/izdavanje krvnih pripravaka (1,6%), pružanje usluga pacijentima (1,4%), sumnju na transfuzijski uzrokovani bakterijsku infekciju (1,2%), sumnju na transfuzijom uzrokovanu virusnu infekciju (1,0%), i kategoriju „Ostalo“ (3,5%). Od ukupnog broja reklamacija, 78,9% njih ocijenjeno je opravdanima, 1% djelomično opravdanima, 11,1% neopravdanima, a za 9% nije bilo moguće utvrditi opravdanost. 16,8% reklamacija ocijenjeno je potencijalno opasnima.

Analizirajući ukupnu stopu reklamacija izraženu kao n/10.000, uz primjenu odgovarajućih denominatora, dobiveni su slijedeći rezultati: stopa reklamacija za pozitivan DAT eritrocita iznosila je 4,01, za nalaze laboratorijskih ispitivanja 3,67, za kvalitetu krvnih pripravaka 0,53, za označavanje krvnih pripravaka 0,14, za pružanje usluga pacijentima 0,34, a za pružanje usluga darivateljima krvi 0,31. Značajno niže stope zabilježene su kod sumnje na transfuzijski uzrokovani bakterijsku infekciju (0,07), sumnje na transfuzijski uzrokovani virusnu infekciju (0,06) te distribuciju/izdavanje krvnih pripravaka (0,06).

Kada se dobiveni rezultati usporede s povijesnim podacima objavljenim za period 1998–2010<sup>1</sup>, zamjetna je podjednaka stopa reklamacija vezanih uz pozitivan DAT te značajno smanjenje reklamacija koje se odnose na obilježenost krvnih pripravaka, distribuciju/izdavanje krvnih pripravaka, sumnju na transfuzijski uzrokovani bakterijsku infekciju i sumnju na transfuzijski uzrokovani virusnu infekciju. Značajniji porast stope reklamacija bilježi se jedino za reklamirane nalaze laboratorijskih testiranja, što se objašnjava akreditacijom laboratorija i posljedično boljim sustavom bilježenja ovog tipa reklamacija.

**Zaključak:** Upravljanje reklamacijama jedan je od ključnih segmenata upravljanja kvalitetom i vrijedan alat za unapređenje kvalitete proizvoda i usluga i njihovo stalno usklađivanje sa zahtjevima kupaca.

Niske stope reklamacija u pojedinim kategorijama pokazatelj su kontinuirano pozitivnog učinka na sigurnost transfuzijskog liječenja. Iako su reklamacije na laboratorijske nalaze drugi po učestalosti tip reklamacija, za očekivati je skorašnje smanjenje njihove učestalosti u ukupnom broju, obzirom da je u 2021. došlo do povezivanja sustava CEZIH i e-Delphyn uz posljedično smanjenje mogućnosti nastanka administrativnih grešaka.

## LITERATURA

1. Vuk T, Barišić M, Očić T i sur. Management of complaints in blood establishments: thirteen years of experience at the Croatian Institute of Transfusion Medicine. Blood Transfus. 2012;10(3):302–310.

## SKRINING KONCENTRATA TROMBOCITA PRIKUPLJENIH AFEREZOM U PERIODU OD STUDENOG 2019. DO RUJNA 2021. – REZULTATI

SLADE M.<sup>1</sup>, Batarilo I.<sup>1</sup>, Gulan Harcet J.<sup>2</sup>, Ljubičić J.<sup>3</sup>, Jukić I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za mikrobiologiju

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel kontrole kvalitete u transfuzijskoj medicini

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za osiguranje kvalitete u transfuzijskoj medicini

<sup>4</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnateljstvo

**Uvod:** Unatoč nizu uvedenih mjera (probir darivatelja, dezinfekcija mjesta venepunkcije, oduzimanje malog početnog volumena krvi, aseptički rad, mikrobiološka kontrola okoline), bakterijska kontaminacija krvnih pripravaka (KP) i dalje predstavlja jedan od vodećih problema u transfuzijskom liječenju. Transfuzija kontaminiranog KP može uzrokovati niz komplikacija, uključujući sepsu i smrt. Koncentrati trombocita (KT) osobito su podložni kontaminaciji zbog skladištenja na sobnoj temperaturi (22°C) koja pogoduje rastu bakterija. Transfuzija kontaminiranih KT predstavlja najznačajniji mikrobiološki rizik transfuzije.

**Cilj:** Cilj rada je prikazati rezultate skrininga KT prikupljenih na staničnom separatoru (KT/AF) u periodu od studenog 2019. do rujna 2021.

**Metode:** U vrećice za uzorkovanje (*blood bag sample*) odvoji se 20 mL KT. Aseptičkim načinom rada, u zaštitnom kabinetu, nasije se u aerobnu i anaerobnu bočicu po 10 mL uzorka. Nasijane bočice inkubiraju se u Bact/ALERT 3D sustavu 7 dana. Svi neutrošeni pripravci KT dodatno se testiraju peti dan starosti (sekundarna kultivacija). Po 100 µL se nasije na 2 ploče krvnog agara (Columbia agar), jedna ploča se inkubira 24/48 sata/37°C u aerobnim uvjetima, a druga 48 sati/37°C u anaerobnim uvjetima. Porasli mikroorganizmi se identificiraju mikroskopskim preparatom i biokemijskim testovima.

**Rezultati:** U periodu od studenog 2019. do rujna 2021. testirano je 5420 KT/AF. Automatskom kultivacijom u BacT/ALERT 3D sustavu detektirano je 0,35% (19/5420) inicijalno pozitivnih KT/AF. Kontaminacija je potvrđena u 0,22% (12/5420) KT. Najčešći izolat bio je *Cutibacterium acnes* (10/12), a izolirani su i *Staphylococcus saccharolyticus* (1/12) i CoNS (1/12). U preostalim inicijalno pozitivnim pripravcima nije dokazana kontaminacija i 7/19 (36,84%) KT proglašeno je lažno pozitivnim. Sekundarna kultivacija provedena je na 53,61% (2906/5420) KT/AF. Nije dokazana kontaminacija niti jednog ispitivanog pripravka.

**Zaključak:** Učestalost kontaminacije KT dobivenih aferezom u HZTM iznosila je 0,22%. Najčešće je izoliran *C. acnes*, koji obitava u dubokim slojevima kože i teže ga je odstraniti dezinfekcijom. *C. acnes* se rijetko povezuje s teškim infekcijama, jednako kao i *S. saccharolyticus* i CoNS. Bakterijski skrining KT dodatno smanjuje mogućnost prijenosa bakterija transfuzijom, a time i niza posljedičnih komplikacija, uključujući sepsu i smrt.

## ISPITIVANJE KONCENTRACIJE GLUKOZE, LAKTATA I TROMBOCITA TE pH U UZORCIMA KONCENTRATA TROMBOCITA SA SMANJENIM BROJEM LEUKOCITA POOL VIŠE DOZA

GULAN HAR CET J.<sup>1</sup>, Vinković M.<sup>1</sup>, Radovčić M. K.<sup>1</sup>, Vuk T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** U Odjelu za kontrolu kvalitete u transfuzijskoj medicini (KKM) rutinski se provodi statistička procesna kontrola koncentrata trombocita (KT) koja uključuje određivanje vrijednosti pH na isteku roka valjanosti pripravka. U uzorcima KT dobivenim iz pune krvi (KT/SBL/POOL) *pooliranjem* slojeva leukocita i trombocita (BC, engl. *buffy coat*), pH se određuje 5. dan skladištenja. Nabavom biokemijskog analizatora Vitros Ortho u KKM omogućeno je testiranje nekih biokemijskih parametara važnih u metabolizmu trombocita u KT resuspen-diranim u hranjivoj otopini (HO) odnosno plazmi. U lipnju ove godine u suradnji s Odjelom za proizvodnju krvnih pripravaka provedeno je ispitivanje koncentracije glukoze, laktata i trombocita te pH u uzorcima KT/ SBL/POOL.

**Cilj:** Cilj je bio ispitati dinamiku metabolizma trombocita u KT/SBL/POOL te usporediti vrijednosti trombocita, glukoze, laktata i pH u trima različitim vrstama pripravaka (KT/SBL/POOL u HO pool 4 BC, KT/SBL/POOL u HO pool 5 BC i KT/SBL/POOL u plazmi pool 4 BC).

**Metode:** Mjerene su vrijednosti koncentracije glukoze, laktata i trombocita te pH prvog, petog i sedmog dana skladištenja, u uzorcima sve tri vrste KT/SBL/POOL (ukupno 24 doze). Koncentracija trombocita mjerena je hematološkim analizatorom Cell Dyn Ruby Abbott, volumen pripravka izračunat je iz mase pripravka izmjerene na preciznoj vagi Mettler Toledo, određivanje glukoze i laktata na biokemijskom analizatoru Vitros Ortho, a pH upotrebom pH-metra Seven Multi Mettler Toledo. Korišteni su komercijalni reagensi i kalibratori. Za izradu pripravaka od 4 BC korišteno je 250 mL HO SSP+, a za izradu pripravaka 5 BC 300 mL HO SSP+. Za statističku analizu podataka korišten je program MedCalc® Statistical Software 20.010; Ostend, Belgium. Za ispitivanje razlike između nezavisnih uzoraka korišten je Mann-Whitney, a za parne uzorke Wilcoxon signed rank test.

**Rezultati:** Ispitano je 8 pripravaka iz svake skupine. Rezultati prosječnih, najnižih i najviših vrijednosti prikazane su u Tablici 1.

Wilcoxonovim signed rank testom za svaku skupinu uspoređeni su podaci za 1. i 5. te 1. i 7. dan. Standardni pripravak KT/POOL u HO pool 4 doze imao je značajno niže vrijednosti glukoze i broja trombocita te više vrijednosti laktata 5. i 7. dana u odnosu na 1. dan, osim koncentracije trombocita koja se 5. dana nije značajno razlikovala od 1. dana. Slični rezultati dobiveni su za pool 5 doza u HO i za pool u plazmi.

TABLICA 1. PRIKAZ PODATAKA ZA SVE TRI VRSTE PRIPRAVAKA – PRIKAZANE SU PROSJEĆNE VRIJEDNOSTI (MINIMUM – MAKSIMUM)

	KT/HO 4 DOZE, N=8			KT/HO 5 DOZA, N=8			KT PLAZMA 4 DOZE, N=8		
	1. dan	5. dan	7. dan	1. dan	5. dan	7. dan	1. dan	5. dan	7. dan
broj trombocita ( $\times 10^{10}$ / dozi)	7,44 (6,39 – 8,82)	6,97 (6,11 – 8,51)	6,54 (5,79 – 7,84)	7,82 (6,92 – 8,57)	7,49 (6,71 – 8,37)	6,99 (6,36 – 7,82)	8,44 (6,76 – 9,8)	8,04 (6,71 – 9,24)	7,71 (6,25 – 8,8)
koncentracija trombocita ( $\times 10^9$ / L)	962,63 (827 – 1135)	942,13 (808 – 1150)	917,75 (785 – 1104)	1054,88 (967 – 1168)	1046,38 (970 – 1175)	1006,13 (902 – 1134)	1074 (878 – 1245)	1067,38 (898 – 1228)	1056,75 (865 – 1209)
volumen (mL)	309 (293 – 317)	296 (277 – 306)	285,13 (266 – 295)	370,88 (358 – 388)	358 (344 – 376)	347,38 (334 – 367)	314,13 (305 – 324)	301,5 (293 – 313)	291,75 (283 – 303)
glukoza mmol / L	6,95 (6,7 – 7,3)	4,75 (3,9 – 5,6)	3,7 (2,6 – 4,6)	6,95 (6,7 – 7,2)	1,25 (0,6* – 4,2)	0,9 (0,6* – 3)	16,96 (15,6 – 19,2)	14,6 (12,3 – 17,6)	13,25 (10,8 – 16,3)
laktati mmol / L	4,4 (4 – 4,8)	9,01 (7,3 – 12)	10,71 (9,1 – 13,3)	4,73 (4,3 – 5)	17,36 (11,1 – 19,5)	17,9 (12,5 – 19,3)	9,09 (7,9 – 10,4)	13,48 (11,4 – 16,6)	15,61 (12,9 – 19)
pH	7,14 (7 – 7,19)	7,24 (7,11 – 7,31)	7,27 (7,08 – 7,41)	7,14 (7,13 – 7,16)	6,82 (6,71 – 7,13)	6,88 (6,76 – 7,2)	7,22 (7,15 – 7,29)	7,42 (7,33 – 7,51)	7,35 (7,3 – 7,46)

KT = koncentrat trombocita; HO = hranjiva otopina; N = broj; \*vrijednosti niže od donje granice mjerjenja aparata (0,6)

Usporedbom 4 BC u HO i u plazmi, značajno su više vrijednosti glukoze, ali i laktata te pH u plazmi nego u HO u svim mjerjenjima ( $P < 0,05$ ). Također, koncentracija trombocita značajno je viša u plazmi 5. ( $P = 0,03$ ) i 7. ( $P = 0,01$ ) dana skladištenja.

Usporedbom KT s 4 i 5 BC u HO, broj i koncentracija trombocita nisu se značajno razlikovali. Međutim, pripravci s 5 BC imali su značajno nižu glukozu 5. i 7. dana (nemjerljivu postojecom opremom, ali za potrebe analize uzeta je donja vrijednost mjerjenja 0,6 mmol/L) i više laktate. Također, pH je bio značajno niži u pripravcima s 5 BC.

**Zaključak:** Usporedbom tri vrste pripravaka, pokazalo se kako je broj trombocita u pripravku KT/SBL/POOL najveći u pripravcima resuspendiranim u plazmi. Pripravci trombocita u HO iz 5 BC pokazali su značajno lošije rezultate nego pripravci 4 BC, stoga veći broj BC u pripravku ne rezultira kvalitetnijim pripravkom. Pretpostavka je kako je to posljedica većeg broja trombocita u vrećici istog volumena pa je izmjena plinova otežana, a time narušen i metabolizam trombocita. Prednosti proizvodnje KT u HO (rjeđa pojava transfuzijskih reakcija, mogućnost inkompatibilne transfuzije te više plazme za proizvodnju pripravaka i derivata plazme) nadmašuju, iako statistički značajne, ali praktično relativno male razlike u kvaliteti pripravaka.

Određivanje koncentracije glukoze u KT u HO osjetljiviji je pokazatelj metabolizma trombocita i u kontroli kvalitete mogao bi biti prikladniji test od određivanja pH.

## PRAĆENJE INDIKATORA KVALITETE U TRANSFUZIJSKOJ SLUŽBI RH (2013–2020)

VUKT.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Služba upravljanja kvalitetom u transfuzijskoj medicini

**Uvod:** Učinkovitost sustava kvalitete u velikoj mjeri ovisi o praćenju i procjeni kvalitete. Prikladni indikatori kvalitete, uz jasno definirane ciljeve, omogućavaju objektivno mjerjenje kvalitete, analizu trendova, identifikaciju potencijalnih rizika i provedbu mjera za unapređenje kvalitete. O značaju indikatora kvalitete u transfuzijskoj medicini intenzivnije se raspravlja posljednjih 10-tak godina. Od 2013. godine započinje i projekt praćenja indikatora kvalitete u transfuzijskoj službi RH s ciljem standardizacije rada i unapređenja kvalitete i sigurnosti.

**Metode:** Prikazani su rezultati praćenja indikatora kvalitete u ovlaštenim zdravstvenim ustanovama transfuzijske službe RH za razdoblje od 8 godina (2013–2020). Analizirani su podaci prikupljeni upitnicima koje ustanove ispunjavaju svake godine i koji se koriste za izradu godišnjih izvješća. Za potrebe ove studije izračunat je nacionalni prosjek svih indikatora u dva promatrana četverogodišnja razdoblja (2013–2016 i 2017–2020), kako bi se procjenili trendovi.

**Rezultati:** Ukupni rezultati prikazani su u **Tablici 1** kao prosjek dva četverogodišnja razdoblja.

TABLICA 1. REZULTATI PRAĆENJA INDIKATORA KVALITETE U RH 2013–2020  
(USPOREDBA RAZDOBLJA 2013–2016 I 2017–2020)

Indikator kvalitete	2013–2016	2017–2020	Indikator kvalitete	2013–2016	2017–2020
Odbijanje DDK ukupno	13,4%	14.0%	Loši varovi u proizvodnji KP	0,026%	0,024%
Odbijanje DDK zbog sniženog HGB	5,32%	4,81%	Nesukladni KP	7,48%	6,04%
Donacije prikupljene od novih DDK	9,15%	6,48%	Istekroka KE	1,46%	1,39%
Neuspješne donacije	1.15%	0.98%	Istekroka KT	8,77%	8.98%
Loši varovi na uzimanju krvi	0,027%	0,010%	Nesukladni rezultati u kontroli kvalitete KP	5,68%	2,56%
Reakcije i komplikacije DDK	1,49%	1,00%	Bakterijska kontaminacija KP	0,090%	0,127%
Reklamacije DDK	0.010%	0.006%	Reklamacije KP	0.028%	0.027%
Ugrušci u eritrocitnim KP	0,065%	0,054%	Izdavanje pogrešnog KP	0,005%	0,001%
Lipemična plazma	4,76%	2.62%	Vraćeni KP	0.038%	0.047%
Hemolitična plazma	0.011%	0.001%	Povlačenje KP	0.046%	0.099%
Proizvodni indeks	2,50	2,66	Ozbiljni štetni događaji	0,005%	0,002%

DDK = dobrovoljni davatelji krvi; HGB = hemoglobin; KP = krvni pripravci; KE = koncentrati eritrocita; KT = koncentrati trombocita

Za veliku većinu indikatora bilježi se unapređenje kvalitete, koje je za pojedine indikatore i znatnije naglašeno. Izdvojiti treba pad učestalosti neuspješnih donacija, reakcija i komplikacija DDK i reklamacija DDK, smanjenje udjela nesukladnih KP, unaprijeđenje kvalitete KP, povećanje proizvodnog indeksa, smanjenje grešaka u izdavanju KP i ozbiljnih štetnih događaja. Varijacije između centara u pojedinim indikatorima upućuju na moguće neujednačenosti kriterija u procjeni, bilježenju i prijavi pojedinih odstupanja. Dominantni su problemi veliki udio isteka roka KT i uništenih doza plazme u pojedinim ustanovama. Naglašen je i veliki udio odbijanja DDK u pojedinim ustanovama te pad udjela donacija prikupljenih od novih DDK. Potrebno je uložiti dodatne napore za smanjenje rizika bakterijske kontaminacije KP i implementaciju kvantitativnih metoda određivanja hemoglobina kod DDK.

**Zaključak:** Praćenje indikatora kvalitete na nacionalnom nivou omogućilo je: uvid u aktivnosti i razinu kvalitete ovlaštenih zdravstvenih ustanova u transfuzijskoj službi RH, usporedbu rezultata između ustanova (benchmarking), rasprave o uzrocima pojedinih odstupanja, implementaciju mjera za unapređenje kvalitete. Dosadašnji rezultati praćenja kvalitete na nacionalnom nivou pokazuju poboljšanje u velikoj većini indikatora. Prepoznata su međutim i područja u kojima je potrebno provoditi dodatne mjere za unapređenje kvalitete i sigurnosti. Jednako tako, prepoznata je i potreba stalnog unapređenja upitnika i dostupnosti podataka za njihovo standardizirano prikupljanje i obradu. Uz postojeće, uvode se i novi indikatori kvalitete, kako bi se obuhvatio što veći broj aktivnosti u transfuzijskoj službi.

*Zahvala: Zahvaljujem svim kolegicama i kolegama u ovlaštenim zdravstvenim ustanovama transfuzijske službe RH, bez kojih ovaj prikaz rezultata ne bi bio moguć.*

# medical intertrade





## Dobrovoljno davaštvo i uzimanje krvi

### HOW DID WE SURVIVED ONE AND A HALF YEAR OF COVID – 19 PANDEMIC IN TRANSFUSION CENTER (TC) OF GENERAL HOSPITAL CELJE (GHC)

PAJK J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Splošna bolnišnica Celje

• Transfuzijski center

**Background:** The status of epidemic Covid-19 in our country has been declared on 13 of March 2020 by the Slovenian Goverment.

**Aim:** Our aim was to provide stabile blood supply and good management of blood components as much as possible for all the needs, despite of expected many troubles and less donors coming in TC.

**Methods:** On the 13. of March the Zoom conference with other two transfusion centres in Ljubljana and in Maribor was held and the new strategy of work in the new situation was oddopted. In the night from 15.th to 16.th of March the new written protocol for daily work routine with donors was written. On 16.th of March the new era of work with the donors was started. We made reorganisation of our work in Slovenian blood establishement. Knowing that our donors were almost 90% returned and very well educated donors, we realy counted on them.

**Results:** Slovenian Red Cross, the main organizer invited donors with SMS messages to donate blood. After that, individual telephone interview one or two days before donation were done in TC. The donor got the date and time for meeting. After entering through the locked front door, donors were individuaaly checked in by professionals measuring body temperature and providing FFP II surgical masks to them. Each time donors had to fullfill epidemiological questionaries. They desinfected their hands and respected 2 m distence between each other through the process. Body temeptrature was mesarued to our employees when they entering to TC, too. We desinfecte our hands, surfaces and door knobs many times in a day. All the time our employees wear masks, visors and glasses at the donor site In the first week of pandemic the donors were afraid to come to GHC due to Covid-19 patients. On 17 th of March only seven of them came to TC. This shocked us, because at that time all the hospital wards still had surgical patients and the usage of blood was very high. Later, in April when donors accepted that special door was only for donors, they started to come to TC in GHC and to the mobile sites. Some surgical wards became Covid-19 wards, so only urgent surgical patients were hospitalised. All the time we tried to ensure good blood supply. In 2021 the situation was much better while donors trusted to our work, were not so afraid of Covid-19 and came to us after we called them immidiately. The Covid-19 pandemic was a hard time to all employees. Some of them (one third) had Covid-19 illness in 2020; some were in quarantine. We alomost colapsed in December, due to lack of employees in viral testing laboratory. The rest of us worked many hours and were almost burned out. Samo of them were so scared that psychological problems occurred.

**Conclusion:** In a year and a half of Covid-19 epidemic in Slovenia we reorganised our work with donors and ensured enough blood. In 2020, 7864 units of blood was collected and 7798 issued for our patients. In nine months of 2021, 6196 units was collected and 5907 issued. Every month Zoom conference took place with Ljubljana in Maribor. Till now all of us were vaccintated, except a pregnant nurse, who is tested with rapid Covid – 19 test every week. Three of us were vaccinated with the third dose of mRNA vaccine in the middle of September. We are satisfied with all our activities done for ensuring proper blood supply in GHC.

**Hemostaza****D-DIMERI KAO DIJAGNOSTIČKI I PROGNOSTIČKI MARKER U BOLESNIKA S COVID-19 INFEKCIJOM**LUKEŽIĆ N.<sup>1</sup>, Vukelić-Damijani N.<sup>1</sup>, Starčević A.<sup>1</sup>, Ivanković E.<sup>1</sup>, Balen S.<sup>1</sup><sup>1</sup>Klinički bolnički centar Rijeka

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** COVID-19 oboljenje uzrokovano SARS-CoV-2 virusom, a u koagulacijskom segmentu karakterizira ga protrombotičko stanje. D-dimeri kao markeri trombotičkih stanja važan su dijagnostički test u praćenju tijeka bolesti i mogućih trombotičkih komplikacija.

**Metode:** U radu smo retrogradno analizirali vrijednosti D-dimera izmjerena kod 100 bolesnika s potvrđenom COVID-19 infekcijom, liječenih tijekom trećeg vala pandemije na jednom od COVID odjela Kliničkog bolničkog centra Rijeka. Laboratorijsko određivanje D-dimera učinjeno je u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu. Usپoredili smo vrijednosti i dinamiku D-dimera izmjerena u tri mjerena, analizirali vrijednosti kod bolesnika s klinički indiciranom CT plućnom angiografijom, kod onih s dokazanom plućnom tromboemboliјom (PTE), te usپoredili vrijednosti D-dimera kod bolesnika koji su preživjeli i onih koji su završili smrtnim ishodom.

**Rezultati:** U analiziranoj skupini od 100 bolesnika bilo je 54 muškaraca i 46 žena. Prvog dana mjerene D-dimeri je učinjeno kod svih 100 ispitanika, drugo mjerene kod 74, a treće kod 40 bolesnika. Prosječni D-dimeri bili su najviši u drugom mjerenu (3,4 mg/L), slijedi prvo mjerene (2,98 mg/L), dok su u trećem mjerenu prosječno najniži (2,83 mg/L). Ovu dinamiku ne prati i medijan vrijednost izmjerena D-dimera koji je bio najveći prvog dana (1,19 mg/L), zatim u trećem (1,02 mg/L), te najniži u drugom mjerenu (0,94 mg/L).

U više od 80% ispitanika D-dimeri su bili iznad 0,5 mg/L kod sva tri mjerena, a iznad 1 mg/L kod 60, 45 i 55 % ispitanika, ovisno o danu mjerena.

Kliničkom procjenom i sumnjom na moguću PTE učinjena je CT plućna angiografija kod 35% bolesnika, a kod 8% bolesnika ista je i dokazana.

Prosječna vrijednost D-dimera u bolesnika kod kojih je učinjena CT dijagnostika bila je 5,6 mg/L, medijan 2,28 mg/L. U bolesnika s dokazanom PTE prosječna vrijednost D-dimera bila je 6,84 mg/L, a medijan 4,36 mg/L. Kod 94% bolesnika s učinjenom CT dijagnostikom D-dimeri su bili iznad 0,5 mg/L, a kod 82% iznad 1,0 mg/L. Kod svih 8 bolesnika s dokazanom PTE vrijednost D-dimera je bila iznad 1 mg/L.

Preživjelo je 79 bolesnika, a umrlo 21, od kojih 13 muškaraca i 8 žena. Prosječna vrijednost D-dimera kod umrlih je bila značajno viša (9,26 mg/L) uz medijan 1,6 mg/L, u odnosu na preživjele (prosjek 2,46 mg/L, medijan 1,25 mg/L).

**Zaključak:** analizom dobivenih vrijednosti D-dimera u bolesnika s COVID-19 infekcijom možemo zaključiti da ovaj test ima važnu ulogu u praćenju tijeka bolesti, postavljanju sumnje na moguću trombotičku komplikaciju, kao i da predstavlja važan prognostički marker tijeka bolesti kod ovih bolesnika.

**TRUDNOĆA I TROMBOFILIIJA**BRKIĆ N.<sup>1</sup>, Bekavac M.<sup>1</sup>, Lenz B.<sup>1</sup><sup>1</sup>Opća županijska bolnica Vinkovci

• Odjel za transfuzijsku medicinu

**Uvod/cilj:** Trudnoća je fiziološki protrombogeno stanje, a žene koje imaju komplikacije u trudnoći sve se češće upućuju na pregled transfuziologa radi obrade hemostaze. CILJ analize: ispitati u kojim su genima za koagulacijske faktore prisutni polimorfizmi kod pacijentica obrađenih na Odjelu za transfuzijsku medicinu Opće županijske bolnice Vinkovci.

**Ispitanici i metode:** Ispitanje je provedeno na podacima 153 pacijentice koje su pregledane u razdoblju od 1.siječnja 2019. do 1.rujna 2020. godine. U analizu su uključeni anamnistički podaci o komplikacijama u trud-

noći, obiteljskoj ili osobnoj sklonosti trombotskim događajima, te nalazi testiranja na polimorfizme u genu za faktor V (FVL, G1691A), faktor protrombin (FII, G20210A), metilentetrahidrofolat-reduktazu (MTHFR, C677T) i inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1, 4G/5G).

Rezultati: Najmlađa pacijentica imala je 21 godinu, a najstarija 42 godine. Medijalna dob pacijentica je 32 godine. Na obradu radi spontanog pobačaja upućeno je 80 pacijentica, a dva ili više spontanih pobačaja imalo je njih 28 (35%). Obiteljska sklonost za trombotske incidente zabilježena je kod 16 (11%) pacijentica. Intrauterini zastoj u rastu fetusa u prethodnoj trudnoći evidentiran je kod 15 (10%) pacijentica. U trenutku obrade 13 pacijentica nije bilo trudno. Većina pacijentica ima uredne nalaze gena za FVL i FII. Polimorfizam u genu za MTHFR dokazan je kod 89 (58%) pacijentica. Polimorfizam u genu za PAI-1 ima 139 (91%) pacijentica. U Tablici 1. su prikazani svi rezultati testiranja.

TABLICA 1. PRIKAZ POLIMORFIZAMA U POJEDINIM GENIMA ZA FAKTORE ZGUŠAVANJA

Polimorfizam u genu za	Nema	Jednog alela	Oba alela
	N (%)	N (%)	N (%)
FVL	145 (95)	8 (5)	0(0)
FII	146 (95)	7 (5)	0(0)
MTHFR	64 (42)	71 (46)	18(12)
PAI-1	14 (9)	79 (52)	60 (39)

Polimorfizmi u dva gena dokazani su kod 99 (65%) pacijentica, a 6 (4%) pacijentica ima prisutne polimorfizme u tri gena. Tri pacijentice imaju polimorfizam u genu za FVL, MTHFR i PAI-1, jedna od njih je imala komplikacije u trudnoći. Tri pacijentice imaju polimorfizam u genu za FII, MTHFR i PAI-1, a dvije od njih navele su obiteljsku sklonost trombotskim događajima. U Tablici 2. prikazane su ostale kombinacije polimorfizama u genima za faktore zgrušavanja.

TABLICA 2. PRIKAZ BROJA PACIJENTICA SA DOKAZANIM POLIMORFIZMIMA U VIŠE OD JEDNOG GENA

Polimorfizmi u genima za:	Broj pacijentica
FVL+FII	1
FVL+ MTHFR	3
FVL+PAI-1	6
FVL+MTHFR+PAI-1	3
FII+MTHFR	3
FII+ PAI-1	6
FII+MTHFR+PAI-1	3
MTHFR+PAI-1	79
FVL+FII+PAI-1	1

**Zaključak:** Kod većine obrađenih pacijentica dokazan je polimorfizam barem jednog od analiziranih gena. U procjeni rizika nastanka komplikacija u trudnoći, osim testiranja gena za faktore zgrušavanja iznimno su važni anamnastički podaci o obiteljskoj sklonosti trombotskim događajima.

## ANTIHEPARINSKA PROTUTIJELA USMJERENA NA KOMPLEKS HEPARINA I TROBOCITNOG FAKTORA 4 (H-PF4) U KRITIČNO TEŠKIH BOLESNIKA S COVID-19 INFEKCIJOM

NOVOSEL M.<sup>1</sup>, Santini M.<sup>2</sup>, Papić N.<sup>2</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>3</sup>, Jagnjić S.<sup>4</sup>, Kajfeš M.<sup>1</sup>, Kovačević M.<sup>1</sup>, Tomičić M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>HZTM

- Odjel za dijagnostiku trombocita, leukocita i hemostazu

<sup>2</sup>Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"

- Jedinica intenzivnog liječenja

<sup>3</sup>HZTM

- Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>4</sup>HZTM

- Odjel za dijagnostiku krvlju prenosivih bolesti

**Uvod:** COVID-19 je virusna zarazna bolest uzrokovana SARS-CoV-2. Obilježena je povećanom aktivnošću sustava zgrušavanja krvi i mnogi bolesnici tijekom liječenja u JIL-u razviju klinički značajnu koagulopatiju, koja može imati tromboembolijske komplikacije. Stoga se u liječenju primjenjuje prevencija niskomolekularnim heparinom. Kada se tijekom primjene heparina pojavi trombocitopenija i/ ili tromboza, treba posumnjati na razvoj heparinom izazvane trombocitopenije (HIT). Nakon postavljene kliničke sumnje, prema „4T“ zbroju, indicirano je laboratorijsko ispitivanje za antiheparinska protutijela radi isključivanja, odnosno potvrde dijagnoze HIT-a.

**Cilj:** Cilj ovog ispitivanja je retrospektivno analizirati kliničko-laboratorijske podatke za 18 kritično teških bolesnika s dijagnozom COVID-19, kojima je laboratorijskim ispitivanjem dokazana prisutnost antiheparinskih protutijela usmjerenih na kompleks heparina i trombocitnog faktora 4, određenih ID PAGIA H-PF4 gel probirnom metodom.

**Materijal i metode:** U razdoblju od travnja 2020. do srpnja 2021. godine, u Odjelu za dijagnostiku trombocita, leukocita i hemostazu Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu, učinjeno je laboratorijsko ispitivanje za antiheparinska protutijela u serumu bolesnika, ID PAGIA H-PF4 testom, za 96 bolesnika s dijagnozom COVID-19 upućenih iz JIL-a Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“. Prosječna dob ispitanika bila je 57 godina, u rasponu od 36 do 81 godine. Muških ispitanika bilo je 13 od 18 (72%). Klinička prosudba sumnje na HIT učinjena je prema „Upitniku za 4T zbroj“. 4T zbroj od 0–3 označava malu vjerojatnost HIT-a., 4 i 5 umjerenu, dok vrijednost 6 i više ukazuje na visok rizik za razvoj HIT-a. Laboratorijsko probirno ispitivanje za antiheparinska protutijela učinjeno je ID PAGIA H-PF4 testom, izvedenim prema uputi proizvođača, Biorad, Schwitzerland, koji je zadovoljio kriterije dostupnosti od 0 do 24 sata, jednostavnosti izvedbe i osjetljivosti. Rezultat PAGIA testa može biti: pozitivan, negativan ili indeterminantan. Kod pozitivnog i indeterminantnog rezultata, test se ponavlja s razrijeđenim serumom bolesnika. Rezultat PAGIA testa s razrijeđenim serumom može biti negativan ili pozitivan (u najmanjem razrjeđenju 1:2). Ako je pozitivan, ispitivanje se nastavlja enzymsko-imunoškim testom, EIA-H-PF4 za IgG razred protutijela, prema uputi proizvođača IMMUCOR, WI, USA. Rezultat EIA testa može biti pozitivan ili negativan, uz izraženu OD vrijednost. Vrijednost OD > 0,400 označava pozitivan rezultat, a OD > 1,000 upućuje na visok rizik nastanka tromboembolije.

**Rezultati:** ID-PAGIA test bio je pozitivan ili indeterminantan u 21 od 96 (22%) bolesnika. 18 od 21 (86%) bolesnika inicijalno pozitivnih u ID-PAGIA testu, bilo je potvrđeno pozitivno u PAGIA testu izvedenim s razrijeđenim serumom bolesnika. Vrijednost titra bila je 1:2 u 22 %, 1:4 u 39 % i 1:8 u 39% bolesnika. U ostala 3 bolesnika ponovljeni test bio je negativan. U 6 od 7 (86%) bolesnika, u kojih je učinjen EIA-HPF4 test, je bio pozitivan, a u jednog bolesnika negativan. Vrijednost OD bila je od 0,446 do 1,770.

Svi bolesnici su prethodno bili liječeni niskomolekularnim heparinom u preventivnoj dozi. Oko dvije trećine bolesnika ujedno je primalo i nefrakcionirani heparin u postupcima liječenja dijalizom i ECMO sustavom. Po potvrđenom nalazu antiheparinskih protutijela, u svih je bolesnika primijenjen zamjenski lijek za heparin (fondaparinux), uz praćenje oporavka broja trombocita. Jedan bolesnik je nakon postavljene dijagnoze i promjene terapije razvio trombozu potkoljenične arterije. Svi bolesnici završili su smrtnim ishodom.

Kliničko-laboratorijski podaci za 18 bolesnika prikazani su u tablici 1.

TABLICA 1. KLINIČKO-LABORATORIJSKI PODACI ZA 18 HIT POZITIVNIH BOLESNIKA S COVID-19

Bolesnik	Dob	Spol	Dani na antikoag. th. do dg. HIT-a	Inicijalni broj Trc x10 <sup>9</sup> /L	Najniži broj Trc x10 <sup>9</sup> /L	Pad broja Trc x10 <sup>9</sup> /L (%)	„4T“ zbroj	ID PAGIA poz	HPF4-EIA/titar (razj.)
1	68	M	25	169	56	67	5	poz 8	nt
2	66	M	23	169	60	64	5	poz 4	nt
3	37	M	15	82	70	15	3	poz 2	nt
4	52	M	11	310	60	81	5	poz 2	nt
5	57	M	20	309	61	80	5	poz 4	poz 1,770
6	77	Ž	16	341	35	90	5	poz 2	nt
7	59	M	19	159	58	64	5	poz 2	nt
8	43	M	20	253	74	71	5	poz 8	nt
9	47	Ž	11	165	32	81	5	poz 8	nt
10	36	M	11	360	89	75	5	poz 8	nt
11	81	M	17	163	34	79	5	poz 4	nt
12	54	M	16	201	66	67	5	poz 2	poz 0,446
13	57	Ž	22	314	70	78	5	poz 2	nt
14	70	M	15	194	42	78	5	poz 4	poz 1,215
15	60	Ž	15	188	66	65	5	poz 4	neg 0,154
16	57	Ž	18	180	70	61	6	poz 2	poz 0,480
17	46	M	16	247	72	71	5	poz 4	poz 0,998
18	64	M	13	280	84	70	5	poz 4	poz 0,785
Medijan	57		16	198	64	71	5		

M = Muški; Ž = Ženski; OD (poz/neg); nt = nije testiran

**Zaključak:** Klinička prosudba sumnje na HIT prema 4T zbroju nužna je za procjenu vjerovatnosti HIT-a. Laboratorijsko probirno ispitivanje za antiheparinska protutijela indicirano je kada je „4T“ veći od 4. Primjena ID-PAGIA testa za probir pokazala je zadovoljavajuću osjetljivost, jednostavnost izvedbe i dostupnost testa. Po potvrđenom nalazu antiheparinskih anti-HPF4 protutijela, u svih je bolesnika primijenjen zamjenski lijek za heparin, uz praćenje oporavka broja trombocita. Jedan bolesnik je razvio trombozu potkoljenične arterije. Svi bolesnici završili su smrtnim ishodom.

## UREMIJSKO KRVARENJE KOD PACIJENTICE NAKON TRANSPLANTACIJE BUBREGA – PRIKAZ SLUČAJA

JURENEC S.<sup>1</sup>, Jurenec F.<sup>2,4</sup>, Radulović G.<sup>3</sup>, Pavičić Šarić J.<sup>1</sup><sup>1</sup> Klinička bolnica Merkur

• Odjel za anesteziju, reanimatologiju i intenzivno liječenje

<sup>2</sup> Klinička bolnica Merkur

• Odjel za urologiju

<sup>3</sup> Klinička bolnica Merkur

• Zavod za nefrologiju

<sup>4</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera

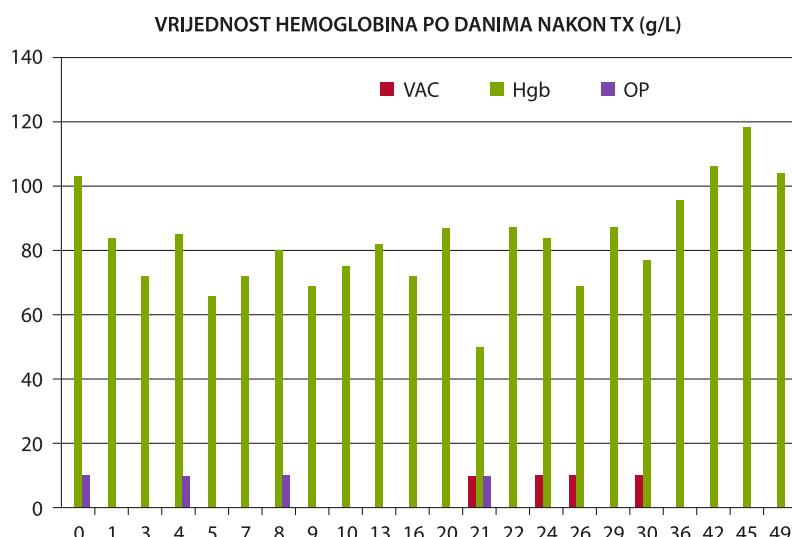
• Katedra za urologiju

**Uvod:** Sklonost krvarenja kod pacijenata koji imaju kronično bubrežno zatajenje (KBZ) predstavlja veliki problem za obavljanje invazivnih procedura i operacijskih zahvata. Razlozi uremijskog krvarenja su poremećaj funkcije trombocita i njihove interakcije s endotelnim stanicama krvnih žila. Poremećaj funkcije trombocita nastaje zbog disfunkcije glikoproteina na trombocitnoj membrani, IIb/IIIa, koji igra važnu ulogu u agregaciji

trombocita i u adheziji za endotel krvnih žila u interakciji između trombocita, fibrinogena i von Wilebrandovog faktora. Smanjeno je otpuštanja ADP-a i serotoninu iz  $\alpha$ -granula, stvaranje tromboxana A2, poremećen metabolizam prostaglandina. Dodatni čimbenici odgovorni za sklonost krvarenju su uremijski toksini, anemija, dušični spojevi, funkcionalne abnormalnosti von Wilebrandovog faktora, smanjena proizvodnja trombocita. Smanjena proizvodnja eritropoetina i kraći životni vijek eritrocita dva su najvažnija uzroka anemije u bolesnika s KBZ. Korekcija anemije transfuzijom koncentrata eritrocita ili eritropetinom poboljšava i funkciju trombocita

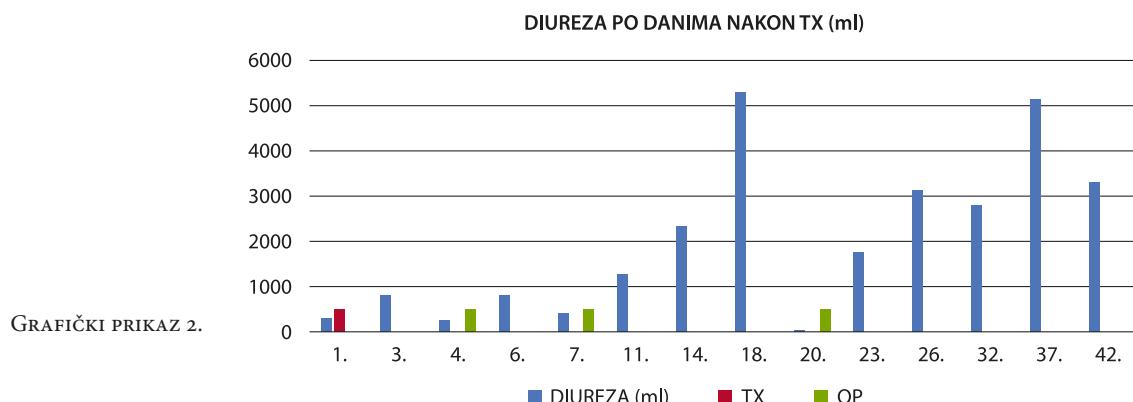
**Prikaz slučaja:** Bolesnica u dobi od 52 godine ima verificiranu obostranu nefrolitijazu od 2001. godine zbog čega je više puta operirana. Do 2016. godine bubrežna je funkcija stacionarna. Tada dolazi do pogoršanja bubrežne funkcije. Učinjena je obostrana paratireoidektomija. 2017. god. je evaluirana bubrežna bolesti i parametri jetrene lezije. Markeri na hepatitis ukazuju na preboljeli B hepatitis. Gastroenterološkom obradom je verificiran primarni bilijarni kolangitis, bez elemenata ciroze, bez znakova disfunkcije jetre, održana sintetska i ekskrecijska funkcija jetre, hepatogram uredan, bez indikacija za transplantaciju jetre. Na hemodializi je od 28.06.2018. Cijepljena je protiv Covid 19 sa dvije doze cjepiva u ožujku 2021. godine.

**Transplantacija bubrega** je izvršena 17.8.2021. KG donora je A poz, primateljica je A neg. Zahvat je protekao uredno. Poslijoperacijski dolazi do snižavanja hemoglobina sa 103 na 72 g/L. Učinjen je CT abdomena 3. dan nakon transplantacije (DNT). Verificiran je hematom oko bubrega. Hitnim operacijskim zahvatom je odstranjen hematom, nije nađeno mjesto aktivnog krvarenja nego difuzno točkasto krvarenje. I dalje se prati snižavanje hemoglobina i uz transfuzije KE, hemoglobin se održava između 65–80 g/L. Ponovljenim CT-om se postavi sumnja na krvarenje zbog čega se učini 2. revizijski zavat (6. DNT). Nije nađeno mjesto aktivnog krvarenja. Nakon 2. revizije, agregacija trombocita s ADP-om je 20U (ref.48–119U). Dobiva 8 doza koncentrata trombocita (KT) i Minirin tijekom 2 dana. Ultrazvučno se prate zadovoljavajući protoci kroz bubrežni graft; ROTEM pokazuje sklonost hiperkoagulabilnosti bez znakova fibrinolize. Aktivnost fVII i vWF je u granicama normale, fVIII je povišena (27,8) što je shvaćeno kao reakcija akutne faze. Koagulogram (PV, APTV, fibrinogen) je u granicama normale. Unatoč dobrim koagulacijskim parametrima i dalje je prisutno krvarenje (hemoglobin od 50–80 g/L uz brojne transfuzije KE). Treća revizijska operacija se učini 19. DNT. Nije nađeno aktivno krvarenje. Postavi se VAC sustav. Nakon 3. revizije ponovi se fVII, aktivnost je bila snižena 0,43 kIU/L (0,67–1,43). Aktivnost fVIII je bila 3,0 (0,5 do 1,49), vWF-299,7% (49,5–187), PV-0,56. Ordinirano je SSP, 10 ml/kg, 4 doze KT, Minirin 3 mcg/kg i Novo Seven 20 mcg/kg i sljedeći dan 90 mcg/kg. Nakon toga više nije bilo sumnji niti dokaza za značajnije krvarenje. Svaka 3 dana je vršena izmjena i na kraju, 28. DNT, uklanjanje VAC sustava. Od transplantacije do 36. DNT dobila je ukupno 52 doze KE, 12 doza Tr i 3 doze SSP ([Grafički prikaz 1.](#)).



GRAFIČKI PRIKAZ 1.

Dijaliza je provođena povremeno zbog hipervolemije i hiperkalemije do 32. DNT. Od tada dolazi do potpunog oporavka bubrežne funkcije. 42. DNT diureza je >3000 ml/24h, Hgb 101, urea 7,2, kreatinin 81, K 3,8 ([Grafički prikaz 2.](#)).



**Zaključak:** Kod bolesnice je pad hemoglobina nakon transplantacije posljedica difuznog krvarenja zbog uremijske koagulopatije. Unatoč primjeni dezmpresine, transfuzije KE, KT, urednom koagulogramu, krvarenje prestaje tek nakon što je, nakon uočene snižene vrijednosti fVII, primjenjen rekombinantni fVIIa.

## Imunohematologija

### VAŽNOST ODREĐIVANJA PROTUTIJELE ANTI-HLA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI

ČEČUK-JELIĆ E.<sup>1</sup>, Jaman S.<sup>1</sup>, Tarabene M.<sup>1</sup>, Dajak S.<sup>3</sup>, Lilić M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Split

• Laboratorij za tipizaciju tkiva, Zavod za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Sveučilište Josipa Jurja Strossmeyera u Osijeku

• Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Molekularne bioznanosti

<sup>3</sup>Klinički bolnički centar Split

• Zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** HLA aloimunizacija može biti inducirana trudnoćom, višestrukim transfuzijama te transplantacijama solidnih organa ili krvotvornih matičnih stanica. Protutijela na leukocitne antigene HLA kod ABO kompatibilnog davatelja jedan su od mogućih razloga zbog kojih dolazi do posttransfuzijskih komplikacija kod pacijenata nakon primitka krvi i krvnih pripravaka. Zbog iznimnog genskog polimorfizma sustava HLA, mogućnosti primitka nekompatibilnih krvnih pripravaka, tkiva ili organa su značajne, a samim time i mogućnost induciranja imunološkog odgovora na strane antigene. Među značajne transfuzijske reakcije posredovane HLA aloimunizacijom ubrajaju se febrilne nehemolitične transfuzijske reakcije (FNHTR – engl. *febrile non-haemolytic transfusion reactions*), imunološka refrakternost na transfuziju trombocita (IPR – engl. *immunological platelet refractoriness*), transfuzijom izazvano akutno oštećenje pluća (TRALI – engl. *transfusion related acute lung injury*) te reakcija transplantata protiv primatelja uzrokovana transfuzijom (TA-GVHD – engl. *transfusion-associated graft-versus-host disease*). Iako je uklanjanje leukocita iz staničnih suspenzija različitim filtracijskim metodama već dulje vrijeme u rutinskoj upotrebi i osigurava smanjenje broja leukocita i dodatno unapređuje kvalitetu krvnih pripravaka, u prethodno imuniziranim pacijenata može doći do imunološke reakcije, ovisno o kliničkoj slici pacijenta, jačini prethodne imunizacije, kvaliteti pripravka, kao i činjenici da se antigeni HLA, osim na leukocitima, nalaze u manjoj mjeri i na trombocitima.

**Cilj:** Prikazati pregled pacijenata upućenih na određivanje protutijela anti-HLA u Laboratorij za tipizaciju tkiva nakon komplikacija uzrokovanih transfuzijom krvi i krvnih pripravaka, te odrediti postotak pacijenata u čijim serumima je detektirana prisutnost protutijela anti-HLA.

**Metode:** U rutinskom radu Laboratorija za tipizaciju tkiva KBC Split, prisutnost protutijela anti-HLA u serumima pacijenata sa posttransfuzijskom reakcijom određuje se serološkom metodom – testom mikrolimfocitotoksičnosti ovisne o komplementu (CDC – engl. *complement dependent cytotoxicity*) na probranom panelu lim-

focita s prethodno određenim antigenima HLA razreda I i II. U ovom sažetku prikazani su pacijenti upućeni na određivanje prisutnosti protutijela anti-HLA u serumu nakon posttransfuzijske reakcije u razdoblju od 2018. do rujna 2021. godine, postotak imunizacije u pozitivnih pacijenata, te njihova raspodjela po imunizirajućem događaju koji je prethodio komplikacijama uslijed transfuzije krvnih pripravaka.

**Rezultati:** Od ukupno 128 seruma pacijenata upućenih na određivanje protutijela anti-HLA, u 28 seruma (21,8 %) pronađena su panel reaktivna protutijela s postotkom senzibilizacije u rasponu od 14,7% do 100,0% PRA (engl. – *panel reactive antibodies*). Od 128 pacijenata, kod 103 pacijenta su posttransfuzijskoj reakciji pretvodile višestruke transfuzije krvi i krvnih pripravaka od kojih su u 13 pronađena protutijela anti-HLA (12,6 %). Preostalih 25 pacijenata bile su višerotkinje, od kojih je u 15 potvrđena prisutnost protutijela anti-HLA (60,0 %).

**Zaključak:** Rezultati su u skladu s objavljenim podacima, da je u približno 50–70% višerotkinja uočena prisutnost protutijela anti-HLA, dok je postotak HLA aloimunizacije u višestruko transfundiranih pacijenata 20–30%. Određivanje specifičnosti protutijela anti-HLA prisutnih u imuniziranog pacijenta proširenjem panela limfocita ili upotreboom dodatnih metoda detekcije protutijela anti-HLA (metodom s mikrosferama na aparatu Luminex) te uspostavljanjem panela dobrovoljnih darivatelja krvi s prethodno određenim antigenima ili alelama HLA mogući je put ka smanjenju pojava neželjenih transfuzijskih reakcija u HLA imuniziranih pacijenata.

## VARIJABILNOST BIOLOŠKIH SVOJSTAVA ABO SUSTAVA KRVNIH GRUPA POVEZANIH SA SPORTOM

JULARIĆ A.<sup>1</sup>, Štefić A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Sestre milosrdnice

• Zavod za transfuzijsku i regenerativnu medicinu

**Uvod:** Od 43 do sada opisana sustava krvnih grupa (KG) (ISBT, Table of blood group systems v. 9.0 03-FEB-2021) najpoznatiji je AB0 sustav KG. Unazad 120 godina, od kada su A i B antigeni iz AB0 sustava KG dokazani, definirana je njihova građa, položaj na staničnoj membrani te njihova povezanost sa raznim oboljenjima, ali njihova uloga u organizmu nije u potpunosti razjašnjena.

**Metode:** Pregledom PubMed baze podataka i korištenjem Google tražilice pokušali smo naći odgovor na pitanje: može li varijabilnost biološkog svojstva poput antiga AB0 sustava KG utjecati na uspjeh pojedinca u sportu? Kao odgovor smo pronašli tri rada koji direktno povezuju AB0 sustav KG s bavljenjem sportom te smo usporedili njihove rezultate.

**Rezultati:** Grupa autora iz Verone ispitivala je povezanost AB0 sustava KG s izdržljivošću rekreativaca prilikom trčanja (Lippi, G., Gandini, G., Salvagno, G., Skafidas, S., Festa, L., Danse, E.,..., Schena, F. (Lipanj 2017.). Influence of ABO blood group on sports performance. Annals of translational medicine. doi:10.21037/atm.2017.04.33). Za ispitanike su uzeta 52 rekreativca, bijelci srednje dobi. Spol nije naveden, može se samo pretpostaviti da se radi o muškarcima. Multiplom linearnom regresijskom analizom pokazali su da su dob i broj treninga u tjednu znatno povezani s performansom tijekom trčanja. Također su povezali AB0 sustav KG s vremenom trčanja. Autori dolaze do zaključka da pojedinci KG 0 imaju bolji učinak od pojedinaca ostalih KG te svoje rezultate povezuju s navodnom evolucijskom prednošću KG 0 pred drugim KG.

Prilikom ispitivanja morfoloških i genetskih varijabilnosti među elitnim vaterpolistima Srbije prikazana je i pojavnost KG (Cvjetičanin, S., & Marinković, D. (Srpanj 2009.). Morphogenetic variability during selection of elite water polo players. Journal of sports sciences. doi:10.1080/02640410902960494). Rezultati pokazuju da su među ispitanicima rijetki pojedinci s KG A ili B. AB KG je u potpunosti odsutna dok je KG 0 prisutna kod gotovo dvostruko većeg broja ispitanika (72,2%) nego što se očekuje. Iako frekvencija pojavnosti KG varira između različitih etničkih skupina ovaj rezultat možemo usporediti s pojavnosću KG kod bijelaca: 0 45%, A 40%, B 11%, AB 4% (Harmening, 2005.).

U trećem radu ispitanike čini 514 studenata Instituta za fizičku edukaciju u kineskom gradu Ningbo. Osim što uspoređuju svoje ispitanike po KG autori su ih podijelili i na različite tipove temperamenta: sangvinik, sangvino-flegmatik, sangvino-kolerik i flegmatik (Jiang, J., & Zheng, G. (2014.). Research on chinese students the relations between blood types, types of temperament and sports. BioTechnology: An Indian Journal, Volume 10, issue 24, str. 16395–16400). Zaključak navedenog rada je da studenti KG 0 i A imaju „više fizičke kvalitete“ od ostalih studenata pa preporučuju selekciju sportaša po KG.

**Zaključak:** Sva tri rada imaju zajednički zaključak da se među sportašima češće nalaze pojedinci KG 0 te da isti u usporedbi sa sportašima drugih KG postižu bolje rezultate. Iako sva tri analizirana rada KG 0 smatraju „dominantnom KG“ među sportašima potrebna su opsežnija ispitivanja da bi s određenom sigurnošću mogli povući paralelu između pojavnosti AB0 KG i bavljenja sportom i uspješnosti u istom.

**Ključne riječi:** Krvne grupe i sport, krvne grupe i tjelesna aktivnost, antigeni krvnih grupa i sport.

## BLOOD TRANSFUSION MANAGMENT FOR PATIENTS ON DARATUMUMAB

KANJER M.<sup>1</sup>, Dajak S.<sup>1</sup>, Lukačević J.<sup>1</sup>, Ipavec N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Split

• Transfuzija

**Introduction:** Daratumumab (DARA) is an IgG1 (kappa) monoclonal antibody (anti-CD38). CD38 is a transmembrane protein expressed on many cell types, myeloma, lymphoma, highly expressed on plasma cells and to a lesser extent on RBCs. DARA has been shown to be highly effective in relapsed and refractory MM. DARA can interfere with indirect antiglobulin test (IAT) and causes panreactivity in vitro by binding to CD38 on RBCs and compatibility assays.

Dithiothreitol (DTT) is a reducing agent that cleaves the disulfide bonds on CD38 receptors. As a result, it can denature the CD38 antigen and prevent DARA from hiding and resolving positive IAT and compatibility tests. DTT is a well-validated and feasible method that is easy to use and inexpensive, but this technique denatures other clinically significant RBC antigens, especially Kell, the less immunogenic antigen Lutheran, Yt, JMH, LW, Cromer, Indian. To reduce the risk of a possible hemolytic transfusion reaction, all patients must be transfused with K-negative blood.

DaraEx is a neutralizing agent used to inhibit the agglutination effect of DARA. DaraEx technique is a simple, quick and effective method for resolving positive IAT and compatibility tests which is less cumbersome in terms of processing and time to result.

**Patients and methods:** These studies provide results for 51 patients (68% men, 32% women) treated with DARA. MM was most commonly diagnosed in older people aged 65–74 years, with the youngest patient being 48 years old. Routine pre-transfusion testing includes a blood group (ABO/RhD), RBC phenotype (or genotype) and antibody screening.

Prior to treatment with DARA, we performed the following procedures:

1. Took notifications from the treating physician and transfusion laboratory
2. Obtained a complete transfusion, birth, and medication history
3. Performed a blood typing test (ABO,RhD)
4. Performed an antibody screen and DAT
5. Performed an extended RBC phenotype (or genotype)

**Results:** 43% of patients (22/51) had blood type O, 30% (15/51) blood type A. All 51 (100%) had positive IAT after therapy, and no new alloantibodies were detected after starting daratumumab treatment. Two (4%) patients had a positive DAT. To date, we have performed 169 crossmatches in 22/51 (41%) patients treated with DARA who required blood transfusion, and all have had a positive crossmatch after performing the native compatibility test in gel card method. For all patients, the crossmatches performed in DaraEx method were negative.

**Conclusion:** Treatment of patient RBCs with DaraEx for crossmatching is a useful, simple and rapid method to attenuate interference by anti-CD38 mAbs and has no side effects such as destruction of blood group antigens or hemolysis as in standard DTT treatment.

If the patient has been previously phenotyped or genotyped and needs an urgent transfusion, phenotype-matched red blood cells and a compatibility test with DaraEx would be a preferable option to DTT.

## COLTON(A-) IZAZOV U PANDEMIJI COVID-19

KRUHONJA GALIĆ Z.<sup>1</sup>, Jagnjić S.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnateljstvo

**Uvod:** U Hrvatskoj je službeni početak epidemije bio u veljači 2020.g. Dana 24.3.2020. u Odjel za eritrocitnu dijagnostiku referentnog centra za transfuzijsku medicinu Republike Hrvatske primili smo poziv iz Klinike za infektivne bolesti u koju su već pristizali prvi bolesnici oboljeli od COVID-19. Jedan zahtjev je bio specifičan po tome što se radilo o pacijentici, od ranije poznatoj po imunizaciji anti-Coa i anti-K protutijelima. Radi se o anti-Coa protutijelu na antigen visoke učestalosti koji može uzrokovati umjerene odgođene do akutnih hemolitičkih poslijetransfuzijskih reakcija, uz sposobnost protutijela da veže komplement, a za koje je teško naći podudarnu krv.

**Cilj:** Opisati rijetki slučaj bolesnice s anti-Coa i anti-K protutijelima koja je razvila simptome COVID-19 te smo u razdoblju zatvaranja državnih granica uslijed pandemije, bili suočeni s izazovom pronalaska eritrocitnih pripravaka rijetke Coa-krvni.

**Opis slučaja:** Pacijentica u dobi od 49 godina je zaprimljena u Kliniku za infektivne bolesti radi naglog pogoršanja zdravstvenog stanja uslijed COVID-19 infekcije. Bolesnica s brojnim komorbiditetima (anemija, hipertenzija, hipotireoza, hiperglikemija, prekomjerna tjelesna težina) je tijekom boravka razvila ARDS, akutno bubrežno zatajenje i profuzne proljeve te je stavljena na mehaničku ventilaciju. Zbog potrebe za transfuzijskim liječenjem morali smo uložiti dodatan napor kako bi u vremenu COVID-19 pandemije pokušali nabaviti krv rijetke krvne grupe iz centra u Beču. Istovremeno se razmišljalo o uvođenju eritropoetina u terapiju, ali su iskustva u liječenju bolesnika oboljelih od COVID-19 u to vrijeme bila vrlo ograničena, osobito zbog sklonosti COVID-19 bolesnika tromboembolijskim incidentima. To je bilo vrijeme zatvaranja državnih granica i privremene obustave transplantacije organa, osim u vitalnim indikacijama. Kontaktirali smo ministarstvo zdravstva, koje mora odobriti uvoz krvnih pripravaka. Iako su avioni bili prizemljeni, transport se odvijao prema Zagrebu cestovnim putem. Prve doze stigle su u Zagreb oko tjedan dana nakon postavljenog zahtjeva te su uspješno transfundirane, a u međuvremenu je uveden i eritropoetin. Uz poboljšanje općeg stanja bolesnica je skinuta s respiratora, a nakon uvođenja eritropoetina zabilježen je odgovor koštane srži. Zbog obostranih dekubitusa i opasnosti od septičnog šoka upućena je na nekretomiju, a zbog krvarenja ponovno je postavljena indikacija za transfuzijskim liječenjem. Hitnom kurirskom službom iz Beča je stigla još jedna doza KE. Zbog neizvjesnog kliničkog stanja morali smo osigurati dodatne zalihe u slučaju novih zahvata. Ovog puta smo osim centra u Beču kontaktirali Švicarski crveni križ i banku rijetkih krvnih grupa u Bernu te osigurali dodatne doze Coa- i K- krvni. Bolesnica je primila ukupno 7 Coa-, K- koncentrata eritrocita te je nakon intenzivnog liječenja puštena na kućnu njegu.

**Zaključak:** Zajedničkim naporima kolega iz Klinike za infektivne bolesti, Austrijskog crvenog križa i banke rijetkih krvnih grupa u Beču, Švicarskog crvenog križa i banke rijetkih krvnih grupa u Bernu, dobrovoljnih darivatelja krvni rijetkih grupa, Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske i World Courir službe uspješno smo prijavili razmjerno velik broj KE rijetke Coa-krvne grupe i uspješno transfundirali bolesnicu u trenucima najveće potrebe, unatoč uvedenom eritropoetinu.

## ANALIZA BROJA TIPIRANJA DARIVATELJA KRVI I RASPODJELE JKA, JKB, M I S ANTIGENA PREMA ABO I RHD KRVNIM GRUPAMA U PERIODU 2017.–2021.

STOJIĆ VIDović M.<sup>1</sup>, Hećimović A.<sup>1</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>1</sup>, Jagnjić S.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Očić T.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Uz obavezna imunohematološka testiranja, u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu (HZTM) u periodu od 2017. do 2018. godine uvedeno je i rutinsko serijsko tipiranje antiga nobrovoljnih darivatelja krvi (DDK) iz Kidd ( $Jk^a$  i  $Jk^b$ ) i MNS sustava ( $M$  i  $S$ ). Status potvrđenog  $Jk^a$ ,  $Jk^b$ ,  $M$  i  $S$  antigena stječe se na način jednak načinu stjecanja potvrđenog statusa kod Rh fenotipa i K antiga tj. tipiranje se provodi dva puta, u dva različita

vremenska perioda, na uzorcima dviju neovisnih donacija krvi. U slučaju podudarnih rezultata kod oba provedena postupka oznaka antigena istaknuta je na naljepnici krvnog pripravka.

**Cilj:** Provjeriti u našoj bazi tipiranih darivatelja krvi e-Delphyn koliki je ukupan broj potvrđenih antigen negativnih i antigen pozitivnih darivatelja unutar pojedinih ABO i RhD krvnih grupa te analizirati zastupljenost antigen negativnih darivatelja krvi čiji su donirani pripravci potrebni za transfuzijsko liječenje imuniziranih bolesnika. Prikazani rezultati obuhvaćaju period 01.01.2017. do 26.08.2021.

**Metode:** Tipiranja su provedena *in-house* pripravljenim testnim reagensima na automatu *Beckman Coulter PK 7300* u mikropločama metodom hemaglutinacije. Testiranja su izvedena na dnevnoj bazi. Uz svaku seriju testiranja, testirani su antigen negativni i antigen pozitivni kontrolni uzorci na početku i na kraju testiranja. Nejasni rezultati razjašnjeni su uporabom IgM monoklonskih reagensa anti-Jka (klon MS-15), anti-Jkb (klon MS-8), anti-S (klon MS-94) i anti-M (klon M-11H2), svi za rad u epruveti proizvođača Immucor.

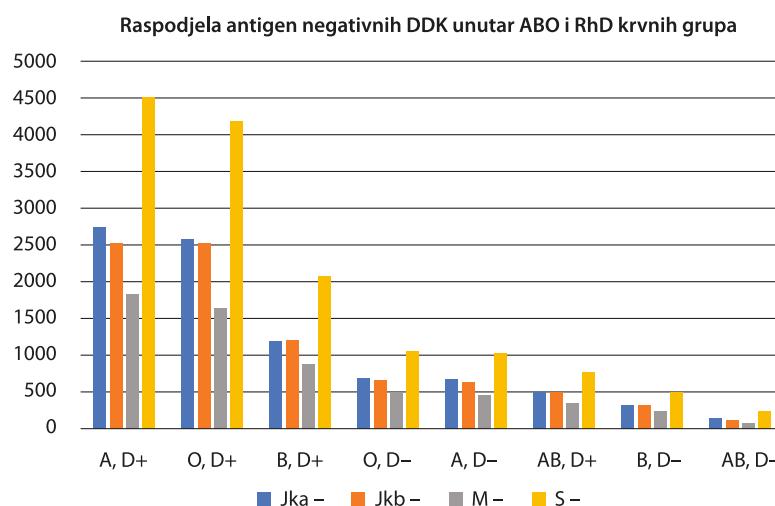
**Rezultati:** U navedenom periodu provedeno je 88 384 tipiranja Jk<sup>a</sup> i Jk<sup>b</sup> antigena, 82 460 tipiranja M te 84 106 tipiranja S antigena.

Broj darivatelja krvi s potvrđenim Jk<sup>a</sup> antigenom statusom iznosio je 34 818, od kojih je 25 946 Jk<sup>a</sup> pozitivno, a 8 872 Jk<sup>a</sup> negativno. Broj darivatelja krvi s potvrđenim Jk<sup>b</sup> antigenom statusom iznosio je 34 905, od kojih su 26 361 Jk<sup>b</sup> pozitivni, a 8 544 Jk<sup>b</sup> negativni. Potvrđenih S antigenih statusa bilo je 34 180, od kojih 19 744 je S pozitivno, a 14 436 S negativno. Potvrđenih M antigenih statusa bilo je 34 457 od kojih 28 437 M pozitivno i 6 020 M negativno.

Analizirana je zastupljenost Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, M i S antigen negativnih darivatelja krvi unutar pojedinih ABO i RhD krvnih grupa i prikazana u tablici 1. i graf 1.

TABLICA 1.

Antigen	Raspodjela potvrđenih antigen negativnih DDK unutar ABO i RhD krvnih grupa (n)							
	A, D+	O, D+	B, D+	O, D-	A, D-	AB, D+	B, D-	AB, D-
Jk <sup>a</sup> –	2749	2593	1198	688	669	508	322	146
Jk <sup>b</sup> –	2540	2528	1212	667	651	497	322	127
M –	1840	1654	892	495	456	356	236	91
S –	4515	4187	2086	1076	1051	780	503	239



GRAF 1.

**Zaključak:** Baza tipiranih darivatelja krvi u HZTM obuhvaća velik broj darivatelja svih ABO i RhD krvnih grupa. Broj potvrđeno tipiranih antigen pozitivnih darivatelja znatno je veći od broja potvrđeno antigen negativnih darivatelja, a učestalost pojedinih antigena je u skladu s literurnim podacima. Najveći broj potvrđeno tipiranih antigen negativnih darivatelja u bazi podataka e-Delphyn-HZTM su S antigen negativni, zatim slijede

*Jk<sup>a</sup>* negativni, *Jk<sup>b</sup>* negativni te na kraju *M* negativni darivatelji krvi u skupini A,D+ i O,D+ krvnih grupa. Svi ostali antigeni negativni darivatelji unutar ABO i RhD krvnih grupa zastupljeni su s manjom učestalošću.

Ovakav pristup definiranja antigenih statusa osim što je omogućio lakše i brže izvođenje prijetransfuzijskog imunohematološkog ispitivanja imuniziranih bolesnika, utjecao je i na financijsku uštedu naših korisnika.

## ZNAČAJ IMUNOHEMATOLOŠKOG ISPITIVANJA U ABO NEPODUDARNOSTI MAJKI I NOVOROĐENČADI

NOVOSELAC J.<sup>1</sup>, Buzina Marić K.<sup>2</sup>, Rimac V.<sup>1</sup>, Selak I.<sup>3</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup>Opća bolnica Tomislav Bardek

• Odjel transfuzijske medicine

<sup>3</sup>Klinička bolnica Dubrava

• Odjel transfuzijske medicine

**Uvod:** Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HBFN) posljedica je razlike između antiga na eritrocitima majke i djeteta. Za razliku od imunih antieritrocitnih protutijela, koje majka ima samo ako je imunizirana tijekom trudnoće ili nakon transfuzije, kod ABO nepodudarnosti u krvi majke već postoje prirodna anti-A i/ili anti-B protutijela u određenom titru. Učestalost HBFN zbog ABO nepodudarnosti ista je u prvoj trudnoći kao i u svakoj sljedećoj i ne može se predvidjeti niti spriječiti. Zahvaljujući prevenciji RhD HBFN uvođenjem RhD profilaksе, ABO nepodudarnosti kao uzroku HBFN posvećuje se više pažnje. Otprilike 15% majki europskog porijekla krvne grupe O imaju dijete koje na eritrocitima ima A i/ili B. Ako se HBFN uopće klinički manifestira, najčešće je hiperbilirubinemija blaga. Podaci o incidenciji ABO-HBFN su manjkavi jer se krvna grupa novorođenčadi majki krvne grupe O ne određuje sustavno. U različitim etničkim skupinama izražaj A i B antiga je različit pa se razlikuje i stupanj hemolize eritrocita u ABO-HBFN.

**Cilj** ovog istraživanja bio je ispitati čimbenike rizika za hiperbilirubinemiju i anemiju u novorođenčadi s pozitivnim direktnim antiglobulinskim testom (DAT) i/ili nepodudarnom križnom reakcijom zbog ABO nepodudarnosti majke i djeteta.

**Materijali i metode:** Od siječnja 2016. do prosinca 2020. u laboratoriju za imunohematologiju eritrocita Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb ispitani su uzorci 202 novorođenčeta zbog pozitivnog DAT-a odnosno nepodudarne križne reakcije uzrokovane ABO nepodudarnošću majke i djeteta. Retrospektivno su prikupljeni klinički, laboratorijski i podaci imunohematološke obrade. Iz daljnje analize isključeno je 18 novorođenčadi zbog drugih mogućih uzroka hiperbilirubinemije i/ili anemije. Uspoređivane su dvije glavne skupine novorođenčadi, ona koje su trebala i koja nisu trebala liječenje zbog hiperbilirubinemije ili anemije. Unutar skupine liječene novorođenčadi uspoređivali smo krvne grupe A i B. Pronašli smo devet parova i jedan trio ABO nepodudarne braće i sestara koji su rođeni u vremenskom razdoblju istraživanja. Statistička analiza napravljena je u programu MedCalc, verzija 20.009.

**Rezultati:** Od ukupno 184 novorođenčadi u 112 (61%) ABO nepodudarnost je slučajno otkrivena tijekom određivanja krvne grupe, nisu imali znakove bolesti, a liječenje nije bilo potrebno. Njih 72 (39%) je imalo kliničke znakove ABO-HBFN, od kojih je 71 liječeno fototerapijom, a 2 primilo transfuziju eritrocita što potvrđuje činjenicu da bolest rijetko zahtijeva intenzivno liječenje. Utvrđili smo statistički, ali ne i klinički značajnu razliku između skupina liječene i neliječene novorođenčadi vezano za način poroda ( $p = 0.004$ ) i nalaz pozitivnog DAT-a u odnosu na proteklo vrijeme od poroda do testiranja ( $p < 0.001$ ). Nije nađena statistički značajna razlika u obilježjima između skupina liječene novorođenčadi krvne grupe A i B, osim za transfuziju krvi, koju je dobilo dvoje novorođenčadi krvne grupe A. Jedinstvenost istraživanja je u tome što smo pronašli 10 parova braće i sestara. Većina njih imala je istu manifestaciju ABO nepodudarnosti. Ograničenje istraživanja je retrospektivni dizajn studije i mali broj ispitanika.

**Zaključak:** DAT kao test ne predviđa težinu kliničke slike bolesti ali je koristan alat za praćenje novorođenčadi rođene iz ABO nepodudarne trudnoće. Naša je preporuka da se krvna grupa i DAT odrede u uzorku krvi iz pupkovine svoj novorođenčadi, ili barem onoj u kojih su majke krvne grupe O, kao probirni test za ABO-HBFN čime bi što ranije započelo liječenje i dobitne informacije o učestalosti ove bolesti. Uzorak krvi iz pupkovine za testiranje nakon poroda ni na koji način ne šteti djetetu i ne dovodi ga u rizik anemije.

## AKUTNA HEMOLITIČKA REAKCIJA UZROKOVANA ANTI-YTA PROTUTIJELOM

RAOS M.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

Mnogi pacijenti s anti-Yta primaju višestruke transfuzije Yt (a+) eritrocitnih pripravaka bez transfuzijskih reakcija. Međutim, prijavljeno je da anti-Yta protutijelo može uzrokovati hemolitičku transfuzijsku reakciju. Identifikacijom protutijela određuje se specifičnost antieritrocitnih protutijela i njihov klinički značaj kako bi se u slučaju kliničkih značajnih protutijela opravdali zahtjevi za specifičnim antigen negativnim eritrocitnim pripravcima u transfuzijskom liječenju ovih pacijenata. Ponekad je anti-Yt<sup>a</sup> protutijelo promjenjivog kliničkog značaja. Varijabilnost kliničkog značaja karakteristika je anti-Yt<sup>a</sup> protutijela koja može utjecati na transfuzijsko liječenje takvih pacijenata.

Ovaj slučaj prikazuje ishod transfuzijskog liječenja s nepodudarnim eritrocitnim pripravkom u 83-godišnje pacijentice s anti-Yt<sup>a</sup>, -D, -C, -Le<sup>ab</sup> i -HI koja je primljena u bolnicu zbog teškog krvarenja iz mokraćnog sustava i vrućice. Pacijentica je zbog hitne medicinske indikacije transfuzijski liječena s jednom dozom koncentrata eritrocita koja nije bila podudarna u križnoj reakciji u indirektnom antiglobulinskom testu. Tijekom transfuzijskog liječenja pacijentica je imala zimicu, drhtavicu i tahikardiju. Zabilježeno je smanjenje hemoglobina i hemato-krita. Laboratorijski parametri za hemolizu, poput ukupnog bilirubina, direktnog bilirubina i laktat dehidrogenaze, su bili povišeni. Na temelju kliničke i laboratorijske procjene zaključeno je da je pacijentica imala akutnu hemolitičku transfuzijsku reakciju (AHTR) uzrokovana anti-Yt<sup>a</sup> protutijelom. Pacijentica je uspješno liječena antipireticima, antihistaminicima i kortikosteroidima. Krvarenje iz mokraćnog sustava je zaustavljen. Anemija je dodatno poboljšana parenteralnim davanjem željeza, pa daljnje transfuzijsko liječenje više nije bilo potrebno.

Budući da je anti-Yt<sup>a</sup> protutijelo prijavljivano kao protutijelo promjenjivog kliničkog značaja, stanična testiranja, poput jednoslojnog monocitnog testa (engl. Monocyte monolayer assay, MMA) ili testa kemiluminescencije (engl. Chemiluminescence test, CLT), mogu se provesti za određivanje kliničke značajnosti anti-Yta protutijela. Na temelju ovih rezultata, rijetki Yt (a-) eritrocitni pripravci trebali bi se primjenjivati samo za bolesnike s klinički značajnim anti-Yt<sup>a</sup> protutijelom. MMA i CLT je dostupan u nekoliko laboratorija u svijetu za predviđanje vijeka preživljjenja eritrocita kod transfuzijskog liječenja serološki nepodudarnih eritrocitnih pripravaka, ali trenutno nije dostupan u Hrvatskoj.

## DOBROVOLJNI DARIVATELJI KRVI S NEPODUDARNIM ERITROTESTOVIMA

RUKAVINA M.<sup>2</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>1</sup>, Jagnjić S.<sup>3</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Safić Stanić H.<sup>2</sup>, Stojić Vidović M.<sup>5</sup>, Perković T.<sup>5</sup>, Hećimović A.<sup>4</sup>, Strauss Patko M.<sup>6</sup>, Jukić I.<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za davalštvo krvi

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za krvlju prenosive bolesti

<sup>4</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za proizvodnju testnih reagensa

<sup>5</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za testiranje darivatelja krvi

<sup>6</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Služba za medicinsku djelatnost

<sup>7</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnateljstvo

**Uvod:** ABO krvna grupa važna je kako za dobrovoljnog darivatelja krvi (DDK) tako i za primatelja krvi i krvnih pripravaka. Pogrešno određena ABO krvna grupa može rezultirati transfuzijom nepodudarnog krvnog pripravka i dovesti do ozbiljne poslijetransfuzijske hemolitičke reakcije, ponekad i s letalnim ishodom. ABO krvna grupa određuje se hemotestom i eritrotestom te se oni uvijek moraju podudarati. U slučaju razilaženja ovih dvaju testova potrebno je potvrđnim testiranjem utvrditi mogući uzrok i definirati krvnu grupu. Glavni cilj

ove retrospektivne studije je prikazati incidenciju nejasnih ABO krvnih grupa zbog nepodudarnih eritrotestova kod DDK koji su darivali krv u razdoblju od 8 godina.

**Metode:** U razdoblju od rujna 2013. do rujna 2021. prikupljeno je 780 341 doza krvi od 119 323 darivatelja. Za taj period prikupljeni su podaci nejasnih rezultata imunohematološkog ispitivanja zbog nepodudarnih eritrotestova. Imunohematološko testiranje uzoraka krvi DDK rađeno je na Odjelu za testiranje darivatelja krvi. Određivanje ABO krvnih grupa rađeno je na dva automatska analizatora Beckman Coulter PK 7300 proizvođača Beckman Coulter INC uporabom testnih reagensa in-house proizvodnje i Neo Galileo Immucor prizvođača Immucor. Pri vizualnoj kontroli svakog rezultata djelatnik koji je uočio nepodudarnosti u određivanju ABO krvne grupe DDK prijavljuje uzorak Odjelu za eritrocitnu dijagnostiku gdje je rađeno potvrđno ispitivanje. Hemotest u mikrometodi s ABD potvrđnom mikrokarticom proizvođača Bio-Rad i proizvođača Ortho-Clinical Diagnostic. Za eritrotest korišteni su testni eritrociti in-house proizvodnje proizvedeni iz krvi DDK koji su darivali krv u HZTM i to u dvije serije A1, B i O humanih testnih eritrocita pripredenih u 3% suspenziji za rad u epruveti. Eritrotest je očitan na sobnoj temperaturi i nakon inkubacije na + 4°C (nakon 2 i 24 sata).

**Rezultati:** Nejasna ABO krvna grupa uslijed nepodudarnog eritrotesta zabilježena je kod 171 DDK koji su darovali ukupno 255 doza. Od DDK koji prvi puta daruju krv bilo je 14 s inicijalno nepodudarnim eritrotestom, a od višestrukih DDK njih 157 (tablica 1).

TABLICA 1. DDK S INICIJALNO NEJASNIM ERITROTESTOM

NOVI DDK	VIŠESTRUKI DDK							
	1x	1x	2x	3x	4x	5x	10x	14
Broj ponavljanja nepodudarnog eritrotesta	1x	1x	2x	3x	4x	5x	10x	14
Broj DDK	14	112	24	9	7	1	3	1

Rezultati potvrđnog ispitivanja inicijalnih i kontrolnih uzoraka krvi DDK prikazani su u tablici 2.

TABLICA 2. POTVRDNO TESTIRANJE INICIJALNIH I KONTROLNIH UZORAKA DDK

Rezultat potvrđnog testiranja	A n(%)	B n(%)	AB n(%)	O n(%)	Ukupno N (%)
Uredan eritrotest (reakcije score >=5)	33 (18)	10 (63)	8 (20)	13 (37)	64 (23)
Potvrđno slabe reakcije u eritrotestu (score <5) ili nemaju eritrotesta	103 (55)	0 (0)	1 (3)	19 (54)	123 (44)
Pozitiviteti s testnim eritrocitima s kojima se ne očekuje reakcije (hladna protutijela, anti-M, anti-P1, A1, pozitivan IAT)	52 (27)	6 (37)	30 (77)	3 (9)	91 (33)
Ukupno	188 (67)	16 (6)	39 (14)	35 (13)	278 (100)

Potvrđnim ispitivanjem u 60 (24%) inicijalno pozitivnih uzoraka krvi dokazan je uredan eritrotest, slabije izraženi prirodni izohemaglutinini nađeni su u 93 (36%) inicijalnih uzoraka odnosno doza, a u 62 (24%) dokazana su hladna anti-A1, anti-P1 ili panspecifično reaktivna protutijela na +4°C što čini 215 (84%) doza koje su proglašene sukladnjima. Nesukladnjima je proglašeno 40 (16%) doza. S darivateljima koji su imali pozitivan IAT postupljeno je prema važećim algoritmima, za DDK koji su imali hladna protutijela u visokom titru na sobnoj temperaturi nastavili smo praćenje a DDK bez eritrotesta uputili smo na obradu liječniku obiteljske medicine s preporukom da učine elektroforezu proteina zbog moguće imunodeficijacije.

**Zaključak:** U darivatelja krvi u promatranom razdoblju incidencija nejasnih ABO krvnih grupa bila je 171 DDK (0,14%) tj. 255 doza (0,03%), a najčešći uzrok nepoduarnosti bio je prirodno smanjeni titar izohemaglutinina. Od DDK koji su bili upućeni liječniku samo je jedan trajno odbijen zbog smetnji u određivanju krvne grupe u pet uzastopnih donacija.

## ODABIR ANTI-D MONOKLONSKIH PROTUTIJEVA U TESTIRANJU TRUDNICA – ISKUSTVA JEDNOG CENTRA

SAFIĆ STANIĆ H.<sup>1</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>1</sup>, Jagnjić S.<sup>2</sup>, Rukavina M.<sup>5</sup>, Babić I.<sup>3</sup>, Đogić V.<sup>3</sup>, Bingulac Popović J.<sup>3</sup>, Jukić I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za krviju prenosive bolesti

<sup>3</sup>Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za molekularnu dijagnostiku

<sup>4</sup>Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnotežstvo

<sup>5</sup>Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za davalanstvo krvi

**Uvod:** D antigen je izuzetno polimorfan i jedan od klinički najznačajnijih antigena krvnih grupa. Rutinsko određivanje D antiga predstavlja veliki izazov u svakodnevnoj praksi. Prema britanskim smjernicama za prijetransfuzijsko ispitivanje (<http://www.bcsghguidelines.com>) preporuka je koristiti potpuno automatizirane sustave gdje god je to moguće i ukoliko se određivanje D antiga provodi na automatskim analizatorima može se koristiti samo jedan monoklonski anti-D reagens koji ne otkriva DVI kategoriju. U HZTM, rutinsko određivanje D antiga kod trudnica provodi se automatskom metodom s dva monoklonska reagensa. Cilj nam je utvrditi je li za testiranje trudnica potreban potvrđni (drugi monoklonski) reagens u određivanju D antiga na automatskim analizatorima.

**Materijal i metode:** Podaci su prikupljeni iz arhive inicijalno nejasnih rezultata trudnica za period od 18.6.2019. do 13.9.2021. D antigen je određen mikrometodom na automatu Ortho Vision s dva monoklonska reagensa anti-D staničnih linija (1) D7B8 i (2) RUM-1. Kriterij za proglašenje rezultata pozitivnim je reakcija jačine score 10–12. Svaki inicijalno nejasan uzorak je dodatno testiran u mikrometodi s anti-D staničnih linija LHM 59/20 +175-2 (BioRad), TH-28, RUM-1, LDM1 (BioRad) te u epruveti s RUM-1 (*in-house* proizvodnja) i s IgM (D175-2)+ IgG (D415 1E4) (Immucor). Navedeni reagensi ne otkrivaju DVI kategoriju. Na *RHD* genotipizaciju smo slali uzorce sa serološki slabim izražajem D antigenom i one kod kojih je bilo neslaganje s rezultatima iz arhive. Za izolaciju DNA je korišten QIAamp DNA Blood mini kit na uređaju QIAcube (Qiagen, Njemačka), dok su za *RHD* genotipizaciju korišteni komercijalni kitovi: Ready Gene D weak 1,2,3 te Ready Gene CDE (InnoTrain, Njemačka).

**Rezultati:** U navedenom razdoblju odredili smo krvnu grupu kod 13 457 uzoraka trudnica i izdvojili 44 uzorka sa serološki slabim izražajem D antiga ili razlikom rezultata u arhivi. Dva uzorka su imala jasno pozitivan rezultat u oba testa (D1 i D2), ali zbog razlike rezultata u arhivi nije bio moguć prijenos rezultata u laboratorijski informatički sustav. Genotipizacijom je u jednom uzorku otkriven *RHD\*07.01* (parcijalni D kategorija VII), a u drugom D varijanta kojoj nije utvrđen alel *RHD*. Inicijalno nejasan RhD rezultat smo dobili kod 42 trudnice (0,31%). Ukupno 41 uzorak je poslan na *RHD* genotipizaciju jer smo za jedan uzorak imali nalaz genotipizacije u arhivi (*RHD\*01W.3*). U 36 (87,8 %) uzoraka smo utvrdili prisustvo varijante *RHD\*01W.1*, *RHD\*01W.2* i *RHD\*01W.3* koje smo proglašili RhD+, a u 5 uzoraka redom varijante *RHD\*17.01*, *RHD\*01W.14* te kod 3 trudnice *RHD\*01*, bez definiranog alela *RHD*. One su proglašene RhD– zbog mogućnosti postojanja varijante koja nije obuhvaćena korištenim reagensima za *RHD* genotipizaciju. Ukupno 7/44 uzorka je imalo pozitivan rezultat u prvom D1 testu, od toga 2/7 su bila pozitivna i u D2 testu (*RHD\*07.01* i slab D kojem nije utvrđen alel) dok je 5/7 uzoraka dalo reakciju miješanog polja u D2. *RHD* genotipizacijom potonjih utvrđen je *RHD\*01W.1* (2/5) i *RHD\*01W.3* (3/5).

**Zaključak:** U HZTM, u razdoblju od dvije godine analizirali smo 42 uzorka trudnica s nejasnim RhD rezultatom, a kod 2 uzorka smo imali nepodudaran rezultat u odnosu na arhivu. Ukupno 87,8% uzoraka je definirano kao RhD pozitivno, a 12,2 % RhD negativno. Od 7 uzorka s inicijalno jasno pozitivnim rezultatom u D1 testu, 5 uzoraka bi proglašili RhD pozitivnim i samo na osnovu D1 testa, a jedan uzorak-*RHD\*07.01* bi proglašili RhD pozitivnim uz rizik razvoja RhD imunizacije. Prema rezultatima ovog istraživanja potvrđni D2 test kod trudnica na automatskim analizatorima ne čini se potrebnim. Ograničenje studije bila bi obuhvaćenost središnjeg dijela Hrvatske i relativno mali broj uzoraka te smatramo opravdanim nastaviti ovakva istraživanja i u drugim centrima RH.

## UČESTALOST ANTITROMBOCITNIH ALOPROTUTIJELA I GENOTIPIZACIJA 12 SPECIFIČNIH TROMBOCITNIH ANTIGENA (HPA) U TRUDNICA

TOMAC G.<sup>1</sup>, Gojčeta K.<sup>1,2</sup>, Čorluka I.<sup>1</sup>, Rimac V.<sup>1</sup>, Habijanec B.<sup>5</sup>, Bojanic I.<sup>1,2,3</sup>, Raos M.<sup>1,2</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup>Zdravstveno vjeleučilište Zagreb

<sup>3</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

<sup>4</sup>Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

<sup>5</sup>Data Raven

**Uvod:** Novorođenče naslijeduje specifične trombocitne antigene (eng. human platelet antigens, HPA) od oca i od majke. Zbog transplacentarnog miješanja krvi majke i djeteta tijekom trudnoće, majka se može imunizirati na HPA antigene koje je novorođenče naslijedilo od oca.

Stvarna učestalost anti-HPA protutijela u trudnica nije poznata. Prema podacima dobivenima iz istraživanja provedenih na malim skupina žena i u ograničenom broju etničkih skupina, učestalost imunizacije trudnica na HPA antigene se procjenjuje na oko 2–4%. Epidemiološki podaci o učestalosti imunizacije na HPA antigene u populaciji trudnica u Hrvatskoj nisu objavljeni.

Pitanje imunizacije trudnica na HPA antigene nema samo znanstveno, već i kliničko značenje, s obzirom na to da imunizacija na trombocitne antigene može imati posljedice na majku, novorođenče, te na buduće trudnoće. Antitrombocitna anti-HPA, te rjeđe anti-HLA protutijela mogu uzrokovati fetalnu/neonatalnu aloimunu trombocitopeniju (eng. fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia, FNAIT). Pretraživanje na anti-HPA/HLA protutijela nije dio standardne zdravstvene zaštite trudnica.

**Cilj:** Cilj rada je utvrditi učestalost anti-HPA i anti-HLA protutijela, te utvrditi HPA genotipove u hrvatskoj populaciji trudnica, te odrediti učestalost nepodudarnosti pojedinih HPA alela u parovima majka/novorođenče.

**Metode:** Svim nasumično odabranim parovima majka/novorođenče učinjena su slijedeća testiranja: serum majki je ispitana na prisutnost anti-HPA i anti-HLA protutijela metodom na mikrosferama na fluoroanalizatoru Luminex (eng. Multi-analyte profiling beads, Xmap); istom metodom je odrađena specifičnost anti-HPA protutijela. Iz uzorka majke i novorođenčeta je izolirana DNK za određivanje HPA genotipa. HPA genotipizacijom je određena nepodudarnost u HPA genima (HPA-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-9,-10,-11,-15) između majke i novorođenčeta. Iz zdravstvenog upitnika koji su majke ispunile prije poroda, prikupljeni su anamnestički podaci o prijašnjim porodima.

**Rezultati:** U istraživanju je sudjelovalo 287 parova majka/novorođenče. Iz seruma svih majki je učinjeno ispitivanje na prisutnost anti-HPA i anti-HLA protutijela. Zbog organizacijskih razloga, HPA genotip i nepodudarnost HPA gena nisu određeni u 14 (4,8%) parova majka/novorođenče.

U šest majki su dokazana anti-HPA protutijela (2.1 %), pet protutijela specifičnosti anti-HPA-5b (1.8 %) i jedno protutijelo specifičnosti anti-HPA-4b (0.4 %).. U gotovo petine majki su u serumu dokazana anti-HLA protutijela (56, 19.9 %). Mann-Whitney U testom utvrđeno je da su majke s anti-HLA protutijelima imale veći broj djece prije trenutnog poroda ( $p_{precizni} < 0.001$ ) od majki bez anti-HLA protutijela. Nisu pronađene razlike s obzirom na prisutnost anti-HPA protutijela ( $p_{precizni} = 0.628$ ), no s obzirom na mali broj majki s anti-HPA protutijelima, mogućnost otkrivanja stvarne razlike bila je umanjena.

Uz iznimku heterozigotnih HPA-3a/b (54.2%) i HPA15a/b (58.3%), najčešći genotipovi bili su homozigotne a/a varijante.

Najveći broj slučajeva nepodudarnosti HPA genotipa majke i novorođenčeta pronađen je kod alela HPA-1b (40, 14.1 %), HPA-5b (32, 11.2%), HPA-2b (27, 9.5 %) te HPA-15b (27, 9.5 %).

**Zaključak:** Učestalost anti-HPA i anti-HLA protutijela u našem istraživanju je slična incidenciji opisanoj u literaturi na manjim skupinama žena. Broj prijašnjih poroda utječe na učestalost anti-HLA protutijela.

Najčešći HPA genotipovi su, prema očekivanom, homozigotne a/a varijante. Najveći broj nepodudarnosti između parova majka/dijete je zamijećen kod HPA-1b, 5b, 2b, te 15b polimorfizama.

## UČESTALOST ALELA I GENOTIPOVA HUMANIH NEUTROFILNIH ANTIGENA HNA-1, -3, -4 i -5 U HRVATSKOJ

Štimac R.<sup>1</sup>, TOMIČIĆ M.<sup>1</sup>, Bingulac Popović J.<sup>1</sup>, Kundid R.<sup>1</sup>, Babić I.<sup>1</sup>, Đogić V.<sup>1</sup>, Vuk T.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod i cilj:** Humani neutrofilni antigeni (HNA) su skupina glikoproteina koji se nalaze na površini neutrofilnih granulocita. Protutijela na HNA uključena su u različita klinička stanja kao što su autoimune i aloimune neutropenije i akutne ozljede pluća povezane s transfuzijom (TRALI). Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učestalost genotipova i alela HNA-1, -3, -4, i -5 u Hrvatskoj.

**Metode:** Ukupno 186 zdravih ispitanika bilo je uključeno u ovo istraživanje. Uzorci DNK su tipirani za sustave HNA -1, -3, -4 i -5 metodom lančane reakcije polimeraze uz uporabu grupno specifičnih početnica (eng. primer) – PCR-SSP, „in-house“ metodom.

**Rezultati:** Učestalost genotipova prikazana je u Tablici 1.

Učestalost HNA alela prikazana je u Tablici 2. Aleli visoke učestalosti u Hrvatskoj su HNA-4a; 98,4 %, HNA-5a; 94,6 % i HNA-3a; 94,1 %.

TABLICA 1. UČESTALOST HNA GENOTIPOVA U HRVATSKOJ

Genotip	Broj	%
HNA-1a/1a	31	16,7
HNA-1b/1b	61	32,8
HNA-1c/1c	0	0
HNA-1a/1b	80	43,0
HNA-1b/1c	0	0
HNA-1a/1c	4	2,2
HNA-1a/1b/1c	6	3,2
HNA-1 null	4	2,2
HNA-3a/3a	113	60,8
HNA-3a/3b	62	33,3
HNA-3b/3b	11	5,9
HNA-4a/4a	120	64,5
HNA-4a/4b	63	33,9
HNA-4b/4b	3	1,6
HNA-5a/5a	98	52,7
HNA-5a/5bw	78	41,9
HNA-5bw/5bw	10	5,4

TABLICA 2. UČESTALOST HNA-1, -3, -4 i -5 ALELA U HRVATSKOJ

Ukupno: 186			
HNA sustav		Broj	%
1	a	121	65,1
	b	147	79,0
	c	10	5,4
3	a	175	94,1
	b	11	5,9
4	a	183	98,4
	b	3	1,6
5	a	176	94,6
	b	10	5,4

**Zaključak:** Ovo je prva studija kojom je utvrđena učestalost alela HNA -1, -3, -4 i -5 i genotipova u Hrvatskoj. Određivanje učestalosti antiga HNA važno je za procjenu rizika aloimunizacije na HNA, posebno za utvrđivanje inkompatibilnosti novorođenčeta i majke. Također je važno za pripremu HNA panela genotipiranih testnih granulocita za određivanje specifičnosti anti-HNA aloprotutijela.

**COVID-19**

## **COLLECTION OF COVID-19 CONVALESCENT PLASMA IN THE INSTITUTE FOR TRANSFUSION MEDICINE OF RNM AND EVALUATION OF ANTI-SARS-COV-2 ANTIBODY CONCENTRATIONS**

GRUBOVIC RASTVORCEVA R.<sup>1,2</sup>, Useini S.<sup>1</sup>, Petkovikj E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Transfusion Medicine of RNM

• Skopje, N. Macedonia

<sup>2</sup>University Goce Delcev

• Faculty of Medical Sciences

**Background:** Plasma collected from patients that have recovered from an infectious disease has been transfused over many decades for both post exposure prophylaxis (Rabies, Polio) and treatment of various infectious diseases (SARS-CoV-1, Middle East Respiratory Syndrome, Ebola). Taking into consideration the expansion of COVID-19 pandemics we started the COVID-19 convalescent plasma programme.

**Aim:** The aim of our study is to show our experience with collecting the COVID-19 Convalescent Plasma (CCP) and to evaluate the SARS-CoV-2 antibody concentration in different convalescent plasma donors' subgroups.

**Methods:** This is a prospective study organized in the Institute for Transfusion Medicine of Republic of North Macedonia since 30 April 2020. Antibody testing was performed at the Institute for Immunobiology and Human Genetics in Skopje using CLIA method with Snibe Maglumi 2019-nCoV IgM and 2019-nCoV IgG (qualitative) in the beginning and continued and retested with Snibe Maglumi SARS-CoV-2 S-RBD IgG (quantitative) with IgG cut-off larger than 5 AU/ml. All potential donor were tested for: negative RT-PCR for SARSCoV-2 before donation, anti-SARS-CoV-2 antibodies, anti-HLA antibodies (where applicable), blood count, blood group, TTI and biochemistry. Preferred method for plasma collection was plasmapheresis which was performed with Terumo BCT Trima Accel and donation of whole blood, depending on the donor preference and venous access. All donors signed informed consent for donation and inclusion in the study.

**Results:** There were 700 donors that fulfill all the criteria and obtained 793 units of COVID-19 convalescent plasma; 639 (80.6%) units from whole blood donors and 154 CCP units from 61 plasmapheresis donors (19.4%), of which 485 were males (69.3%) and 215 females (30.7%). Mean age of the donors was 40 years, with range from 18–63. Mean value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG in our study was 31.05 AU/ml, with range from 5.1 AU/ml to >100 AU/ml, mean value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG in men was 37.6 AU/ml and 28.9 AU/ml in women ( $p<0.05$ ). Distribution of CCP donors according to the ABO blood group was: 301 blood group A (43%) with median value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 27.15 AU/ml, 220 blood group O (31.4%) median value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 32.1 AU/ml, 116 blood group B (16.6%) median value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 35.9 AU/ml and 63 donors had blood group AB (9%) median value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 26.45 AU/ml. There were 69 donors that were previously hospitalized with mean value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 48.6 AU/ml, and 629 that were treated at home with mean value of SARS-CoV-2 SRBD IgG = 29.1 AU/ml ( $p<0.05$ ), of which 578 had symptoms with mean value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 29.1 AU/ml and 51 were asymptomatic with mean value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 29.3 AU/ml. The CCP donors had the following distribution according to the age: 125 donors in the 18–29 age group with median value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 23.0 AU/ml, 200 donors in the 30–39 age group with mean value of SARSCoV-2 S-RBD IgG = 28.2AU/ml, 217 donors in the 40–49 age group with mean value of SARS-CoV-2 SRBD IgG= 32.9 AU/ml and 156 donors in the 50–63 age group mean value of SARS-CoV-2 S-RBD IgG = 38.3 AU/ml ( $p<0.05$ ).

**Conclusions:** The collection procedures are safe and effective and collected CCP units were with high concentration and quality. The concentration of SARS-CoV-2 S-RBD IgG in CCP obtained from previously hospitalized patients was significantly larger than in ones that were treated at home. The concentration of SARS-CoV-2 S-RBD IgG was higher in advanced age group and in men. The further studies are needed to clarify the impact of different variables on antibodies concentration/titer in donors.

## KLINIČKE OSOBINE HOSPITALNO LIJEČENIH COVID-19 BOLESNIKA U PRVOM VALU PANDEMIJE

BRKIĆ N.<sup>1</sup>, Samardžija M.<sup>2</sup>, Bošnjak B.<sup>2</sup>, Perković D.<sup>2</sup>, Radin Major A.<sup>2</sup>, Brkić Barbarić D.<sup>2</sup>, Vidović S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Opća županijska bolnica Vinkovci

• Odjel za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Osijek

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod/cilj:** Virus Sars-CoV-2 identificiran je krajem 2019. godine kao uzročnik akutnog respiratornog distres sindroma. U literaturi su dostupni prikazi istraživanja koji opisuju tijek COVID-19 bolesti komplikiran trombotiskim događajima, radi čega je preporučeno pratiti parametre koagulacije i provoditi antikoagulantnu terapiju. CILJ ispitivanja je analizirati kliničke osobine i laboratorijske parametre COVID-19 bolesnika liječenih hospitalno u KBC Osijek u prvom valu pandemije.

**Ispitanici i metode:** U analizi su korišteni podaci 246 bolesnika dostupni iz medicinske dokumentacije Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek. Bolesnici su liječeni u KBC Osijek u razdoblju od 1. ožujka do 15. listopada 2020. godine. Prikupljeni su podaci o dobi, spolu, tjelesnoj masi, komorbiditetima, o vrsti i dozi tromboprofilakse, trajanju hospitalizacije, ishodu liječenja, te vrijednosti laboratorijskih parametara (hemoglobin, broj trombocita, urea, kreatinin, PV, APTV, fibrinogen, D-dimeri, CRP, IL-6, prokalcitonin, feritin, AST, ALT; GGT). Podaci su analizirani u MS Excelu.

**Rezultati:** Medijalna dob bolesnika je 68 godina. Najmlađi bolesnik imao je 26 godina, a najstariji 96 godina. U ispitivanom uzorku jednako su zastupljeni muškarci i žene. Medijalna tjelesna masa je 80 kg (raspon od 47 kg do 148 kg). Arterijsku hipertenziju imalo je 156 (63%) bolesnika, šećernu bolest 49 (20%) i fibrilaciju atrija 37 (15%) bolesnika. Neki oblik renalne insuficijencije zabilježen je kod 14 (6%) bolesnika.

Na prvom konziliarnom pregledu kod 120 (49%) bolesnika zabilježene su vrijednosti D-dimera <1000 ug/L. Vrijednosti D-dimera u rasponu od 1000 do 10 000 ug/L zabilježene su kod 92 (37%) bolesnika. Izrazito visoke vrijednosti D-dimera zabilježene su kod 12 (5%) bolesnika.

Teži klinički tijek komplikiran pneumonijom imala su 182 (74%) bolesnika, a respiratornu insuficijenciju 54 (22%) bolesnika. Novonastala tromboza zabilježena je kod 6 (2%) bolesnika. Medijalni broj dana hospitalizacije je 10 dana. Najkraća hospitalizacija trajala je 1 dan, a najduža 100 dana. Smrtni ishod nastupio je kod 65 (26%) bolesnika, a za 19 (8%) bolesnika ishod je nepoznat jer su premješteni u drugu ustanovu na nastavak liječenja. Medijalna dob preminulih bolesnika je 72 godine (raspon od 46 do 88 godina). Većina bolesnika se oporavila.

Kod prvog konziliarnog pregleda bolesnicima je preporučena tromboprofilaksa niskomolekularnim heparinom. U Tablici 1. prikazane su sheme preporučene antikoagulantne terapije prema razdoblju u kojem je bolesnik hospitalno liječen.

TABLICA 1. PRIKAZ MODA SHEME ANTIKOAGULANTNE TERAPIJE PREMA BROJU BOLESNIKA LIJEČENIH U ODREĐENOM MJESECU

Mjesec hospitalizacije	Broj bolesnika	Mod doze NMH
Ožujak	2	0,5mg/kg 1x dnevno
Travanj	11	0,5mg/kg 1x dnevno
Svibanj	3	0,5mg/kg 1x dnevno
Lipanj	11	0,5mg/kg 1x dnevno
Srpanj	38	0,75mg/kg 1x dnevno
Kolovoz	15	0,75mg/kg 1x dnevno
Rujan	34	0,75mg/kg 1x dnevno
Listopad	132	0,75mg/kg 1x dnevno

U Tablici 2. prikazan je ukupni broj bolesnika prema određenoj shemi antikoagulantne terapije.

**TABLICA 2. PRIKAZ SHEMA ANTIKOAGULANTNE TERAPIJE  
PREMA BROJU BOLESNIKA**

Doza NMH	Broj bolesnika
<0,5 mg/kg 1x dnevno	15
0,5 mg/kg 1x dnevno	71
0,5 mg/kg 2x dnevno	15
0,75 mg/kg 1x dnevno	91
0,75 mg/kg 2x dnevno	14
1 mg/kg 1x dnevno	18
1 mg/kg 2x dnevno	4

**Zaključak:** Obzirom da je istraživanje napravljeno presječnom metodom iz povijesnih podataka, nije ispitan utjecaj doze antikoagulantne terapije na tijek i ishod COVID-19. Broj zabilježenih trombotskih incidenata je niži nego u literaturi. Potrebna su prospektivna istraživanja utjecaja doze i vrste antikoagulantne terapije na tijek i ishod COVID-19.

## CHALLENGES IN BLOOD DONATION DURING COVID-19 PANDEMIC IN SLOVENIA

MALI P.<sup>1</sup>, Lamprecht N.<sup>1</sup>, Razboršek I.<sup>1</sup>, Stanišić S.<sup>1</sup>, Rahne Potokar U.<sup>1</sup>, Jež M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino (Blood Tranfusion Centre of Slovenia), Ljubljana, Slovenija

• Oddelek za preskrbo s krvjo

After World Health Organisation have declared COVID-19 pandemic at the beginning of March 2020, national response to such emergency is crucial at all levels of public life as well as in health care system. As in Slovenia blood transfusion service operates as partly fragmented blood service, the centralised and coordinated approach to provide sustainable blood supply was important. Lockdown policies, have been introduced, travel restrictions and fear among people for their safety and survival, had impact and influenced on blood donations and were omitting the every days life of blood trasfusion services. We were faced with special challenges to manage blood inventory, also have been obligated to provide safe environment for donors and staff. Even that significant reduction in blood needs due to redirected health care system to treat covid patients have been observed, shortly after first few days it was clear, that urgent, oncology and heamatology treatment as well as transplantation programmes were on-going. Blood transfusion services were forced to quickly adopt to new situation and to continue with blood supply for all patients in need. Traditional methods of promotions and motivations, invitation of donors to donate, social media communication have changed during the night, and donors accepted them well. Rapid adaptation has been successful because of responsiveness, understanding and trust of blood donors, which has been result and contribution of the 10 years iniciative » Donate Blood for Life«. The blood donors have accepted and understood the importance of their right donation at right time, so thus actively participate in regulating the blood supply and helped other patients with hyperimmune covid-19 plasma treatment.

Protective measures that were taken to provide safe environment in blood collection processes, prevention of reduction or even shortages of blood inventory as well as national programme to collect hyperimmune convalescent plasma will be presented.

Blood transfusion service would like to thank all blood donors who donate blood in crisis, also many thanks to all staff at blood transfusion services as well as Slovenia Red Cross, that all together makes that » Life flows on«.

## PRIKUPLJANJE I TRANSPLANTACIJA KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA U VRIJEME COVID-19 PANDEMIJE

HORVAT I.<sup>1</sup>, Bojanić I.<sup>1</sup>, Mazić S.<sup>1</sup>, Burnać I. L.<sup>1</sup>, Liker M.<sup>1</sup>, Duraković N.<sup>2</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup>KBC Zagreb

• Zavod za hematologiju

**Uvod:** Pandemija COVID-19 dovela je do izazova u liječenju bolesnika kojima je potrebna transplantacija krvotvornih matičnih stanica (KMS). Porastom broja oboljelih širom svijeta smanjena je dostupnost KMS zbog infekcije darivatelja, ograničenja u međunarodnom prometu koja su onemogućila redovitu dostavu pripravaka iz stranih registara, uz rizik od nedostupnosti novih darivatelja. Sukladno tome, početkom pandemije uveden je niz mjera u cilju zaštite darivatelja i bolesnika tijekom postupaka prikupljanja i transplantacije KMS kako bi se osigurala dostupnost transplantata na dan transplantacije i izbjeglo kondicioniranje bolesnika u slučaju njegove nedostupnosti. Sukladno preporukama European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) (1) i World Marrow Donor Association (WMDA) (2) i u našem centru su uvedene ove mjere.

**Cilj:** Prikazati utjecaj pandemije COVID-19 na prikupljanje i transplantaciju autolognih i alogeničnih KMS u KBC-u Zagreb.

**Metode:** Provedena je retrospektivna analiza podataka za razdoblje 01.03.2020.–30.06.2021. Podaci su prikupljeni iz bolničkog informacijskog sustava i sustava TCS te zapisnika sa Sastanaka Povjerenstva za liječenje transplantacijom KMS KBC-a Zagreb.

**Rezultati:** U KBC-u Zagreb provođene su mjere za smanjenje rizika infekcije za vrijeme pandemije COVID-19 sukladno međunarodnim, nacionalnim i bolničkim preporukama. Uvedeno je obavezno testiranje na SARS-CoV-2 svih darivatelja KMS i bolesnika prije početka mobilizacije, prikupljanja i liječenja, uz odgodu u slučaju COVID-19 infekcije. Sukladno preporukama WMDA-a i EBMT-a koristile su se prvenstveno KMS iz periferne krvi, osim u slučaju jake indikacije za primjenu koštane srži (KS). Također, svi pripravci alogeničnih KMS su prije početka kondicioniranja krioprezervirani kako bi se osigurala raspoloživost prema planu liječenja, a u slučaju korištenja svježih stanica trebalo je za pričuvu odabrati alternativnog darivatelja. U razdoblju 01.03.2020.–30.06.2021. u KBC-u Zagreb autologne periferne KMS su prikupljene za 127 bolesnika, kod kojih je tijekom 134 mobilizacija učinjeno 266 leukafereza. Kod 81,1% bolesnika je kasnije učinjena transplantacija KMS. COVID-19 utjecao je na prikupljanje ili transplantaciju KMS-a kod 10 (7,9%) bolesnika, od kojih je 6 (60%) kasnije transplantirano. Zbog COVID-19 infekcije prikupljanje je odgođeno kod 6 bolesnika, a kod 4 bolesnika morala je biti odgođena transplantacija KMS. U analiziranom periodu za potrebe transplantacijskog liječenja 136 bolesnika prikupljene su alogenične KMS od srodnih i nesrodnih darivatelja iz hrvatskog Registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica (RDD) i WMDA-a: 17 (12,5%) KS i 119 (87,5%) perifernih KMS (153 leukafereze). KS je prikupljena u 47,1% slučajeva od srodnih darivatelja, 23,5% darivatelja iz RDD-a i 29,4% iz WMDA-a te su svi pripravci transplantirani. Periferne KMS prikupljene su u 37,0% slučajeva od srodnih darivatelja, 50,4% nesrodnih darivatelja iz WMDA-a i 12,6% iz RDD-a. Od prikupljenih PBSC 85,7% ih je transplantirano. 17 bolesnika je transplantirano, ali s odgodom zbog COVID-19 infekcije darivatelja i/ili bolesnika prije ili nakon prikupljanja KMS. 13 bolesnika dobilo je COVID-19 tijekom traženja donora te nisu transplantirani, a u 2 slučaju prikupljene KMS nisu transplantirane zbog COVID-19 infekcije bolesnika. 16 bolesnika je transplantirano s perifernim KMS umjesto KS (13 srodnih, 2 WMDA, 1 RDD). Ukupno je zbog mjera COVID-19 pandemije 100 transplantata perifernih KMS bilo krioprezervirano u ukupno 540 kryo vrećica. Kod 9 bolesnika krioprezervirane KMS nisu infundirane zbog progresije bolesti, COVID-19 infekcije ili infektivnih i drugih kontraindikacija.

**Zaključak:** Pandemija COVID-19 nepovoljno je utjecala na prikupljanje i transplantaciju KMS, ishod liječenja bolesnika, te je donijela brojne organizacijske i logističke izazove u dostavi transplantata KMS iz vanjskih centara. Krioprezervacija alogeničnih KMS, koja je uvedena kao neophodna mjera kako bi se osigurala raspoloživost transplantata prije početka kondicioniranja, omogućila je uspješno transplantacijsko liječenje i u uvjetima COVID-19 pandemije, iako je nažalost praćena rizikom da neki od tih pripravaka kasnije ne budu infundirani, što izlaže darivatelje riziku nepotrebnog prikupljanja i povećava troškove liječenja.

### LITERATURA

- Coronavirus disease COVID-19: EBMT recommendations (<https://www.ebmt.org/covid-19-and-bmt>)
- WMDA Donor medical suitability recommendations (<https://share.wmda.info/>)

## PRIKAZ ISTRAŽIVANJA PRISUTNOSTI PROTUTIJELA NA SARS-COV-2

KNEŽEVIĆ J.<sup>1</sup>, STOJČIĆ O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SKB Mostar

• Transfuzijski centar

**Uvod:** Konvalescentnu plazmu mogu darivati osobe koje su preboljele COVID-19 koja je potvrđena RT-PCR testom, SARS-CoV-2 antigenskim testom i testom na SARS-CoV-2 protutijela, 28 dana od prestanka simptoma bolesti COVID-19, asimptomatske osobe kojima je COVID-19 potvrđen nekim od testova, 28 dana od datuma pozitivnog testa na SARS-CoV-2, osobe koje su preboljele COVID-19 i koje su primile su cjepivo protiv COVID-19 uvezvi u obzir odgodu darivanja nakon cjepljenja, osobe koje su tijekom liječenja bolesti COVID-19 primile konvalescentnu plazmu, moraju ispunjavati sve kriterije za davanje pune krvi i krvnih sastojaka, uključujući odgodu od 4 mjeseca od datuma transfuzije (primanja konvalescentne plazme). Plazma ovih osoba (engl. COVID-19 Convalescent Plasma, CCP) primjenjuje se oboljelima od COVID-19. U tijeku su klinička ispitivanja koja provjeravaju uspješnost ove terapije. CCP je namijenjena liječenju hospitaliziranih pacijenata sa COVID-19. Liječnici vode izvješća o stanju produkata, doziranju, primjeni i skladištenju, kao i evidenciju o primjenjenim jedinicama.

Davatelji CCP su humani i hrabri dobrovoljci oporavljeni od COVID 19, od kojih se postupkom plazmafereze prikupljaju antitijela u plazmi. Velika većina je već nakon 2–3 tjedna od infekcije stvorila antitijela na virus. Moraju imati potvrđenu infekciju virusom SARS-CoV-2 (bilo PCR pozitivnost brisa nazofarinks ili pozitivan brzi antigenski test), moraju biti najmanje 21 dan bez simptoma i ispunjavati standardne uvjete davatelja krvi. Rezultat serološkog testa na IgG antitijela mora im biti pozitivan, a titar (količina) neutralizirajući antitijela zadovoljavajuća. Konvalescentnu plazmu ne mogu darivati osobe koje su primile cjepivo protiv COVID-19, a nisu preboljele COVID-19.

**Cilj:** Ispitati prisutnost antitijela na SARS-CoV-2 kod dobrovoljnih davatelja krvi u Transfuzijskom centru SKB Mostar.

**Metoda i materijali:** Za prikaz rezultata korišteni su Liason testovi na SARS – COV 19 kod davatelja krvi koji su naveli da su prebojili COVID 19. Rezultati obrađeni u excel programu.

**Rezultati:** U periodu od 01.01.2021.–30.06.2021. u našem centru je bilo 5372 davatelja krvi, od toga njih 773 ili 14% navodi da je preboljelo COVID 19. Od 773 preboljenih slučajnim uzorkom njih 290 ili 37 % je testirano na protutijela SARS-CoV-2, od toga njih 194 ili 71 % je imalo pozitivan rezultat gdje je titar protutijela veći od 15.

**Zaključak:** Davatelji CCP su humani i hrabri dobrovoljci oporavljeni od COVID 19, od kojih se postupkom plazmafereze prikupljaju antitijela u plazmi. Velika većina je već nakon 2–3 tjedna od infekcije stvorila antitijela na virus. Moraju imati potvrđenu infekciju virusom SARS-CoV-2 (bilo PCR pozitivnost brisa nazofarinks ili pozitivan brzi antigenski test), moraju biti najmanje 21 dan bez simptoma i ispunjavati standardne uvjete davatelja krvi. Rezultat serološkog testa na IgG antitijela mora im biti pozitivan, a titar (količina) neutralizirajući antitijela zadovoljavajuća. Iz priloženih rezultata je vidljivo da je occa 70 % darivatelja slučajnim uzorkom preboljelo Covid 19. Pretpostavka je da će se u narednom periodu (do kraja 2021 god) ovaj broj preboljenih darivatelja krvi se povećati do 85 %, u ovu kalkulaciju su uračunati i oni koji su cijepljeni.

## DISTRIBUCIJA KRVNIH GRUPA U POPULACIJI DOBROVOLJNIH DAVALACA KOD KOJIH SU DETEKTOVANA ANTITJELA SARSCOV-2 IgG

ČATOVIĆ-BARALIJA E.<sup>1</sup>, Ljuca A.<sup>1</sup>, Mehić K.<sup>1</sup>, Đozo A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zavod za transfuzijsku medicinu FBiH

• Odsjek za testiranje na krvlju prenosive bolesti

**Uvod:** Prvi slučaj COVID-19 u Bosni i Hercegovini (BiH) je evidentiran u Martu 2020 [1]. Različite studije sugeriraju da bi ABO krvne grupe mogle igrati ulogu u infekciji. Globalno, studije su pokazale oprečne rezultate u vezi povezanosti krvnih grupa s SARS CoV-2 infekcijom. U našoj studiji smo željeli prikazati distribuciju krvnih grupa u populaciji dobrovoljnih davalaca kod kojih su detektovana antitjela SarsCoV IgG

**Metode:** Ovo je osmišljeno kao retrospektivna kohortna studija, gdje se analiziralo prisustvo antitjela na SarsCoV-2 IgG u odnosu na krvnu grupu davalaca kod kojih su detektovana.

Između 2. novembra i 7. decembra 2020. godine, svi davatelji krvi koji su posjetili Zavod za transfuzijsku medicinu FBiH pozvani su da učestvuju u istraživanju. Nisu uključeni oni koji imaju simptome COVID-19 ili su imali kontakt sa potvrđenim slučajem COVID-19 u roku od 14 dana prije donacije. Učesnici su ispunili upitnik o demografskim, kliničkim i podacima o izloženosti COVID-19. Prilikom donacije iz predonacijske vrećice izuzeta dva uzorka u epruvetu sa EDT-a antikoagulansom za testiranje krvne grupe i prisustva antitijela na SarsCoV-2 u plazmi. U studiji su korišteni reagensi Abbot Laboratories SARS-CoV-2 IgG na aparatu ARCHI-TECT i2000sr. Indeks (S/C)  $\geq 1,4$  pokazao je da je uzorak pozitivan na antitijela na SARS-CoV-2. Testiranje krvne grupe je određena metodom aglutinacije na mikropločama za ABO/RhD DiaMed-MP Test, Biorad.

**Rezultati:** Istraživanjem je obuhvaćen uzorak od 1015 osoba u dobi od 18 do 65 godina koji su donirali krv u razdoblju od 2.11. do 7.12.2020. godine. U ovom uzorku identifikovane su 194 osoba koje su bile u kontaktu sa virusom Covida. Prema dobnoj strukturi, osobe od 18–29 godina činile su 33,6%, od 30 do 39 godina 31,5%, od 40–49 godina 20,3%, od 50–59 godina 11,4% i od 60–65 godina 3,2%. Prema spolnoj strukturi, ispitanici muškog spola činili su 73,9% i ženskog spola 26,1%. Od 194 osobe kod kojih su utvrđena antitijela, 95 (48,9%) osoba navodi da nije imalo simptome COVID-19. Zbog simptoma COVID-19, medicinsku pomoć je tražilo 11,9% ispitanika, od kojih je 1% bilo hospitaliziran i svi su bili krvne grupe O. Treba uzeti u obzir da su osobe do 40 godina, među kojima se inače bilježe blaži oblici bolesti, činile dviye trećine ispitanika. Na ispitivanom uzorku kod osoba sa pozitivnim testom na SarsCoV-2 antitijela, 41,5% je bilo krvne grupe A, a 28% krvne grupe O. Naveći broj ispitanika kod kojih su detektovana anti SarsCov2 antitijela, a koji su prijavili u anketi kontakt sa Covid-19 pozitivnom osobom, zadnjih 9 mjeseci, bilo je O krvne grupe, njih 21,8%. Prema upitniku 38 ispitanika je izjavilo da je imalo potvrđen Covid-19 i to krvne grupe AB 31,8%, O 23,6%, krvne grupe A 17,5% i B 10,8%. Gotovo polovina ispitanika svih krvnih grupa je navelo neke od simptoma u zadnjih 9 mjeseci(bolove u mišićima, grlobolju, curenje nosa, povišenu temperaturu, kašalj, kratkoču dah, gubitak mirisa i okusa).

**Raspisava:** U našoj studiji najviše ispitanika kod kojih su detektovana antitijela je bilo A krvne grupe, ali neочекano je bio rezultat za O krvnu grupu koja po učetalosti kod nas ide odmah iza A krvne grupe. Najzastupljenije krvne grupe u našoj populaciji davalaca su A i O, pa je to moglo rezultirati povećanim brojem detektovanih anti SarsCoV2 IgG antitijela među tim grupama, tako da rezultate treba tumačiti sa oprezom. Nisu uočene razlike u pogledu prezentacije simptoma među različitim krvnim grupama, ali je uočeno da su kod ispitanika sa AB krvnom grupom njih čak 31,8% imalo potvrđen pozitivan nalaz na Covid-19. Prema dosadašnjim studijama povezanost između krvnih grupa i zaraženih pojedinaca nije sigurna, a nagada se da nosioci krvnih grupa koji nisu O, od Covid-19 su u većem riziku od infekcije.

Krvna grupa					
Characteristic	Ukupan broj 194	A n=80(41)	B n=37(18.9)	AB n= 22(11.2)	O n= 55(28.2)
Mediana age, years	36 (18–66)	36(18–60)	36(19–53)	36(22–62)	36(19–62)
Age group, years 18–29 30–39 40–49 50–59 >60	70 58 42 20 5	27 (38.5) 27 (46.5) 15 (35.7) 9 (45.0) 2(60.0)	15 (21.4) 11 (18.9) 8 (19.0) 3 (15.0)	6 (8.5) 8 (13.7) 6 (14.2) 1 (1.5) 1 (20.0)	22 (31.4) 12 (20.6) 13 (30.9) 7 (35.0) 1 (20.0)
<b>Gender</b>					
Femal	38 (19.6)	16 (42.1)	9 (23.7)	4 (10.5)	9 (23.6)
Male	156 (80.4)	64 (41)	28 (17.9)	18 (11.5)	46 (29.5)
Contact with suspected or confirmed case of COVID-19 in the last 9 months		8 (10%)	7 (18.9%)	2 (9%)	12 (21.8%)
Diagnosed with COVID-19 in the last 9 months		14 (17.5%)	4 (10.8%)	7 (31.8%)	13 (23.6%)
Symptomatic in the last 9 months		40 (50%)	20 (54%)	10 (45.4%)	28 (50.9%)
Sought medical attention due to symptoms		10 (12.5%)	5 (13.5%)	2 (9%)	6 (10.9%)
Hospitalized					
No	192				
Yes	2				2

**Stanična terapija****APHERESIS COLLECTION OF PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS IN HEMATOLOGICAL PATIENTS AND HEALTHY DONORS – 21 YEARS OF EXPERIENCE**GRUBOVIC RASTVORCEVA R.<sup>1,2</sup>, Useini S.<sup>1</sup>, Petkovikj E.<sup>1</sup><sup>1</sup>Institute for Transfusion Medicine of RNM

• Skopje, N. Macedonia

<sup>2</sup>University Goce Delcev

• Faculty of Medical Sciences

**Background:** Peripheral blood stem cells (PBSC) are the preferred cell source for 99% autologous and 79% of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation SCT. Properly mobilized and harvested PBSC at the appropriate time before (SCT) is prerequisite for a successful transplantation.

**Aim:** The aim of our study is to present our experience in apheresis collection of autologous and allogeneic PBSC in hematological patients and healthy donors.

**Methods:** This is a retrospective study performed in the Institute for Transfusion Medicine of Republic of North Macedonia and University Hematology Hospital between 2000 and 2021 in patients and healthy donors. PBSC harvesting was performed with continuous flow cell separator Baxter C53000, COBE Spectra and Terumo BCT Spectra Optia using conventional-volume apheresis processing 2 – 2.5 total blood volumes per apheresis. Mobilization regimens included granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) alone in healthy donors, and G-CSF alone or combination of G-CSF and disease-specific chemotherapy in patients. Minimum dose required to ensure successful and sustained engraftment was  $2 \times 10^6/\text{kg}$  CD34+ cells and/or  $2 \times 10^8/\text{kg}$  mononuclear cells (MNC).

**Results:** There were 953 apheresis procedures in total, of which 771 performed (81%) in 428 hematologic patients (aged 16–65), and 182 procedures (19%) in 118 healthy sibling donors (aged 16–63). Sufficient number of PBSC was collected with 1.8 apheresis in patients (range 1–5), and 1.5 apheresis in donors (range 1–3). The single procedure usually took 3–4 hours and the volume of collected stem cells was 50–400 ml. The tolerance of apheresis procedure in our patients and donors was good. The only adverse effects of the apheresis procedure were bone pain as reaction of G-CSF and numbness of the extremities as reaction of anticoagulant (hypocalcemia), which occur rarely and were very mild. The main indications for autologous SCT in our patients were: multiple myeloma – 213 (50%), acute myeloid leukemia – 83 (19%), Hodgkin disease – 59 (14%), non-Hodgkin lymphoma – 58 (13%) and acute lymphoblastic leukemia – 11 (3%); and acute myeloid leukemia – 65 (55%), acute lymphoblastic leukemia – 17 (14%), chronic myeloid leukemia – 9 (8%), aplastic anemia – 7 (6%) and myeloproliferative disorders – 6 (5%), myelofibrosis – 5 (4.2%), N. Hodgkin lymphoma – 4 (3.5%) in allogeneic SCT. We had 4 unrelated voluntary donors who donated through World Donor Marrow Association registry.

**Conclusion:** The apheresis collection of PBSC is safe and efficient procedure. An adequate hematopoietic stem cell collection is fundamental for the success of the stem cell transplantation.

**PRIKUPLJANJE I KRIOPREZERVACIJA AUTOLOGNIH MONONUKLEARNIH STANICA IZ PERIFERNE KRVI ZA POTREBE PROIZVODNJE CAR-T STANICA**BOJANIĆ I.<sup>1</sup>, Mazić S.<sup>1</sup>, Burnać I. L.<sup>1</sup>, Rimac V.<sup>1</sup>, Gojčeta K.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>, Bilić E.<sup>3</sup>, Aurer I.<sup>2</sup><sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti

<sup>3</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za hematologiju i onkologiju Klinike za dječje bolesti

**Uvod:** Transplantacija ex-vivo modificiranih autolognih T limfocita, tzv. CAR-T stanica (eng. chimeric antigen receptor) usmjerenih protiv CD19 antiga je nova metoda liječenja koja je za sada registrirana za liječenje pacijenata s relapsnom ili refraktornom akutnom limfatičkom leukemijom (ALL) i difuznim B-velikostaničnim

limfomom (DLBCL). Prvi korak u proizvodnji CAR-T stanica je prikupljanje mononuklearnih stanica (MNS) postupkom leukaferese. Krioprezervacija MNS-a omičuje njihov transport do proizvodnog centra. Iz pripravka leukaferese se izoliraju T limfociti kojima se ex vivo, koristeći virusne vektore, transfečira receptor koji prepoznaje CD19 antigen. Tako modificirani T limfociti prepoznaju i uništavaju stanice koje na svojoj površini imaju CD19 antigen. CAR-T stanice se zatim ex vivo umnože, krioprezerviraju i transportiraju u transplantacijski centar. Odmrznute stanice se reinfundiraju nakon limfoablativnog kondicioniranja. Od prosinca 2019. godine u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju prikupljaju se MNS za proizvodnju tisagenleukela (Kymriah, Novartis) za potrebe liječenja pacijenata Zavoda za hematologiju Klinike za unutrašnje bolesti i Zavoda za hematologiju i onkologiju Klinike za dječje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

**Cilj:** Prikazati rezultate prikupljanja i krioprezervacije MNS-a za potrebe proizvodnje CAR-T stanica u KBC-u Zagreb.

**Metode:** Tim za liječenje CAR-T stanicama KBC-a Zagreb upućuje pacijente koji ispunjavaju kriterije za liječenje CAR-T stanicama na leukaferetu. Nemobilizirane MNS se prikupljaju CMNC procedurom staničnim separatorom Spectra Optia. Cilj je prikupiti  $TNC \geq 2 \times 10^9$ ,  $CD3+ \text{ limfocite} \geq 1 \times 10^9$  uz  $\geq 3\% CD3+ \text{ limfocita}$  u pripravku leukaferete. Nakon prikupljanja kontrolira se kvaliteta pripravka leukaferete, stanice se krioprezerviraju i pohranjuju do transporta. Krioprezervirane MNS se transportiraju u pogon za proizvodnju, a gotove CAR-T stanice se vraćaju krioprezervirane u KBC Zagreb i na raspolaganju su za liječenje pacijenata.

**Rezultati:** U razdoblju od prosinca 2019. do rujna 2020. prikupljene su MNS za proizvodnju CAR-T stanica za 20 pacijenata s DLBCL i 3 pacijenta s ALL. Medijan dobi pacijenata bio je 53 godine (raspon 5–71). Venski pristup je kod 11 pacijenata ostvaren putem perifernih vena, a kod 12 pacijenata korišten je centralni venski kateter. Ukupan volumen krvi obrađen je od 1,5 do 3 puta (medijan 2). Samo su kod jedne pacijentice (4,3%) učinjene dvije leukaferete, dok je kod svih ostalih pacijenata jednim postupkom prikupljen dovoljan broj stanica: medijan  $TNC 9,1 \times 10^9$  (raspon 7,2–26,8),  $CD3+ \text{ stanica} 4,1 \times 10^9$  (raspon 1,2–11,1) uz postotak  $CD3+ \text{ stanica} 40,4\%$  (raspon 12,4–65,8). Medijan učinkovitost prikupljanja MNS-a bio je 23,1% (2,5–31,9), što je značajno manje nego kod prikupljanja limfocita zdravih darivatelja, a prvi put je izračunata učinkovitost prikupljanja  $CD3+ \text{ stanica}$ : medijan 42,2% (raspon 18,9–53,5). Kod dva pacijenta je zbog zgrušavanja krvi tijekom prikupljanja uz standardnu antikoagulantnu otopinu citrata ACD-A trebalo dodati i heparin u dozi 6 i.j./mL ACD-A. Od neželjenih reakcija samo su se u jednog pacijenta javili simptomi hipokalcemije. Svi prikupljeni pripravci su uspješno krioprezervirani: medijan vijabilnosti  $CD3+7AAD-$  stanica bio je 97,5%, (raspon 43–100) uz preživljene  $CD3+ \text{ stanica}$  od 78,9% (raspon 34,8–106,4). Do sada je 17 pripravaka poslano u proizvodni pogon gdje su uspješno proizvedeni pripravci CAR-T stanica sa zadovoljavajućim brojem stanica: medijan CAR-T stanica  $3,2 \times 10^8$  (raspon 1,3–5,9).

**Zaključak:** Prikupljanje autolognih nemobiliziranih mononuklearnih stanica za potrebe proizvodnje CAR-T stanica predstavlja izazov jer je riječ o pacijentima s aktivnom bolesti koji su prethodno primili veliki broj kemo-terapijskih ciklusa ili su čak transplantirani pa stoga imaju smanjeni broj limfocita u perifernoj krvi. Postupak leukaferete je sigurna i učinkovita metoda koja omogućuje prikupljanje dovoljnog broja stanica u odraslih i pedijatrijskih pacijenata, iako je u nekoliko slučajeva zbog hiperkoagulabilnosti morao biti modificiran standarni postupak. Krioprezervacija MNS-a omogućuje fleksibilnost u zakazivanju leukaferete u odnosu na početak proizvodnje CAR-T-a, ali zahtjeva optimizaciju i validaciju postupka kako bi se osigurala kvaliteta ishodišnog proizvoda za proizvodnju CAR-T stanica i u konačnici pozitivan klinički ishodi liječenja.

## VALIDACIJA I PROVEDBA PERIODIČKE PROVJERE METODE ZA ODREĐIVANJE CD34+ STANICA NA PROTOČNOM CITOMETRU

RIMAC V.<sup>1</sup>, Bojanic I.<sup>1</sup>, Gojčeta K.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Prema dobroj laboratorijskoj praksi i zahtjevu akreditacijske norme ISO 15189, svaki laboratorij dužan je prije uvođenja u svakodnevni rad provesti validaciju metode, a zatim je periodički provjeravati, najčešće uključivanjem u program procjene kvalitete vanjskog, neovisnog provoditelja. Kvaliteta pripravaka krvotvornih matičnih stanica (KMS) se određuje protočnom citometrijom analizom broja živih CD34.

Ciljevi rada su prikazati validaciju metode za određivanje biljega CD34, značajnost provedbe periodične provjere metode na protočnom citometru, te ispitati stabilnost uzoraka pripravka leukafereze.

**Materijali i metode:** Istraživanje je provedeno u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od svibnja do lipnja 2019.godine. Validacija je uključivala određivanje preciznosti iz dana u dan, preciznost u seriji, ispitivanje netočnosti i linearност metode te ispitivanje stabilnost uzoraka leukafereze, a provedena je na protočnom citometru BD FACSCanto II (BD Biosciences, San Jose, California). Modificirani ISHAGE protokol korišten je za akviziciju i analizu uzoraka na programu FACSDiva (verzija 8.0.1). Epruvete s fluorescentnim mikrokuglicama korištene su za istovremeno određivanje postotka i apsolutnog broja CD34+ stanica (engl.single platform method), a boja 7-aminoaktinomycin D za određivanje živih CD34+ stanica.

Uzorci za analizu pripremljeni su prema uputama proizvođača reagensa (BD Biosciences, San Jose, California).

Za preciznosti iz dana u dan korišteni su komercijalni kontrolni uzorci (BD Stem Cell Control Kit, BD Biosciences) koji su analizirani u triplikatu kroz 5 dana. Za preciznost u seriji korištena su dva uzorka s visokim i niskim brojem CD34+ stanica koji su analizirani 10 puta zaredom: uzorak pripravka leukafereze sa 1,37%, odnosno  $1994 \times 10^6/L$  CD34+ stanica i periferna krv sa 0,07%, odnosno  $23 \times 10^6/L$  CD34+ stanica. Netočnost je izračunata iz rezultata preciznosti iz dana u dan.

Za određivanje linearnosti metode korišten je uzorak periferne krvi s niskim brojem CD34+ stanica (0,01%, odnosno  $1 \times 10^6/L$  CD34+ stanica), te uzorak pripravka leukafereze s visokim brojem stanica (1,40%, odnosno  $2812 \times 10^6/L$  CD34+ stanica), a razrjeđenja su analizirana u duplikatu prema unaprijed definiranom protokolu.

Za studiju stabilnosti korišteno je 10 uzoraka pripravaka leukafereze koji su analizirani neposredno nakon završetka prikupljanja stanica. Nakon analize svježeg uzorka, ostatak je pohranjen u hladnjaku na  $4^{\circ}C$  te ponovno obilježen i analiziran nakon 24 sata.

Periodički je napravljena provjera metode sudjelovanjem u programu vanjske procjene kvalitete UK NEQAS. U razdoblju od 1.7.2019. do 30.06.2021.analizirana su 24 uzorka (12 ciklusa s po 2 uzorka).

Statistička analiza podataka provedena je korištenjem programa MedCalc (MedCalc, Ostend, Belgium). Za linearnost metode izračunato je odstupanje između izmjerjenih i očekivanih vrijednosti, dok je za studiju stabilnosti korišten t-test (p<0,05 je statistički značajna razlika). Rezultati studije preciznosti i netočnost prikazani su koeficijentom varijacije (KV), a rezultati periodičke procjene metode kao postotak zadovoljenih kriterija postavljenih od organizatora provedbe procjene kvalitete.

Rezultati: Kod ispitivanja preciznosti i netočnosti KV su bili manji od 10%, osim za preciznost u seriji za kontrolni uzorak niske razine (KV 10,8% za apsolutni broj CD34+ stanica, a 10,7% za % CD34+ stanica), što se može pripisati statistici malih brojeva, i odstupanje nije klinički značajno. U ispitivanju linearnosti netočnost je bila za sva mjerena manja od 20%, što ukazuje na dobру linearost metode. Analiza stabilnosti uzoraka provedena usporedbom rezultata iz svježih i uzoraka koji su bili pohranjeni 24 sata na  $4^{\circ}C$ , pokazala je da nema statistički značajnih odstupanja ni za postotak CD34+ stanica (p=0,933), kao ni za apsolutni broj (p=0,451).

U navedenom razdoblju rezultati analiziranih uzoraka vanjske procjene kontrole kvalitete pokazali su 100% podudarnost s postavljenim kriterijima (24/24).

**Zaključak:** Validacija metode za određivanje broja živih CD34+ stanica zadovoljila je sve postavljene kriterije, a rezultati provedbe vanjske procjene kvalitete ukazuju na točnost i preciznost mjerena CD34+ stanica u svakodnevnom radu. Uzorci leukafereze stabilni su 24 sata pohranjeni na  $4^{\circ}C$ , bez značajnije promjene broja živih CD34+ stanica.

## PROGRAM TERAPIJSKE ERITROCITAFEREZE U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU ZAGREB

BURNAĆ I. L.<sup>1</sup>, Bojanić I.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Mazić S.<sup>1</sup>, Horvat E.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Uz venepunkciju, standardna metoda liječenja policitemija i hemokromatoze, je i terapijska eritrocitafereza (ECF) kojom se automatiziranim postupkom staničnim separatorom odstranjuje veća količina koncentriranih eritrocita iz cirkulacije pacijenta i smanjuje vrijednost hematokrita uz normovolemijsku hemodiluciju.

**Cilj:** Prikazati program terapijske ECF u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, analizirati učinkovitost cito-redukcije, te usporediti rad dvaju staničnih separatora.

**Metode:** Retrospektivno istraživanje provedeno je u 125 pacijenata, 103 (82,4%) muškog i 22 (17,6%) ženskog spola; medijana dobi 55 godina (raspon 21–79) kod kojih je u razdoblju od 2001. do 2021. godine proveden ukupno 1731 postupak ECF. Od 2001. koristi se stanični separator Haemonetics MSC+ (TEA postupak) s diskontinuiranim protokom koji omogućuje venski pristup putem samo jedne vene, a od 2017. godine i Spectra Optia (RBCX postupak) s kontinuiranim protokom i venskim pristupom putem dvije vene. Oba stanična separatora koriste antikoagulantnu otopinu citrata ACD-A, a za nadoknadu volumena fiziološku otopinu (F.O.).

U 442 postupka, učinjena sustavom Haemonetics, kompletna krvna slika (KKS) bila je određena neposredno prije i nakon postupka, a analizirana su i obilježja postupka afereze.

Uvođenjem u rad sustava SpectraOptia učinjena je validacija postupka i obilježja su uspoređena s Haemoneticsom. Analizirana su ukupno 42 postupka, 21 na Haemoneticsu i 21 na SpectraOptia-i, u 15 pacijenata kojima je ECF odraćena na oba stanična separatora. Sva obilježja izražena su kao srednja vrijednost i standardna devijacija ( $x \pm SD$ ).

**Rezultati:** Od ukupno 1731 postupka, 1634 (94,4%) provedeno je sustavom Haemonetics, a 97 (5,6%) sustavom SpectraOptia. Medijan broja postupaka po pacijentu bio je 10 (1–63), trajanje liječenja u 12 pacijenata bilo je kraće od 1 godine, do maksimalnog trajanja od 20 godina (medijan 5 godina). Pacijenti su najčešće liječeni ECF-om zbog hemokromatoze ( $n=59$ , 47,2%) i primarne policitemije ( $n=53$ , 42,4%) nakon čega slijede pacijenti liječeni zbog sekundarne policitemije ( $n=9$ , 7,2%), hemosideroze ( $n=1$ , 0,8%), idiopatske trombocitopenije ( $n=1$ , 0,8%), osteomijelofibroze ( $n=1$ , 0,8%), te aceruloplazminemije ( $n=1$ , 0,8%).

U tablici 1. prikazana su obilježja ukupno 442 postupka ECF učinjena staničnim separatorom Haemonetics u 59 pacijenata. Vrijednosti hemoglobina (Hgb) i hematokrita (Htc) statistički značajno su smanjene nakon ECF. Tijekom ECF javile su se 3 (0,68%) vazovagalne reakcije bez gubitka svijesti, a u 4 (0,91%) navrata postupak je prekinut (3 puta zbog kvara aparata, 1 zbog pucanja vene).

TABLICA 1. LABORATORIJSKE VRJEDNOSTI I OBILJEŽJA POSTUPAKA NA STANIČNOM SEPARATORU HAEMONETICS MSC+

	Haemonetics (n=442)
Hgb prije ECF (g/L)*	154,49 ± 15,20
Htc prije ECF (L/L)*	46,83 ± 4,74
Hgb nakon ECF (g/L)*	125,67 ± 16,06
Htc nakon ECF (L/L)*	38,09 ± 5,49
Smanjenje Hgb (%)*	18,69
Smanjenje Htc (%)*	18,73
Obrađeni volumen krvi (mL)*	1017 ± 110
Volumen antikoagulansa (mL)*	62 ± 10
Volumen fiziološke otopine (mL)*	400 ± 0
Volumen prikupljenih eritrocita (mL)*	442 ± 0
Trajanje procedure (min)*	37 ± 5

\* $x \pm SD$

U tablici 2. prikazane su laboratorijske vrijednosti i obilježja 42 postupka koji uspoređuju rad oba stanična separatora. Kod svakog pacijenta učinjene su dvije ECF, jedna na Hemoneticsu, a druga na Spectra Optia-i uz prijedonacijske vrijednosti Hgb i Htc koje se nisu statistički značajno razlikovale.

**Zaključak:** ECF je učinkovita i sigurna metoda cito-redukcije. Iako je učinak cito-redukcije veći nego

TABLICA 2. USPOREDBA LABORATORIJSKIH VRJEDNOSTI I OBILJEŽJA POSTUPKA IZMEĐU SEPARATORA HAEMONETICS I SPECTRAOPTIA

	SpectraOptia (n=21)	Haemonetics (n=21)	p **
Hgb prije ECF (g/L)*	151,3 ± 11,6	151,7 ± 11,5	0,676
Htc prije ECF (L/L)*	0,45 ± 0,03	0,45 ± 0,03	0,373
Hgb nakon ECF (g/L)*	131,1 ± 11,6	120,2 ± 13,2	< 0,001
Htc nakon ECF (L/L)*	0,39 ± 0,03	0,35 ± 0,03	< 0,001
Smanjenje Hgb (%)*	13,4 ± 2,0	20,9 ± 3,3	< 0,001
Smanjenje Htc (%)*	14,3 ± 2,5	22,2 ± 3,6	< 0,001
Obrađeni volumen krvi (mL)*	913,1 ± 55,4	1068 ± 68,5	< 0,001
Volumen antikoagulansa (mL)*	70,5 ± 4,4	74,1 ± 4,0	0,01
Volumen fiziološke otopine (mL)*	432,5 ± 33,6	400 ± 0	0,209
Volumen prikupljenih eritrocita (mL)*	494,3 ± 36,6	442,0 ± 0	< 0,001
Trajanje procedure (min)*	19,1 ± 3,9	37,0 ± 3,9	< 0,001

\* $x \pm SD$ ; \*\*t-test

kod venepunkcije, postupak ECF ograničen je na pacijente s dobrim venskim pristupom, bez kardiovaskularnih i neuroloških komorbiditeta.

Usporedba staničnih separatora pokazala je kako je smanjenje Hgb i Htc statistički značajno veće postupkom na Haemoneticsu. Dodatna prednost Haemoneticsa je venski pristup putem samo jedne vene čemu je većina pacijenata sklonija. Postupak ECF značajno kraće traje na separatoru Spectra Optia, a zbog venskog pristupa putem dvije vene tijekom cijelog postupka održava se normovolemija.

Iako je trošak ECF veći u odnosu na venepunkciju, učinkovitija citoredukcija koja sveukupno smanjuje potrebu za učestalim eritrocitaferezama i produžuje interval između postupaka, opravdava terapijsku primjenu ECF u mlađih, radno aktivnih pacijenata.

## **EKSTRAKORPORALNA FOTOFEREZA U LIJEČENJU ODBACIVANJA TRANSPLANTATA SRCA U KBC ZAGREB**

BURNAĆ I. L.<sup>1</sup>, Bojanić I.<sup>1</sup>, Mazić S.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Ekstrakorporalna fotofereza (engl. extracorporeal photopheresis, ECP) vrsta je imunomodulatorne stanične terapije čiji se učinak ostvaruje djelovanjem na vlastite mononuklearne stanice (MNS). Modulacija imunog odgovora ostvaruje se apoptozom T limfocita, aktivacijom monocita u dendritičke stanice, modulacijom citokinskog profila i stimulacijom T-regulatornih limfocita. Međutim, točan mehanizam djelovanja ECP još uvijek je nepoznat.

Prvi korak u ECP je prikupljanje produkta MNS-a staničnim separatorom postupkom leukafereze. Slijedi i dodavanje 8-methoxypсоралена i izlaganje stanica djelovanju UV-A zraka, a zadnji korak je reinfuzija ozračenih stanica pacijentu.

Učinkovitost ECP dokazana je kod pacijenata s kožnim oblikom T staničnog limfoma (CTCL), reakcije transplantata protiv primatelja (GVHD) nakon transplantacije alogeničnih krvotornih matičnih stanica (KMS), ali i kod odbacivanja transplantata solidnih organa. Prva transplantacija srca u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Zagreb učinjena je 1988.godine, a od 2015.godine u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju primjenjuje se ECP u liječenju odbacivanju transplantata srca.

**Cilj:** Prikazati program terapijske primjene ECP u pacijenata s humoralnim odbacivanjem transplantiranog srca u KBC Zagreb.

**Metode:** U Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb ECP provodi se „off-line“ metodom. MNS se prikupljaju staničnim separatorom SpectraOptia. U čistom prostoru Odjela za prikupljanje i pohranu stanica pripravak se razrjeđuje fiziološkom otopinom i dodaje se psoralen (Uvadex). Pripravak stanica se ozračuje u uređaju za UV-A zračenje (Macogenic2-Macopharma) i potom reinfundira pacijentu.

U pacijenata s početnim odbacivanjem solidnih organa, prvih 6 ciklusa ECP provode se svaki drugi tjedan, pri čemu svaki ciklus obuhvaća 2 postupka ECP kroz 2 uzastopna dana. Zatim slijedi reevaluacija stanja pacijenta, pa nastavak još 6 ciklusa po prethodnoj shemi ili se nastavlja terapija održavanja kroz 12 tjedana po jedan ciklus mjesечно. Sva obilježja izražena su kao medijan i raspon.

**Rezultati:** U razdoblju od ožujka 2015. do kolovoza 2021. u program terapijske ECP uključeno je ukupno 6 pacijenata Klinike za bolesti srca i krvnih žila, 5 (83,3%) muškog i 1 (16,7%) ženskog spola, s humoralnim odbacivanjem transplantiranog srca. Medijan dobi pacijenata bio je 46 godina (raspon 26–91). Ukupno su provedena 202 postupka ECP s medijanom od 31 postupka po pacijentu (raspon 22–48). Liječenje ECP započeto je od 9 do 72 mjeseca nakon transplantacije (medijan 59 mjeseci). Medijan trajanja liječenja postupkom ECP iznosio je 14 mjeseci (raspon 5–27). Venski pristup u svih pacijenata ostvaren je putem perifernih vena. U 19 (9,4%) postupaka ponovljena je venepunkcija, a u 1 (0,5%) postupku javili su se blagi simptomi hipokalcemije kao posljedica toksičnosti citrata. Niti jedan postupak afereze nije trebalo prijevremeno prekinuti, a svi pripravci reinfurirani su pacijentima bez nuspojava.

Poboljšanje je zabilježeno u 2 pacijenta, dok se u 1 pacijenta stanje pogoršalo i trebala je ponovna transplantacija. Dva pacijenta su odustala od provođenja ECP zbog zahtjevnosti i trajanja samih postupaka, a kod 1 pacijenta je, nakon završenog ciklusa ECP, reevaluacija u tijeku.

**Zaključak:** Program ECP potpora je transplantacijskom programu solidnih organa i omogućuje terapijsko djelovanje na odbacivanje transplantiranog srca, te otvara mogućnost modulacije i smanjenja imunosupresivne terapije. S obzirom na to da je ECP dugotrajna i za pacijenta zahtjevna terapija, dobra suradnja s pacijentom, specijalistom kardiologom koji postavlja indikaciju za provođenje ECP, te svim članovima tima koji provodi afereze, važna je za održavanje suradljivost pacijenta i praćenja učinka terapije.

## Tkvino bankarstvo

### UNAPRJEĐENJE SUSTAVA PRIKUPLJANJA OČNOG TKIVA

VIDOVIĆ I.<sup>1</sup>, Rončević Krajina M.<sup>1</sup>, Brezak J.<sup>2</sup>, Vugrek I.<sup>2</sup>, Rac D.<sup>3</sup>, Pipić M.<sup>4</sup>, Jambrović I.<sup>5</sup>, Puljiz M.<sup>6</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Hrvatska banka tkiva i stanica

<sup>2</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Odjel za koordinaciju transplantacija i eksplantacija

<sup>3</sup>Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

• Služba za zdravstvenu njegu, Odjel za prikupljanje tkiva

<sup>4</sup>Klinička bolница Sveti Duh

• Koordinator za eksplantaciju tkiva pri uredu ravnatelja

<sup>5</sup>Klinička bolница Dubrava

• Koordinator za tkiva

<sup>6</sup>Klinički bolnički centar Split

• Koordinator za tkiva

**Uvod:** Rožnice se prikupljaju od darivatelja nakon prestanka rada srca (eng. donor after Cardiac Death – DCD) i darivatelja nakon smrti mozga (engl. donor after brain death-DBD). U nastojanju povećanja broja pre-sadaka rožnica Ministarstvo zdravstva Republike Hrvatske (MIZ) je u listopadu 2015. imenovalo nacionalni tim za tkiva te i formalno uspostavilo program dojave i uzimanja rožnica od DCD darivatelja. U program su uključeni Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički bolnički centar Sestara milosrdnice, Klinička bolница Sveti Duh i Klinička bolница Dubrava, a od 2020. i Klinički bolnički centar Split. Sustav dojave treba osigurati da svaka umrla osoba u donorskoj bolnici bude prepoznata kao mogući darivatelj u vremenskom okviru koji dozvoljava uzimanje tkiva. Na zahtjev MIZ, Hrvatska banka tkiva i stanica počevši sa svibnjem 2019. uspostavila je sustav praćenja učinkovitosti programa.

**Cilj:** U ovom radu je analiziran broj razmatranih i realiziranih darivatelja rožnica te razlozi odbijanja razmatranih DCD darivatelja. Analizirana je i realizacija DBD darivatelja na nacionalnoj razini.

**Metode:** Retrospektivno smo analizirali broj umrlih, razmatranih i realiziranih u bolnicama uključenim u program uzimanja rožnica u razdoblju od siječnja 2019. do prosinca 2020. Analizirali smo i ukupan broj DBD darivatelja u Hrvatskoj te broj realiziranih darivatelja rožnica u navedenom razdoblju. Podaci su prikupljeni pregledom mjesecišnih izvješća dostavljenih od strane transplantacijskih koordinatora za tkiva u Banku tkiva kao i pregledom nacionalne transplantacijske mreže (NTM).

**Rezultati:** U promatranom razdoblju u bolnicama uključenim u program umrlo je 10.616 osoba, od kojih je za darivanje rožnica razmatrano 4.722 (44,5%) i realizirano 452 (9,6%) darivatelja, što je samo 4,2 % od ukupnog broja preminulih. Razlozi nerealiziranja razmatranih darivatelja su medicinske kontaindikacije darivatelja (3.579, 75,7%), kontraindikacije utvrđene makroskopski pregledom rožnica *in situ* (829, 17,5%), komunikacija s obitelji (421, 8,9 %), organizacijski razlozi (253, 5,5%) te neodgovarajući uzorci za testiranja darivatelja na krvlju prenosive bolesti (12, 0,25%). Najčešći razlozi nerealizacije darivatelja zbog obitelji (N 421) su izričito protivljenje uzimanju tkiva (344, 81,7%), nemogućnost kontakta (67,15,9%), nema člana obitelji/bliske osobe koja može dati

obvezne podatke o darivatelju (7, 1,7%), te ostalo (3, 0,71%). Među organizacijskim razlozima (N 253) su vikend/praznik (N 204, 80,6%), prijevoz tkiva (N19), nedostupnost eksplantacijskog tkiva (N 14), tijelo upućeno na Zavod za sudsku medicinu radi obdukcije (N 3) te ostalo (N3Od ukupno raliziranih DBD u Republici Hrvatskoj u promatranom razdoblju (N 247) samo je 56 (22,7%) DBD realiziran kao darivatelj očnog tkiva.

**Zaključak:** Od ukupnog broja preminulih u bolnicama uključenim u program manje od 50% je razmatrano za darivanje rožnica, a rožnice su uzete samo od 4,25% preminulih. Na medicinske kontraindikacije ne možemo utjecati, međutim ima prostora za poboljšanja. Uvođenje dojave svih preminulih unutar zadanog vremenskog okvira omogućio bi razmatranje većeg broja potencijalnih darivatelja. Veća briga o očuvanju rožnica umirućih bolesnika smanjila bi broj odbijenih darivatelja pri makroskopskom pregledu očiju *in situ*. Iako je u hrvatski zakonodavni okvir ugrađen princip tzv. prepostavljenog pristanka za darivanje tkiva, u praksi se tkivo ne uzima ako se obitelj izričito protivi darivanju. Vjerujemo da bi bolje upoznavanje javnosti s koristima darivanja tkiva za hrvatske građane i stanjem na listi čekanja smanjilo broj odbijanja i osigurala veću dostupnost presadaka rožnica. Od ukupno realiziranih DBD u Republici Hrvatskoj, rožnice su uzete od samo 22,7% DBD. Uspostavljanje trajne edukacije zdravstvenih djelatnika o važnosti darivanja očnog tkiva i njihove bolje motivacije doprinjela bi većoj stopi uzimanja tkiva u sklopu multioganskih donacija.

## Transfuzijsko liječenje

### TELEMEDICINE IN THE INSTITUTE FOR TRANSFUSION MEDICINE OF RNM

USEINI S.<sup>1</sup>, Grubovic Rastvorceva R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Transfusion Medicine of RNM

• Skopje, N. Macedonia

<sup>2</sup>University Goce Delcev

• Faculty of Medical Sciences

**Background:** Telemedicine is a service that is rapidly evolving to provide increased access to high-quality healthcare that is efficient and cost-effective.

**Aim:** The shortage of specialist transfusion doctors as well as the age structure of the doctors employed at the Institute of Transfusion Medicine of Republic of North Macedonia has imposed the need to find a concept that will provide efficient operation of Transfusion Medicine Centers and Services over the years. At the same time, it was imperative to reduce the involvement of doctors in duties and regularities and to unify the way of working in all places.

**Methods:** After the creation of the VPN (Virtual Private Network) LogMeIn Hamachi was completed and the translation of the remote-validation software into Macedonian was also completed, the first telemedicine system was installed in the Transfusion Medicine Service – Specialty Hospital for Surgery Saint Naum Ohridski in March 2013. After completing installation in 3 Centers and 17 Transfusion Medicine Services, from 01 October 2018 telemedicine is in full use in our country. In July 2019, an installation was also made at the Resen Health Service. A regional separation was made of 4 regions according to which each of the doctors in the region validated the results elsewhere in the region where they belonged.

**Results:** Each of the Transfusion Medicine Centers and Services works the same way. The following tests are performed: 1. Blood group with reverse grouping; 2. Blood group for newborns; 3. Antibody screening with a commercial set of erythrocytes I-II; 4. Blood Test Profile consisting of: Donor Blood Type Confirmation, Patient Blood Type Confirmation, Patient Antibody Screening, Cross-match. Unification of work, unified report, archive of validated tests with images and information who has completed and validated the test, remote inspection and interpretation of pre-transfusion tests, rapid and efficient blood delivery, 24 hour doctor availability, especially in less available services with few doctors and cost savings are the major benefits of introducing telemedicine in our country. Simple analysis system for improving analysis' work processes, work organization and so on. From 01.01.2020 to 01.01.2021 are validated more than 110.000 results in the whole country through the telemedicine system, of which 2/3 are in working hours (from 8 to 15 h) and 1/3 after 15 h. Just over 35% of validated results are in the region that gravitates towards the Regional Transfusion Center Bitola.

**Conclusions:** The use of telemedicine has a strong impact on the improved and timely transfusion service for patients, improved organization and rationalization of work in the Institute for Transfusion Medicine of RNM and on substantial cost.

## HEMOLITIČKA REAKCIJA U NEDONOŠETA NAKON PRIMJENE INTRAVENOZNIH GAMAGLOBULINA ZBOG PRIJENOSA ANTI-D PROTUTIJELA

LUKIĆ M.<sup>1</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Plenković F.<sup>1</sup>, Liker M.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Intravenozni imunoglobulini (IVIG) su najčešće primjenjivani derivati plazme u svijetu. Odobreni su u liječenju imundeficijencija i imunoinflamatornih bolesti, a primjenjuju se i u niza drugih za sada neodobrenih indikacija. Komercijalni imunoglobulini, uključujući i IVIG, mogu sadržavati mjerljive količine protutijela IgG razreda, uglavnom anti-A ili anti-B specifičnosti, ali mogu biti prisutna i druga anteritrocitna protutijela. Do sada su opisani slučajevi hemolitičkih anemija, uglavnom uzrokovanih anti-A ili anti-B, a samo nekoliko anti-D protutijelima, iako proizvođači u postupku proizvodnje nastoje smanjiti tatar anteritrocitnih protutijela.

**Cilj:** Prikazom ovog slučaja cilj je upozoriti na mogućnost teške hemolize u D-pozitivnog novorođenčeta nakon liječenja IVIG-om zbog pasivnog prijenosa anti-D protutijela.

**Rezultati:** Muško nedonošče rođeno u 34+5 tjedanu gestacije, rodne mase 2045g, s dijagnozom Multiple intestinalne atrezije/Kobinirane imunodeficijencije (MIA/CID). Kod prijema u bolnicu određena mu je krvna grupa A RhD pozitivna. Direktni antiglobulinski test bio je negativan. Određena krvna grupa majke bila je A RhD pozitivna. U serumu majke nisu dokazana anteritrocitna protutijela. Nakon rođenja, hemoglobin, ukupni bilirubin i direktni bilirubin bili su u normalnim vrijednostima. U drugom danu života učinjena je parcijalna resekcija tankog crijeva, s formiranjem gastroduodenalne LL anastomoze i jejunostome. Nakon operacije zbog sepse, trombocitopenije i niskih vrijednosti limfocita preporučeno je liječenje IVIG-om. Novorođenče je u 18. i 22. danu života lijećeno s IVIG-om. Ubrzo nakon toga, dolazi do značajnog pada hemoglobina i do porasta labortorijskih pokazatelja hemolize; ukupnog bilirubina, direktnog bilirubina i laktat dehidrogenaze. Zbog sumnje na imunu hemolizu uzorci novorođenčeta poslani su u naš laboratorij na imunohematološko ispitivanje. U ispitivanom uzorku direktni antiglobulinski je bio pozitivan. Pregledni testovi otkrivanja protutijela u serumu bili su negativni. U elatu je dokazano anti-D protutijelo. Također u IVIG-u, primjenjenom u liječenju novorođenčeta, dokazano je anti-D protutijelo. Novorođenče je lijećeno kortikosteroidima i RhD negativnim koncentratima eritrocita, uz adekvatan porast hemoglobina.

**Zaključci:** Ovaj slučaj pokazuje mogućnost teške hemolize u D-pozitivnog novorođenčeta zbog pasivnog prijenosa anti-D protutijela nakon primjene IVIG-a. U rutinskom kliničkom radu hemoliza uzrokovana prenešenim anteritrocitnim protutijelima često je neprepoznata nakon liječenja IVIG-om. Stoga je kliničare potrebno upozoriti na mogućnost hemolize i na potrebu praćenja vrijednosti hemoglobina i labortorijskih pokazatelja hemolize u pacijenata nakon liječenja IVIG-om. Do tada, hemoliza ostaje neprepoznata komplikacija liječenja IVIG-om.

## PRIMJENA KONCENTRATA TROMBOCITA U HRANIVOJ OTOPINI SMANJUJE UČESTALOST TRANSFUZIJSKIH REAKCIJA

LIKER M.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Plenković F.<sup>1</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Od svih krvnih pripravaka koncentrati trombocita (KT) imaju najveću učestalost transfuzijskih reakcija. Nakupljanje bioaktivnih i proučalnih čimbenika tijekom prikupljanja, proizvodnje i skladištenja KT, kao i prisustvo alogenih proteinova mogu potaknuti imunosni odgovor i pojavu transfuzijske reakcije u primatelja. One mogu biti različite težine: od blage alergijske do teške anafilaktičke reakcije; febrilne nehemolitičke reakcije (FNTR); transfuzijom uzrokovanih volumnog preopterećenja cirkulacije (TACO) i transfuzijom uzrokovanih

akutnog zatajenja pluća (TRALI). U KT u hranjivoj otopini (KT-HO) volumen plazme manji je za 65–70% u odnosu na KT u plazmi. Primjenom hranjive otopine poboljšavaju se uvjeti skladištenja jer se smanjuje aktivacija i poboljšava metabolizam trombocita.

**Cilj:** Utvrditi utjecaj primjene hranjive otopine u proizvodnji KT na pojavu transfuzijskih reakcija.

**Metode:** Retrospektivno su analizirani podaci o svim transfundiranim KT i prijavljenim transfuzijskim reakcijama u Kliničkom bolničkom centru Zagreb u razdoblju 2014. do 2018. godine. Početkom 2016. godine Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu počeo je proizvoditi KT-HO, koristeći dvije vrste hranjive otopine PASIII M (SSP+, MacoPharma) za KT dobivene iz pune krvi (KT-PK) i KT dobivene aferezom (KT-AF) na uređaju MCS+ (Haemonetics), te PASIII (InterSol, Fresenius Kabi) za KT-AF prikupljene na uređaju MCS+ (Fresenius Kabi).

**Rezultati:** Ukupno je 3.776 bolesnika primilo 46.351 KT: 14.937 KT-PK-plazma, 5.726 KT-AF-plazma, 20.487 KT-PK-PASIII M, 3.480 KT-AF-PASIII M i 1.721 KT-AF-PASIII. Prijavljene su 84 TR u 69 bolesnika: 58 (69.0%) alergijske, 25 (29,8%) FNHTR i 1 (1.2%) sumnja na TRALI. Od svih TR 2 su bile ozbiljne štetne TR: 1 ozbiljna alergijska reakcija s bronhospazmom i smanjenom saturacijom  $O_2$  i 1 sumnja na TRALI. Ukupna učestalost transfuzijskih reakcija bila je 0,18 na 100 transfundiranih KT. Učestalost TR u nakon transfuzije različitih vrsta KT prikazana je u tablici 1.

TABLICA 1. UČESTALOST TRANSFUZIJSKIH REAKCIJA PREMA VRSTI KT

Vrsta KT	Transfundirani KT		Alergijske KT		P	FNTR		P	TRALI		P	Sve TR		P
	N	%	N	%		N	%		N	%		N	%	
KT-PK	35,424	76.4	46	0.13		20	0.06		1	0.003		67	0.19	
KT-AF	10,927	23.6	12	0.11	0.605	5	0.05	0.703	0	0.000	*	17	0.16	0.521
KT-PK-plazma	14,937	32.2	31	0.21		12	0.08		0	0.000		43	0.29	
KT-PK-PASIII M	20,487	44.2	15	0.07	<0.001	8	0.04	0.119	1	0.005	*	24	0.12	<0.001
KT-AF-plazma	5,726	12.4	8	0.14		4	0.07		0	0.000		12	0.21	
KT-AF-HO	5,201	11.2	4	0.08	0.348	1	0.02	*	0	0.000	*	5	0.10	0.148
KT-AF-PASIII M	3,480	7.5	3	0.09		1	0.03		0	0.000		4	0.11	
KT-AF-PASIII	1,721	3.7	1	0.06	*	0	0.00	*	0	0.000	*	1	0.06	0.579

\* Broj transfuzijskih reakcija bio je premali za izračunavanje P vrijednosti

**Zaključak:** U našem istraživanju KT u hranjivoj otopini imaju za oko 50% nižu učestalost alergijskih i febrilnih transfuzijskih reakcija u odnosu na KT u plazmi. Time se potvrđuje da skladištenje KT u hranjivoj otopini učinkovito smanjuje pojavu transfuzijskih reakcija, osobito alergijskih i tako povećava sigurnost transfuzijskog liječenja.

## PRIMJENA O RHD NEG KONCENTRATA ERITROCITA: MOŽEMO LI RACIONALNO UPRAVLJATI U SITUACIJAMA NEDOSTATNIH ZALIHA

LIKER M.<sup>1</sup>, Komar Lukač I.<sup>2</sup>, Plenković F.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

<sup>2</sup>Opća bolnica Gospić

• Odjel medicinsko-biohemiske laboratorijske dijagnostike i transfuzije

**Uvod:** Racionalna primjena O RhD neg koncentrata eritrocita (KE) nužna je obzirom da njihov udio u ukupnom broju transfundiranih KE u nekim ustanovama iznosi puno više od udjela O RhD neg osoba općoj populaciji, a koji iznosi svega 6–7%. Razlog tome je korištenje O RhD neg KE ne samo za transfuzijsko liječenje O RhD neg bolesnika, nego i kao univerzalnih KE za liječenje bolesnika ostalih krvnih grupa (KG), kao npr. bole-

snika koji moraju biti hitno liječeni s KE prije određivanja KG, novorođenčadi, primatelja ABO i/ili RhD nepodudarnih krvotvornih matičnih stanica, te u slučaju kada je potrebno primijeniti antigen podudarni KE, a nedostupan je među KE bolesnikove KG.

U razdobljima nestašica O RhD neg KE preporučuje se njihova primjena isključivo za transfuziju djece (< 18 god.) i žena generativne dobi (<50 god.) koje su O RhD neg ili nemaju određenu KG, a potrebna im je hitna transfuzija KE, kao i za sve osoba koje imaju anti-D protutijelo. Prema nekim preporukama i svi O RhD neg bolesnici koji su dugotrajno ovisni o transfuzijskom liječenju trebaju biti transfundirani isključivo O RhD neg KE.

**Cilj:** Utvrditi koliko je moguće smanjiti primjenu O RhD neg KE ukoliko se primjene sve preporuke za korištenje O RhD neg KE u vrijeme nedostatnih zaliha i procjeniti koliki je rizik za razvoj anti-D protutijela u O RhD neg bolesnika nakon transfuzije O RhD poz KE.

**Metode:** Retrospektivno su analizirani podaci o svim bolesnicima transfundiranim sa O RhD neg u razdoblju 2014. do 2018. Iz bolničkog informacijskog sustava i informacijskog sustava Odjela za transfuzijsku medicinu dobiveni su slijedeći podaci: vodeća dijagnoza, KG/RhD, dob, spol te podaci o posebnim zahtjevima za transfuzijskim liječenjem kod imuniziranih bolesnika i primatelja ABO i/ili RhD nepodudarnih transplantata matičnih stanica. Rezultati naknadno učinjenih testova pretraživanja antieritrocitnih antitijela O RhD neg bolesnika koji transfundirani sa O RhD poz KE dobiveni su iz našeg informacijskog sustava i informacijskog sustava transfuzijske službe u Hrvatskoj.

**Rezultati:** U petogodišnjem razdoblju 124.220 doza KE transfundirano je 20.698 bolesnika, a od toga 9.109 (7,3%) O RhD neg doza KE transfundirano je 1587 (7,7%) bolesnika. Od ukupno transfundiranih O RhD neg KE 1.432 (15,7%) je primjenojeno je ženama generativne dobi i djeci, a 7.677 (84,3%) primjenojeno je odraslim muškarcima i ženama izvan generativne dobi. Od ukupnog broja doza primjenjenim odraslim muškarcima i ženama izvan generativne dobi 2.467 (32,1%) KE primjenojeno je bolesnicima koji bi sukladno preporukama trebali dobiti O RhD neg KE (tablica 1).

U istom razdoblju 42 O RhD neg bolesnika primilo je 225 O RhD poz KE. Medijan KE koje su primili iznosi 3 (raspon 1–19) doza po bolesniku. Testove pretraživanja antieritrocitnih protutijela minimalno 30 dana nakon transfuzije O RhD poz KE imalo je 17 (40,5%) bolesnika. Medijan vremena od transfuzije O RhD poz KE do testa pretraživanja antieritrocitnih antitijela bilo je 923 (raspon 43 – 1611) dana i samo 2 (11,8%) bolesnika razvila su anti-D protutijelo.

TABLICA 1. KARAKTERISTIKE PRIMATELJA O RH D NEG KE

Primatelji O RhD neg KE	N	%
Djeca (<18 god.) i žene generativne dobi (<50 god.) O RhD neg KG	1.432	15,7
Muškarci (≥18 god.) i žene izvan generativne dobi (≥50 god.)		
ABO i/ili RhD nepodudarne transplantacije matičnih stanica	912	10,0
Anti-D imunizacija	100	1,1
Antigen podudarni KE nedostupni u KE identične krvne grupe	148	1,6
Kronično transfundirani (hematološki) O RhD bolesnici	1.307	14,3
Bolesnici O RhD neg bez posebnih osobitosti	5.210	57,2
UKUPNO	9.109	100

**Zaključak:** Više od pola transfuzija O RhD neg KE moglo je u situaciji nedostatnih zaliha biti zamijenjeno s O RhD poz KE. Rizik od anti-D imunizacije u našoj skupini bolesnika relativno je nizak. Rezultati pokazuju da je u vrijeme nedostatnih zaliha O RhD neg KE njihovom racionalnom upotrebom moguće osigurati dovoljne količine O RhD neg KE za transfuzijsko liječenje bolesnika koji iz opravdanih razloga moraju isključivo njih primati.

## PRVA ISKUSTVA U PRIMJENI KRVNIH PRIPRAVAKA U BOLESNIKA LIJEĆENIH TRANSPLANTACIJOM PLUĆA

TUĆIN I.<sup>1</sup>, Plenković F.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Liker M.<sup>1</sup>, Raos M.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i kliničku biologiju

**Uvod:** Transplantacija pluća je metoda liječenja terminalnih plućnih bolesti kada su ostale terapijske mogućnosti iscrpljene. Prema podacima iz literature transplantacija pluća značajno povećava potrošnju krvnih pripravaka u ustanovama koje ju provode. Prva transplantacija pluća u Kliničkom bolničkom centru Zagreb (KBC Zagreb) učinjena je 17. travnja 2021. godine, a do danas je transplantirano 6 bolesnika. Dosadašnjim istraživanjima dokazano je da količina transfundiranih pripravaka u tijeku operacije te u prvih 24 sata posttransplantacijskog perioda direktno utječe na pojavu najčešćih komplikacija poput primarne disfunkcije presatka (PGD – primary graft dysfunction), infektivnih komplikacija, potrebe za korištenjem ECMOa u fazi oporavka te produljenog boravka u jedinici intenzivnog liječenja kao i povećane smrtnosti, iako etiologija još nije u potpunosti razjašnjena. Naime, nekoliko studija dokazalo je povezanost većeg broja transfundiranih koncentrata trombocita (KT) s povećanom smrtnošću u prvoj godini nakon transplantacije (1). Također, čini se da količina transfundiranih koncentrata eritrocita (KE) direktno utječe na pojavu PGD, iako podaci o točnim brojevima nisu jednoznačni(2). Osim toga, čini se da i masivna transfuzija u sklopu liječenja darivatelja organa, posebno u slučajevima politraume, također povećava mortalitet primatelja(3). Poseban problem u tumačenju rezultata takvih studija čini preklapanje kliničke slike primarne disfunkcije presatka i transfuzijom uzrokovanе ozljede pluća (TRALI) te sindroma transfuzijom uzrokovanog cirkulatornog preopterećenja (TACO), koji se javljaju kao komplikacije same transfuzije.

**Cilj:** Cilj ovog rada je prikazati prva iskustva u transfuzijskom liječenju bolesnika liječenih transplantacijom pluća u KBC Zagreb.

**Metode:** Ukupan broj transplantiranih bolesnika je 6. Demografski i klinički podaci, te podaci o naručivanju i potrošnji krvnih pripravaka i derivata plazme prikupljeni su pretraživanjem bolničkih informacijskih sustava za razdoblje od travnja do rujna 2021. godine.

Analizirano je naručivanje i potrošnja krvnih pripravaka u dva razdoblja: Razdoblje 1 – za vrijeme operacije i u prvih 24 sata; Razdoblje 2 – nakon 24 sata do otpusta iz bolnice. Koncentrati trombocita računati su u broju pripravaka.

**Rezultati:** Svi transplantirani bolesnici bili su muškog spola, medijan dobi 54.5 godina (raspon 20–60). U svih je učinjena obostrana transplantacija pluća. Transplantirani su zbog hipersenzitivnog pneumonitisa, intersticijske bolesti pluća, plućne hipertenzije poslijedično kroničnoj plućnoj emboliji, cistične fibroze, deficitu alfa-1 antitripsina i sarkoidoze.

Tražena, izdana i transfundirana količina krvnih pripravaka prikazana je u tablici 1.

Po pacijentu je u razdoblju 1 prosječno zatraženo 23.7 doza KE, 5.3 pripravaka KT, 23 jedinica svježe smrznute plazme, 130 grama albumina te 6.5 grama fibrinogena.

TABLICA 1. ODNOŠ TRAŽENIH, IZDANIH I TRANSFUNDIRANIH KRVNIH PRIPRAVAKA ZA TRANSPLANTACIJU PLUĆA (N6)

Pripravak	Razdoblje 1			Razdoblje 2			Ukupno		
	Traženo	Izdano	Transf.	Traženo	Izdano	Transf.	Traženo	Izdano	Transf.
KE (doza)	142	129	84	22	22	22	164	151	106
KT (pripravak)	32	25	21	10	10	10	42	35	31
SSP (doza)	138	89	83	2	2	2	140	91	85
Albumin (gr)	780	720	520	880	880	880	1660	1600	1400
Fibrinogen (gr)	39	28	24	0	0	0	39	28	24
PCC (i.j)	9000	8000	6000	0	0	0	9000	8000	6000
Krio (doza)	2	2	2	0	0	0	2	2	2
rFVII (mg)	3	3	3	0	0	0	3	3	3

Svi bolesnici su primili KE, KT, SSP i albumin, 5/6 bolesnika primilo je i fibrinogen, 3/6 primili su PCC, dok je krioprecipitat i rFVII primio samo jedan pacijent. U razdoblju 1 je prosječno transfundirano 14 doza KE (raspon 3–42), 3.5 pripravaka KT (raspon 2–9), 13.8 doza SSP (raspon 6–32) i 86.7 gr albumina (raspon 40–100g). Pripravci fibrinogena u prosječnoj dozi 4 gr/bolesnik; PCC 2000 i.j./bolesnik, krioprecipitata 2 doze/bolesnik i rFVII 3 mg/bolesnik primjenjeni su samo u ovom razdoblju.

U razdoblju 2, 4 bolesnika su primili KE i KT, 1 SSP, a 5 bolesnika albumin.. Ostale derivate plazme nisu primali. Svi naručeni pripravci su i transfunirani. Prosječno je transfundirano 5.5 doza KE (raspon 1–15), 2.5 pripravaka KT (raspon 1–5) i 176 grama albumina (raspon 120–300).

Iz navedenih podataka proizlazi da je bolesnicima transfundirano 59% traženih doza KE, 66% doza KT te 60% ukupno naručenih doza SSP.

**Zaključak:** Transfuzijska služba uspješno je odgovorila na nove izazove. Transplantacija pluća može zahtjevati veliku količinu krvnih pripravaka, no uočen je veliki nesrazmjer traženih i transfundiranih KE, KT i SSP. Kada bude više iskustva potrebno je izraditi preporuke za naručivanje krvi za transplantaciju pluća (Maximum surgical blood ordering schedule – MSBOS) kako bi ono bilo usklađeno s potrebama.

## TRANSFUZIJSKO LIJEČENJE I RIZIK RAZVOJA ALOIMUNIZACIJE U PACIJENATA S MULTIPLIM MIJELOMOM KOJI SU LIJEĆENI DARATUMUMABOM

RAOS M.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Liker M.<sup>1</sup>, Plenković F.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Daratumumab (DARA) je monoklonsko protutijelo koje se primjenjuje za liječenje pacijenata s multiplim mijelomom (MM). DARA se veže za CD38 molekulu izraženu na eritrocitima i pravi smetnje u testovima pretraživanja antieritrocitnih protutijela (IAT). Poznate su različite metode uklanjanja smetnji DARA-e, kao što su primjena eritrocita obrađenih tiolom, testova neutralizacije, testiranje sa eritrocitma iz pupkovine ili s eritrocitima pacijenata koji su liječeni DARA-om. Drugi način je transfuzijsko liječenje pacijenta s antigen podudarnim eritrocitnim pripravcima, koji nisu uvijek dostupni.

**Ciljevi:** Cilj ove studije bio je istražiti transfuzijsko liječenje i rizik za razvoj aloprotutijela u pacijenata s MM koji su liječeni s DARA-om.

**Metode:** Ovo je retrospektivno istraživanje koje obuhvaća proširene fenotipove (CcEe, K, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Ss) i transfuzijsko liječenje 42 od ukupno 56 pacijenata s MM koji su primili DARA-u u periodu od 1. listopada 2017. do 1. listopada 2021. godine. U svim slučajevima pozitivnog IAT-a primjenjena je metoda obrade eritrocita 0,2 M ditiotreitolom (DTT) u svrhu otkrivanja antieritrocitnih protutijela. Transfuzijsko liječenje je praćeno od primjene prve doze DARA-e do njegove zadnje primjene ili do negativnog IAT-a nakon zadnje primjene DARA-e, kao i tijekom negativnog IAT-a nakon liječenja DARA-om do zadnjeg datuma praćenja kada su također preventivno primjenjivani antigen negativni eritrocitni pripravci.

**Rezultati:** Ukupno 257 IAT-a (64% poz i 36% neg) je bilo rađeno kod 42 pacijenata koji su transfuzijski liječeni s 358 eritrocitnih pripravaka. Od svih transfundiranih eritrocitnih pripravaka, njih 275 (76,8%) je bilo iste ABO/RhD krvne grupe, a 83 (23,2%) različite krvne grupe. Od svih transfundiranih doza, njih 249 (69,6%) je bilo podudarno u svim antigenima (CcEe, K, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Ss), 103 (28,8%) nije odgovaralo u svim antigenima, od toga najviše po antigenima iz Duffy sustava krvnih grupa, a za njih 6 (1,6%) nije bilo podataka. Niti jedan pacijent nije bio aloimuniziran prije niti nakon liječenja DARA-om.

**Sažetak/Zaključci:** Iako raspoložemo s malo pacijenata, naši rezultati ukazuju da je rizik stvaranja novih antieritrocitnih protutijela nakon transfuzijskog liječenja u pacijenata s MM liječenih s DARA-om mali. Pacijenti su većinom primili ABO/RhD podudarne i antigen podudarne eritrocitne pripravke po cijelom fenotipu.

## Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini

### HAEMOVIGILANCE SYSTEM IN THE INSTITUTE FOR TRANSFUSION MEDICINE – MACEDONIAN EXPERIENCE

PETKOVIKJ E.<sup>1</sup>, Stojkoska S.<sup>1</sup>, Grubovic Rastvorceva R.<sup>1</sup>, Useini S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Transfusion medicine of Republic of North Macedonia

• *Quality Assurance and Quality Control*

**Background:** Haemovigilance is required to identify and prevent occurrence or recurrence of transfusion related unwanted events to increase the safety, efficacy and efficiency of blood transfusion, covering the whole transfusion chain from the collection of blood and its components to the follow-up of its recipients.

The aim of this study was to analyze the adverse transfusion reactions that were reported to the Quality Assurance and Quality Control (QAQC) Department of the Institute for Transfusion Medicine of Republic of North Macedonia – Skopje (ITM).

**Methods:** Retrospective analysis of the reported adverse reactions to the QAQC department in the period 2007–2020 from its monthly and yearly registries.

**Results:** The most frequent adverse reactions that were reported were mild allergic and febrile non-haemolytical transfusion reactions with urticarial rash, fever and vomiting. In 2007 were 2 reported adverse transfusion reactions (Cryoprecipitate and Fresh Frozen Plasma (FFP)), in 2008 – 1(FFP), in 2009 – 1, in 2010 – 1(FFP), 2011 – 3 (2 RBC-SAG and 1 F.VIII conc.), in 2012 – 1 (Cryoprecipitate), in 2013 – 2 (RBC-SAG and Cryoprecipitate), in 2014 – 1 (Cryoprecipitate), in 2015 – 1 (FFP), in 2018 – 4 (1-FFP and 3-RBC-SAG), in 2019 – 3 (FFP) and in 2020 – 4 (1-Platelet concentrate, 3 RBC-SAG). There was no mortality associated with blood transfusion in the last 14 years.

**Conclusions:** One of the most important parts of the haemovigilance program is to improve reporting of transfusion related adverse events, assessing that information and providing data in order to improve the blood transfusion process. The hospital transfusion committees as a link between clinical and transfusion medicine staff and an active surveillance program have a key role in enhancing patient safety by making changes to prevent reoccurrence and management of adverse reactions to blood transfusion. Analysis of the reports for the blood components use and adverse transfusion reactions will help us to focus on safe transfusion and upgrade of the legislative with a by-law for haemovigilance, with obligatory registration and report to the Institute of Transfusion Medicine of the outcome of every single transfusion of blood components and consequent functioning of the inspection system.

## 7. STRUČNI SASTANAK MEDICINSKIH SESTARA I TEHNIČARA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI



### Plenarna predavanja

## PRIKUPLJANJE KONVALESCENTNE COVID-19 PLAZME SA PLAZMAFEREZOM NA ZAVODU REPUBLIKE SLOVENIJE ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU U LJUBLJANI

KVRŽIĆ Z.<sup>1</sup>, Mali P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zavod republike Slovenije za transfuzijsku medicinu  
• Centar za odabir darivatelja in prikupljanja krvi

**Uvod:** Zavod za transfuzijsku medicinu Republike Slovenije (ZTM) u Ljubljani javni je zdravstveni zavod u kojem se izvršavaju brojne aktivnosti koje bolesnicima pružaju sigurne i kvalitetne krvne pripravke za transfuzijsko liječenje i druge usluge visoke kvalitete. Kako bi se osigurali krvni pripravci za bolesnike, postupci prikupljanja pune krv i afereze provode se svaki radni dan. Aferezom se samo određeni krvni sastojci prikupljaju pomoću staničnih separatora, a preostali sastojci krvi vraćaju se darivatelju. Plazma dobivena plazmaferezom uglavnom se koristi za proizvodnju lijekova iz krvi za bolesnike s urođenim i stičenim poremećajima zgrušavanja krvi, nedostatkom proteina i imunološkim nedostatkom. To su biološki lijekovi i rizični za bolesnika i zato se podliježu posebnoj kontroli kvalitete. Plazmafereza se također koristi za prikupljanje plazme od liječenih bolesnika (rekonvalescentna plazma) sa podrškom Europskih strukturnih i investicijskih fondova (ESI) kako bi se osiguralo liječenje bolesnika s plazmom koja sadržava antitijela usmjerena protiv COVID-19. Program prikupljanja hiperimune COVID-19 plazme (HCP) pokrenut je početkom srpnja 2020. Naš je cilj bio prikupiti najmanje 1000 jedinica HCP plazme prikladnih za liječenje pacijenata s COVID-19 u sklopu kontrolirane kliničke studije.

**Metode:** Članak temelji na kvantitativnoj metodi rada. Sadrži statističku i analitičku obradu podataka od srpnja 2020. do kolovoza 2021. godine sa pregledom literature domaćih i stranih izvora.

**Rezultati:** Program prikupljanja HCP plazme uspješno smo završili. Pri tom smo u malo biše od dvanaest mjeseci dobili 196 novih dobrovoljnih darivatelja krvi. U tu je svrhu sprovedeno 2649 postupaka prikupljanja pune krvi i 1257 postupaka plazmafereze. S oba postupka uspjeli smo prikupiti 1495 klinički korisnih HCP jedinica s visokom koncentracijom takozvanih neutralizirajućih antitijela na SARS-CoV-2.

**Zaključak:** Plazma se na ZTM svakodnevno uspješno prikuplja plazmaferezom u svrhu proizvodnje lijekova iz krvi ili za liječenje bolesnika pa smo stoga uveli program prikupljanja HCP u plazmi kao mogućnost za uspješno prikupljanje plazme za liječenje bolesnika s COVID-19. U ovom članku želimo, između ostalog, predstaviti naše iskustvo s posebnim programom sa darivateljima krvi bez prethodnog davanja pune krvi.

**Ključne riječi:** plazmafereza, dobrovoljni darivatelj krvi, konvalescentna plazma.

## PROIZVODNJA KRVNIH PRIPRAVAKA I ISPITIVANJE NJIHOVE KVALITETE PRILIKOM ZAMJENE PROIZVODNE OPREME U HZTM

STANEŠIĆ S.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>2</sup>, Vinković M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za krvne pripravke

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Banka krvi

**Uvod:** Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu (HZTM) kao Referentni centar Ministarstva zdravstva za transfuzijsku medicinu i Banka krvi kontinuirano prati novosti i dostignuća u području proizvodne opreme vezane za postupke u proizvodnji krvnih pripravaka (KP) dobivenih podjelom pune krvi (PUK) dobrovoljnih davatelja krvi (DDK). Aparati za razdvajanje krvi na komponente u tom procesu imaju vrlo važnu ulogu i direktno utječu na stabilnost dobivenih proizvoda. Cilj ovog rada je prikazati aktualni način rada u Odjelu za

proizvodnju krvnih pripravaka u HZTM s naglaskom na primjenu aparata za razdvajanje krvi i svim potrebnim ispitivanjima koja je potrebno provesti kod uvođenja novih aparata za razdvajanje krvi u rutinski rad.

Do 2005. godine prerada krvi obavljala se uglavnom ručno pomoću istiskivača plazme („ručni“ ekstraktor). Radi se o mehaničkom istiskivaču kod kojeg djelatnik nadzire proces razdvajanja centrifugirane krvi i subjektivno procjenjuje završetak procesa, što isključuje standardizaciju proizvodnje. Njime je bilo moguće razdvajati samo tzv. „TOP-TOP“ vrećice za uzimanje krvi (svi sistemi se nalaze na vrhu vrećice u kojoj je centrifugirana krv). Tada su se trombociti proizvodili „PRP“ (engl. *platelet rich plasma*, plazma bogata trombocitima) metodom. 2005. godine HZTM uvodi automatizaciju u proces razdvajanja PUK uvođenjem aparata za razdvajanje (Optipress II, Fenwal). Nekoliko godina kasnije tzv. „TOP and BOTTOM“ vrećice (sistemi na vrhu i dnu vrećice u kojoj je centrifugirana krv) postaju standard za uzimanje krvi, a time i „buffy coat“ (BC) metoda s odvajanjem sloja leukocita i trombocita standardna metoda proizvodnje koncentrata trombocita (KT). Postojeći aparati imali su ograničenu mogućnost podešavanja senzora koji nadziru razdvajanje krvi, ali ipak su znatno doprinijeli standardizaciji dobivenih pripravaka. Protekom vremena sve učestaliji kvarovi postojećih aparata te pojava aparata nove generacije sa sustavom za automatsko otvaranje kanila, kvalitetnijim klemama za zavarivanje sistema i preciznijim senzorima bili su razlog za nabavu novih aparata. Tako se od 2015. godine u proizvodnju uvodi 12 aparata za razdvajanje tipa Macopress Smart, Delcon. S obzirom na veće mogućnosti senzora za nadzor procesa razdvajanja u validaciji aparata se povećava i opseg ispitivanja pripravaka dobivenih razdvajanjem na aparatu te se uvode standardi za daljnja ispitivanja kvalitete dobivenih pripravaka. Stabilnost volumena i hematokrita BC pokazala se kao najvažnija, kako za primarnu podjelu PUK, tako i kasnije kod postupka proizvodnje KT iz BC. Aparati su pojedinačno precizno podešeni uz iznimno mala odstupanja između pojedinih procesa razdvajanja PUK. 2018. godine HZTM-u je za ispitivanje ustupljena nova verzija Macopress aparata (Macopress Smarter), koji je bio još u razvojnoj fazi te pokazivao veliku nestabilnost u procesu rada uz učestale greške. U suradnji s proizvođačem provedena su brojna ispitivanja, a proizvođač je u skladu s rezultatima radio izmjene na aparatima (izmjena *firmware-a*). Tijekom 2020. g. otklonjeni su glavni nedostaci *firmware-a* aparata te su postupno od rujna 2020. g. do ožujka 2021.g. stari aparati zamijenjeni novima. Novi aparati se rutinski koriste za podjelu PUK, u proizvodnji KT i univerzalnog krioprecipitata.

**Metode:** U periodu od 2018. do 2021. godine provedeno je ispitivanje stabilnosti razdvajanja PUK, razdvajanja KT i razdvajanja plazme kod proizvodnje univerzalnog krioprecipitata na 14 novih Macopress Smarter aparata. Za svaki aparat napravljen je po 10 podjela PUK kod kojih je ispitano svih 10 BC te po 4 pripravka koncentrata eritrocita (KE) i plazme. Praćeni su pokazatelji kvalitete i stabilnosti KP. Brojčani podaci su izraženi aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom (SD). Kao pokazatelj stabilnosti procesa razdvajanja PUK primarno je praćena stabilnost volumena i hematokrita BC i ti podaci su uspoređeni s podacima iz validacije starih Macopress Smart aparata. Kod KE praćeni su volumen, hemoglobin, hematokrit, hemoliza i sterilitet kao kontrola zavarivanja kleme 5 (zavaruje sistem koji vodi prema vrećici sa KE). Za pripravke plazme praćene su vrijednosti ostatnih stanica u plazmi nakon odvajanja te sterilitet kao kontrola zavarivanja kleme 3 (zavaruje sistem koji vodi prema vrećici sa plazmom). Za proces razdvajanja kod proizvodnje KT (4 ispitana razdvajanja po aparatu) pokazatelj stabilnosti je bio *recovery* trombocita (postotak broja trombocita koji smo uspjeli centrifugiranjem i razdvajanjem na aparatu dobiti u pripravku KT u odnosu na ukupan broj trombocita u *pool-u* BC prije centrifugiranja), a praćen je i broj trombocita te sterilitet svakog pripravka kao kontrola zavarivanja kleme 1 (zavaruje sistem koji vodi prema vrećici sa KT). Za proces razdvajanja plazme kod proizvodnje univerzalnog krioprecipitata za svaki aparat je napravljen 10 razdvajanja plazme iz kojih je napravljen *pool* univerzalnog krioprecipitata kod kojeg su ispitivane vrijednosti faktora zgrušavanja, fibrinogena i sterilitet.

#### Rezultati:

##### Razdvajanje PUK – rezultati ispitivanja BC

	Novi aparati	Stari aparati	Novi aparati	Stari aparati	Novi aparati	Stari aparati
	Volumen BC (ml)	Hematokrit BC		Broj trombocita ( $\times 10^{10}$ / dozi)		
Prosjek	<b>58,4</b>	58,0	<b>0,435</b>	0,438	<b>10,00</b>	10,00
Median	<b>58</b>	58	<b>0,434</b>	0,440	<b>9,59</b>	10,02
MIN	<b>56</b>	53	<b>0,363</b>	0,383	<b>4,88</b>	5,63
MAX	<b>61</b>	63	<b>0,501</b>	0,482	<b>17,75</b>	14,80
SD	<b>0,98</b>	1,80	<b>0,027</b>	0,020	<b>2,41</b>	1,97
Broj testiranih doza	<b>140</b>	95	<b>140</b>	95	<b>140</b>	95

Razdvajanje kod proizvodnje KT – rezultati ispitivanja KT

	Novi aparati	Stari aparati	Novi aparati	Stari aparati
	Recovery (%)		Broj trombocita ( $\times 10^{10}$ / dozi)	
Proshek	<b>78,9</b>	79,5	<b>7,22 *</b>	8,14
Median	<b>78,6</b>	79,9	<b>7,24</b>	8,20
MIN	<b>73,2</b>	77,2	<b>4,96</b>	7,01
MAX	<b>87,3</b>	81,7	<b>9,15</b>	9,27
Broj testiranih pool-ova	<b>56</b>	10	<b>56</b>	10

\* Posljedica nižeg broja trombocita uz približno isti recovery objašnjava je periodom provođenja ispitivanja (novi aparati su ispitivani kroz zimski period, a stari kroz ljetni period godine).

Razdvajanje plazme kod proizvodnje univerzalnog krioprecipitata – rezultati ispitivanja univerzalnog krioprecipitata

	Novi aparati	Stari aparati	Novi aparati	Stari aparati	Novi aparati	Stari aparati
	Faktor VIII (IU / dozi)		Von Willebrandov faktor (IU / dozi)		Fibrinogen (mg / dozi)	
Proshek	<b>107</b>	98	<b>167</b>	166	<b>261</b>	240
Broj testiranih pool-ova	<b>14</b>	12	<b>14</b>	12	<b>14</b>	12

**Zaključak:** Proizvodna oprema se kontinuirano unapređuje i uvode se novosti koje olakšavaju proces prerade krvi. Ponekad unapređenje dijela sustava djelomično ide i na štetu kvalitete pripravaka, što se iz navedenih rezultata vidi u većoj SD u hematokritu BC na novim aparatima, ali sve još u prihvatljivim granicama. No učestaliji kvarovi i starenje opreme bili su razlog da se ide u ispitivanje i primjenu novih aparata. Bitno je na kraju napomenuti da sva navedena ispitivanja zahtijevaju puno resursa, od doza pune krvi koje se nakon ispitivanja u pravilu ne mogu koristiti za kliničku primjenu do izuzetno velikog angažmana djelatnika u proizvodnji i kontroli kvalitete. I sada kada su novi aparati u primjeni povremene greške uzrokovane većom koncentracijom leukocita u PUK DDK koji ometaju senzore kod procesa razdvajanja i rezultiraju nesukladnom podjelom pune krvi bile su razlog za dodatnu doradu *firmware-a*. Proizvodač je napravio nadogradnju kako bi se i te greške u radu aparata ispravile te se aparati u suradnji sa serviserom nadograđuju i provode daljnja ispitivanja procesa razdvajanja KP na koje je ta promjena imala utjecaj.

## ZBRINJAVANJE KOMPLIKACIJA TIJEKOM LIJEČENJA DJETETA SA SOLIDnim MALIGNIM TUMOROM

STEPAN GILJEVIC J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika za dječje bolesti Zagreb

• Zavod za onkologiju i hematologiju

Maligni tumor predstavlja rijetku dijagnozu u dječjoj dobi. Usprkos ukupnom preživljenu od gotovo 80% i dalje kod ovih dijagnoza nalazimo vodeći uzrok smrti kod djece kako u Hrvatskoj tako i razvijenijim zemljama.

Veća uspješnost liječenja djelom korelira i s porastom intenziteta liječenja. Ova činjenica pridonosi potrebi za pojačanom brigom za zbrinjavanje komplikacija liječenja tj. intenzifikacijom potporne terapije i zbrinjavanju komplikacija liječenja.

Uz primjenu konvencionalne kemoterapije vežu se nuzpojave koje proizlaze od neselektivnosti citostatika tj. njegovog djelovanja na tumorske stanice, ali i sve ostale stanice u procesu djeljenja.

S druge strane kod ciljne terapije i imunoterapije dolazi do oslobođanja raznih citokina koji dovode do razvoja tzv. citokinske oluje koja isto zahtjeva nadzor i potporne mjere.

Potporna medicina je važan dio onkološkog zbrinjavanja. Primjerena potporna terapija pridonosi kvaliteti života bolesnog djeteta i njegove obitelji.

U radu se prikazuje postupnik zbrinjavanja komplikacija tijekom liječenja djeteta u bolničkim i vanbolničkim uvjetima. Daju se smjernice za potpornu terapiju u odnosu na pojedine solidne tumore dječje dobi, rizik tumorske bolesti i intenitet onkološkog liječenja. Analizira se antibikrobna terapija, terapija boli, primjena krvnih derivata, nutritivni suport i ostala simptomatska terapija.

## PLANIRANJE I PROVOĐENJE IZOBRAZBE U HZTM

BAČIĆ B.<sup>1</sup>, OČIĆ T.<sup>2</sup>, JUKIĆ I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za koordinaciju izobrazbe

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za informatiku

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnateljstvo

**Uvod:** Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu je je već godinama nezaobilazno mjesto stručnog i profesionalnog obrazovanja i razvoja različitih profila zdravstvenih radnika kako vlastitih zaposlenika tako i kolega iz drugih hrvatskih transfuzijskih centara, drugih zdravstvenih ustanova, a i kolega iz inozemstva.

HZTM je referentni centar ministarstva zdravstva za izobrazbu u transfuzijskoj medicini.

Izobrazba u HZTM se odvija u dva smjera:

1. Izobrazba prema normama osiguranja kvalitete (ISO sustav)
2. Stručna izobrazba

Izobrazba prema ISO – sustavu je podijeljena na nekoliko kategorija. To je izobrazba za: novoprimaljene djelatnike, djelatnike koji su na tečaju iz transfuzijske medicine, liječnike – specijalizante iz transfuzijske medicine, specijalizante drugih medicinskih disciplina, doedukacije stručnjaka, izobrazba učenika i studenata kao i provođenje trajne izobrazbe.

**Cilj rada:** Analiza i izvješćivanje o aktivnostima provedenim u HZTM-u koje se odnose na izobrazbu zaposlenika Zavoda, kao i stručnjaka na obilasku iz RH, Europe i svijeta.

**Metode:** Retrogradna analiza podataka iz zapisa koje vodi koordinator za izobrazbu za period od 2008. do 2020. godine, sukladno Planu i programu izobrazbe u transfuzijskoj djelatnosti.

**Rezultati:** Izobrazba novoprimaljenih djelatnika provodi se sukladno planu dva puta godišnje, prema zadanim temama i od 2008. – 2020. godine uspješno je program završilo 465 novoprimaljenih djelatnika.

Tečaj iz transfuzijske medicine namjenjen medicinskim sestrarama i laboratorijskim tehničarima koji rade u transfuzijskim centrima RH u trajanju od 4 mjeseca provodi se redovito u Zavodu dva puta godišnje.

Tako je u praćenom razdoblju od 12 godina ukupno evidentirano 146 polaznika tečaja iz 34 transfuzijska centra.

Specijalizanata transfuzijske medicine bilo je 59 iz 24 ustanove, a specijalizanta drugih medicinskih disciplina je ukupno evidentirano 532, najviše specijalizanata kardiologije i epidemiologije.

U HZTM redovito dolaze stručnjaci na doedukcije iz različitih područja iz Hrvatske, Europe, pa i svijeta. Ukupno smo imali 364 posjetitelja, a od tog broja 252 su bili iz inozemstva, najviše iz susjedne Slovenije, ali i iz Vietnama, Japana, Izraela, Hong Konga, Kanade, Italije, Danske,..

Edukacijski obilasci učenika osnovnih i srednjih škola praćeni su također po godinama, a ukupan broj u navedenom razdoblju je 988 učenika (58% su učenici srednjih škola zdravstvenog usmjerjenja).

Za edukacijske obilaske Zavoda od strane studenata imamo pokazatelje koji su praćeni od 2017. – do 2020. godine. U tom periodu u Zavodu se educiralo 267 studenata različitih studija. Porast broja educiranih studenata ostvaren je 2019. godine. Najzastupljeniji su studenti zdravstvenog veleučilišta i medicinske biokemije.

**Zaključak:** HZTM je uvijek bio otvoren za suradnju, razmjenu iskustava i znanja.

Sve nabrojane aktivnosti i svih sedam praćenih kategorija daju brojku od 2811 pojedinaca koji su posjetili i boravili određeno vrijeme u Zavodu. Zasluga je to dugogodišnjih napora svih djelatnika sadašnjih i bivših, koji su svoj rad i znanje, kao i značajni dio svojeg života ugradili u temelje ove ustanove.

## 7. STRUČNI SASTANAK MEDICINSKIH SESTARA I TEHNIČARA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI



### SAŽETCI

#### Ssimpozij 1 – Dobrovoljno davalaštvo i uzimanje krvi

### DOBROVOLJNI DAVATELJI – LJUDI VELIKOG SRCA

RATIĆ D.<sup>1</sup>, PIŠKORJANAC S.<sup>1,2</sup>, KRALIK K.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>KBC OSIJEK

• *Klinički zavod za transfuzijsku medicinu*

<sup>2</sup>Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek

• *Katedra za palijativnu medicinu i sestrinstvo*

<sup>3</sup>Sveučilište J. J. Strossmayera Osijek

• *Medicinski fakultet Osijek*

**Uvod/cilj:** Davanje krvi, s praktičnog stajališta, zanimljivo je ponašanje jer je neupitno korisno. Iako naizgled izgledaju slično, ljudi su složena bića, njihov unutarnji svijet je uvelike različit, a ponašanje višestruko i dinamično. Prema teoriji samoodređenja (Deci i Rayan, 2000.) motivi se mogu podijeliti u dvije kategorije intrinzične i ekstrinzične, te predstavljaju psihološki okvir za razumijevanje motivacije. Intrinzični motivi su povezani sa samoodređenim ponašanjem, dok su ekstrinzični motivi povezani s ponašanjem koje ima vanjsku kontrolu. U teoriji su identificirane tri ključne psihološke potrebe za koje se vjeruje da su urođene i univerzalne. To su potreba za kompetentnošću, potreba za povezivanjem, te potreba za autonomijom. Naravno, psihološki se rast, prema teoriji samoodređenja ne odvija automatski, nego zahtijeva trajnu psihološku potrebu – „hranu“ iz okoline. Kroz naše međusobne odnose i interakcije, ta „hrana“ iz okoline može potaknuti ili ometati osobni rast. Cilj ovog istraživanja je ispitati motive davatelja za doniranjem krvi prema teoriji samoodređenja.

**Metode:** U istraživanju su sudjelovali dobrovoljni davatelji krvi koji su pristupili darivanju krvi u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Osijek tijekom rujna 2021. Istraživanje je bilo anonimno i dobrovoljno, a obzirom na pristup eksperimentalno i prospективno. Kao instrument ispitivanja koristio se anketni upitnik osmišljen prema teoriji samoodređenja (Deci i Rayan 2000.) izrađen isključivo za potrebe ovog istraživanja. Upitnik se sastoji od 18 čestica koje su ravnomjerno raspoređene prema motivacijskim čimbenicima (nemotiviranost, ekstrinzična motivacija i intrinzična motivacija). U upitniku se koristi Likertova mjerna skala od 1 – 7. Analiza dobivenih rezultata je učinjena programskim paketom SPSS za Windows (inačica 9.0, Carry, New York, SAD).

**Rezultati:** U istraživanju je sudjelovalo N=280 ispitanika (232 muškaraca i 48 žena), prema mjestu stanovanja 185 grad i 95 selo, prema stručnoj spremi 4 NKV, 155 SSS, 40 VŠS, 75 VSS i 6 studenata. 17 ispitanika je prvi puta darovalo krv, a 263 ispitanika više puta. Medijan prema domenama iznosi: nema motivacije 1,3; vanjska motivacija 1; autonomija 4,8; kompetentnost 6,7; povezivanje 6 i unutarnja motivacija 5,7. Unutarnja pouzdanost pojedine domene i cijele skale upućuje da je skala dobar alat za procjenu motivacije u testiranom uzorku (Crombach Alpha 0,907). Usporednom domena i mesta stanovanja nešto viši je vanjski utjecaj motivacije u gradu ( $p=0,01$ ). Višestruki davatelji krvi u odnosu na prvo davanje imaju veću motiviranost u domeni kompetentnosti ( $p=0,001$ ) i domeni povezivanja ( $p=0,03$ ). Motiviranost ispitanika prema dobi raste starenjem, od domene nemotiviranosti ( $\text{Rho}=-0,124$ ;  $p=0,04$ ) prema domeni povezivanja ( $\text{Rho}=0,172$ ;  $p=0,004$ ).

**Zaključak:** U istraživanju prevladava djelomično intrinzična i čista intrinzična motivacija ispitanika za darivanjem krvi, što ukazuje na činjenicu da su davatelji doista ljudi velikog srca. Dobiveni rezultati ukazuju da osobe koje su višestruko donirale krv imaju veću intrinzičnu motivaciju iz domene kompetentnosti i povezivanja. To se može objasniti osjećajem učinkovitosti osobe koja uči, na potrebu da iskusi samopouzdanje pri postizanju željenih ciljeva, te na iskustva pozitivnih međusobnih odnosa ostvarivanjem bliskosti i međusobnog povjerenja s osobama sličnih sklonosti. Spoznaje o motivaciji osoba za darivanjem krvi mogu poslužiti za uspješnu regratraciju novih i zadržavanje postojećih davatelja.

**Ključne riječi:** dobrovoljni davatelj krvi; motivacija; teorija samoodređenja

## UTJECAJ PANDEMIJE COVID-19 NA PLANIRANJE I ORGANIZACIJU AKCIJA DARIVANJA KRVI

ČEGEC V.<sup>1</sup>, Topić Šestan P.<sup>1</sup>, Mušlin T.<sup>1</sup>, Repušić Babacanli M.<sup>1</sup>, Jukić I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod:** Pandemija COVID-19 ima veliki utjecaj kako na planiranje i organizaciju akcija prikupljanja krvi od dobrovoljnih darivatelja krvi tako i na provedbu i ostvarenje akcija što je rezultiralo smanjenim zalihamama krvnih pripravaka. Veliki broj otkazanih akcija sa značajnim brojem donacija, manji odaziv darivatelja na akcije radi epidemiološke situacije te gubitak akcija na kojima maturanti po prvi puta daruju krv izazovi su s kojim se susrećemo od kraja veljače 2020. godine, a čije posljedice osjećamo i danas.

**Cilj:** Prikazati utjecaj pandemije COVID-19 na planiranje, organizaciju i ostvarenje akcija darivanja krvi u organizaciji Gradskeh društava Crvenog križa (GDCK) te Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu (HZTM) u 2020. godini te usporedba podatka sa rezultatima postignutim u 2019. godini.

**Metode:** Planiranje i organizacija akcija darivanja krvi temelji se na godišnjim iskazanim potrebama za krvnim pripravcima bolnica koje opskrbljuje Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu. Godišnji plan akcija darivanja krvi izrađuje se u suradnji sa Gradskim društvima Crvenog križa (GDCK), njih ukupno 38, te Hrvatskim Crvenim Križem s ciljem zadovoljenja iskazanih potreba. Svi rezultati dobiveni su analizom podataka iz informatičkog sustava e-Delphyn za 2019. i 2020. godinu.

**Rezultati:** U 2020. godini prikupili smo 86.354 doze pune krvi što je za 11.869 doza manje (13,7%) nego 2019. godine (98 223).

Godišnji plan potreba za 2020. godinu iskazan od strane bolnica prema kojima HZTM ima obavezu opskrbe s krvi i krvnim pripravcima iznosio je 96 605 doza krvi. Prikupljeno je 86.354 doze krvi što je za 10.251 doza (10,6%) manje od planiranog. Za razliku od 2019. godini u kojoj je prikupljeno je 448 doza više od planiranih potreba, koje su iznosile 97.775 doza krvi.

U 2020. godini na akcije dobrovoljnog darivanja krvi, darivatelji krvi su se odazvali 106.741 puta. Darivanju krvi je pristupilo 44.483 darivatelja, od kojih je krv dalo 86.354. što čini 1,94 darivanja po darivatelju. U 2019. smo prikupili 98.223 doze uzete od 48.576 darivatelja što čini 2,02 darivanja po darivatelju krvi.

Krv smo prikupljali na 892 organizirane akcije od strane GDCK (40 ili 4,3% manje nego u 2019. – 932 akcije) i u HZTM. Od toga je bilo 728 (81,6%) akcija u organizaciji vanjskih GDCK (2019. – 725; 3 ili 0,41% više), 135 (15,1%) u organizaciji GDCK Zagreb (2019. – 164 akcije; 29 manje –17,7%) i 29 (3,3%) u organizaciji HZTM (2019. – 43 akcije, 14 manje –32,6%).

Broj prikupljenih donacija prema grupi davališta u 2019. godini za vanjski GDCK iznosi 53.735 doza pune krvi, dok je u 2020. godini manji za 4.558 (–8,5%) doza i iznosi 49.177 doza. GDCK Zagreb u 2019. prikupio je 9.394 doze pune krvi, a u 2020. godini 3.043 doze manje (–32,4%) odnosno 6.351 dozu krvi.

2019. godine u HZTM prikupljeno je 33.445 doza pune krvi, dok je u 2020. godini taj broj iznosio 29.886 doza što je za 3.559 doza manje (10,6%). Također, na terenima u organizaciji HZTM (TEZA) prikupljeno je 709 (43,0%) doza manje u 2020. godini (940 doza), u usporedbi sa 2019. godinom kada je prikupljeno 1 649 doza pune krvi.

**Zaključak:** U turbulentnoj 2020. godini prikupili 86.354 doze krvi što je za 11.869 (13,7%) doza krvi manje nego u 2019. godini. Od toga, najveći pad bilježimo kod GDCK Zagreb (32,4%) koji je zbog velikog broja otkazanih akcija u srednjih školama, fakultetima i radnim organizacijama (ukupno 42 akcije) rezultiralo znatnim smanjenjem (32,4%) prikupljenih doza i to za 3.043 doza krvi u usporedbi sa 2019. godinom. Utjecaj pandemije konstantno utječe na smanjene zalihe krvi. Ovu godinu započeli smo sa 864 doze na zalihamama što je znatno manje od prethodne 2020. godine koju smo započeli sa 1.814 doza na zalihamama. Ulažemo velik trud kako bismo zadovoljili potrebe naših bolesnika i stabilizirali stanje zaliha krvi.

## ISTRAŽIVANJE POVEZANOSTI NASTANKA NEŽELJENE REAKCIJE SA PRETHODNIM ISKUSTVOM DAVAOCA U DAVANJU KRVI

PAŠALIĆ A.<sup>1</sup><sup>1</sup>JU Kantonalna bolnica Zenica

• Transfuzijski centar

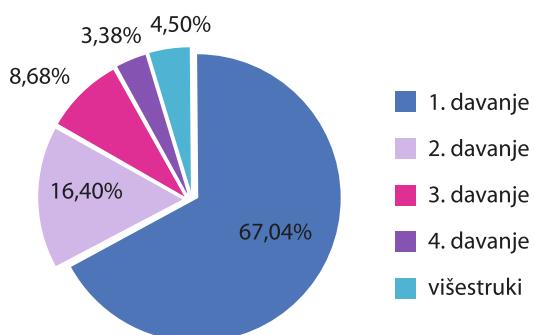
**Uvod:** Većina zdravih osoba podnosi gubitak od 450 ml krvi bez pojave bilo kakve reakcije. Prema našim saznanjima, kod 3–5% davalaca u toku i nakon davanja krvi javljaju se neželjene reakcije. Prema težini manifestiranih simptoma klasificirane su u blage, srednje teške i teške reakcije. Uglavnom se javljaju one blage poput nelagode, bljedila, znojenja, vroglavice, i magljenja pred očima. Srednje teške (kratkotrajni gubitak svijesti, ubrzani rad srca, povraćanje) i teške, kao što su teži poremećaj svijesti, kloničko-tonički grčevi, javljaju se rijetko. Zdravstveni djelatnici koji rade na uzimanju krvi trebaju biti obučeni na prevenciju, prepoznavanju, tretiranju i bilježenju svih štetnih dogadaja i reakcija povezanih sa davanjem krvi. Nakon uzimanja krvi, davalac je pod stalnim nadzorom medicinske sestre/tehničara i kod pojave prvih simptoma neželjene reakcije davaocu se bez odlaganja ukazuje potrebna pomoć. Posebna pažnja se pridaje sprječavanju padova i povrđivanja davaoca. Koliko su važne sestrinske procedure u postupku uzimanja krvi, pokazat će analiza učestalosti reakcija i težine manifestiranih simptoma kod davalaca kojima je pravovremeno ukazana pomoć. Postavlja se pitanje postoji li veza između prethodnog iskustva davaoca u davanju krvi i učestalosti pojave neželjene reakcije?

**Cilj:** Utvrditi učestalost neželjenih reakcija, prikazati njihovu klasifikaciju i odrednicu početka zabilježene reakcije. Istražiti distribuciju pojave u odnosu na iskustvo davaoca u davanju krvi, s posebnim osvrtom na nove davaoce od prvog do četvrtog davanja.

**Metode:** Istraživanje provedeno na davaocima krvi koji su u periodu od 01.01.2011. do 31.12.2016. godine bili podesni za davanje krvi, ali su u toku ili po završetku davanja krvi imali neželjenu reakciju. Uzorkovanje je izvršeno iz baze podataka Transfuzijskog Informacionog Sistema. Neželjene reakcije su razvrstane u kategorije: prema težini krajnje manifestacije simptoma (blage/ srednje teške / teške), prema odrednicu vremena pojavljanja (u toku / nakon davanja krvi) i u odnosu na iskustvo davaoca u davanju krvi (1. davanje / 2. davanje / 3. davanje / 4. davanje / višestruki). Za istraživanje povezanosti iskustva davaoca u davanju krvi sa nastankom neželjene reakcije korišten je  $\chi^2$  test, a statistička značajnost se dokazivala za nivo gdje je  $p<0,05$ .

**Rezultati:** Od ukupno 33.253 davaoca koji su pristupili davanju krvi u periodu istraživanja, kod 1,87% njih ( $n=622$ ), zabilježeni su neki od simptoma reakcije. Od tog broja, blage reakcije su zabilježene u 1,75% slučajeva, srednje teške u 0,11% i teške u 0,01% slučajeva. Prema vremenskoj odrednici početka pojave simptoma zabilježeno je 458 reakcija u toku davanja krvi i 164 po završetku davanja krvi, od čega je zabilježen jedan slučaj pada i povrđivanja davaoca nakon napuštanja transfuzijske ustanove. Kod 18 davalaca zabilježen je slučaj ponovljene reakcije na nekom od sljedećih davanja krvi. Testirajući povezanost broja davanja krvi i frekvencije pojave neželjene reakcije, nađena je statistička značajnost broja neželjenih reakcija kod davalaca na prvom davanju u odnosu na drugo ( $p<0,0001$ ), zatim davalaca na drugom u odnosu na treće i na trećem u odnosu na četvrtu davanje. Distribucija pojave neželjenih reakcija među davaocima od prvog do četvrtog davanja i višestrukim davaocima predstavljena je grafikonom 1.

(n) darivanja	1. davanje	2. davanje	3. davanje	4. davanje	višestruki	
(n) reakcija	417	102	54	21	28	622



GRAFIKON 1. DISTRIBUCIJA REAKCIJA MEĐU DAVAOCIMA OD 1. DO 4. DAVANJA

**Zaključak:** Nedovoljno ili nikakvo iskustvo davaoca u davanju krvi značajan je indikator za učestalost nastanka neželjene reakcije. Najveću učestalost nalazimo među novim davaocima (67,04%), ali značajnu razliku učestalosti pokazalo je i treće davanje u odnosu na četvrtu. Ovo nas dovodi do zaključka i potrebne preporuke da posebnu pažnju treba obratiti na praćenje novih davalaca i do trećeg davanja. U sestrinskim procedurama bitno je dati važnost razvijanju interpersonalnih vještina u cilju otklanjanja straha i stvaranja ugodnog okruženja u kojem se daje krv. Nizak procenat ukupne učestalosti reakcija i klasifikacija većinom u blage reakcije navodi na zaključak da su u našoj ustanovi ti ciljevi zadovoljeni.

## PRIKUPLJANJE PLAZME POMOĆU AURORA SEPARATORA U KZTM KBC OSIJEK

PIŠKORJANAC S.<sup>1</sup>, RATIOĆ D.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>KBC Osijek

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek

• Katedra za palijativnu medicinu i sestrinstvo

**Uvod/cilj:** AURORA SW 2.0 (Fresenius Kabi) automatiziran je sustav za plazmaferezu dizajniran za prikupljanje „cell-free“ plazme membranskim filtriranjem.

Tako prikupljena plazma obrađuje se kao izvorna plazma, odnosno kao svježe smrznuta plazma (SSP) ukoliko je pri prikupljanju korišten PLASMACELL-C set.

Prije početka rukovanja uređajem medicinske sestre/tehničari (operateri) educirani su od strane licenciranog instruktora tvrtke Fresenius Kabi te su po završetku edukacije prošli teorijsku i praktičnu provjeru znanja.

Cilj rada je prikazati dosadašnja iskustva u prikupljanju plazme AURORA staničnim separatorom u KZTM KBC Osijek kao jedinim transfuzijskim centrom u RH u kojem se plazma prikuplja na navedeni način.

**Metode:** Prikazani podatci dobiveni su uvidom u programske sustav „e-Delphyn“.

**Rezultati:** U Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Osijek prikupljanje plazme pomoću AURORA staničnog separatora započelo je 17. prosinca 2019. godine. Od tada, pa do 30.rujna 2021. godine učinjeno je 277 procedura, od kojih je sukladno bilo 265.

Pojavom pandemije uzrokovane SARS-CoV-2 virusom i pogoršanja epidemiološke situacije u Republici Hrvatskoj, u srpnju 2020. godine pristupa se prikupljanju konvalescentne plazme u svrhu liječenja oboljelih od COVID-19 bolesti.

Slijedom toga, u KZTM KBC Osijek je 26. ožujka 2021. godine učinjena prva procedura prikupljanja COVID-19 konvalescentne plazme (CKP). Od tada, pa do 30.rujna 2021. učinjena je 51 procedura prikupljanja COVID-19 konvalescentne plazme, od kojih je sukladno bilo 50.

Od tako prikupljene COVID-19 konvalescentne plazme, za kliničku upotrebu isporučeno je 35 pripravaka od kojih je 1 bio isporučen u cijelosti, a ostalih 34 u odvojenim dozama.

Preostalih 15 pripravaka nisu bili sukladni za liječenje bolesnika oboljelih od COVID-19 bolesti budući je testiranjem utvrđen nedovoljan titar antitijela.

**Zaključak:** Prikupljanje plazme pomoću AURORA staničnog separatora u KZTM KBC Osijek pozitivno je prihvaćeno, kako od strane operatera tako i od strane dobrovoljnih davatelja. Procedura traje kraće u odnosu na procedure koje se obavljaju na AMICUS staničnim separatorima, relativno je ugodna i ne zahtijeva nekakvu posebnu angažiranost niti davatelja niti operatera, pa je sve više zainteresiranih dobrovoljnih davatelja za darivanje krvne plazme.

**Ključne riječi:** COVID-19; konvalescentna plazma; plazmafereza; separator

## KAPI ZA OČI IZ AUTOLOGNOG SERUMA

RUKAVINA K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC ZAGREB

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod/cilj:** Kapi za oči proizvedene iz autolognog serumu koriste se za vlaženje i pospješivanje cijeljenja površine oka. Autologni serum razrjeđuje se fiziološkom otopinom. Budući da ne sadrži aditive, konzervanse niti stabilizatore mora se čuvati zamrznut. Rok valjanosti zamrznutih kapi u zamrzivaču na  $<-18^{\circ}\text{C}$  je 6 mjeseci. Ovisno o dostupnosti potrošnog materijala za proizvodnju kapi, serum se može rastaći u ampule ili boćice. Prezentirat ćemo postupak izrade kapi za oči, te objasniti kako način proizvodnje, s obzirom na zahtjev za rad u klasificiranom („čistom“) ili nekласificiranom prostoru utječe na organizaciju rada u Banci stanica.

**Metode:** Nakon liječničkog pregleda autolognog darivatelja, medicinska sestra u vrećicu bez antikoagulantne otopine uzima 150 mL pune krvi i uzorke krvi za testiranje krvlju prenosivih zaraznih bolesti. Označena vrećica i dokumentacija postupka se proslijedi na obradu u Banku stanica. Kako bi se stvorio ugrušak, vrećica s krvi se pohranjuje tijekom 24 sata (do maksimalno 48 sati) u hladnjaku na  $+4^{\circ}\text{C}$ , a prije centrifugiranja je treba ostaviti pola sata na sobnoj temperaturi. Nakon centrifugiranja na 3010 rpm kroz 15 min. serum se odvaja u istiskivaču plazme. Serum se razrjeđuje u omjeru 20% seruma i 80% fiziološke otopine, a može i u drugim omjerima, ovisno o indikaciji i uputi liječnika. Svi procesni koraci bilježe se u računalni program za banke tkiva i stanica (T.C.S.) koji osigurava slijedivost, generira naljepnice za označavanje pripravka, dokumentacije i uzoraka, te omogućuje automatske izračune količine fiziološke otopine koja se dodaje tijekom proizvodnje. Postupak dodavanja fiziološke otopine u serum dalje ovisi o vrsti materijala u koji će se razrijedjeni serum rastaći. Na raspolaganju su nam boćice ili set s ampulama (COL – Biomed Device) koji zahtjevaju rad u klasificiranom prostoru ili set s ampulama (Meise – GmbH Medizintechnik) koji se može koristiti u neklasificiranom prostoru.

Ampule koje ne zahtijevaju ulazak u čisti prostor su se pokazale najpraktičnijim pa se koriste rutinski pri izradi kapi za oči. Vrećica s razrijedjenim serumom se sterilno spaja s filter adapterom, a potom sa setom ampula na čijem kraju je prazna vrećica za zrak. Ampulice se slazu u stalak, a vrećica s filterom postavi na držač. Otvaranjem zatvarača vrećice razrijedjeni serum puni sve ampule seta po principu spojenih posuda. Kada serum dođe do zadnje ampule istisne se zrak iz vrećice na kraju seta dok se sve linije iznad ampulica ne popune zrakom. Vrećice s razrijedjenim serumom i zrakom se odvare, ampule se označe naljepnicama i zavarivačem zasebno odvoje. Za svakog pacijenta se proizvede 90 ampula (3 seta). Iz razrijedenog seruma koji je na kraju postupka ostao u vrećici, uzmu se mikrobiološke kontrole u čistoj sobi. Označene i zapakirane ampule pohranjuju se u zamrzivaču na temperaturi  $<-18^{\circ}\text{C}$ . Po zaprimanju nalaza kontrole sterilnosti i biljega zaraznih bolesti radi se završna kontrola kojom se potvrđuje da kvaliteta pripravka zadovolja kriterije specifikacije pripravka i da su kapi spremne za izdavanje. Kapi se izdaju pacijentu uz prethodni telefonski dogovor o preuzimanju, a pakiraju se u spremnik sa suhim ledom kako bi tijekom transporta do konačne lokacije ostale zamrznute. Pacijent kapi zatim čuva u zamrzivaču, otapa svaki dan po jednu ampulu koju kapa prema uputi liječnika do kraja dana. Odmrznute kapi koristi tijekom 24 sata i čuva na  $+4^{\circ}\text{C}$ , a potom ih baca zbog mogućnosti mikrobiološke kontaminacije.



**Zaključak:** Korištenje setova koji ne zahtijevaju ulazak u klasificirani prostor pojednostavilo je i ubrzalo proizvodnju, a naš rad u Banci stanica učinilo bržim i manje zahtjevnim. To nam je za posljedicu olakšalo posao i omogućilo izradu kapi za još više pacijenata po danu, te omogućilo dostupnost usluge za sve veći broj zadovoljnih pacijenata koji iz godine u godinu sve više raste.

## Simpozij 2 – Tkivno bankarstvo

### DAROVANO HUMANO MLJEKO ZA SVAKO NOVOROĐENČE U HRVATSKOJ

LESKOVAR I.<sup>1</sup>, Novoselac J.<sup>1</sup>, Pavičić Bošnjak A.<sup>1</sup>, Radović N.<sup>1</sup>, Mihajlović V.<sup>1</sup>, Nuić M.<sup>1</sup>, Jelečki A.<sup>1</sup>, Gojčeta K.<sup>1</sup>, Rimac V.<sup>1</sup>, Kalenić B.<sup>1</sup>, Golubić Ćepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Banka humanog mlijeka obavlja medicinski probir i testiranje majki darivateljica te prikupljanje, pregradu, provjeru kvalitete, čuvanje i raspodjelu darovanog mlijeka. Humano mlijeko je namijenjeno prvenstveno za novorođenčad koja se liječi u bolnici, a nije im dostupno mlijeko vlastite majke. Brojni su klinički dokazi koji potvrđuju korist od prehrane novorođenčadi humanim mlijekom. Posebno se to odnosi na prijevremeno rođenu novorođenčad.

Prva banka humanog mlijeka u Hrvatskoj osnovana je u studenom 2019. kao dio Hrvatske banke tkiva i stanica Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb (Banka). Rezultat je suradnje Ministarstva zdravstva, Dječjeg fonda Ujedinjenih naroda (UNICEF) i KBC Zagreb, a na inicijativu Hrvatske udruge grupa za potporu dojenja.

Banka je započela s radom u siječnju 2020. nakon dobivanja odobrenja za rad nadležnog tijela Ministarstva zdravstva prema Zakonu o primjeni ljudskih tkiva i stanica.

Cilj je prikazati rezultate rada Banke u 2020.

**Metode:** Postupak darivanja humanog mlijeka započinje inicijalnim zdravstvenim probirom majke koja doji vlastito dijete mlade od godinu dana. Ako nema kontraindikacija za darivanje i dijete očekivano napreduje, majka dobiva set i upute za prikupljanje i pohranu mlijeka u kući. Nakon prve donacije uzimaju se uzorci za testiranje na krvlju prenosive bolesti. Ako su ispunjeni svi zahtjevi majka može nastaviti s donacijom. Mlijeko se u Banku dostavlja zamrznuto i nakon ulazne kontrole donosi se odluka o pasterizaciji. Dinamika pasterizacije prilagođava se kliničkim potrebama, ali u dozvoljenom vremenskom okviru od izdajanja. U procesu obrade i pasterizacije mlijeka pripravci se mikrobiološki testiraju i određuje im se prehrambena i kalorijska vrijednost. Pasterizirano mlijeko čuva se na temperaturi od -30°C s rokom valjanosti tri mjeseca od datuma pasterizacije.

Prikazani su rezultati rada Banke za 2020.

**Rezultati:** U navedenom razdoblju prikupljeno je ukupno 496,09 litara mlijeka. Kriterije za pasterizaciju zadovoljilo je 95 % zaprimljenog mlijeka. Obzirom na kliničke potrebe i rokove trajanja u 2020. je pasterizirano 73 % zaprimljenog mlijeka. Zbog prisutnosti prekomernog broja bakterija u uzorcima mlijeka prije postupka pasterizacije uništeno je 18 % pasteriziranog mlijeka. Nakon pasterizacije 2 % mlijeka nije bilo sterilno. Prehrambena i kalorijska vrijednost mlijeka prikazana je u Tablici 1.

TABLICA 1. PREHRAMBENA I KALORIJSKA VRJEDNOST MLJEKA

	X±SD
Masti (g/100 mL)	3,7 ±1,12
Ugljikohidrati (g/100 mL)	8,2 ±0,24
Bjelančevine (g/100 mL)	1,0 ±0,18
Kalorije (kcal/100 mL)	72±10,53

Za potrebe prehrane novorođenčadi na jedinicama intenzivne skrbi izdano je 235,4 litre pasteriziranog mlijeka.

**Zaključak:** Pasterizirano humano mlijeko je najbolja zamjena za majčino mlijeko kad ona nije u mogućnosti hraniti svoje dijete. Upravo zbog toga banka humanog mlijeka ima važnu ulogu u skrbi za novorođenčad u jedinicama intenzivne njegе. Zadatak banke humanog mlijeka je da osigura dovoljne količine sigurnog i kvalitetnog humanog mlijeka kako bi se zadovoljile potrebe na nacionalnoj razini. Naša Banka djeluje kao nacionalna što omogućuje da svakom novorođenčetu koje nema pristup majčinom mlijeku, a ima medicinsku indikaciju za njegovu primjenu, darovano humano mlijeko bude dostupno.

## VRSTE TRANSPLANTATA ROŽNICA PRIPREMLJENIH U BANCI OČNOG TKIVA U RAZDOBLJU 2015.–2020. GODINE

MIHOJEVIĆ V.<sup>1</sup>, Popović T.<sup>1</sup>, Vidović I.<sup>1</sup>, Rončević Krajina M.<sup>1</sup>, Tutić Lazić S.<sup>1</sup>, Leskovar I.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Hrvatska banka tkiva i stanica

**Uvod:** Banka očnog tkiva organizacijski je dio Hrvatske banke tkiva i stanica Kliničkog zavoda za transfuziju medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog Centra Zagreb. Uloga banke je prikupljanje, procjena, pohrana, obrada te raspodjela očnog tkiva za transplantacije. U Banci očnog tkiva rožnice se pripremaju za transplantacije tehnikom penetrirajuće keratoplastike (eng. Penetrating Keratoplasty – PK), kojom se transplantira puna debljina rožnice, a od 2014. godine za transplantacije tehnikom lamelarne, slojevite, keratoplastike uz pomoć mikrokeratoma Gebauer (eng. Descemet stripping automated endothelial keratoplasty – DSEAK).

**Cilj:** Usporedba postupaka obrade rožnica namjenjenih za PK i DSAEK te učestalosti korištenja navedenih transplantata u kliničkoj primjeni.

**Metoda:** Prikaz postupaka obrade rožnica za različite vrste keratoplastika uz retrospektivnu analizu podataka Banke očnog tkiva o izdavanju navedenih transplantata u razdoblju od 01.01.2015. do 31.12.2020. godine.

**Rezultati:** U 2015. godini je iz Očne banke izdano ukupno 399 rožnica. U 2015. godini je 380 rožnica transplantirano tehnikom penetrirajuće keratoplastike dok je 19 rožnica transplantirano tehnikom lamelarne keratoplastike. U 2016. godini izdano je 330 rožnica. 279 rožnica je transplantirano tehnikom penetrirajuće keratoplastike dok je 51 rožnica transplantirana tehnikom lamelarne keratoplastike. 2017. je pripremljeno 272 rožnica za PK i 56 rožnica za DSAEK. 2018. je pripremljeno 273 PK i 59 rožnica za DSAEK. U 2019. vidimo nagli porast zahtjeva za rožnicama za DSAEK. Te godine je pripremljeno 231 rožnica za PK, a čak 81 za DSAEK. 2020. je pripremljeno 196 rožnica za PK i 46 za DSAEK. U Tablici 1. je prikazana zastupljenost rožnica pripremljenih za PK i DSAEK kroz navedeno razdoblje.

TABLICI 1. ZASTUPLJENOST ROŽNICA PRIPREMLJENIH ZA PK I DSAEK

Godina	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.	2020.
Ukupan broj izdanih rožnica	399	330	328	332	312	242
Rožnice za PK	95%	85%	83%	82%	74%	81%
Rožnice za DSAEK	5%	15%	17%	18%	26%	19%

**Zaključak:** Iz analize broja izdanih rožnica u navedenom razdoblju možemo zaključiti da prevladavaju rožnice pripremljene za transplantacije tehnikom PK, ali također da je vidljiv i porast udjela rožnica pripremljenih za transplantacije tehnikom DSAEK. Pad broja ukupno izdanih rožnica u 2020. godini pripisujemo SARS-CoV-2 pandemiji koja je dovila do obustave prikupljanja očnog tkiva od ožujka do svibnja. Iz istog razloga, u 2020. godini je smanjen broj transplantacija, a time je smanjen i broj DSAEK operacija. Budući da su istraživanja pokazala kako, naspram penetrirajuće keratoplastike, lamelarna keratoplastika dovodi do boljih ishoda liječenja, rezultati porasta broja zahtjeva transplantacijskih centara za takvom vrstom transplantata su očekivani te prema izvješću Europskog udruženja očnih banaka (eng. European Eye Bank Association – EEBA) odgovaraju kretanjima u europskim transplantacijskim centrima.

U narednim godinama očekujemo daljnji porast broja zahtjeva transplantacijskih centara za rožnice pogodne za DSAEK operacije, a u skladu s napretkom kirurških tehnika i tehnologija, možemo očekivati i zahtjeve za rožnice za transplantacije novim metodama.

### Simpozij 3 – Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini

## DJELATNIK, KVALITETA, IZVRSNOST

VRANARIĆ M.<sup>1</sup>, Makar M.<sup>1</sup>, Matuš V.<sup>1</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>2</sup>, Jukić I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Služba za medicinsku djelatnost

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Ravnateljstvo

**Uvod:** Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu je referentni centar Ministarstva zdravstva za transfuzijsku medicinu, najveća transfuzijska ustanova u Republici Hrvatskoj. Služba za transfuzijsku medicinu prikuplja i obrađuje više od 50 % dobrovoljnih darivatelja krvi u Republici Hrvatskoj te proizvodi oko 20 vrsta različitih krvnih pripravaka i obavlja niz laboratorijskih ispitivanja darivatelja, bolesnika, trudnica i ostalih građana. Na centralnom prijemu I obavlja se trijaža, prijem, elektronički upis, uzorkovanje krvi te slanje nalaza bolesnika, trudnica i ostalih građana (stranaka).

**Cilj:** Prikazati rad djelatnika centralnog prijema I te navesti osobine, vrline i kompetencije koje bi trebao imati svaki djelatnik (zdravstveno-laboratorijski tehničar) na ovom radnom mjestu radi postizanja stabilne kvalitete usluge.

**Metode:** Iznimno je važan pristup djelatnika prema strankama koji počinje samim susretom između navedenih osoba te njihovom međusobnom verbalnom i neverbalnom komunikacijom. Kvaliteta komunikacije jest preduvjet za uspješan rad i stjecanje povjerenja stranaka u stručnost i sposobljenost djelatnika. Prema svakom korisniku usluga djelatnik je dužan odnositi se s poštovanjem, pristupiti nježno i brižno, s empatijom, iskrenošću, taktom i osjetljivošću te biti spremna odgovoriti na svaki upit. Također, djelatnik treba omogućiti davanje stručnog mišljenja specijaliste transfuzijske medicine, ukoliko to korisnik usluga traži. Ugodno radno okruženje i međusobna suradnja djelatnika te predanost timskom radu olakšava rješavanje i potencijalno konfliktnih situacija. Osim stručnosti koja podrazumijeva kontinuirano usavršavanje za rad s laboratorijskim informatičkim sustavom, prikupljanje i razvrstavanje uzoraka za različite pretrage pojedinih laboratorija, djelatnik treba moći stati „u cipele“ svake stranke. To znači biti suosjećajan, otvoren, susretljiv i pokušati pronaći najbolje rješenje u svakoj situaciji, što nije uvijek jednostavno. Upravo zato treba razumjeti i poštovati prava korisnika usluga, a ujedno i čuvati povjerljivost informacija.

**Rezultati:** Kako bismo u novonastaloj situaciji s pandemijom COVID-19 2020. godine pomogli našim korisnicima uveli smo trijažu, produžili vrijeme uzorkovanja krvi sa 7,30 do 11 sati na 7 do 12 sati i uveli uslugu slanja nalaza e-mailom uz potpisu suglasnost. Godinu dana kasnije uslijedilo je i dugo očekivano spajanje sa sustavom CEZIH (inicijativa od 2011.) što je omogućilo prihvatanje e-uputnica i slanje nalaza direktno liječniku koji je pretrage i zatražio. Zbog velikog interesa stranaka za slanje nalaza e-mailom odlučili smo i nadalje paralelno slati nalaze tim načinom.

**Zaključak:** U želji za promjenom na bolje i izobrazbom djelatnika kroz pozitivan pristup poteškoćama i problemima, kao potencijalnim prilikama i mogućnostima za osobni rast i napredak moguće je pružiti uslugu kakvu bismo i sami htjeli dobiti. Prilagodljivost promjenama omogućuje kvalitetu i izvrsnost, a rezultira zadovoljnim korisnikom.

## MIKROBIOLOŠKI NADZOR PROSTORA ZA PRIKUPLJANJE KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA POSTUPKOM AFEREZE

BARIČEVIĆ LUKAČ M.<sup>1</sup>, Bojanic I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Sukladno standardima Zajedničkog odbora za akreditaciju međunarodnih društava JACIE, ISCT i EBMT za prostor u kome se prikupljaju krvotvorne matične stanice (KMS) postupkom afereze moraju biti definirani kritični parametri kao što su temperatura, vlažnost zraka i mikrobiološki nadzor površina. Mikrobiološki nadzor neklasificiranih prostora i osoblja provodi se u svrhu pravodobnog uočavanja rizika i sprječavanja mikrobiološke kontaminacije pripravaka stanica tijekom prikupljanja i obrade.

**Cilj:** Prikazati postupak i rezultate mikrobiološkog nadzora neklasificiranog prostora gdje se prikupljaju KMS iz periferne krvi postupkom afereze.

**Metode:** Na početku uvođenja nadzora neklasificiranih prostora uzorkovanje treba biti često (npr. 1x tjedno u razdoblju od 12 tjedana). Nakon analize rezultata inicijalnog nadzora, procjenjuje se rizik, određuje učestalost dalnjih nadzora te dozvoljene vrijednosti (granice upozorenja i granice akcije). Mikrobiološki nadzor površina radi se uzimanjem otisaka sa kritičnih mesta propisanih za pojedini radni proces. Mikrobiološki nadzor osoblja radi se uzimanjem otiska ruku/rukavica, a po potrebi i drugih mesta (podlaktice, prsa). Otisci površina, ruku i rukavica uzimaju se s mesta koja dolaze u kontakt s kožom pacijenta i osoblja te na potencijalno kontaminiranim površinama u različitim fazama uzimanja tkiva/stanica ili pripreme za ulaz u čiste sobe zbog otkrivanja potencijalnog rezervoara mikroorganizama i izvora kontaminacije pripravaka tkiva/stanica. Vrijeme uzorkovanja se određuje ovisno o svrsi nadzora u odnosu na nadzirani proces (na početku/kraju radnog vremena, prije/nakon čišćenja, između pacijenata, prije/nakon upotrebe CVK, prije/nakon venepunkcije, prije dostave tkiva/stanica na obradu...). Za uzimanje uzoraka površina koriste se CT3P ploče. Mikrobiološki brisevi se uzimaju sa zakriviljenih površina i teško dostupnih mesta čišćenju i dezinfekciji na kojima se ne mogu koristiti kontaktne ploče. Za uzimanje otiska rukavica ili ruku djelatnika koriste se TSA (dia 90 mm ploče). Otisk rukavica se uzima na kraju postupka. Uzorke je potrebno pravilno označiti, pripremiti popratnu dokumentaciju i do transporta u mikrobiološki laboratorij držati na sobnoj temperaturi. Uzorke je potrebno odmah po uzorkovanju dostaviti u laboratorij, a ako to nije moguće, ne bi trebalo proći dulje od 2h do dostave. Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju izdaje nalaz mikrobiološke kontaminacije izražen u broju CFU/ploča i identificirane mikroorganizme. Nalazi su dostupni u Bolničkom Informacijskom Sustavu (BIS). Prema dobivenim rezultatima izrađuje se izvješće o nadzoru neklasificiranih prostora i osoblja te ovlašteni liječnik i/ili biolog analiziraju podatke na mjesечноj, tromjesečnoj, polugodišnjoj i godišnjoj razini radi praćenja trendova i otkrivanja mogućih problema. Ako se uoče neočekivani trendovi, odmah obavijestiti voditelja Odjela/Banke i predstojnika te propisuju korektivne mjere. Ako broj CFU otiscima bude iznad granice upozorenja potrebno je analizirati lokacije na kojima je izmjerena povećani broj CFU, provjeriti zdravstveno stanje osoblja, infekcije bolesnika, pridržavanje uputa o pranju ruku, postupak s otpadom, poštivanje propisanih postupaka prikupljanja stanica/tkiva, ocijeniti postupke čišćenja te pregledati prethodne nalaze mjerena. Ako rezultati mjerena budu iznad granice akcije, potrebno je istražiti uzroke, provesti čišćenje propisano za prostore visokog rizika, provjeriti mikrobiološki nalaz staničnih/tkivnih pripravaka prikupljenih na dan kada je opažena granična vrijednost mikrobiološke kontaminacije. Provode se i bilježe sljedeće korektivne mjere: provjera osposobljenosti osoblja (ponoviti edukaciju), ponoviti uzimanje uzoraka, primjenjivati navedene mjere dok rezultati mjerena ne budu unutar dozvoljenih granica. Izolirani slučaj povećanog broja CFU ne mora nužno značiti i zatvaranje prostora. Odluku o tome donosi predstojnik/voditelj Odjela.

**Rezultati:** U Odjelu za prikupljanje i pohranu stanica Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju u razdoblju od 2019.–2021.g. učinjeno je 13 kontrola. Mikrobiološki nalazi su bili unutar propisanog raspona prihvatljivosti, bez detektiranih nedozvoljenih patogena.

**Zaključak:** Kritični parametri u neklasificiranom prostoru za prikupljanje KMS moraju biti trajno nadzirani i bilježeni, a vrijednosti im moraju biti u propisanom rasponu kako bi se osigurali optimalni uvjeti za prikupljanje ovih jedinstvenih pripravaka.

## Simpozij 4 – Imunohematologija

### STABILNOST MONOKLONSKIH STANIČNIH LINIJA KAO IZVORNOG MATERIJALA KOJI SE KORISTI ZA PROIZVODNJU IN HOUSE REAGENSA U HZTM

KREŠO N.<sup>1</sup>, Malešević M.<sup>1</sup>, Horvat Đ.<sup>1</sup>, Hranj K.<sup>1</sup>, Crnčević V.<sup>1</sup>, Kontak V.<sup>1</sup>, Hećimović A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

**Uvod/Cilj:** U proizvodnji monoklonskih protutijela (MoP) bitno je hibridizacijom proizvesti besmrtnu stabilnu stanicu koja će u in vitro uvjetima staničnih kultura u nedogled proizvoditi dostatne količine protutijela željene specifičnosti. To je osnova metodologije proizvodnje protutijela i omogućuje proizvodnju MoP široke lepeze specifičnosti. 1975. godine Georges J.F. Kohler, Cesar Milstein i Niels K. Jerne prvi opisuju tehnologiju i za to dobivaju Nobelovu nagradu 1984. godine. Njihovo otkriće dovodi do korjenitih promjena u proizvodnji dijagnostičkih reagensa u medicini.

Do tada, protutijela za imunohematološka ispitivanja dobivana su pročišćavanjem serumu imuniziranih ljudi ili životinja, a reagensi su se sastojali od mješavine antitijela različitih afiniteta. Takva proizvodnja protutijela imala je niz nedostataka: ograničeni izvori, pitanje etičnosti, konzistentnost od lota do lota i potencijalna infektivnost.

Novom tehnologijom MoP postala su dostupna u velikim količinama, uskim specifičnostima, visoke preciznosti, konzistentnosti lotova, reproducibilnosti rezultata, sigurna od prijenosa zaraznih bolesti, a neovisnost o izvoru osnova je za humanij i etičniji pristup.

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu započeo je proizvodnju monoklonskih reagensa 1996. godine.

Kao izvorni materijal (FFMU – engl. *for further manufacture use*) koriste se stanične linije dobivene tehnologijom proizvodnje monoklonskih protutijela.

Dugogodišnje iskustvo omogućuje nam utvrditi stabilnost izvornog materijala kojeg koristimo u daljnjoj obradi za proizvodnju gotovih reagensa za imunohematološka ispitivanja.

**Metode:** Praćenje stabilnosti ulaznog materijala ispitivao se prema HRN EN ISO 23640:2015 In vitro diagnostic medical devices-Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents.

Pratio se rok trajanja (engl. *shel life stability*). Rok trajanja se određivao u stvarnom vremenu kada reagens mora biti skladišten na propisanoj temperaturi neko zadano vrijeme i nakon toga se određuju parametri koji najbolje opisuju njegovu kvalitetu. Ispitivanjem jakosti (titra) dobio se najbolji uvid u kvalitetu reagensa Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-D, Anti-Kell, Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e. Za ispitivanja stabilnosti koristili su se kontrauzorci koji su izdvojeni u sterilnim uvjetima na dan zaprimanja.

#### Rezultati:

TABLICA 1. STABILNOST STANIČNIH LINIJA

FFMU reagens	Stanična linija	Stabilnost
Anti A	Birma-1	10 godina
Anti-B	LB-2	10 godina
Anti-B	ES4	10 godina
Anti-A(B)	ES15	10 godina
Anti-D	MS201	9 godina
Anti-D	RUM-1	7 godina
Anti-C	MS273	5 godina
Anti-C	MS24	5 godina

FFMU reagens	Stanična linija	Stabilnost
Anti-c	MS33	4 godina
Anti-E	MS80	5 godina
Anti-E	MS260	5 godina
Anti-e	MS16	2 godine
Anti-e	MS21	3 godine
Anti-e	MS63	5 godina
Anti-Kell	MS56	6 godina

**Zaključak:** Ulagani materijal za proizvodnju monoklonskih reagensa dugotrajno je stabilan, što omogućuje maksimalnu iskoristivost i znatnu financijsku isplativost u proizvodnji monoklonskih imunohematoških reagensa u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu.

## ANTIERITROCITNA PROTUTIJELA U TRANSFUNDIRANIH BOLESNIKA S MIJELODISPLASTIČNIM SINDROMOM

LESKOVAR I.<sup>1</sup>, Friščić N.<sup>1</sup>, Golubić Čepulić B.<sup>1</sup><sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Mijelodisplastični sindrom (MDS) je skupina heterogenih klonskih bolesti matične krvotvorne stанице obilježenih neučinkovitom hematopoezom. Unutar MDS-a je prepoznato nekoliko podskupina o kojima ovise i pristup liječenju. Dio bolesnika se godinama može samo pratiti, a dio zahtjeva agresivno liječenje, česte transfuzije eritrocita i transplantaciju alogeničnih matičnih stanica. Prognoza ovise o podskupini MDS-a i o pra-tećim bolestima.

Obzirom da je anemija najčešći simptom u MDS-u ovi bolesnici su često ovisni o transfuzijama eritrocitnih pripravaka. Održavanje optimalne razine hemoglobina posebno je važno obzirom se ovi bolesnici liječe godinama, u izvanbolničkim uvjetima, često imaju prateće bolesti i potrebno im je osigurati kvalitetu života koja omogućuje svakodnevne aktivnosti.

Radna skupina za mijelodisplastični sindrom Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (KROHEM), Referalni centar Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske za dijagnostiku i liječenje mijelodisplastičnog sindroma te Hrvatsko hematološko društvo Hrvatskoga liječničkog zborna izradili su hrvatske smjernice za dijagnozu i liječenje MDS-a. Prema tim smjernicama vrijednosti hemoglobina potrebno je održavati transfuzijama eritrocita iznad 80 g/L, uz izbjegavanje vrijednosti ispod 70 g/L. Kod simptomatskih bolesnika i onih koji imaju značajan komorbiditet potrebno je vrijednost hemoglobina održavati iznad 100 g/L. Kako bi se održala ova razina hemoglobina, potrebno je potporno transfuzijsko liječenje. Rizik aloimunizacije je veći u bolesnika koji su ovisni o transfuzijama eritrocita doživotno ili duže vremensko razdoblje što komplikira njihovo transfuzijsko liječenje.

**Cilj** ovog istraživanja je ispitati učestalost i specifičnost antieritrocitnih protutijela te intenzitet transfuzijskog liječenja u transfundiranoj skupini bolesnika s MDS-om.

**Metode:** Ovo istraživanje je ustrojeno kao presječno. Za potrebe istraživanja pretražene su informatičke baze podataka KBC-a Zagreb i prikupljeni demografski podatci o bolesnicima, imunohematološkom ispitivanju i transfuzijskom liječenju za razdoblje od 2010. do 2019. Podaci su analizirani korištenjem deskriptivne statističke analize s apsolutnim frekvencijama i postocima.

**Rezultati:** Istraživanje je obuhvatilo 112 transfundiranih bolesnika s MDS-om. Obilježja bolesnika prikazana su u Tablici 1.

TABLICA 1. OBILJEŽJA TRANSFUNDIRANIH BOLESNIKA S MIJELODISPLASTIČNIM SINDROMOM (N<sub>112</sub>)

Dob, medijan (raspon)	68 (21–93)	
Spol, muškarci/žene	78 / 34	
Vrsta MDS-a prema WHO	N	%
RA	9	8
RARS	12	11
RCDM	0	0
RAEB	40	36
Izolirana delecija 5q	4	4
Neklasificirani	47	42
Vrijeme praćenja bolesnika od postavljanja dijagnoze		
< 6 mjeseci	38	34
6 do 12 mjeseci	20	18
12 – 24 mjeseca	16	14
24 – 48 mjeseci	16	14
48 – 60 mjeseci	7	6
> 60 mjeseci	15	13
Transfundirane doze koncentrata eritrocita		
Ukupni broj doza	6296	
Medijan (raspon)	33 (2 – 456)	
Prosječno doza/bolesnik	56	

Značajno više (70%) bolesnika nije razvio antieritrocitna protutijela. Tridesetčetiri (30%) bolesnika je razvilo antieritrocitna protutijela: 27 (24%) alo, 13 (12%) auto od kojih je 6 razvilo i auto i alo protutijelo. Jedno alopro-

tutijelo razvilo je 52%, dva 19%, a tri 30% bolesnika. Od otkrivenih protutijela 62% su bila iz Rh sustava, 13% iz Kell sustava, 13% iz Kidd sustava, 4% iz Lewis sustava, a po 2% iz Lutheran i Yt sustava. Broj transfundiranih doza koncentrata eritrocita značajno je veći kod bolesnika koji su razvili protutijela naspram onih koji nisu.

**Zaključak:** Veliki broj bolesnika tijekom liječenja MDS-a razvije antieritrocitna protutijela. Bolesnici s razvijenim auto i aloprotutijelima češće se liječe transfuzijama koncentrata eritrocita nego neimunizirani bolesnici. S obzirom su bolesnici s MDS-om kronično ovisni o transfuzijama trebaju biti uključeni u program profilaktične antigene podudarnosti (engl. Prophylactic antigen match – PAM).

## REZULTATI IMUNOHEMATOLOŠKOG TESTIRANJA TRUDNICA NA PRISUTNOST IREGULARNIH PROTUTIJELA U PETOGODIŠNJEM RAZDOBLJU (2015. – 2019.) U ZAVODU ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU KBC SPLIT

VUJEVIĆ K.<sup>2</sup>, BEKAVAC M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Split

• Zavod za transfuzijsku medicinu

<sup>2</sup>Aalborg University, Medicine with Industrial Specialization, Biomedicine

• Biomedicine

**Uvod:** Antigeni su tvari koje potiču imunološku reakciju tijela. Poznato je oko 640 eritrocitnih antigena svrstanih u 38 sustava krvnih grupa. Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HBFN) nastaje prelaskom posteljice majčinih antieritrocitnih protutijela i njihovim vezanjem i razaranjem fetalnih eritrocita.

**Cilj:** Odrediti prevalenciju imuniziranih trudnica i specifičnost razvijenih protutijela u razdoblju od 01.01.2015. do 31.12.2019. u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Split

**Metode:** Prvo testiranje u trudnoći odvija se između 10. i 12. tjedna, a na njemu se određuje ABO krvna grupa, Rh-D status i indirektni antiglobulinski test (IAT). Na kontrolnom testiranju ponovno se radi IAT, kod Rh-D negativnih trudnica u 28. i 34. tjednu, a kod Rh-D pozitivnih samo u 34. tjednu trudnoće. Dodatna iuno-hematološka testiranja uključuju određivanje specifičnosti protutijela i njihove količine, odnosno titra.

**Rezultati:** U petogodišnjem razdoblju u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Split testirano je 21 305 trudnica od kojih je njih 217 (1,02%) razvilo imunizaciju na jedan ili više eritrocitnih antigena. Najmanji broj imuniziranih trudnica bio je 2015. godine (30 ili 0,75%), a od 2016. do 2018. učestalost imuniziranih trudnica bila je poviše 1%, dok se 2019. godine ponovno počela smanjivati (0,88% ili 39 trudnica).

**Zaključak:** Najviše imunizacija zabilježeno je za protutijela koja ne uzrokuju ili jako rijetko uzrokuju HBFN. Najveći klinički značaj imaju anti-D protutijela.

## ODREĐIVANJE INDIREKTNOG ANTIGLOBULINSKOG TESTA UZORKOVANOG IZ VENSKE I KAPILARNE KRV

ŠTEFANEĆ D.<sup>1</sup>, DODIG J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Sestre Milosrdnice

• Zavod za transfuzijsku i regenerativnu medicinu

**Cilj:** Osnovni zadatak imunohematološkog ispitivanja plazme /seruma bolesnika prije transfuzije eritrocitnih pripravaka je otkrivanje klinički značajnih aloprotutijela. Indirektni antiglobulinski test (IAT) je rutinska metoda pretraživanja u pronaalaženju istih. Uzorci se vade iz venske krvi.

Naša hipoteza je da se uzorci za IAT mogu uzorkovati iz kapilarne krvi.

**Metode:** Uzorke iz venske krvi uzorkovali smo u epruvete od 3 ili 5 ml s antikoagulansom(K3EDTA) te ih centrifugirali u standardnoj centrifugiji Hettich EBA 200; 3500rpm/3min.

IAT smo odredivali na analizatoru TECHNO TWIN STATION.

Kod 20 bolesnika, kod kojih smo dobili pozitivni IAT, isti smo provjerili i ručnim pipetiranjem te uzorkovali krv iz kapilare. Za kontrolnu skupinu, uzorkovali smo kapilarnu krv kod 20 bolesnika koji su imali negativan IAT. Isti smo ponovili ručnim pipetiranjem.

Uzorke dobivene iz kapilare (prst, peta, uho) uzorkovali smo u Microtainer epruvete od 500 $\mu$ l te ih centrifugirali u mikrocentrifugi Hettich EBA; 13000 rpm/min 5 min.

IAT smo određivali samo ručnim pipetiranjem zbog nemogućnosti analizatora da pipetira mali volumen uzorka (500 $\mu$ l).

Korišteni su testni eritrociti ID-DiaCell I-II-III, te BioRad LISS-COOMBS mikrokartice.

**Rezultat:** Nije bilo odstupanja u rezultatima uzorka dobivenih venepunkcijom i kapilarne krvi.

**Zaključak:** Zbog jednostavnosti uzorkovanja, kod pacijenata kod kojih je venepunkcija otežana (narkomani, djeca, onkološki pacijenti, hipotoničari, pacijenti intenzivne skrbi), moguće je uzorkovati kapilarnu krv za određivanje IAT-a.

Nedostatak je nemogućnost automatizacije analizatorima koje imamo i zbog tog razloga, za sada samo u iznimnim okolnostima, npr kod djece prihvaćamo uzorak iz kapilarne krvi.

## Simpozij 5 –Transfuzijsko liječenje

### STAVOVI I ZNANJA MEDICINSKIH SESTARA KBC SPLIT O TRANSFUZIJSKOM LIJEČENJU

ŽIVKOVIĆ M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Split

• Zavod za transfuzijsku medicinu

**Cilj istraživanja:** Cilj ovog rada je ispitati znanja i stavove medicinskih sestara o transfuzijskom liječenju, utvrditi postojanje statistički značajne razlike u znanju o transfuzijskom liječenju između medicinskih sestara srednje i više stručne spreme. Također, nastojali smo utvrditi postojanje statistički značajne razlike u znanju između medicinskih sestara s obzirom na njihovo radno iskustvo, tj. radni staž u struci i odjela na kojem rade.

**Metode:** Istraživanje je provedeno u vremenskom periodu od 18.05.2021 do 08.06.2021. pomoću anketnog upitnika sastavljenog uz pomoć mentorice Doc.dr.sc. Dejane Bogdanić dr.med. Anketa se sastoji od 9 pitanja različitog tipa kojeg su ispitanici samostalno ispunjavali. U radu se koriste metode grafičkog i tabelarnog prikazivanja kojima se prezentira struktura odgovora na anketna pitanja. Numeričke vrijednosti se prezentiraju upotrebom metoda deskriptivne statistike, i to aritmetičke sredine i standardne devijacije. U slučaju odstupanja razdiobe od normalne koristi se medijan i interkvartilni raspon. Normalnost razdiobe je prethodno provjerena Kolmogorov-Smirnov testom. Znanje se prezentira upotrebom postotne bodovne skale s rasponom vrijednosti od 0 do 100% gdje ispitanici koji nisu znali odgovor na niti jedno pitanje dobivaju 0, a ispitanici koji su znali sve odgovore dobivaju 100%. Raspon točnih odgovora se prezentira i upotrebom minimalne i maksimalne vrijednosti. Kod ispitivanja hipoteza se koristi Hi kvadrat test, te Kruskal-Wallis test. Analiza je rađena u statističkom softveru STATISTICA 12 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, California).

**Rezultati istraživanja:** Istraživanjem je utvrđeno da najveći broj ispitanika ima završenu srednju stručnu spremu, te da je prosječna dob ispitanika 39 godina. Srednja vrijednost radnog staža je 17 godina. Najveći broj ispitanika je zaposlen na Klinici za unutarnje bolesti, a prema broju krvi i krvnih derivata koji se najviše primjene u tjednu na radilištu je 2–5 doza. Istraživanjem je pokazalo da medicinske sestre pripremaju pacijenta, krvni derivat i sistem za transfuziju, te da u 83% slučajeva one i same uključuju transfuziju. U 66% slučajeva liječnik dolazi samo po pozivu. Velik broj ispitanika smatra da je potrebno uvesti dodatnu edukaciju zaposlenika o primjeni krvi i krvnih derivata. Velik broj ispitanika ispitanika se slaže da darivanje krvi ne šteti zdravlju i ne slabi imunološki sustav. Manji postotak ispitanika (40%) ispitanika smatra da je transfuzijsko liječenje sigurno i učinkovito, a 25% ispitanika je svjesno da se primjenom krvnih derivata pacijent može zaraziti heptitisom ili nekom drugom krvlju prenosivom bolesti. Ispitanici imaju pozitivne stavove o transfuzijskom liječenju, te su iskazali visoku razinu znanja na sva postavljena anketna pitanja gdje je srednja vrijednost ispravnih odgovora 80%. Najveću razinu znanja posjeduju ispitanici sa Klinike za onkologiju (85%), a najmanje znanja imaju zaposlenici Klinike za ženske bolesti i porode (57%), što govori u prilog da zaposlenici koji se više susreću s transfuzijom krvi posjeduju veću razinu znanja.

**Zaključci:** U našem istraživanju smo pokazali da ispitanici (medicinske sestre KBC Split imaju visoku razinu znanja o transfuzijskoj, liječenju. Također, utvrdili smo da je potrebna dodatna edukacija na Klinici za ženske bolesti i porode, te dodatna edukacija liječnika o potrebi praćenja transfuzijskog liječenja. U istraživanju smo dokazali da razina znanja ovisi o stručnoj spremi, ali ne i o godinama radnog staža.

## PATIENT BLOOD MANAGEMENT-PERIOPERATIVNO UPRAVLJANJE POTROŠNJOM KRVI I KRVNIM PRIPRAVCIMA

IVANJKO PEDIŠIĆ I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Sestre Milosrdnice

• Zavod za transfuzijsku i regenerativnu medicinu

Ključne činjenice o transfuziji i transfuzijski rizici klasične transfuzije.

Transfuzija krvi se smatra transplantacijom tekućeg tkiva. Svaka doza dolazi od različite osobe pa može kod primatelja izazvati različite reakcije i utjecati na njegov imunološki sustav.

Odluka o transfuzijskom liječenju mora se temeljiti na čvrstim indikacijama i individualnoj procijeni jer neopravdana primjena derivata može imati dugoročno štetne učinke.

Transfuzijski rizici klasične transfuzije: infekcije, imunoreakcije, volumno preopterećenje, preopterećenje željezom, zračna embolija.

Apsolutne indikacije za transfuziju krvi: vrijednost hemoglobina < 60g/L i akutni gubitak više od 40% volumena krvi (vitalna indikacija).

Apsolutne kontraindikacije za transfuziju krvi: odbijanje transfuzije krvi i senzibilizacija s nepoznatim protutijelom.

Kliničko stanje bolesnika i najniža vrijednost hemoglobina u krvi su ključni faktori za donošenje odluke o liječenju transfuzijom eritrocita.

Godišnje se u svijetu primjeni oko 85 milijuna doza krvi, a u EU više od 5 milijuna pacijenata primi oko 24 milijuna jedinica krvi ili komponenti krvi godišnje.

PBM je suvremen i multidisciplinarni način liječenja čiji je cilj poboljšanje kvalitete perioperativne zdravstvene skrbi pacijenta. Temelji se na primjeni alternativnih lijekova transfuziji krvi te korištenju beztransfuzijske tehnologije, odnosno minimizaciji gubitka krvi.

Povoljni ishodi implementacije PBM-a:

1. Poboljšanje operativnih ishoda
2. Smanjenje broja komplikacija
3. Kraće trajanje hospitalizacije
4. Reduciranje troškova zdravstvene skrbi
5. Racionalna raspodjela krvi i krvnih pripravaka.

## ZBRINJAVANJE HEMATOLOŠKOG PACIJENTA KOD PRIMJENE TRANSFUZIOLOŠKIH PRIPRAVAKA

GUSIĆ N.<sup>1</sup>, Latković I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Hematologija

**Uvod:** U ovom radu prikazati ćemo zbrinjavanje hematološkog pacijenta kod primjene transfuzioloških pripravaka. Kod hematoloških pacijenata uobičajeno se pojavljuju anemije, neutropenije i trombocitopenije, te su transfuzije krvi i derivata krvi neizbjegljive u liječenju ovih stanja.

**Cilj:** važnost primjene transfuzioloških pripravaka, te sprečavanje mogućih pogrešaka u provjeri i primjeni pripravaka.

Prvi korak kod primjene transfuzioloških pripravaka je naručivanje krvnih pripravaka, koje obavlja liječnik. Prijе same transfuzije krvnih pripravaka bolesnik mora biti obaviješten o indikaciji za transfuzijsko liječenje, koristi i rizicima, te o alternativnim mogućnostima.

Daljnji tijek zbrinjavanja hematološkog pacijenta se nastavlja od identifikacije bolesnika i krvnog pripravaka prije transfuzije, početka transfuzije, nadzora bolesnika, dokumentiranje transfuzijskog liječenja, te brzina i tranje.

#### **Metode:**

Tablice, slike, grafikoni

**Rezultati:** Grafički ćemo prikazati količine transfuzioloških pripravaka unutar petnaest dana, primjenjenih unutar našeg zavoda.

**Zaključak:** U radu ćemo prikazati kako su transfuziološki pripravci kod hematoloških bolesnika neizostavni dio terapijskog liječenja.

**Ključne riječi:** transfuzijski pripravci, hematološki pacijent, zbrinjavanje

## **MINI EKSTRAKORPORALNA FOTOFEREZA**

LAUŠ R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Ekstrakorporalna fotofereza (ECP) je terapijski postupak u kojem se mononuklearne stanice (MNC) izdvajene iz krvi bolesnika izlažu ekstrakorporalnom djelovanju fotoaktivne supstance psoralena i UVA zraka, te potom reinfundiraju bolesniku. Koristi se u liječenju kožnog oblika T staničnog limfoma, kronične i akutne reakcije transplantata protiv primatelja (GVHD) rezistentnog na liječenje kortikosteroidima te odbacivanja prešađenih organa, srca i pluća. Mini fotofereza je postupak kojim se obradi manji volumen krvi i manji broj stanica u odnosu na standardni postupak pa se koristi kod pacijenata male tjelesne težine (pedijatrijski) koji se ne mogu izlagati učestalim leukaferezama.

**Cilj:** Cilj izlaganja je prikazati postupak dobivanja pripravka mini ECP koji se reinfundira pacijentu, moguće rizike i vlastite rezultate.

**Metode:** Vadenje doze pune krvi provodi se na bolesničkom odjelu uz nadzor pacijenta. Koristi se vrećica za prikupljanje krvi iz pupkovine koja se sterilno spoji s centralnim venskim kateterom te se višekratnim punjenjem šprice uzima najviše 8–10 mL krvi / kg TT pacijenta. Tijekom vađenja treba stalno miješati krv u vrećici. Izvadeni volumen krvi se nadoknađuje infuzijom fiziološke otopine jednakog volumena.

MNC se izdvajaju laboratorijskim staničnim separatorom Sepax. Program UCB automatski razdvaja eritrocite, plazmu i buffy coat (BC), koji sadrži ciljne MNC, u zasebne vrećice. U čistoj sobi uzimaju se uzorci za kontrolu kvalitete i mikrobiologiju iz pripravka plazme, eritrocita i BC.

Koncentrat MNC se, nakon razrijeđivanja s fiziološkom otopinom i dodavanja psoralena (UVADEX) u koncentraciji od 1% od ukupnog volumena razrijeđenog pripravka, prebacuje u vrećicu za zračenje.

Budući da je hematokrit u pripravku mini ECP u pravilu >2%, pripravak treba ozračiti s 2,5 J/cm<sup>2</sup>. Nakon zračenja uzima se uzorak za kontrolu kvalitete ozračenih stanica i dodaju se eritrociti preostali nakon obrade.

Pripravak se izdaje na odjel u vrećici sa sigurnosnim zatvaračem sa zip lockom. Tijekom prijenosa pripravak ne smije biti izložen hladnoći, visokoj temperaturi niti zračenju.

Ozračene stanice se reinfundiraju bolesniku po mogućnosti odmah nakon zračenja (max. do 3 sata nakon zračenja). Bolesnik tijekom reinfuzije mora biti pod TRAJNIM nadzorom sestre. U slučaju pojave neželjenih reakcija medicinska sestra mora odmah obavijestiti liječnika. Nuspojave koje se mogu javiti uključuju pad tlaka koji se može očitovati osjećajem vrtoglavice, mučninom ili kratkotrajnom nesvjesticom te se može javiti blag porast temperature i glavobolja.

**Rezultati:** U našem zavodu je u razdoblju od 2016.–2021.g. liječeno 7 pacijenata (2 ženska, 5 muških). Medijan dobi kod početka postupka bio je 5 godina (1.5–11) a medijan tjelesne težine 14 kg (8–23). Razlog liječenja bo je akutni GVHD kod 5 pacijenata i kronični GVHD kod 2 pacijenta. Ukupno je provedeno 210 postupaka mini ECP, median 28 postupaka po pacijentu (8–49). Nisu zabilježene nuspojave.

Dijagnoza	Zahvaćeni organi	N
aGVHD	koža	1
aGVHD	crijeva	2
aGVHD	koža, jetra	2
cGVHD	pluća	1
cGVHD	pluća, crijeva	1

**Zaključak:** Mini ECP je siguran postupak koji omogućuje terapiju pacijentima kojima se zbog male tjelesne težine ili neadekvatnog venskog pristupa ne mogu raditi učestale leukaferese u svrhu prikupljanja MNC za terapiju ECP.

## 7. STRUČNI SASTANAK MEDICINSKIH SESTARA I TEHNIČARA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI



### POSTERI

#### Dobrovoljno davalanstvo i uzimanje krvi

### NEUSPJELE VENEPUNKCIJE KAO UZROK NEUSPJELOG UZIMANJA DOZE KRVI

PAŠALIĆ A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> JU Kantonalna bolnica Zenica

• Transfuzijski centar

**Uvod:** Zadatak tehničara koji provodi venepunkciju je obezbjeđivanje uvjeta kako bi doza krvi bila uspješno uzeta: odabir najbolje vene za punkciju u laktatnoj jami, antiseptični postupci pripreme, održavanje igle u veni i konstantnog protoka krvi, kao i nadzor nad davaocem kako bi se uočile i sprječile moguće neželjene reakcije ili komplikacije davanja krvi te poduzele preventivne i/ili terapijske mjere. Kod pojave prvih simptoma reakcije ili razvojem komplikacije, uzimanje krvi mora biti prekinuto. U Transfuzijskom centru novoprimaljeni tehničari u prvih 6 mjeseci rada provode venepunkciju isključivo uz nadzor iskusnog tehničara ili glavne sestre.

**Cilj:** Utvrditi učestalost neuspjelih venepunkcija koje su uzrokovale neuspjelo uzimanje doze krvi i odrediti njihov statistički značaj u odnosu na ostale uzroke neuspjelog uzimanja doze krvi.

**Metode:** Venepunkcije provedene na davaocima krvi koji su u periodu od 01.01.2011. do 31.12.2016.godine bili podesni za davanje krvi. Uzorkovanje je izvršeno iz baze podataka TIS-a. Period istraživanja je obuhvatio periode obuke za 7 novoprimaljenih tehničara. Za testiranje značajnosti korišten je chi<sup>2</sup> test. Statistička značajnost se dokazivala za nivo gdje je  $p<0,05$ .

**Rezultati:** Od ukupno 33.253 davaoca koji su pristupili davanju krvi, kod 1.06% njih ( $n=352$ ), uzimanje doze krvi nije uspjelo. Od tog broja, pojava vazovagalne reakcije (VVR) kod davaoca u toku davanja krvi bila je uzrok u 46,02% slučajeva, slabo razvijene vene laktatne Jame 27,56%, po 0,57% slučajeva pojavlju se razlozi "davalac odustaje od davanja krvi" i "prekinuto davanje krvi zbog naknadne informacije od davaoca", a u ukupnom procentu 25,28% ( $n=89$  slučajeva) bilo je uzrokovano lošom tehnikom venepunkcije sa udjelom od 2,27% uzroka greška punktera sa ekstravazacijom krvi u okolno tkivo i 23,01% usporen protok/zastoj krvi. Testirajući frekvenciju neuspjelih tehnika izvođenja venepunkcije (greška punktera i usporen protok/zastoj), nije nađena statistička značajnost  $p<0,05$  u odnosu na ukupnu frekvenciju ostalih uzroka.

**Zaključak:** Neuspjele venepunkcije nisu statistički značajan uzrok neuspjelom uzimanju doze krvi. Pravilan pristup edukaciji novouposlenih doveo je do relativno niske zastupljenosti ovog uzroka, promatrano u odnosu na dostupne rezultate sličnih istraživanja. Vodeći uzrok neuspjelog uzimanja krvi je pojava VVR, zbog čega, pored usvajanja dobre tehnike venepunkcije, treba posvetiti posebnu pažnju i razvoju interpersonalnih vještina kod tehničara koji rade sa davaocima krvi, jer one mogu direktno utjecati na smanjenje učestalosti pojave reakcije kod davalaca i time dodatno smanjiti učestalost neuspjelog uzimanja doze krvi.

## Proizvodnja krvnih pripravaka

# HEMOLIZA KAO PARAMETAR KVALITETE KONCENTRATA ERITROCITA OZRAČENIH CENTRALNOM DOZOM ZRAČENJA OD 35 GY

LUBINA Ž.<sup>1</sup>, GRDIĆ A.<sup>2</sup>, STRAUSS PATKO M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za krvne pripravke

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel kontrole kvalitete u transfuzijskoj medicini

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Banka krvi

**Uvod:** Ozračivanje koncentrata eritrocita X-zrakama centralnom dozom zračenja od 35 Gy dio je proizvodnog procesa u Odjelu za krvne pripravke, a s ciljem prevencije transfuzijom uzrokovane reakcije presatka protiv primatelja.

Jedan od važnijih parametara kvalitete ozračenih koncentrata eritrocita (KE) je hemoliza. Količina hemolize u ozračenim KE pri isteku roka valjanosti izražava se kao postotak hemolizirane ukupne mase eritrocita na isteku roka valjanosti i mjera je stabilnosti ovih pripravaka tijekom njihova skladištenja. Sukladno specificiranim zahtjevima kvalitete, manje od 0,8 % ukupne mase eritrocita smije biti hemolizirano na isteku roka valjanosti. Osim kvantitativnom metodom, pojačana hemoliza može se uočiti vizualnim (kvalitativnim) pregledom KE i pridruženih uzoraka za križnu probu kao promjena boje supernatanta nastala uslijed pojačane razgradnje eritrocita i posljedičnog oslobađanja hemoglobina.

Poznato je kako pojačana hemoliza u KE može nastupiti uslijed neadekvatnih postupaka u proizvodnji, nepovoljnih uvjeta skladištenja, bakterijske kontaminacije, prisustva antitijela ili abnormalnosti eritrocitne membrane.

Razlozi mogućeg povećanja vrijednosti hemolize, a koji su nastupili uslijed postupka ozračivanja mogu biti: isporučena prevelika doza zračenja na KE, nepravilno izvedena dozimetrija, neadekvatno rukovanje i kvar uređaja za ozračivanje i nepravilno popunjeno spremnik za ozračivanje.

Negativni učinci ozračivanja na KE ovise i o starosti eritrocita prije ozračivanja, duljini i uvjetima skladištenja KE nakon ozračivanja, a dijelom su posljedica djelovanja zračenja na eritrocitnu membranu zbog čega dolazi do moguće pojačane hemolize i izlaska kalija iz stanica. Stoga se ozračivanje KE provodi u prvih 14 dana od prikupljanja pune krvi od darivatelja, a rok valjanosti, ako se primjenjuje u odraslih bolesnika je 14 dana od dana ozračivanja. Kod povećanog rizika od hiperkalijemije (intrauterine ili neonatalne transfuzije, transfuzije novorođenčadi i dojenčadi) ozračuju se svježiji KE i rok valjanosti im je 24 sata.

**Cilj:** Prikazati stupanj hemolize u Koncentratima eritrocita bez sloja leukocita i trombocita u hranjivoj otopini (SAGM) sa smanjenim brojem leukocita ozračenih X-zrakama centralnom dozom od 35 Gy.

**Materijali i metode:** Eritrocitni krvni pripravci za određivanje količine hemolize izdvojeni su sa skladišta gotovih proizvoda u Odjelu za krvne pripravke u periodu od 2016.–2020. godine. Metodom slučajnog odabira izabrano je 58 doza Koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita u SAGM-u bez sloja leukocita i trombocita, 50 od njih pripravljen od doza krvi dobivenih od muških, a 8 od ženskih darivatelja. Prilikom odabira doza vodilo se računa o tome da pripravci budu starosti do 48 sati od uzimanja krvi, radi vjerodostojnosti rezultata mjerjenja hematoloških parametara u uzorcima ovih pripravaka. Prosječni volumen koncentrata eritrocita bio je 255 mL.

Djelatnici Odjela za krvne pripravke provodili su kvalitativnu kontrolu hemolize vizualnim pregledom doze KE i pridruženim uzorcima za križnu probu. Za potvrdu ispravnosti isporučene doze zračenja od 25–50 Gy koristila se semikvantitativna metoda RadTag indikatorima. Ozračivanje X-zrakama, centralnom dozom od 35 Gy, provedeno je pomoću 2 aparata: 48 KE je bilo ozračeno uređajem Raycell Mk2, a 10 uređajem Radgil 2.

Ukupni sadržaj hemoglobina i vrijednost hematokrita u KE određivani su u Odjelu kontrole kvalitete u transfuzijskoj medicini primjenom hematološkog analizatora Abbott Cell Dyn Ruby. Slobodni hemoglobin izmјeren je u supernatantu primjenom HemoCue Plasma/Low fotometra.

**Rezultati:** U svih 58 analiziranih doza Koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita u SAGM-u bez sloja leukocita i trombocita-ozračen rezultati analize pokazali su da je stupanj hemolize <0,8 %.

**Zaključak:** Provedenim istraživanjem utvrđena je zadovoljavajuća stabilnost ozračenih KE i može se zaključiti da ozračivanje dozom od 35 Gy nije nepovoljno utjecalo na kvalitetu ozračenih KE te da su u Odjelu za krvne pripravke ispunjeni i drugi uvjeti koji osiguravaju da ne dolazi do pojačane hemolize u ozračenim KE.

## KONCENTRAT ERITROCITA SA SMANJENIM BROJEM LEUKOCITA RESUSPENDIRAN U 0,9% NaCl

TOMAŠIĆ M.<sup>1</sup>, Kolar D.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za krvne pripravke

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Banka Krvi

**Uvod:** Dosadašnja i dugogodišnja proizvodnja Koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita u CPDA1 antikoagulantnoj otopini (KE/CPDA1/SBL) u HZTM služila je u svrhu transfuzijskog liječenja novorođenčadi, dojenčadi i male djece (najčešće do godinu dana starosti). Takva praksa napuštena je u većini transfuzija u razvijenim zemljama budući da je poznato da samo masivne transfuzije KE u hranjivoj otopini mogu biti opasne i to za djecu starosti do mjesec dana ili ako se radi o nekim posebnim dijagnozama. Takvu praksu uveo je od početka 2021.g. i HZTM, a za sve indikacije za djecu kod kojih postoji opasnost (nefrotoksičnost, neurotoksičnost) štetnog djelovanja hranjive otopine u transfundiranom eritrocitnom pripravku, uveden je novi krvni pripravak (KP) Koncentrat eritrocita(KE) sa smanjenim brojem leukocita(SBL) u fiziološkoj otopini(FO).

**Cilj:** prikazati izradu modificiranog KP- KE SBL resuspendiran 0.9% NaCl zadovoljavajućeg hematokrita 0.70 iz KE koji se kao standarni pripravak nalazi na zalihamu.

**Metoda:** U KE BC HO SBL do 5 dana starosti, Kell neg (ili prema dogovoru) – dodaje se 300mL F.O. Pripravak se snažno centrifugira da se odstrani što više plazme i hranjive otopine (Cryofuge 600i) centrifugirana 2500okr/10min/12C. Pomoću istiskivača plazme istisne se supernatant. Nakon odvajanja supernatanta izvaze se KE i prema tablici dodaje odgovarajuća količina FO za postizanje ciljnog hematokrita KE 0,70. U tablici su navedene količine u ml FO koje treba dodati obzirom na težinu eritrocita očitanu na vagi. Rok valjanosti KE SBL FO je 24h od priprave, obzirom da se skidanjem supernatanta uklanjuje sve hranjive supstance.

**Rezultati:**

Parametri kontrole	Volumen	Hematokrit	Hemoglobin	Hemoliza
Zahtjevi kvalitete	140 – 260 mL	0,65–0,75	min 40 g/d	< 0,8 %
broj testiranih doza	92	92	92	3
% koji zadovoljava	98,91	98,91	97,83	100,00
srednja vrijednost	216	0,71	50	0,04
St.Dev.	19	0,02	4	0,01
min.	162	0,66	34	0,04
max.	263	0,76	59	0,05
median	215	0,71	50	0,04

**Zaključak:** Od 01.01.2021. u HZTM rutinski se radi novi modificirani KP i u potpunosti zadovoljava potrebe za transfuzijsko liječenje novorođenčadi i djece do godine dana starosti. Pripravak se ISKLJUČIVO radi na zahtjev kliničara i u većini slučajeva tražena količina je 50–100mL, a budući da se uglavnom radi o novorođenčadi, KP se u pravilu i zrači.

## ORGANIZACIJA PROIZVODNJE, SKLADIŠTENJA I IZDAVANJA COVID-19 KONVALESCENTNE PLAZME U HZTM-U

VUKOVIĆ I.<sup>1</sup>, Vuković Z.<sup>1</sup>, Didaković L.<sup>1</sup>, Hećimović A.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Banka krvi

**Uvod:** Pandemija COVID-19 (corona virus disease 2019), zarazna bolest uzrokovana virusom SARS-CoV-2, bila je pokretač transfuzijskoj službi u pronalaženju dodatnog „lijeka“ u liječenju oboljelih. Pod prepostavkom da plazma osoba koje su preboljele COVID-19 infekciju sadrži protutijela koja u visokom titru mogu pružiti određenu zaštitu hospitaliziranim bolesnicima, u HZTM-u se već od samog početka pojave pandemije započelo s proizvodnjom tzv. COVID-19 konvalescentne plazme. U suradnji s Centrom za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji sveučilišta u Zagrebu, u kojem je određivan titar neutralizacijskih antitijela (NAt) i Odjela za krvlju prenosive bolesti u HZTM koji je provodio usporedni test u cilju validacije i kasnije samostalnog testiranja, plazma dobrovoljnih davatelja krvi (DDK) koji su imali visok titar antitijela, proizvodila se kao COVID-19 konvalescentna plazma i izdavala ciljano za bolesnike oboljele od virusa SARS-CoV-2.

**Metode:** U prvih godinu dana pandemije ciljano su pozivani DDK za koje su anamnestički dobiveni podaci o preboljeloj COVID-19 infekciji uz laboratorijsku potvrdu, a koji su pri tome zadovoljili kriterije za darivanje krvi. U uzorcima krvi određivan je titar anti-SARS-CoV-2-IgG protutijela. Uz obavezne testove davateljima su rađeni i neki dodatni testovi (KKS, jetrene probe, ALA/ATA). Zbog nedoumica oko prijenosa bolesti, trombociti se samo na početku nisu koristili u transfuzijskom liječenju. Kako bi se zadovoljila povećana potražnja za konvalescentom plazmom, u travnju 2021. počinje se proizvoditi i iz pune krvi davatelja (PK) koji su preboljeli COVID-19 infekciju u zadnjih 4 mjeseca ili ranije ako su i cijepljeni, a koji su prethodno zadovoljili kriterije za odabir DDK. Proizvodnja se temelji na izdvajajući plazme iz pune krvi na način propisan za proizvodnju svježe zamrzнуте plazme (SZP), po dobivanju zadovoljavajućih nalaza titra protutijela finalizira i označava naljepnicom na kojoj je naznačeno „SAMO ZA COVID-19 PACIJENTE“, vakumira, pakira u zaštitne kartonske kutije, te skladišti u hladnoj komori na temperaturu ispod -25°C, složena u metalne košare na police etažera po krvnim grupama. Isto se postupa i s plazmom dobivenom aferezom (SZP/AF).

Izdavanje COVID-19 konvalescentne plazme radi se po zaprimanju pismenog zahtjeva ili telefonske narudžbe kroz računalni program distribucije ako se radi o ustanovi koja ima svoju transfuziju ili program za paciente, ako se izdaje direktno na bolnički odjel. Prvi zahtjev za COVID-19 konvalescentnom plazmom upućen je od strane Specijalne bolnice za plućne bolesti, Rockefellerova, a potom su slijedili zahtjevi iz Klinike za infektivne bolesti, KBC Zagreb, KB Dubrava, KBC Split, KBC Osijek, OB Bjelovar, KBC Rijeka, ŽB Čakovec, OB Varaždin.

**Rezultati:** Od 29.07.2020.g. do 04.05.2021.g. postupkom afereze proizvedeno je 199 doza COVID-19 konvalescentne plazme. Od toga je isporučeno u: KBC Zagreb-Rebro 82 doza, KB Dubravu 107 doza, KBC Split 11 doza, OB Varaždin 6 doza, ŽB Čakovec 6, Kliniku za infektivne bolesti 16 doza, Specijalnu bolnicu za plućne bolesti 14 doza, KBC Rijeku 3 doze, KBC Osijek 1 doza i OB Bjelovar 1 doza.

Od 04.05.2021.g. do 03.10.2021.g. iz PK proizvedeno je 662 doze COVID-19 konvalescentne plazme. Od toga je isporučeno u: KBC Zagreb-Rebro 78 doza, KB Dubravu 100 doza, OB Zabok bolnica Hrvatskih veterana 1 doza, Kliniku za infektivne bolesti 9 doza.

Od 10.12.2020.g. od izdavanja prve doze do 03.10.2021.g. ukupno je izdana 435 doza COVID-19 konvalescentne plazme za 132 bolesnika.

**Zaključak:** HZTM je na vrijeme započeo prikupljanje konvalescentne plazme, čak i prije zahtjeva poslanih od strane kliničara. Iako se mislilo da će se zahtjevi moći realizirati isključivo plazmom dobivenom aferezom, zbog velikog interesa za ovim krvnim pripravkom, krenulo se u proizvodnju iz pune krvi. Na taj način uspjelo se u potpunosti zadovoljiti zahtjeve i stvoriti zalihe koje osiguravaju dostupnost ovom obliku liječenja.

## Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini

### MIKROBIOLOŠKA KONTROLA KONCENTRATA TROMBOCITA DOBIVENIH AFEREZOM

ŠNAJDER-ŠAJATOVIĆ M.<sup>1</sup>, Rukavina L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za Mikrobiologiju

**Uvod:** Transfuzija kontaminiranog krvnog pripravaka (KP) jedan je od najznačajnijih rizika transfuzijskog liječenja. Koncentrati trombocita (KT) najosjetljiviji su na bakterijsku kontaminaciju zbog temperature skladištenja (22°C). Rizik bakterijske kontaminacije procjenjuje se na 1:2 000 kod KT i na 1:20 000 kod koncentrata eritrocita (KE). U svrhu povećanja mikrobiološke sigurnosti KP uvedene su mnoge mjere, a mikrobiološko ispitivanje krvi i krvnih pripravaka na prisustvo bakterija je dodatno povećalo sigurnost transfuzijskog liječenja. U Odjelu za mikrobiologiju u HZTM provodi se statistička procesna kontrola krvnih pripravaka prema preporuci Paul-Erlich instituta. Od studenog 2019. uveden je 100% skrining koncentrata trombocita prikupljenih na staničnom separatoru (KT/AF).

**Cilj:** Cilj rada je prikazati način provođenja skrininga KT/AF.

**Metoda:** Nakon 24 sata od prikupljanja trombocita na staničnom separatoru uzorkuje se po 20 mL u vrećice za uzorkovanje (blood bag sample). Vrećice imaju „Y“ nastavak, jedan krak služi za oduzimanje uzorka iz doze, a drugi s iglom služi za direktnu inokulaciju uzorka u aerobnu (BPA) i anaerobnu (BPN) bočicu po 10 mL. Bočice se inkubiraju 7 dana u automatskom kolorimetrijskom BacT/ALERT 3D sustavu na temperaturi 37°C uz stalnu agitaciju ladica s uloženim bočicama. Prvo moguće izdavanje pripravka je nakon minimalno 16 sati kultivacije. Peti dan, svi neutrošeni pripravci KT/AF dodatno se mikrobiološki ispituju, nasijavanjem po 100 µL na dvije ploče Columbia agara (sekundarna kultivacija). Jedna ploča se inkubira 24/48 sata/37°C u aerobnim uvjetima, a druga 48 sati/37°C u anaerobnim uvjetima.

Svi postupci nasijavanja izvode se aseptičkim načinom rada u mikrobiološkom zaštitnom kabinetu.

Uvjeti rada kontroliraju se: taložnom pločom čistoća zraka za vrijeme rada, otisak radne površine kabinetra i prsti djelatnika na kraju rada. Ploče se inkubiraju 5 dana/37°C.

**Zaključak:** Uvođenjem 100% skrininga KT/AF i sekundarne kultivacije omogućilo je produljenje roka valjanosti istih, lakše je upravljanje zalihami i dobivena je veća mikrobiološka sigurnost KT/AF. Aseptičkim načinom rada i kontrolom uvjeta tijekom ispitivanja KT/AF smanjuje se mogućnost kontaminacije i dobivanja lažno pozitivnih rezultata.

### KORIŠTENJE RUN KONTROLA U NAT PROBIRU DDK PROCLEIX ULTRIO ELITE TESTOM NA UREĐAJU PANTHER

BLAŽEVIĆ L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu,

• Odjel za molekularnu dijagnostiku, Odsjek za NAT testiranje darivatelja krvi

**Uvod:** NAT testiranje (engl. nucleic acid testing) darivatelja krvi (DDK) je multipleks testiranje krvi na nukleinske kiseline virusa: HBV-a, HCV-a i HIV-a. Probir darivatelja krvi na uzročnike krvlju prenosivih bolesti zahtijeva svakodnevnu procesnu kontrolu kvalitete testiranja.

**Cilj:** Procjena kvalitete i svrshodnosti vanjskih NAT pozitivnih run kontrola u rutinskom NAT probiru DDK.

**Materijali i metode:** Komercijalne run kontrole su toplinom inaktivirane humane plazme pozitivne na HCV RNA, HBV DNA ili HIV-1 RNA. Testiraju se prije početka rutinskog testiranja DDK, svakodnevno, jedanput, uz kalibraciju Procleix Ultrio Elite testom na uređaju Procleix Panther (Grifols, Španjolska). Valjanim rezultatom run kontrola smatra se reaktivna rezultat, a očekivana odstupanja rezultata izraženih kao s/co (engl. signal to cut off) su unutar  $\pm 3$  SD. Nereaktivni rezultat testiranja run kontrola zahtijeva ponavljanje testiranja run kontrole. Uzastopni nereaktivni rezultati testiranja ili odstupanja veća od  $\pm 3$  SD upućuju na smanjenu kvalitetu testiranja zbog problema s uređajem, testnim reagensima ili run kontrolama.

**Rezultati:** Vanjske run kontrole probira DDK na uređaju Panther pokazuju stabilan raspon odstupanja rezultata unutar  $\pm 3$  SD. Uzastopni nereaktivni rezultati testiranja i odstupanja veća od  $\pm 3$  SD dovela su do obustave rutinskog testiranje na jednom od uređaja, iako su rezultati kalibratora bili uredni. Nakon višemjesečnog popravka, uređaj je ponovno imao očekivane vrijednosti run kontrola i vraćen je u rutinsko testiranje. Jedna serija HCV RNA run kontrole je na svim uređajima pokazivala veći broj nereaktivnih rezultata, neovisno o seriji reagensa za NAT testiranje. Od proizvođača je temeljem rezultata testiranja zatražena druga serija run kontrole koja je imala očekivane, valjane, rezultate testiranja te je zaključeno da su nereaktivni rezultati vezani uz jednu seriju run kontrole lošije kvalitete.

**Zaključak:** Run kontrole kao dodatna procesna kontrola predstavljaju stabilan i vjerodostojan kontrolni materijal te osiguravaju uklanjanje uređaja, reagensa i kontrolnog materijala smanjene kvalitete iz rutinskog rada.

**Ključne riječi:** run kontrole, NAT testiranje DDK

## Transfuzijsko liječenje

### SINDROM PUTUJUĆIH LIMFOCITA

VUKMIROVIĆ N.<sup>1</sup>, Viljušić P.<sup>1</sup>, Brkić M.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>1</sup>, Jagnjić S.<sup>2</sup>, Strauss Patko M.<sup>3</sup>, Jukić I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Odjel za krviju prenosive bolesti

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Služba za medicinsku djelatnost

<sup>4</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

- Ravnateljstvo

**Uvod/cilj:** Sindrom putujućih limfocita (Passenger lymphocyte syndrome, PLS) nastaje zbog pasivno prenesenih limfocita u transplantiranom organu ili transplantatu krvotvornih maticnih stanica, a rizik raste s masom limfocita u presatku. Najčešće se javlja zbog male ABO nepodudarnosti, kada donorova anti-A i anti-B protutijela uzrokuju hemolizu primateljevih eritrocita. PLS je rjeđe rezultat RhD nepodudarnosti ili nepodudarnosti zbog antiga ostalih sustava krvnih grupa. PLS se obično prezentira unutar 1–3 tjedna nakon transplantacije jetre, kao blaga hemolitička anemija i prolazi unutar 3 mjeseca. Za transfuzijsko liječenje primjenjuju se koncentrati eritrocita (KE) podudarni s donorom. Cilj ovog rada je prikazati slučaj PLS zbog RhD nepodudarnosti nakon ortotopne transplantacije jetre (Orthotopic liver transplantation, OLT).

**Metode:** U imunohematološkom serološkom ispitivanju rađeni su direktni (DAT) i indirektni (IAT) antiglobulinski test u gel mikrometodi u polispecifičnim LISS/Coombs mikrokarticama proizvođača BioRad. Pretraživanje imunoglobulinskih razreda rađeno je u DC Screening I mikrokarticama (IgM, IgG, IgA, C3d, C3c), a titar IgG protutijela određen je u DC IgG1/IgG3 mikrokarticama proizvođača BioRad. Testom elucije uklonjena su protutijela s površine eritrocita, a njihova specifičnost je dokazana ispitivanjem eluata u IAT-u s panelom fenotipiranih testnih eritrocita proizvođača Ortho Clinical Diagnostics, u kojem je usporedno ispitana i serum bolesnika.

**Rezultati:** Uzorci bolesnika krvne grupe A, RhD poz upućeni su na ispitivanje zbog sumnje na hemolizu 24 dana nakon prve OLT kada je dobio jetru donora krvne grupe A, RhD poz i 8 dana nakon druge OLT kada je dobio jetru donora krvne grupe A, RhD neg. Zadnja transfuzija A, RhD poz KE bila je treći dan nakon druge transplantacije, a osmi postoperativni dan DAT je bio pozitivan 3+/4+. U gel mikrometodi dokazana su protutijela razreda IgG u titru većem od 10 i podrazreda IgG1 u titru većem od 100, a IAT je bio negativan. Testom elucije dokazano je anti-D protutijelo i time potvrđen PLS zbog anti-D protutijela porijeklom od donorovih limfocita.

**Zaključak:** Razvoj PLS nije moguće predvidjeti jer postoji više čimbenika koji mogu utjecati na njegovu pojavu. Prikazani slučaj pokazuje da i kod ABO podudarnosti između primatelja i donora organa može doći do razvoja PLS zbog prethodne RhD imunizacije donora organa te potrebu praćenja laboratorijskih i kliničkih znakova hemolize nakon OLT. Preporuka je pratiti DAT 3 mjeseca od zadnje transplantacije jetre.

## Imunohematologija

### VRIJEME IZDAVANJA NALAZA (TAT) KOD MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE ZBOG VARIJANTE RhD ANTIGENA

MIŠETIĆ S.<sup>1</sup>, Frkat I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Standardno se RhD antigen tijekom određivanja krvne grupe interpretira kao pozitivan (+) ili negativan (-). Smetnje određivanja RhD antiga najčešće su uzrokovane prethodnim transfuzijskim liječenjem, transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (KMS) i varijantama RhD antiga. Smetnje uzrokovane transfuzijskim liječenjem i transplantacijom KMS potvrđuju se povjesnim podacima. Molekularnom dijagnostikom potrebno je utvrditi varijantu RhD antiga kako bi se mogao izdati nalaz krvne grupe. Prema literaturi i dostupnim podacima o mogućnosti aloimunizacije pojedinih RhD varijanti, pacijent se proglašava kao RhD pozitivan ili RhD negativan. TAT za izdavanje nalaza krvne grupe ima ključnu ulogu u transfuzijskom liječenju pacijenata ali može biti značajno produžen zbog kompleksnosti molekularne dijagnostike. Do dobivanja nalaza pacijente je ponekad potrebno liječiti RhD negativnim dozama eritrocitnih pripravaka čije su rezerve vrlo rijetke i dragocjene.

**Cilj:** Cilj rada je prikazati vrijeme koje je potrebno za izdavanje nalaza krve grupe (ABO/RhD) u slučaju smetnji određivanja RhD antiga uzrokovanih varijantama RhD antiga.

**Metode:** Ovo je retrospektivno istraživanje kod pacijenata KBC Zagreb sa smetnjama u određivanju RhD antiga uzrokovanih varijantom RhD antiga u razdoblju od 01.01.2019. do 31.12.2020. godine. Standardno određivanje RhD antiga krvne grupe (ABO/RhD) rađeno je na automatskom uređaju Vision (Ortho) s monoklonalnim anti D reagensom klon D7B8 (BioVue System, Ortho)) i monoklonalnim anti D reagensom klon RUM-1 (ImuMed, Antitoxin, Baumental, Njemačka) u matriksu staklenih kuglica (BioVue System, Ortho). Dvojbenim rezultatima smatrani su rezultati koji su s jednm od anti D reagenasa reagirali  $\leq 3+$ . Uzorci su genotipizirani komercijalnim kitovima za slabi *RHD* (RBC Ready Gene D weak i FluoGene D weak/variant, Inno-train Diagnostik, Kronberg, Njemačka). Za određivanje parcijalnih i drugih hibridnih alela korišten je kit Ready Gene CDE (Inno-train Diagnostik, Kronberg, Njemačka). Za analizu podataka korištena je baza podataka Hemo Tools i BIS (Bolnički Informacijski sustav). Pacijenti s podacima o prethodnim transfuzijama i transplantacijama KMS s neidentičnim RhD antigenom isključeni su iz analize.

**Rezultati:** Od 74 pacijenata kod njih 43 (58,1%) dokazan je slabi *RHD* tip 1. Kod 18(24,3%) pacijenata određen je slabi *RHD* tip 3, a kod 7(9,5%) pacijenata određen je slabi *RHD* tip 2. Slabi *RHD* tip 14 dokazan je kod 3(4,1%) pacijenta. Parcijalni D kategorije VI tip 2 dokazan je kod 1(1,4%). Kod 1 (1,4%) pacijenta, navedenim komercijalnim kitovima nije se mogla odrediti RhD varijanta. Prosječno vrijeme od zaprimanja uputnice za krvnu grupu do izdavanja nalaza iznosilo je 2,65 dana (medijan 1; raspon 0 – 20) dana. Prosječno vrijeme potrebno za genotipizaciju od trenutka zaprimanja uputnice za krvnu grupu je 2,04 dana (medijan 1; raspon 0 – 20). Vrijeme potrebno za genotipizaciju od zaprimanja uputnice za dodatno imunohematoško ispitivanje iznosilo je 1,83 dana (medijan 0,5; raspon 0 – 20) dana. Prosječni vremenski period od genotipizacije do izdanog nalaza iznosio je 0,65 dana (medijan 0; raspon 0 – 7). Transfuzijsko liječenje sa RhD negativnim eritrocitnim pripravcima kroz navedeno ispitivano razdoblje primilo je dvoje pacijenata (2,7%).

**Zaključak:** Molekularna dijagnostika može znatno produžiti vrijeme izdavanja nalaza krvne grupe zbog same kompleksnosti izvedbe testa, zbog čega navedene pacijente u pojedinim situacijama treba liječiti RhD negativnim eritrocitnim pripravcima.

## UČESTALOST ANTITROMBOCITNIH PROTUTIJELA KOD PACIJENATA UPUĆENIH NA IMUNOHEMATOLOŠKU OBRADU U KBC-U ZAGREB U RAZDOBLJU OD GODINE DANA

MARIĆ J.<sup>1</sup>, Čorluka I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Antitrombocitna protutijela određuju se kod pacijenata kada postoji sumnja na imunu trombocitopeniju. Uzroci trombocitopenije (trombociti <150x10<sup>9</sup>/L) mogu biti smanjena proizvodnja trombocita ili njihova povećana razgradnja, a bolest može biti asimptomatska ili se manifestira povećanom sklonosću za krvarenja u kožu, sluznice i/ili organe. Trombocitopenija može biti primarna ili sekundarna, povezana s drugim stanjima i bolestima, a može nastati i zbog primjene određenih lijekova. Laboratorijska dijagnostika uključuje određivanje slobodnih i vezanih antitrombocitnih protutijela.

**Cilj:** Cilj ovog rada je prikazati učestalost pozitivnih vezanih i slobodnih antitrombocitnih protutijela kod pacijenata kojima je tražena imunohematološka obrada antitrombocitnih protutijela.

**Metode:** U razdoblju od godine dana (ožujak 2020.–ožujak 2021.) u Odjelu za transfuzijsku medicinu Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb testirano je 316 uzoraka odraslih pacijenata kojima je tražena imunohematološka obrada antitrombocitnih protutijela.

Imunohematološko ispitivanje uključivalo je određivanje vezanih antitrombocitnih protutijela na protočnom citometru BD FACSCanto II metodom imunofluorescencije koja omogućuje razlikovanje protutijela razreda IgG i IgM. Slobodna antitrombocitna protutijela određena su na fluoroanalizatoru Luminex metodom na mikrosferama (Xmap, eng. Multi-analyte profiling beads) koja omogućuje dokazivanje slobodnih antitrombocitnih protutijela.

Učestalost protutijela prikazana je prema dobnim skupinama pacijenata te prema odjelima odakle su zahtjevi upućeni na imunohematološku obradu. Rezultati su prikazani kao postotak ili udio pozitivnih rezultata, ovisno o broju pacijenata u pojedinim skupinama.

**Rezultati:** Od 316 pacijenata upućenih na imunohematološku obradu antitrombocitnih protutijela najviše je zahtjeva bilo za bolničke pacijente s Interne klinike (30%) naročito s odjela hematologije (7%) zatim za pacijente koji se ne liječe na KBC-u (28%) i pacijente dnevne hematološke bolnice (19%).

Od svih upućenih zahtjeva 42% bilo je pozitivno. Analizom protutijela na protočnom citometru, pozitivnih vezanih je bilo 29% uzoraka, a najviše pacijenata ima pozitivna vezana IgG+IgM protutijela (41/91), dok kod određivanja slobodnih protutijela najviše pacijenata ima polispecifična protutijela na glikoprotein (GP) IIb/IIIa (16/59) i na GP Ia/IIa (9/59). Uz antitrombocitna protutijela Luminex metodom otkrivena su i 28/59 pozitivna pacijenata na anti-HLA protutijela, koja se također određuju u sklopu imunohematološke obrade antitrombocitnih protutijela.

Podjelom pacijenata po dobi, najviše ispitivanih pacijenata je između 60 i 79 godina, a postotak/udio pozitivnih uzoraka u svim skupinama podjednak.

**Zaključak:** Imunohematološkim ispitivanjem antitrombocitnih protutijela utvrđeno je da su u ispitivanoj populaciji najučestalija protutijela na GPIIb/IIIa i protutijela na HLA-I. Podjelom pacijenata po dobi, između grupa nema razlike u pozitivnim rezultatima antitrombocitnih protutijela (u svim skupinama približno isti postotak pozitivnih nalaza).

## ZNAČAJNOST SPECIFIČNOSTI PROTUTIJELA U HEMOLITIČKOJ BOLESTI FETUSA I NOVOROĐENČETA (HDFN)

TUMPAK M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HDFN) imunološki je posredovana bolest do koje dolazi uslijed nepodudarnosti majčinih i djetetovih eritrocitnih antigena. Tijekom trudnoće i poroda dolazi do fetomaternalnog krvarenja. Majčin imunološki sustav aktivira se potaknut eritrocitnim antigenima djeteta naslijedenim od oca koja prepoznaje kao strane te počinje stvarati protutijela koja su usmjerena na djetetove eritrocite. Naj-

češći uzrok HDFN je ABO ili RhD nepodudarnost između majke i djeteta, no bolest mogu uzrokovati i protutijela iz drugih sustava krvnih grupa, ukoliko je majka aloimunizirana ranijim trudnoćama, pobačajima ili transfuzijama. Pretraživanje antieritrocitnih protutijela kod majke provodi se indirektnim antiglobulinskim testom (IAT) tijekom trudnoće. Kod novorođenčadi, direktni antiglobulinski test (DAT) je prva pretraga nakon poroda koja može upozoriti na razvoj HDFN. Zbog hemolize eritrocita može doći do anemije i hiperbilirubinemije koja se očituje žuticom, a u težim oblicima bolesti može doći do fetalnog hidropsa ili smrti. Liječenje HDFN provodi se fototerapijom, intrauterinom transfuzijom, eksangvinotransfuzijom ili transfuzijama koncentratom eritrocita.

**Cilj:** Cilj ovog rada bio je ispitati učestalost i specifičnost protutijela koja mogu dovesti do razvoja HDFN.

**Metode:** Ovo retrospektivno istraživanje uključivalo je novorođenčad koja su zbog sumnje na HDFN upućena na imunohematološku (IH) obradu u KBC Zagreb kroz razdoblje 01.06.2018. – 30.06.2021. Podaci su analizirani iz transfuzijskog informacijskog sustava Hemo Tools. Ispitivanje je obuhvaćalo određivanje krvne grupe i DAT-a metodom aglutinacije u mikrostupcu i IAT-a s 0.8% test eritrocitima Surgiscreen (Ortho) na uređaju za automatsko ispitivanje Vision (Ortho). U slučaju pozitivnih rezultata DAT-a i IAT-a provodilo se dodatno testiranje koje je uključivalo određivanje specifičnosti antieritrocitnih protutijela s 0.8% test eritrocitima, Panel C (Ortho), kemijsku eluciju komercijalnim kitom Gamma ELU-KIT II (Immucor) i određivanje eritrocitnih antigena monoklonskim serumima (Ortho) aglutinacijom u epruveti.

**Rezultati:** U promatranom razdoblju analizirano je 160 uzoraka novorođenčadi koja su poslana na IH obradu HDFN. Ispitivanjem su otkrivena 138 (86,25%) pozitivna i 22 (13,75%) negativna DAT-a. Od 160 novorođenčadi, HDFN je otkrivena kod njih 150 (93,75%). Od 10 (6,25%) novorođenčadi koja nije razvila HDFN, kod njih 8 (80%) uzrok pozitivnog DAT-a bili su lijekovi, a u dva (20%) slučaja radilo se o pasivnom prijenosu protutijela, u prvom slučaju o anti-E protutijelu prenešenom putem transfuzijskog liječenja, a u drugom o anti-D protutijelu prenešenom nakon terapije intravenoznim imunoglobulinima (IVIG). Najčešći uzrok HDFN bila je ABO nepodudarnost sa 124 (82,67%) slučaja, slijede ju RhD nepodudarnost s 14 (9,33%) slučaja dok su ostala protutijela uzrokovala 12 (8,00%) slučaja HDFN, među kojima po 4 (2,67%) slučaja anti-K i anti-c specifičnosti. Gestacijska dob ispitivane novorođenčadi s HDFN bila je 26+6 do 41+4 tjedana, s porodajnom težinom između 690–4450g. Kod 46 (28,75%) djece stanje je zahtijevalo transfuzijsko liječenje ili primjenu IVIG-a: 33 (20,63%) je transfundirano krvnim pripravcima, a 13 (8,13%) lijećeno IVIG-om.

**Zaključak:** ABO nepodudarnost većinom izaziva blagu HDFN, a specifična protutijela Rhesus i Kell sustava krvnih grupa, anti-D, anti-c i anti-K, mogu dovesti do teške kliničke slike. Analizom podataka dolazimo do zaključka kako su u trogodišnjem razdoblju na KBC-u Zagreb dijagnosticirana i liječena novorođenčad s težom kliničkom slikom HDFN. Pravovremenim otkrićem specifičnih antieritrocitnih protutijela kod trudnice i uspješnim mjerama prevencije i liječenja moguće je smanjiti neželjene ishode HDFN.

## ULOGA TEHNIČARA I PRVOSTUPNIKA MEDICINSKO-LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U ANALIZI REZULTATA UNUTARNJE KONTROLE KVALITETE (UKK) U LABORATORIJU ZA HEMOSTAZU HRVATSKEGA ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU

ČEHULIĆ M.<sup>1</sup>, Popov A.<sup>1</sup>, Očić T.<sup>2</sup>, Kovačević M.<sup>1</sup>, Kajfeš M.<sup>1</sup>, Tomićić M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za dijagnostiku trombocita i leukocita i hemostazu

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za informatiku

**Uvod:** Osiguranje kvalitete rezultata laboratorijskog ispitivanja provodi se uspostavom sustava unutarnje i vanjske kontrole kvalitete testiranja. Vanjska kontrola kvalitete (VKK) provodi se sudjelovanjem u nacionalnim i/ ili međunarodnim kontrolama kvalitete. Unutarnja kontrola kvalitete (UKK) radi se svakodnevno prije izvođenja testova, s kontrolnim uzorcima plazme u normalnom i patološkom rasponu. Vremenski period prikupljanja podataka UKK za analizu mora biti dovoljno dug da obuhvati dovoljan broj serija (lotova) reagensa, kalibratora, kontrolnih normalnih i patoloških uzoraka plazme, najmanje 6 do 12 mjeseci.

**Cilj:** 1. Analizirati podatke UKK za test određivanja fibrinogena za razdoblje od jedne godine.

2. Prikazati statističku analizu rezultata UKK dobivenih iz programa za kontrolu kvalitete (QC), BCS XP analizatora, izraženu kao srednja vrijednost (SV), standardna devijacija (SD) i koeficijent varijacije (KV %).

**Metode:** Kvantitativno određivanje fibrinogena (Fib) u humanoj plazmi učinjeno je metodom koagulometrije po Clauss-u, s reagensom Multifibren U, na BCS XP-Siemens analizatoru za ispitivanje hemostaze. Rezultat je izražen u g/L. Izmjereno vrijeme u sekundama, obrnuto je proporcionalno količini fibrinogena. Analizator automatski preračunava vrijeme u sekundama u g/L, na temelju kalibracijske krivulje izvedene s kalibracijskom plazmom (Fibrinogen Calibrator Kit). Kalibracijske krivulje rade se za tri razine vrijednosti fibrinogena: normalnu-Fib, nisku patološku-Fib.low i visoku patološku-Fib.high vrijednost. Kalibracijska krivulja izmjerena na 570 nm-Fib 570 koristi se za lipemičan, hemolitičan ili ikteričan uzorak.

Postupak unutarnje kontrole kvalitete (UKK) – dnevna procesna kontrola, učinjen je svaki dan prije izvođenja testova hemostaze, s kontrolnom komercijalnim normalnom plazmom (Control N) i patološkom plazmom (Control P).

Kriterij prihvatljivosti rezultata određivanja fibrinogena s regensom Multifibren U je koeficijent varijacije (KV %) do 10 % za normalnu i patološku kontrolnu plazmu, prema proizvođaču Siemens.

**Rezultati:** U razdoblju od 25.5.2020. do 30.4.2021. godine za test određivanja Fibrinogena (g/L) s reagensom Multifibren U, na BCS XP-SIEMENS analizatoru učinjeno je 245 dnevnih procesnih kontrola s normalnom kontrolnom plazmom (Control N, 8 serija). S patološkom kontrolnom plazmom (Control P, 8 serija) učinjeno je 230 dnevnih kontrola. Za navedeno razdoblje KV rezultata određivanja fibrinogena bio je 5,03 % za normalnu kontrolnu plazmu i 3,71 % za patološku kontrolnu plazmu.

**Zaključak:** Periodičkom provjerom rezultata UKK za razdoblje od jedne godine, za test Fibrinogen (g/L), za normalni i patološki raspon mjerena svi su rezultati bili zadovoljavajući.



## Kazalo autora

### A

Abazović D. 27  
Artuković M. 59  
Aurer I. 83, 118

### B

Babić I. 33, 36, 109, 111  
Bačić B. 134  
Balen S. 21, 35, 96  
Baričević Lukač M. 143  
Bašić Kinda S. 83  
Batarilo I. 90  
Bekavac M. 96, 146  
Bendelja K. 59  
Bilić E. 118  
Bilić K. 73  
Bingulac-Popović J. 33, 51, 109, 111  
Biočina B. 71  
Blažević L. 155  
Boban A. 57, 83  
Bogdanić D. 53, 69, 81  
Bogdanić N. 81  
Bojanic I. 43, 61, 66, 68, 82, 83,  
110, 115, 118, 119, 120, 122, 143  
Bošnjak B. 40, 113  
Bračun L. 77  
Brezak J. 71, 123  
Brkić Barbarić D. 40, 41, 113  
Brkić M. 156  
Brkić N. 45, 96, 113  
Buljević-Carević J. 21  
Burnać I. L. 68, 115, 118, 120, 122  
Buzina Marić K. 106

### C

Crnčević V. 144  
Crnogaća K. 71  
Crnjak I. 20

### Č

Čečuk-Jeličić E. 101  
Čegec V. 15, 136  
Čehulić M. 159

### Ć

Ćatović-Baralija E. 116  
Ćorluka I. 110, 158  
Ćubelić I. 35

### D

Dajak S. 101, 103  
Delimar D. 71

Didaković L. 154

Dodig J. 146  
Duraković N. 66, 83, 115

### Dž

Džubur F. 68

### Đ

Đogić V. 33, 51, 109, 111  
Đorđević B. 27  
Đozo A. 116  
Đurašković D. 34

### F

Fehily D. 10  
Ferenac Kiš M. 25  
Friščić N. 66, 145  
Frkat I. 157

### G

Glavaš K. 25  
Gojčeta K. 43, 52, 110, 118,  
119, 140  
Gojkov D. 27  
Golemović M. 71  
Golubić Ćepulić B. 43, 52, 53,  
58, 66, 68, 71, 73, 75, 82, 83,  
106, 107, 110, 115, 118, 119,  
120, 122, 123, 125, 126, 128,  
129, 140, 141, 145  
Grdić A. 152  
Grgić Medić M. 57  
Grubešić D. 33, 34, 36  
Grubovic Rastvorceva R. 112,  
118, 124, 130  
Gulan-Harcet J. 25, 89, 90, 91  
Gusić N. 148

### H

Habijanec B. 110  
Hadrović-Pavišić Ž. 21  
Halassy B. 55, 56, 59  
Hećimović A. 20, 51, 56, 59, 104,  
107, 144, 154  
Horvat Đ. 144  
Horvat E. 120  
Horvat I. 115  
Hranj K. 144

### I

Ipavec N. 103  
Ivanković E. 96  
Ivanjko Pedišić I. 148

### J

Jagić A. 34  
Jagnjić S. 33, 34, 45, 51, 98, 104,  
107, 109, 156  
Jaklin G. 52  
Jaman S. 101  
Jambrović I. 123  
Jelečki A. 75, 140  
Ježek D. 73  
Jež M. 114  
Jukić I. 1, 15, 20, 25, 33, 36, 51, 56,  
59, 90, 104, 107, 109, 111, 134,  
136, 142, 156  
Jularić A. 102  
Jurenec F. 99  
Jurenec S. 65, 99

### K

Kajfeš M. 45, 98, 159  
Kalaž M. 71  
Kalenić B. 140  
Kanjer M. 103  
Karmelić D. 77  
Kirin V. 51  
Knežević J. 116  
Kolar D. 153  
Komar Lukač I. 126  
Kontak V. 144  
Kovačević M. 45, 98, 159  
Kozarski J. 27  
Kralik K. 135  
Kraljević I. 57  
Krešo N. 144  
Kruhonja Galić Z. 45, 51, 98, 104,  
107, 109, 142, 156  
Kujavec-Šljivac K. 25  
Kundid R. 51, 111  
Kurolt I. 59  
Kvržić Z. 131

### L

Lamprecht N. 114  
Latković I. 148  
Lauš R. 149  
Lenz B. 96  
Leskovar I. 71, 75, 140, 141, 145  
Liker M. 53, 58, 83, 115, 125, 126,  
128, 129  
Lilić M. 52, 101  
Lojna K. 77  
Lubina Ž. 152  
Lukač A. 58

- Lukačević J. 103  
 Lukežić N. 21, 29, 35, 96  
 Lukić M. 43, 51, 53, 58, 82, 104,  
     107, 120, 125, 126, 128, 129, 156
- Lj**  
 Ljubičić J. 25, 36, 89, 90  
 Ljuca A. 116
- M**  
 Mačak Šafranko Ž. 59  
 Majcen K. 82  
 Major Radin A. 40  
 Makar M. 142  
 Malešević M. 144  
 Mali P. 114, 131  
 Mandac Smoljanović I. 65  
 Marić J. 158  
 Maslović M. 33  
 Matišić V. 13  
 Matković D. 25  
 Matuš V. 142  
 Mazić S. 66, 68, 115, 118, 120, 122  
 Mehić K. 116  
 Mihojević V. 75, 140, 141  
 Mikulić M. 83  
 Miletić M. 33  
 Mišetić S. 157  
 Mitka A. 40  
 Mitrović Z. 45  
 Molnar V. 13  
 Mušlin T. 15, 20, 56, 59, 136
- N**  
 Novoselac J. 75, 106, 140  
 Novosel M. 45, 56, 98  
 Nuić M. 75, 140
- O**  
 Očić T. 104, 134, 159
- P**  
 Pajk J. 95  
 Papić N. 98  
 Pašalić A. 137, 151  
 Pavičić Bošnjak A. 140  
 Pavičić Šarić J. 99  
 Perković D. 40, 41, 113  
 Perković T. 107  
 Petkovikj E. 112, 118, 130  
 Pipić M. 123  
 Piškorjanac S. 135, 138  
 Plenković F. 53, 58, 82, 125, 126,  
     128, 129

- Polančec D. 13, 59  
 Popov A. 159  
 Popović T. 71, 73, 141  
 Primorac D. 13  
 Pulanić D. 6  
 Puljiz M. 123
- R**  
 Rac D. 123  
 Račić K. 34  
 Radić-Krišto D. 65  
 Radin Major A. 113  
 Radovčić M. K. 24, 25, 56, 91  
 Radović N. 75, 140  
 Radulović G. 99  
 Rahne Potokar U. 114  
 Raos M. 43, 47, 52, 53, 58, 82, 83,  
     106, 107, 110, 125, 126, 128, 129  
 Ratić D. 135, 138  
 Ravlić S. 56, 59  
 Razboršek I. 114  
 Repušić Babacanli M. 15, 136  
 Rimac V. 43, 57, 106, 110, 118,  
     119, 140  
 Rnjak D. 59  
 Rončević Krajina M. 71, 123, 141  
 Rončević P. 83  
 Rukavina K. 139  
 Rukavina L. 155  
 Rukavina M. 107, 109
- S**  
 Safić Stanić H. 107, 109  
 Samardžija M. 23, 25, 40, 113  
 Santini M. 98  
 Selak I. 106  
 Skoko M. 44  
 Slade M. 90  
 Stanešić S. 131  
 Stanić S. 114  
 Starčević A. 96  
 Stepan Giljević J. 133  
 Stepić N. 27  
 Stojčić O. 116  
 Stojić Vidović M. 36, 104, 107  
 Stojkoska S. 130  
 Strauss Patko M. 24, 36, 104, 107,  
     131, 142, 152, 153, 154, 156
- Š**  
 Šafradin I. 71  
 Šarić D. 71  
 Šemnički J. 59
- Šerer Vičević M. 21, 35  
 Šitum I. 77  
 Škegro I. 71  
 Škifić M. 71  
 Šnajder-Šajatović M. 155  
 Šola A. 59  
 Štefanec D. 146  
 Štefić A. 102  
 Štimac R. 111  
 Šuperba M. 59
- T**  
 Tarabene M. 101  
 Tomac G. 43, 57, 110  
 Tomašić M. 153  
 Tomičić M. 6, 25, 45, 98, 111, 159  
 Tomić Mahećić T. 77  
 Topić Šestan P. 15, 20, 36, 56, 136  
 Tučin I. 128  
 Tumpak M. 158  
 Tutić Lazić S. 71, 141
- U**  
 Useini S. 112, 118, 124, 130
- V**  
 Vidović I. 71, 123, 141  
 Vidović S. 40, 113  
 Vilaj M. 73  
 Viljušić P. 156  
 Vinković M. 24, 25, 56, 91, 131  
 Vitaić S. 25  
 Vranarić M. 142  
 Vučemilo T. 44  
 Vučetic D. 27  
 Vučemilo T. 37  
 Vugrek I. 123  
 Vujević K. 146  
 Vukelić-Damijani N. 96  
 Vukmirović N. 156  
 Vuković I. 154  
 Vuković Z. 154  
 Vuk T. 16, 20, 25, 36, 56, 59, 85,  
     89, 91, 92, 111
- Z**  
 Zatezalo V. 65  
 Zenić L. 13, 59  
 Zibar K. 57  
 Zibar L. 3  
 Zubović Velepić S. 21
- Ž**  
 Živković M. 147

- ❖ organizacija virtualnih i hibridnih kongresa
- ❖ organizacija konferencija i seminara
- ❖ putovanja na kongrese



#### Penta turistička agencija d.o.o.

**A:** Izidora Kršnjavoga 25, 10000 Zagreb, HR  
**T:** +385 1 4553 290  
**F:** penta@penta-zagreb.hr  
**W:** www.penta-zagreb.hr

**OIB:** 31375495391  
**IBAN:** HR0724020061100058375  
**ID-kod:** HR-AB-01-080183668  
Erste & Steiermarkische Bank d.d.

# ADAM rWBC 2

residual Leukocyte Counter



**45**  
Sec

**3**  
Steps

$r^2=0.99$   
Accuracy

**Just 45 sec.**  
*you can count on!*

NanoEnTek

PHARM-LAB

GLAVNI SPONZORI



---

SPONZORI



---

IZLOŽBENI PROSTOR



*Jasika*

---

---



**KEDRION**  
BIO PHARMA



**IMMUCOR**® **LIFECODES**®

