



Dobrovoljno davalatstvo 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.¹

¹Splošna 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 Government.

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 establishment. 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 individually checked in by professionals measuring body temperature and providing FFP II surgical masks to them. Each time donors had to fullfill epidemiological questionnaires. They desinfectided their hands and respected 2 m distince between each other through the process. Body temeprature 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 almost 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 vaccinated, 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 PROGNOŠTIČKI MARKER U BOLESNIKA S COVID-19 INFEKCIJOMLUKEŽIĆ N.¹, Vukelić-Damijani N.¹, Starčević A.¹, Ivanković E.¹, Balen S.¹¹ 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 izmjerenih 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. Usporedili smo vrijednosti i dinamiku D-dimera izmjerenih u tri mjerenja, analizirali vrijednosti kod bolesnika s klinički indiciranom CT plućnom angiografijom, kod onih s dokazanom plućnom tromboembolijom (PTE), te usporedili 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 mjerenje D-dimera je učinjeno kod svih 100 ispitanika, drugo mjerenje kod 74, a treće kod 40 bolesnika. Prosječni D-dimeri bili su najviši u drugom mjerenju (3,4 mg/L), slijedi prvo mjerenje (2,98 mg/L), dok su u trećem mjerenju prosječno najniži (2,83 mg/L). Ovu dinamiku ne prati i medijan vrijednost izmjerenih D-dimera koji je bio najveći prvog dana (1,19 mg/L), zatim u trećem (1,02 mg/L), te najniži u drugom mjerenju (0,94 mg/L).

U više od 80% ispitanika D-dimeri su bili iznad 0,5 mg/L kod sva tri mjerenja, a iznad 1 mg/L kod 60, 45 i 55 % ispitanika, ovisno o danu mjerenja.

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 (prosječno 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 TROMBOFILIJABRKIĆ N.¹, Bekavac M.¹, Lenz B.¹¹ 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: Ispitivanje je provedeno na podacima 153 pacijentice koje su pregledane u razdoblju od 1. siječnja 2019. do 1. rujna 2020. godine. U analizu su uključeni anamnestički 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 anamnestički 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.¹, Santini M.², Papić N.², Kruhonja Galić Z.³, Jagnjić S.⁴, Kajfeš M.¹, Kovačević M.¹, Tomičić M.¹

¹HZTM

• Odjel za dijagnostiku trombocita, leukocita i hemostazu

²Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"

• Jedinica intenzivnog liječenja

³HZTM

• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

⁴HZTM

• 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, Scwitzerland, 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 enzimsko-imunološkim 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 ⁹ /L	Najniži broj Trc	Pad broja Trc	„4T“ zbroj	ID PAGIA poz	HPF4-EIA/
					x10 ⁹ /L	x10 ⁹ /L (%)		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 vjerojatnosti 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.¹, JURENEC F.^{2,4}, RADULOVIĆ G.³, PAVIČIĆ ŠARIĆ J.¹

¹ Klinička bolnica Merkur

• Odjel za anesteziju, reanimatologiju i intenzivno liječenje

² Klinička bolnica Merkur

• Odjel za urologiju

³ Klinička bolnica Merkur

• Zavod za nefrologiju

⁴ Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera

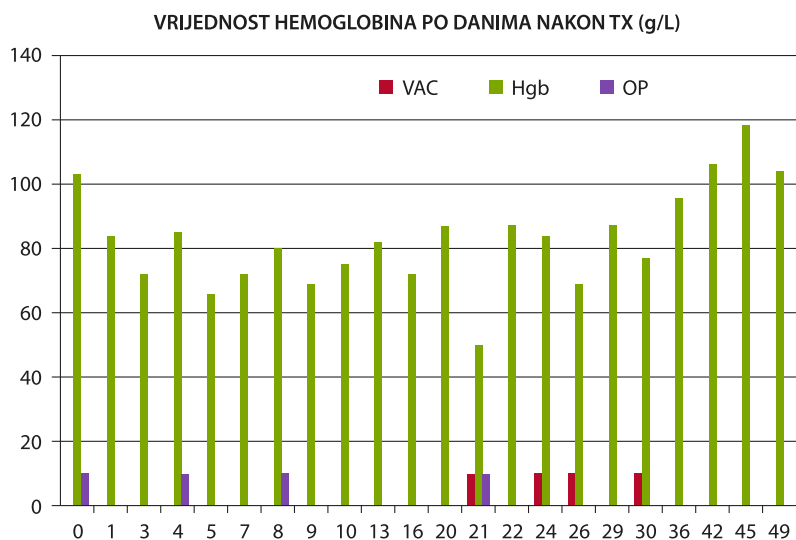
• Katedra za urologiju

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 Willebrandovog faktora. Smanjeno je otpuštanje ADP-a i serotonina iz α -granula, stvaranje tromboxana A2, poremećen metabolizam prostaglandina. Dodatni čimbenici odgovorni za sklonost krvarenju su uremijski toksini, anemija, dušični spojevi, funkcionalne abnormalnosti von Willebrandovog 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

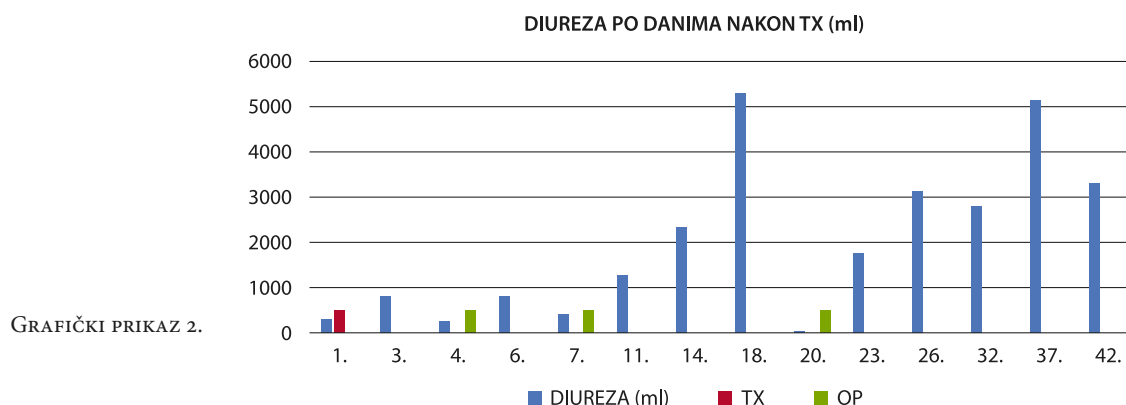
Prikaz slučaja: Bolesnica u dobi od 52 godine ima verificiranu obostranu nefrolitijazu od 2001. godine zbog čega je više puta operirana. Do 2016. godine bubrežna je funkcija stacionarna. Tada dolazi do pogoršanja bubrežne funkcije. Učinjena je obostrana paratireoidektomija. 2017.god. je evaluirana bubrežna bolesti i parametri jetrene lezije. Marker na hepatits 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 hemodijalizi 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. Poslijeoperacijski dolazi do snižavanja hemoglobina sa 103 na 72 g/L. Učinjen je CT abdomena 3. dan nakon transplantacije (DNT). Verificiran je hematoma oko bubrega. Hitnim operacijskim zahvatom je odstranjen hematoma, 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 zavrt (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 provedena 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.**).



GRAFIČKI PRIKAZ 2.

Zaključak: Kod bolesnice je pad hemoglobina nakon transplantacije posljedica difuznog krvarenja zbog uremijske koagulopatije. Unatoč primjeni dezmpresina, transfuzije KE, KT, urednom koagulogramu, krvarenje prestaje tek nakon što je, nakon uočene snižene vrijednosti fVII, primjenjen rekombinantni fVIIa.

Imunohematologija

VAŽNOST ODREĐIVANJA PROTUTIJELA ANTI-HLA U TRANSFUZIJSKOJ MEDICINI

ČEČUK-JELIČIĆ E.¹, Jaman S.¹, Tarabene M.¹, Dajak S.³, Lilić M.²

¹ Klinički bolnički centar Split

• Laboratorij za tipizaciju tkiva, Zavod za transfuzijsku medicinu

² Sveučilište Josipa Jurja Strossmeyera u Osijeku

• Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Molekularne bioznanosti

³ 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 imuniziranih 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 prethodile 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 upotrebom dodatnih metoda detekcije protutijela anti-HLA (metodom s mikrosferama na aparatu Luminex) te uspostavljanjem panela dobrovoljnih darivatelja krvi s prethodno određenim antigenima ili alelima HLA mogući je put ka smanjenju pojava neželjenih transfuzijskih reakcija u HLA imuniziranih pacijenata.

VARIJABILNOST BIOLOŠKIH SVOJSTAVA AB0 SUSTAVA KRVNIH GRUPA POVEZANIH SA SPORTOM

JULARIĆ A.¹, Štefić A.¹

¹KBC 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 antigena 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 ispitala je povezanost AB0 sustava KG s izdržljivošću rekreativaca prilikom trčanja (Lippi, G., Gandini, G., Salvagno, G., Skaflidas, 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 MANAGEMENT FOR PATIENTS ON DARATUMUMAB

KANJER M.¹, Dajak S.¹, Lukačević J.¹, Ipavec N.¹

¹ KBC Split
• Transfuzija

Introduction: Daratumumab (DARA) is an IgG1 (kappa) monoclonal antibody (anti-CD38). CD38 is a transmembran 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 antiglobin test (IAT) and causes panreactivity in vitro by binding to CD38 on RBCs and compatibility assays.

Dithiotreitol (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.¹, Jagnjić S.¹, Lukić M.¹, Jukić I.²

¹Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu
• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

²Hrvatski 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 poslijetranfuzijskih 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-krvi.

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 nekrektomiju, 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- krvi. 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 krvi rijetkih grupa, Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske i World Courir službe uspješno smo pribavili 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.

STOJIC VIDOVIĆ M.¹, Hećimović A.¹, Kruhonja Galić Z.¹, Jagnjić S.¹, Lukić M.¹, Očić T.¹, Strauss Patko M.¹, Jukić I.¹

¹Hrvatski 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 antigena dobrovoljnih 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 antigena 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* pripremljenim 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.

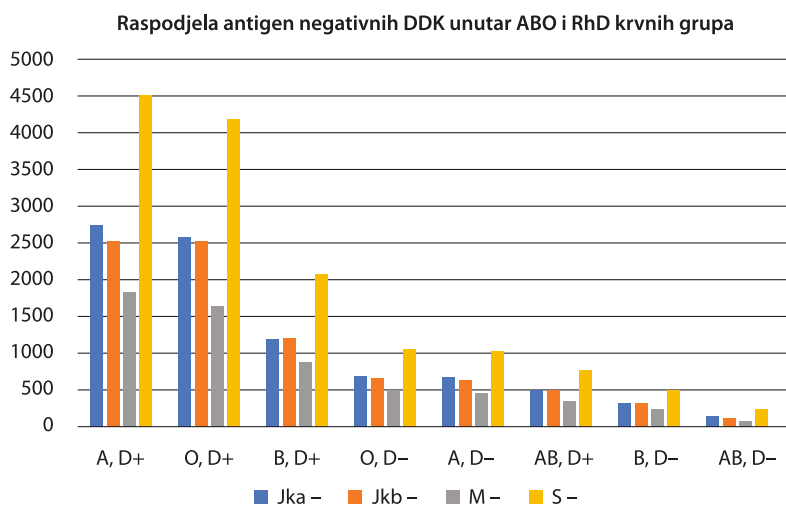
Rezultati: U navedenom periodu provedeno je 88 384 tipiranja Jk^a i Jk^b antigena, 82 460 tipiranja M te 84 106 tipiranja S antigena.

Broj darivatelja krvi s potvrđenim Jk^a antigenim statusom iznosio je 34 818, od kojih je 25 946 Jk^a pozitivno, a 8 872 Jk^a negativno. Broj darivatelja krvi s potvrđenim Jk^b antigenim statusom iznosio je 34 905, od kojih su 26 361 Jk^b pozitivni, a 8 544 Jk^b 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^a, Jk^b, 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 ^a -	2749	2593	1198	688	669	508	322	146
Jk ^b -	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 literaturnim podacima. Najveći broj potvrđeno tipiranih antigen negativnih darivatelja u bazi podataka e-Delphyn-HZTM su S antigen negativni, zatim slijede

Jk^a negativni, Jk^b negativni te na kraju M negativni darivatelji krvi u skupini A,D+ i O,D+ krvnih grupa. Svi ostali antigen 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.¹, Buzina Marić K.², Rimac V.¹, Selak I.³, Raos M.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

² Opća bolnica Tomislav Bardek

• Odjel transfuzijske medicine

³ Klinička bolnica Dubrava

• Odjel transfuzijske medicine

Uvod: Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HBFN) posljedica je razlike između antigena 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 profilakse, 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 antigena 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. Utvrdili 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 dobile 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.¹, Lukić M.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ 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^a protutijelo promjenjivog kliničkog značaja. Varijabilnost kliničkog značaja karakteristika je anti-Yt^a 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^a, -D, -C, -Le^{ab} 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 hematokrita. 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) uzrokovanu anti-Yt^a protutijelom. Pacijentica je uspješno liječena antipireticima, antihistaminicima i kortikosteroidima. Krvarenje iz mokraćnog sustava je zaustavljeno. Anemija je dodatno poboljšana parenteralnim davanjem željeza, pa daljnje transfuzijsko liječenje više nije bilo potrebno.

Budući da je anti-Yt^a 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^a protutijelom. MMA i CLT je dostupan u nekoliko laboratorija u svijetu za predviđanje vijeka preživljenja eritrocita kod transfuzijskog liječenja serološki nepodudarnih eritrocitnih pripravaka, ali trenutno nije dostupan u Hrvatskoj.

DOBROVOLJNI DARIVATELJI KRVI S NEPODUDARNIM ERITROTESTOVIMA

RUKAVINA M.², Kruhonja Galić Z.¹, Jagnjić S.³, Lukić M.¹, Safić Stanić H.², Stojić Vidović M.⁵, Perković T.⁵, Hećimović A.⁴, Strauss Patko M.⁶, Jukić I.⁷

¹ Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

² Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za davalatstvo krvi

³ Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za krvlju prenosive bolesti

⁴ Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za proizvodnju testnih reagensija

⁵ Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za testiranje darivatelja krvi

⁶ Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

• Služba za medicinsku djelatnost

⁷ 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 potvrdnim 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 proizvođača 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 priređenih u 3% suspenziji za rad u epruveti. Eritrotest je očitao 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							
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. POTVRĐNO 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 sukladnima. Nesukladnima 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 imunodeficijencije.

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 PROTUTIJELA U TESTIRANJU TRUDNICA – ISKUSTVA JEDNOG CENTRA

SAFIĆ STANIĆ H.¹, Kruhonja Galić Z.¹, Jagnjić S.², Rukavina M.⁵, Babić I.³, Đogić V.³, Bingulac Popović J.³, Jukić I.⁴

¹ Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

² Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za krvlju prenosive bolesti

³ Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za molekularnu dijagnostiku

⁴ Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Ravnateljstvo

⁵ Hrvatski Zavod za transfuzijsku medicinu

• Odjel za davalatstvo krvi

Uvod: D antigen je izuzetno polimorfan i jedan od klinički najznačajnijih antigena krvnih grupa. Rutinsko određivanje D antigena predstavlja veliki izazov u svakodnevnoj praksi. Prema britanskim smjernicama za prijetransfuzijsko ispitivanje (<http://www.bcshguidelines.com>) preporuka je koristiti potpuno automatizirane sustave gdje god je to moguće i ukoliko se određivanje D antigena provodi na automatskim analizatorima može se koristiti samo jedan monoklonski anti-D reagens koji ne otkriva DVI kategoriju. U HZTM, rutinsko određivanje D antigena 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 antigena 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 uzorke sa serološki slabo izraženim 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 antigena 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 proglasili 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 slabi 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 uzoraka s inicijalno jasno pozitivnim rezultatom u D1 testu, 5 uzoraka bi proglasili RhD pozitivnim i samo na osnovu D1 testa, a jedan uzorak-*RHD*07.01* bi proglasili 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.¹, Gojčeta K.^{1,2}, Čorluka I.¹, Rimac V.¹, Habijanec B.⁵, Bojanić I.^{1,2,3}, Raos M.^{1,2}, Golubić Čepulić B.^{1,3,4}

¹ Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

² Zdravstveno veleučilište Zagreb

³ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

⁴ Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

⁵ Data Raven

Uvod: Novorođenče nasljeđuje 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 ispitan 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 uzoraka 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 ($p_{\text{precizni}} < 0.001$) od majki bez anti-HLA protutijela. Nisu pronađene razlike s obzirom na prisutnost anti-HPA protutijela ($p_{\text{precizni}} = 0.628$), 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.¹, TOMIČIĆ M.¹, Bingulac Popović J.¹, Kundid R.¹, Babić I.¹, Đogić V.¹, Vuk T.¹, Jukić I.¹

¹Hrvatski 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 antigena 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.^{1,2}, Useini S.¹, Petkovikj E.¹

¹Institute for Transfusion Medicine of RNM

• Skopje, N. Macedonia

²University 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 inform 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.¹, Samardžija M.², Bošnjak B.², Perković D.², Radin Major A.², Brkić Barbarić D.², Vidović S.²

¹ Opća županijska bolnica Vinkovci

• Odjel za transfuzijsku medicinu

² 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 kompliciran trombotskim 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, komorbidity, vrsti i dozi tromboprolifakse, 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 atrijsku 37 (15%) bolesnika. Neki oblik renalne insuficijencije zabilježen je kod 14 (6%) bolesnika.

Na prvom konzilijarnom 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 kompliciran 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 konzilijarnog pregleda bolesnicima je preporučena tromboprolifaksa 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 ispitivan 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.¹, Lampreht N.¹, Razboršek I.¹, Stanišić S.¹, Rahne Potokar U.¹, Jež M.¹

¹Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino (Blood Transfusion Centre of Slovenia), Ljubljana, Slovenija
• Oddelek za preskrbu 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 transfusion 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 initiative » 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 covalent 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.¹, Bojanić I.¹, Mazić S.¹, Burnač I. L.¹, Liker M.¹, Duraković N.², Golubić Čepulić B.¹

¹KBC Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

²KBC 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 autoloških 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 provodene 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 slučaja 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

1. Coronavirus disease COVID-19: EBMT recommendations (<https://www.ebmt.org/covid-19-and-bmt>)
2. WMDA Donor medical suitability recommendations (<https://share.wmda.info/>)

PRIKAZ ISTRAŽIVANJA PRISUTNOSTI PROTUTIJELA NA SARS-COV-2

KNEŽEVIĆ J.¹, STOJČIĆ O.¹

¹SKB 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 uzevši 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 primijenjenim 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 nazofarinksa 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 preboljeli 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 nazofarinksa 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

ĆATOVIĆ-BARALIJA E.¹, Ljuca A.¹, Mehić K.¹, Đozo A.¹

¹Zavod 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 antitijela SarsCoV IgG

Metode: Ovo je osmišljeno kao retrospektivna kohortna studija, gdje se analiziralo prisustvo antitijela 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 ARCHITECT 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 dvije 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 B10.8%. Gotovo polovina ispitanika svih krvnih grupa je navelo neke od simptoma u zadnjih 9 mjeseci (bolove u mišićima, grlolju, curenje nosa, povišenu temperaturu, kašalj, kratkoću daha, gubitak mirisa i okusa).

Rasprava: U našoj studiji najviše ispitanika kod kojih su detektovana antitijela je bilo A krvne grupe, ali neočekivano je bio rezultat za O krvnu grupu koja po učestalosti 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 nagađa 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	70	27 (38.5)		6 (8.5)	22 (31.4)
30–39	58	27 (46.5)	15 (21.4)	8 (13.7)	12 (20.6)
40–49	42	15 (35.7)	11 (18.9)	6 (14.2)	13 (30.9)
50–59	20	9 (45.0)	8 (19.0)	1 (1.5)	7 (35.0)
>60	5	2(60.0)	3 (15.0)	1 (20.0)	1 (20.0)
Gender					
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.^{1,2}, Useini S.¹, Petkovic E.¹¹ Institute for Transfusion Medicine of RNM

• Skopje, N. Macedonia

² 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 2×10^6 /kg CD34+ cells and/or 2×10^8 /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.¹, Mazić S.¹, Burnać I. L.¹, Rimac V.¹, Gojčeta K.¹, Golubić Čepulić B.¹, Bilić E.³, Aurer I.²¹ Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

² Klinički bolnički centar Zagreb

• Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti

³ 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 antigena 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 leukaferoze. Krioprezervacija MNS-a omogućuje njihov transport do proizvodnog centra. Iz pripravka leukaferoze se izoliraju T limfociti kojima se *ex vivo*, koristeći virusne vektore, transfecira 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 tisagenlekleucela (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 leukaferozu. Nemobilizirane MNS se prikupljaju CMNC procedurom staničnim separatorom Spectra Optia. Cilj je prikupiti TNC $\geq 2 \times 10^9$, CD3+ limfocite $\geq 1 \times 10^9$ uz $\geq 3\%$ CD3+ limfocita u pripravku leukaferoze. Nakon prikupljanja kontrolira se kvaliteta pripravka leukaferoze, 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 leukaferoze, 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+ stanica $4,1 \times 10^9$ (raspon 1,2–11,1) uz postotak CD3+ 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+ 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 preparci su uspješno krioprezervirani: medijan vijabilnosti CD3+7AAD- stanica bio je 97,5%, (raspon 43–100) uz preživljenje CD3+ stanica od 78,9% (raspon 34,8–106,4). Do sada je 17 pripravaka poslano u proizvodni pogon gdje su uspješno proizvedeni preparci CAR-T stanica sa zadovoljavajućim brojem stanica: medijan CAR-T stanica $3,2 \times 10^8$ (raspon 1,3–5,9).

Zaključak: Prikupljanje autoloških 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 leukaferoze 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 standardni postupak. Krioprezervacija MNS-a omogućuje fleksibilnost u zakazivanju leukaferoze 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 ishod liječenja.

VALIDACIJA I PROVEDBA PERIODIČKE PROVJERE METODE ZA ODREĐIVANJE CD34+ STANICA NA PROTOČNOM CITOMETRU

RIMAC V.¹, Bojanić I.¹, Gojčeta K.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ 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 leukaferoze.

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 linearnost metode te ispitivanje stabilnost uzoraka leukaferoze, 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 leukaferoze 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 leukaferoze 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 leukaferoze 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 izmjerenih 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 mjerenja manja od 20%, što ukazuje na dobru linearnost 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 mjerenja CD34+ stanica u svakodnevnom radu. Uzorci leukaferoze stabilni su 24 sata pohranjeni na $4^\circ C$, bez značajnije promjene broja živih CD34+ stanica.

PROGRAM TERAPIJSKE ERITROCITAFEREZE U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU ZAGREB

BURNAČ I. L.¹, Bojanić I.¹, Lukić M.¹, Mazić S.¹, Horvat E.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ 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 citoredukcije, 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 odrađena na oba stanična separatora. Sva obilježja izražena su kao srednja vrijednost i standardna devijacija ($\bar{x} \pm SD$).

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 VRIJEDNOSTI 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
Obradeni 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

* $\bar{x} \pm SD$

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 citoredukcije. Iako je učinak citoredukcije veći nego

TABLICA 2. USPOREDBA LABORATORIJSKIH VRIJEDNOSTI I OBILJEŽJA POSTUPKA IZMEĐU SEPARATORA HAEMONETICS I SPECTROPTIA

	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
Obradeni 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

* $\bar{x} \pm SD$; ** 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.¹, Bojanić I.¹, Mazić S.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ 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 leukaferenze. Slijedi i dodavanje 8-methoxypsoralena 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 alogenih krvotvornih 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 odbacivanja 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 mjesečno. 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 reinfundirani 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, reevalucija 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.

Tkivno bankarstvo

UNAPRJEĐENJE SUSTAVA PRIKUPLJANJA OČNOG TKIVA

VIDOVIĆ I.¹, Rončević Krajina M.¹, Brezak J.², Vugrek I.², Rac D.³, Pipić M.⁴, Jambrović I.⁵, Puljiz M.⁶, Golubić Čepulić B.¹

¹ Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Hrvatska banka tkiva i stanica

² Klinički bolnički centar Zagreb

• Odjel za koordinaciju transplantacija i eksplantacije

³ Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

• Služba za zdravstvenu njegu, Odjel za prikupljanje tkiva

⁴ Klinička bolnica Sveti Duh

• Koordinator za eksplantaciju tkiva pri uredu ravnatelja

⁵ Klinička bolnica Dubrava

• Koordinator za tkiva

⁶ 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 presadaka rožnica Ministarstvo zdravstva Republike Hrvatske (MIZ) je u listopadu 2015. imenovalo nacionalni tim za tkiva te i formalno uspostavilo program dojava i uzimanja rožnica od DCD darivatelja. U program su uključeni Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički bolnički centar Sestara milosrdnica, Klinička bolnica Sveti Duh i Klinička bolnica Dubrava, a od 2020. i Klinički bolnički centar Split. Sustav dojava 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 mjesečnih 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 realiziranih 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. pretpostavljenog 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 multiorganskih donacija.

Transfuzijsko liječenje

TELEMEDICINE IN THE INSTITUTE FOR TRANSFUSION MEDICINE OF RNM

USEINI S.¹, Grubovic Rastvorceva R.^{1,2}

¹Institute for Transfusion Medicine of RNM

• Skopje, N. Macedonia

²University 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 NEDONOŠČETA NAKON PRIMJENE INTRAVENOZNIH GAMAGLOBULINA ZBOG PRIJENOSA ANTI-D PROTUTIJELA

LUKIĆ M.¹, Raos M.¹, Plenković F.¹, Liker M.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ 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 imunodeficijencija 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 anteritocitna 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 titar antieritrocitnih 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 anteritocitna 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 liječeno s IVIG-om. Ubrzo nakon toga, dolazi do značajnog pada hemoglobina i do porasta laboratorijskih pokazatelja hemolize; ukupnog bilirubina, direktnog bilirubina i laktat dehidrogenaze. Zbog sumnje na imunu hemolizu uzorci novorođenčeta poslani su u naš laboratorij na imunoematološko ispitivanje. U ispitivanom uzorku direktni antiglobulinski je bio pozitivan. Pregledni testovi otkrivanja protutijela u serumu bili su negativni. U eluatu je dokazano anti-D protutijelo. Također u IVIG-u, primjenjenom u liječenju novorođenčeta, dokazano je anti-D protutijelo. Novorođenče je liječeno 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 prenesenim antieritrocitnim protutijelima često je neprepoznata nakon liječenja IVIG-om. Stoga je kliničare potrebno upozoriti na mogućnost hemolize i na potrebu praćenja vrijednosti hemoglobina i laboratorijskih pokazatelja hemolize u pacijenata nakon liječenja IVIG-om. Do tada, hemoliza ostaje neprepoznata komplikacija liječenja IVIG-om.

PRIMJENA KONCENTRATA TROMBOCITA U HRANJIVOJ OTOPINI SMANJUJE UČESTALOST TRANSFUZIJSKIH REAKCIJA

LIKER M.¹, Lukić M.¹, Plenković F.¹, Raos M.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

Uvod: Od svih krvnih pripravaka koncentrat trombocita (KT) imaju najveću učestalost transfuzijskih reakcija. Nakupljanje bioaktivnih i proupalnih čimbenika tijekom prikupljanja, proizvodnje i skladištenja KT, kao i prisustvo alogenijskih proteina 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 uzrokovane volumne preopterećenja cirkulacije (TACO) i transfuzijom uzrokovane

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 O₂ 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.¹, Komar Lukač I.², Plenković F.¹, Lukić M.¹, Raos M.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

²Opća bolnica Gospić

• Odjel medicinsko-biokemijske 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 osobe 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 procijeniti 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 primijenjeno je ženama generativne dobi i djeci, a 7.677 (84,3%) primijenjeno je odraslim muškarcima i ženama izvan generativne dobi. Od ukupnog broja doza primijenjenim odraslim muškarcima i ženama izvan generativne dobi 2.467 (32,1%) KE primijenjeno 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 RhD 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 LIJEČENIH TRANSPLANTACIJOM PLUĆA

TUČIN I.¹, Plenković F.¹, Lukić M.¹, Liker M.¹, Raos M.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹KBC 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 uzrokovane 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 posljedično kroničnoj plućnoj emboliji, cistične fibroze, deficita 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. ODNOS 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 transfundirani. 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 LIJEČENI DARATUMUMABOM

RAOS M.¹, Lukić M.¹, Liker M.¹, Plenković F.¹, Golubić Čepulić B.¹

¹ 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 eritrocitima 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^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, 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 primijenjena je metoda obrade eritrocita 0,2 M ditiotreitolum (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^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, 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.¹, Stojkoska S.¹, Grubovic Rastvorcova R.¹, Useini S.¹

¹Institute 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-Platetelet 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.