

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



### POSTERI

#### Dobrovoljno davalatstvo i uzimanje krvi

### NEUSPJELE VENEPUNKCIJE KAO UZROK NEUSPJELOG UZIMANJA DOZE KRVI

PAŠALIĆ A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> JU Kantonalna bolnica Zenica  
• Transfuzijski centar

**Uvod:** Zadatak tehničara koji provodi venepunkciju je obezbjeđivanje uvjeta kako bi doza krvi bila uspješno uzeta: odabir najbolje vene za punkciju u lakatnoj jami, antiseptični postupci pripreme, održavanje igle u veni i konstantnog protoka krvi, kao i nadzor nad davaocem kako bi se uočile i spriječile moguće neželjene reakcije ili komplikacije davanja krvi te poduzele preventivne i/ili terapijske mjere. Kod pojave prvih simptoma reakcije ili razvojem komplikacije, uzimanje krvi mora biti prekinuto. U Transfuzijskom centru novoprimitljeni tehničari u prvih 6 mjeseci rada provode venepunkciju isključivo uz nadzor iskusnog tehničara ili glavne sestre.

**Cilj:** Utvrditi učestalost neuspjelih venepunkcija koje su uzrokovale neuspjelo uzimanje doze krvi i odrediti njihov statistički značaj u odnosu na ostale uzroke neuspjelog uzimanja doze krvi.

**Metode:** Venepunkcije provedene na davaocima krvi koji su u periodu od 01.01.2011. do 31.12.2016.godine bili podesni za davanje krvi. Uzorkovanje je izvršeno iz baze podataka TIS-a. Period istraživanja je obuhvatio periode obuke za 7 novoprimitljenih tehničara. Za testiranje značajnosti korišten je chi2 test. Statistička značajnost se dokazivala za nivo gdje je  $p < 0,05$ .

**Rezultati:** Od ukupno 33.253 davaoca koji su pristupili davanju krvi, kod 1.06% njih ( $n=352$ ), uzimanje doze krvi nije uspjelo. Od tog broja, pojava vazovagalne reakcije (VVR) kod davaoca u toku davanja krvi bila je uzrokom u 46,02% slučajeva, slabo razvijene vene lakatne jame 27.56%, po 0,57% slučajeva pojavlju se razlozi “davalac odustaje od davanja krvi” i “prekinuto davanje krvi zbog naknadne informacije od davaoca”, a u ukupnom procentu 25,28% ( $n=89$  slučajeva) bilo je uzrokovano lošom tehnikom venepunkcije sa udjelom od 2,27% uzroka greška punktera sa ekstravazacijom krvi u okolno tkivo i 23,01% usporen protok/zastoj krvi. Testirajući frekvenciju neuspjelih tehnika izvođenja venepunkcije (greška punktera i usporen protok/zastoj), nije nađena statistička značajnost  $p < 0,05$  u odnosu na ukupnu frekvenciju ostalih uzroka.

**Zaključak:** Neuspjele venepunkcije nisu statistički značajan uzrok neuspjelom uzimanju doze krvi. Pravilan pristup edukaciji novouposlenih doveo je do relativno niske zastupljenosti ovog uzroka, promatrano u odnosu na dostupne rezultate sličnih istraživanja. Vodeći uzrok neuspjelog uzimanja krvi je pojava VVR, zbog čega, pored usvajanja dobre tehnike venepunkcije, treba posvetiti posebnu pažnju i razvoju interpersonalnih vještina kod tehničara koji rade sa davaocima krvi, jer one mogu direktno utjecati na smanjenje učestalosti pojave reakcije kod davalaca i time dodatno smanjiti učestalost neuspjelog uzimanja doze krvi.

## Proizvodnja krvnih pripravaka

### HEMOLIZA KAO PARAMETAR KVALITETE KONCENTRATA ERITROCITA OZRAČENIH CENTRALNOM DOZOM ZRAČENJA OD 35 GY

LUBINA Ž.<sup>1</sup>, GRDIĆ A.<sup>2</sup>, STRAUSS PATKO M.<sup>3</sup>

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

• Odjel za krvne pripravke

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

• Odjel kontrole kvalitete u transfuzijskoj medicini

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

• Banka krvi

**Uvod:** Ozračivanje koncentrata eritrocita X-zrakama centralnom dozom zračenja od 35 Gy dio je proizvodnog procesa u Odjelu za krvne pripravke, a s ciljem prevencije transfuzijom uzrokovane reakcije presatka protiv primatelja.

Jedan od važnijih parametara kvalitete ozračenih koncentrata eritrocita (KE) je hemoliza. Količina hemolize u ozračenim KE pri isteku roka valjanosti izražava se kao postotak hemolizirane ukupne mase eritrocita na isteku roka valjanosti i mjera je stabilnosti ovih pripravaka tijekom njihova skladištenja. Sukladno specificiranim zahtjevima kvalitete, manje od 0,8 % ukupne mase eritrocita smije biti hemolizirano na isteku roka valjanosti. Osim kvantitativnom metodom, pojačana hemoliza može se uočiti vizualnim (kvalitativnim) pregledom KE i pridruženih uzoraka za križnu probu kao promjena boje supernatanta nastala uslijed pojačane razgradnje eritrocita i posljedičnog oslobađanja hemoglobina.

Poznato je kako pojačana hemoliza u KE može nastupiti uslijed neadekvatnih postupaka u proizvodnji, nepovoljnih uvjeta skladištenja, bakterijske kontaminacije, prisustva antitijela ili abnormalnosti eritrocitne membrane.

Razlozi mogućeg povećanja vrijednosti hemolize, a koji su nastupili uslijed postupka ozračivanja mogu biti: isporučena prevelika doza zračenja na KE, nepravilno izvedena dozimetrija, neadekvatno rukovanje i kvar uređaja za ozračivanje i nepravilno popunjen spremnik za ozračivanje.

Negativni učinci ozračivanja na KE ovise i o starosti eritrocita prije ozračivanja, duljini i uvjetima skladištenja KE nakon ozračivanja, a dijelom su posljedica djelovanja zračenja na eritrocitnu membranu zbog čega dolazi do moguće pojačane hemolize i izlaska kalija iz stanica. Stoga se ozračivanje KE provodi u prvih 14 dana od prikupljanja pune krvi od darivatelja, a rok valjanosti, ako se primjenjuje u odraslih bolesnika je 14 dana od dana ozračivanja. Kod povećanog rizika od hiperkalijemije (intrauterine ili neonatalne transfuzije, transfuzije novorođenčadi i dojenčadi) ozračuju se svježiji KE i rok valjanosti im je 24 sata.

**Cilj:** Prikazati stupanj hemolize u Koncentratima eritrocita bez sloja leukocita i trombocita u hranjivoj otopini (SAGM) sa smanjenim brojem leukocita ozračenih X-zrakama centralnom dozom od 35 Gy.

**Materijali i metode:** Eritrocitni krvni pripravci za određivanje količine hemolize izdvojeni su sa skladišta gotovih proizvoda u Odjelu za krvne pripravke u periodu od 2016.–2020. godine. Metodom slučajnog odabira izabrano je 58 doza Koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita u SAGM-u bez sloja leukocita i trombocita, 50 od njih pripremljen od doza krvi dobivenih od muških, a 8 od ženskih darivatelja. Prilikom odabira doza vodilo se računa o tome da pripravci budu starosti do 48 sati od uzimanja krvi, radi vjerodostojnosti rezultata mjerenja hematoloških parametara u uzorcima ovih pripravaka. Prosječni volumen koncentrata eritrocita bio je 255 mL.

Djelatnici Odjela za krvne pripravke provodili su kvalitativnu kontrolu hemolize vizualnim pregledom doze KE i pridruženim uzorcima za križnu probu. Za potvrdu ispravnosti isporučene doze zračenja od 25–50 Gy koristila se semikvantitativna metoda RadTag indikatorima. Ozračivanje X-zrakama, centralnom dozom od 35 Gy, provedeno je pomoću 2 aparata: 48 KE je bilo ozračeno uređajem Raycell Mk2, a 10 uređajem Radgil 2.

Ukupni sadržaj hemoglobina i vrijednost hematokrita u KE određivani su u Odjelu kontrole kvalitete u transfuzijskoj medicini primjenom hematološkog analizatora Abbott Cell Dyn Ruby. Slobodni hemoglobin izmjeren je u supernatantu primjenom HemoCue Plasma/Low fotometra.

**Rezultati:** U svih 58 analiziranih doza Koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita u SAGM-u bez sloja leukocita i trombocita-ozračen rezultati analize pokazali su da je stupanj hemolize <0,8 %.

**Zaključak:** Provedenim istraživanjem utvrđena je zadovoljavajuća stabilnost ozračenih KE i može se zaključiti da ozračivanje dozom od 35 Gy nije nepovoljno utjecalo na kvalitetu ozračenih KE te da su u Odjelu za krvne pripravke ispunjeni i drugi uvjeti koji osiguravaju da ne dolazi do pojačane hemolize u ozračenim KE.

## KONCENTRAT ERITROCITA SA SMANJENIM BROJEM LEUKOCITA RESUSPENDIRAN U 0,9% NaCl

TOMAŠIĆ M.<sup>1</sup>, Kolar D.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>2</sup>

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

• Odjel za krvne pripravke

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

• Banka Krvi

**Uvod:** Dosadašnja i dugogodišnja proizvodnja Koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita u CPDA1 antikoagulantnoj otopini (KE/CPDA1/SBL) u HZTM služila je u svrhu transfuzijskog liječenja novorođenčadi, dojenčadi i male djece (najčešće do godinu dana starosti). Takva praksa napuštena je u većini transfuzija u razvijenim zemljama budući da je poznato da samo masivne transfuzije KE u hranjivoj otopini mogu biti opasne i to za djecu starosti do mjesec dana ili ako se radi o nekim posebnim dijagnozama. Takvu praksu uveo je od početka 2021.g. i HZTM, a za sve indikacije za djecu kod kojih postoji opasnost (nefrotoksičnost, neurotoksičnost) štetnog djelovanja hranjive otopine u transfundiranom eritrocitnom pripravku, uveden je novi krvni pripravak (KP) Koncentrat eritrocita(KE) sa smanjenim brojem leukocita(SBL) u fiziološkoj otopini(FO).

**Cilj:** prikazati izradu modificiranog KP- KE SBL resuspendiran 0.9% NaCl zadovoljavajućeg hematokrita 0.70 iz KE koji se kao standardni pripravak nalazi na zalihama.

**Metoda:** U KE BC HO SBL do 5 dana starosti, Kell neg (ili prema dogovoru) – dodaje se 300mL F.O. Pripravak se snažno centrifugira da se odstrani što više plazme i hranjive otopine (Cryofuge 600i) centrifugirana 2500okr/10min/12C. Pomoću istiskivača plazme istisne se supernatant. Nakon odvajanja supernatanta izvaže se KE i prema tablici dodaje odgovarajuća količina FO za postizanje ciljnog hematokrita KE 0.70. U tablici su navedene količine u ml FO koje treba dodati obzirom na težinu eritrocita očitano na vagi. Rok valjanosti KE SBL FO je 24h od pripreve, obzirom da se skidanjem supernatanta uklanjaju sve hranjive supstance.

### Rezultati:

Parametri kontrole	Volumen	Hematokrit	Hemoglobin	Hemoliza
Zahtjevi kvalitete	140 – 260 mL	0,65–0,75	min 40 g/d	< 0,8 %
broj testiranih doza	92	92	92	3
% koji zadovoljava	98,91	98,91	97,83	100,00
srednja vrijednost	216	0,71	50	0,04
St.Dev.	19	0,02	4	0,01
min.	162	0,66	34	0,04
max.	263	0,76	59	0,05
median	215	0,71	50	0,04

**Zaključak:** Od 01.01.2021. u HZTM rutinski se radi novi modificirani KP i u potpunosti zadovoljava potrebe za transfuzijsko liječenje novorođenčadi i djece do godine dana starosti. Pripravak se ISKLJUČIVO radi na zahtjev kliničara i u većini slučajeva tražena količina je 50–100mL, a budući da se uglavnom radi o novorođenčadi, KP se u pravilu i zrači.

## ORGANIZACIJA PROIZVODNJE, SKLADIŠTENJA I IZDAVANJA COVID-19 KONVALESCENTNE PLAZME U HZTM-U

VUKOVIĆ I.<sup>1</sup>, Vuković Z.<sup>1</sup>, Didaković L.<sup>1</sup>, Hećimović A.<sup>1</sup>, Strauss Patko M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu  
• Banka krvi

**Uvod:** Pandemija COVID-19 (corona virus disease 2019), zarazna bolest uzrokovana virusom SARS-CoV-2, bila je pokretač transfuzijskoj službi u pronalaženju dodatnog „lijeka“ u liječenju oboljelih. Pod pretpostavkom da plazma osoba koje su preboljele COVID-19 infekciju sadrži protutijela koja u visokom titru mogu pružiti određenu zaštitu hospitaliziranim bolesnicima, u HZTM-u se već od samog početka pojave pandemije započelo s proizvodnjom tzv. COVID-19 konvalescentne plazme. U suradnji s Centrom za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji sveučilišta u Zagrebu, u kojem je određivan titar neutralizacijskih antitijela (NA<sub>t</sub>) i Odjela za krvlju prenosive bolesti u HZTM koji je provodio usporedni test u cilju validacije i kasnije samostalnog testiranja, plazma dobrovoljnih davatelja krvi (DDK) koji su imali visok titar antitijela, proizvodila se kao COVID-19 konvalescentna plazma i izdavala ciljano za bolesnike oboljele od virusa SARS-CoV-2.

**Metode:** U prvih godinu dana pandemije ciljano su pozivani DDK za koje su anamnestički dobiveni podaci o preboljeloj COVID-19 infekciji uz laboratorijsku potvrdu, a koji su pri tome zadovoljili kriterije za darivanje krvi. U uzorcima krvi određivan je titar anti-SARS-CoV-2-IgG protutijela. Uz obavezne testove davateljima su rađeni i neki dodatni testovi (KKS, jetrene probe, ALA/ATA). Zbog nedoumica oko prijenosa bolesti, trombociti se samo na početku nisu koristili u transfuzijskom liječenju. Kako bi se zadovoljila povećana potražnja za konvalescentnom plazmom, u travnju 2021. počinje se proizvoditi i iz pune krvi davatelja (PK) koji su preboljeli COVID-19 infekciju u zadnjih 4 mjeseca ili ranije ako su i cijepljeni, a koji su prethodno zadovoljili kriterije za odabir DDK. Proizvodnja se temelji na izdvajanju plazme iz pune krvi na način propisan za proizvodnju svježije zamrznute plazme (SZP), po dobivanju zadovoljavajućih nalaza titra protutijela finalizira i označava naljepnicom na kojoj je naznačeno „SAMO ZA COVID-19 PACIJENTE“, vakumira, pakira u zaštitne kartonske kutije, te skladišti u hladnoj komori na temperaturu ispod -25°C, složena u metalne košare na police etažera po krvnim grupama. Isto se postupa i s plazmom dobivenom aferezom (SZP/AF).

Izdavanje COVID-19 konvalescentne plazme radi se po zaprimanju pismenog zahtjeva ili telefonske narudžbe kroz računalni program distribucije ako se radi o ustanovi koja ima svoju transfuziju ili program za pacijente, ako se izdaje direktno na bolnički odjel. Prvi zahtjev za COVID-19 konvalescentnom plazmom upućen je od strane Specijalne bolnice za plućne bolesti, Rockefellerova, a potom su slijedili zahtjevi iz Klinike za infektivne bolesti, KBC Zagreb, KB Dubrava, KBC Split, KBC Osijek, OB Bjelovar, KBC Rijeka, ŽB Čakovec, OB Varaždin.

**Rezultati:** Od 29.07.2020.g. do 04.05.2021.g. postupkom afereze proizvedeno je 199 doza COVID-19 konvalescentne plazme. Od toga je isporučeno u: KBC Zagreb-Rebro 82 doza, KB Dubravu 107 doza, KBC Split 11 doza, OB Varaždin 6 doza, ŽB Čakovec 6, Kliniku za infektivne bolesti 16 doza, Specijalnu bolnicu za plućne bolesti 14 doza, KBC Rijeku 3 doze, KBC Osijek 1 doza i OB Bjelovar 1 doza.

Od 04.05.2021.g. do 03.10.2021.g. iz PK proizvedeno je 662 doze COVID-19 konvalescentne plazme. Od toga je isporučeno u: KBC Zagreb-Rebro 78 doza, KB Dubravu 100 doza, OB Zabok bolnica Hrvatskih veterana 1 doza, Kliniku za infektivne bolesti 9 doza.

Od 10.12.2020.g. od izdavanja prve doze do 03.10.2021.g. ukupno je izdana 435 doza COVID-19 konvalescentne plazme za 132 bolesnika.

**Zaključak:** HZTM je na vrijeme započeo prikupljanje konvalescentne plazme, čak i prije zahtjeva poslanih od strane kliničara. Iako se mislilo da će se zahtjevi moći realizirati isključivo plazmom dobivenom aferezom, zbog velikog interesa za ovim krvnim pripravkom, krenulo se u proizvodnju iz pune krvi. Na taj način uspjelo se u potpunosti zadovoljiti zahtjeve i stvoriti zalihe koje osiguravaju dostupnost ovom obliku liječenja.

## Upravljanje kvalitetom u transfuzijskoj medicini

### MIKROBIOLOŠKA KONTROLA KONCENTRATA TROMBOCITA DOBIVENIH AFEREZOM

ŠNAJDER-ŠAJATOVIĆ M.<sup>1</sup>, Rukavina L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu  
• Odjel za Mikrobiologiju

**Uvod:** Transfuzija kontaminiranog krvnog pripravaka (KP) jedan je od najznačajnijih rizika transfuzijskog liječenja. Koncentrati trombocita (KT) najosjetljiviji su na bakterijsku kontaminaciju zbog temperature skladištenja (22°C). Rizik bakterijske kontaminacije procjenjuje se na 1:2 000 kod KT i na 1:20 000 kod koncentrata eritrocita (KE). U svrhu povećanja mikrobiološke sigurnosti KP uvedene su mnoge mjere, a mikrobiološko ispitivanje krvi i krvnih pripravaka na prisustvo bakterija je dodatno povećalo sigurnost transfuzijskog liječenja. U Odjelu za mikrobiologiju u HZTM provodi se statistička procesna kontrola krvnih pripravaka prema preporuci Paul-Erlich instituta. Od studenog 2019. uveden je 100% skrining koncentrata trombocita prikupljenih na staničnom separatoru (KT/AF).

**Cilj:** Cilj rada je prikazati način provođenja skrininga KT/AF.

**Metoda:** Nakon 24 sata od prikupljanja trombocita na staničnom separatoru uzorkuje se po 20 mL u vrećice za uzorkovanje (blood bag sample). Vrećice imaju „Y“ nastavak, jedan krak služi za oduzimanje uzorka iz doze, a drugi s iglom služi za direktnu inokulaciju uzorka u aerobnu (BPA) i anaerobnu (BPN) bočicu po 10 mL. Bočice se inkubiraju 7 dana u automatskom kolorimetrijskom BacT/ALERT 3D sustavu na temperaturi 37°C uz stalnu agitaciju ladica s uloženim bočicama. Prvo moguće izdavanje pripravka je nakon minimalno 16 sati kultivacije. Peti dan, svi neutrošeni pripravci KT/AF dodatno se mikrobiološki ispituju, nasijavanjem po 100 µL na dvije ploče Columbia agara (sekundarna kultivacija). Jedna ploča se inkubira 24/48 sata/37°C u aerobnim uvjetima, a druga 48 sati/37°C u anaerobnim uvjetima.

Svi postupci nasijavanja izvode se aseptičkim načinom rada u mikrobiološkom zaštitnom kabinetu.

Uvjeti rada kontroliraju se: taložnom pločom čistoća zraka za vrijeme rada, otisak radne površine kabineta i prsti djelatnika na kraju rada. Ploče se inkubiraju 5 dana/37°C.

**Zaključak:** Uvođenjem 100% skrininga KT/AF i sekundarne kultivacije omogućilo je produljenje roka valjanosti istih, lakše je upravljanje zalihama i dobivena je veća mikrobiološka sigurnost KT/AF. Aseptičkim načinom rada i kontrolom uvjeta tijekom ispitivanja KT/AF smanjuje se mogućnost kontaminacije i dobivanja lažno pozitivnih rezultata.

### KORIŠTENJE RUN KONTROLA U NAT PROBIRU DDK PROCLEIX ULTRIO ELITE TESTOM NA UREĐAJU PANTHER

BLAŽEVIĆ L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu,  
• Odjel za molekularnu dijagnostiku, Odsjek za NAT testiranje davatelja krvi

**Uvod:** NAT testiranje (engl. nucleic acid testing) darivatelja krvi (DDK) je multipleks testiranje krvi na nukleinske kiseline virusa: HBV-a, HCV-a i HIV-a. Probir darivatelja krvi na uzročnike krvlju prenosivih bolesti zahtijeva svakodnevnu procesnu kontrolu kvalitete testiranja.

**Cilj:** Procjena kvalitete i svrshodnosti vanjskih NAT pozitivnih run kontrola u rutinskom NAT probiru DDK.

**Materijali i metode:** Komercijalne run kontrole su toplinom inaktivirane humane plazme pozitivne na HCV RNA, HBV DNA ili HIV-1 RNA. Testiraju se prije početka rutinskog testiranja DDK, svakodnevno, jedanput, uz kalibraciju Procleix Ultrio Elite testom na uređaju Procleix Panther (Grifols, Španjolska). Valjanim rezultatom run kontrola smatra se reaktivan rezultat, a očekivana odstupanja rezultata izraženih kao s/co (engl. signal to cut off) su unutar  $\pm 3$  SD. Nereaktivan rezultat testiranja run kontrola zahtijeva ponavljanje testiranja run kontrole. Uzastopni nereaktivni rezultati testiranja ili odstupanja veća od  $\pm 3$  SD upućuju na smanjenu kvalitetu testiranja zbog problema s uređajem, testnim reagensima ili run kontrolama.



**Rezultati:** Vanjske run kontrole probira DDK na uređaju Panther pokazuju stabilan raspon odstupanja rezultata unutar  $\pm 3$  SD. Uzastopni nereaktivni rezultati testiranja i odstupanja veća od  $\pm 3$  SD dovela su do obustave rutinskog testiranja na jednom od uređaja, iako su rezultati kalibratora bili uredni. Nakon višemjesečnog popravka, uređaj je ponovno imao očekivane vrijednosti run kontrola i vraćen je u rutinsko testiranje. Jedna serija HCV RNA run kontrole je na svim uređajima pokazivala veći broj nereaktivnih rezultata, neovisno o seriji reagensa za NAT testiranje. Od proizvođača je temeljem rezultata testiranja zatražena druga serija run kontrole koja je imala očekivane, valjane, rezultate testiranja te je zaključeno da su nereaktivni rezultati vezani uz jednu seriju run kontrole lošije kvalitete.

**Zaključak:** Run kontrole kao dodatna procesna kontrola predstavljaju stabilan i vjerodostojan kontrolni materijal te osiguravaju uklanjanje uređaja, reagensa i kontrolnog materijala smanjene kvalitete iz rutinskog rada.

**Ključne riječi:** run kontrole, NAT testiranje DDK

## Transfuzijsko liječenje

### SINDROM PUTUJUĆIH LIMFOCITA

VUKMIROVIĆ N.<sup>1</sup>, Viljušić P.<sup>1</sup>, Brkić M.<sup>1</sup>, Lukić M.<sup>1</sup>, Kruhonja Galić Z.<sup>1</sup>, Jagnjić S.<sup>2</sup>, Strauss Patko M.<sup>3</sup>, Jukić I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu  
• Odjel za eritrocitnu dijagnostiku

<sup>2</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu  
• Odjel za krvlju prenosive bolesti

<sup>3</sup>Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu  
• Služba za medicinsku djelatnost

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

**Uvod/cilj:** Sindrom putujućih limfocita (Passenger lymphocyte syndrome, PLS) nastaje zbog pasivno prenesenih limfocita u transplantiranom organu ili transplantatu krvotvornih matičnih stanica, a rizik raste s masom limfocita u presatku. Najčešće se javlja zbog male ABO nepodudarnosti, kada donorova anti-A i anti-B protutijela uzrokuju hemolizu primateljevih eritrocita. PLS je rjeđe rezultat RhD nepodudarnosti ili nepodudarnosti zbog antigena ostalih sustava krvnih grupa. PLS se obično prezentira unutar 1–3 tjedna nakon transplantacije jetre, kao blaga hemolitička anemija i prolazi unutar 3 mjeseca. Za transfuzijsko liječenje primjenjuju se koncentri eritrocita (KE) podudarni s donatorom. Cilj ovog rada je prikazati slučaj PLS zbog RhD nepodudarnosti nakon ortotopne transplantacije jetre (Orthotopic liver transplantation, OLT).

**Metode:** U imunohematološkom serološkom ispitivanju rađeni su direktni (DAT) i indirektni (IAT) antiglobulinski test u gel mikrometodi u polispecifičnim LISS/Coombs mikrokarticama proizvođača BioRad. Pretraživanje imunoglobulinskih razreda rađeno je u DC Screening I mikrokarticama (IgM, IgG, IgA, C3d, C3c), a titar IgG protutijela određen je u DC IgG1/IgG3 mikrokarticama proizvođača BioRad. Testom elucije uklonjena su protutijela s površine eritrocita, a njihova specifičnost je dokazana ispitivanjem eluata u IAT-u s panelom fenotipiranih testnih eritrocita proizvođača Ortho Clinical Diagnostics, u kojem je usporedno ispitan i serum bolesnika.

**Rezultati:** Uzorci bolesnika krvne grupe A, RhD poz upućeni su na ispitivanje zbog sumnje na hemolizu 24 dana nakon prve OLT kada je dobio jetru donora krvne grupe A, RhD poz i 8 dana nakon druge OLT kada je dobio jetru donora krvne grupe A, RhD neg. Zadnja transfuzija A, RhD poz KE bila je treći dan nakon druge transplantacije, a osmi postoperativni dan DAT je bio pozitivan 3+/4+. U gel mikrometodi dokazana su protutijela razreda IgG u titru većem od 10 i podrazreda IgG1 u titru većem od 100, a IAT je bio negativan. Testom elucije dokazano je anti-D protutijelo i time potvrđen PLS zbog anti-D protutijela porijeklom od donorovih limfocita.

**Zaključak:** Razvoj PLS nije moguće predvidjeti jer postoji više čimbenika koji mogu utjecati na njegovu pojavu. Prikazani slučaj pokazuje da i kod ABO podudarnosti između primatelja i donora organa može doći do razvoja PLS zbog prethodne RhD imunizacije donora organa te potrebu praćenja laboratorijskih i kliničkih znakova hemolize nakon OLT. Preporuka je pratiti DAT 3 mjeseca od zadnje transplantacije jetre.

## Imunohematologija

### VRIJEME IZDAVANJA NALAZA (TAT) KOD MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE ZBOG VARIJANTE RhD ANTIGENA

MIŠETIĆ S.<sup>1</sup>, Frkat I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Standardno se RhD antigen tijekom određivanja krvne grupe interpretira kao pozitivan (+) ili negativan (-). Smetnje određivanja RhD antigena najčešće su uzrokovane prethodnim transfuzijskim liječenjem, transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (KMS) i varijantama RhD antigena. Smetnje uzrokovane transfuzijskim liječenjem i transplantacijom KMS potvrđuju se povjesnim podacima. Molekularnom dijagnostikom potrebno je utvrditi varijantu RhD antigena kako bi se mogao izdati nalaz krvne grupe. Prema literaturi i dostupnim podacima o mogućnosti aloimunizacije pojedinih RhD varijanti, pacijent se proglašava kao RhD pozitivan ili RhD negativan. TAT za izdavanje nalaza krvne grupe ima ključnu ulogu u transfuzijskom liječenju pacijenata ali može biti značajno produžen zbog kompleksnosti molekularne dijagnostike. Do dobivanja nalaza pacijente je ponekad potrebno liječiti RhD negativnim dozama eritrocitnih pripravaka čije su rezerve vrlo rijetke i dragocjene.

**Cilj:** Cilj rada je prikazati vrijeme koje je potrebno za izdavanje nalaza krvne grupe (ABO/RhD) u slučaju smetnji određivanja RhD antigena uzrokovanih varijantama RhD antigena.

**Metode:** Ovo je retrospektivno istraživanje kod pacijenata KBC Zagreb sa smetnjama u određivanju RhD antigena uzrokovanih varijantom RhD antigena u razdoblju od 01.01.2019. do 31.12.2020. godine. Standardno određivanje RhD antigena krvne grupe (ABO/RhD) rađeno je na automatskom uređaju Vision (Ortho) s monoklonalnim anti D reagensom klon D7B8 (BioVue System, Ortho) i monoklonalnim anti D reagensom klon RUM-1 (ImuMed, Antitoxin, Baumental, Njemačka) u matriksu staklenih kuglica (BioVue System, Ortho). Dvojbene rezultate smatrani su rezultati koji su s jednim od anti D reagensa reagirali  $\leq 3+$ . Uzorci su genotipizirani komercijalnim kitovima za slabi *RHD* (RBC Ready Gene D weak i FluoGene D weak/variant, Inno-train Diagnostik, Kronberg, Njemačka). Za određivanje parcijalnih i drugih hibridnih alela korišten je kit Ready Gene CDE (Inno-train Diagnostik, Kronberg, Njemačka). Za analizu podataka korištena je baza podataka Hemo Tools i BIS (Bolnički Informacijski sustav). Pacijenti s podacima o prethodnim transfuzijama i transplantacijama KMS s neidentičnim RhD antigenom isključeni su iz analize.

**Rezultati:** Od 74 pacijenata kod njih 43 (58,1%) dokazan je slabi *RHD* tip 1. Kod 18 (24,3%) pacijenata određen je slabi *RHD* tip 3, a kod 7 (9,5%) pacijenata određen je slabi *RHD* tip 2. Slabi *RHD* tip 14 dokazan je kod 3 (4,1%) pacijenta. Parcijalni D kategorije VI tip 2 dokazan je kod 1 (1,4%). Kod 1 (1,4%) pacijenta, navedenim komercijalnim kitovima nije se mogla odrediti RhD varijanta. Prosječno vrijeme od zaprimanja uputnice za krvnu grupu do izdavanja nalaza iznosilo je 2,65 dana (medijan 1; raspon 0 – 20) dana. Prosječno vrijeme potrebno za genotipizaciju od trenutka zaprimanja uputnice za krvnu grupu je 2,04 dana (medijan 1; raspon 0 – 20). Vrijeme potrebno za genotipizaciju od zaprimanja uputnice za dodatno imunohematološko ispitivanje iznosilo je 1,83 dana (medijan 0,5; raspon 0 – 20) dana. Prosječni vremenski period od genotipizacije do izdanog nalaza iznosio je 0,65 dana (medijan 0; raspon 0 – 7). Transfuzijsko liječenje sa RhD negativnim eritrocitnim pripravcima kroz navedeno ispitivano razdoblje primilo je dvoje pacijenata (2,7%).

**Zaključak:** Molekularna dijagnostika može znatno produžiti vrijeme izdavanja nalaza krvne grupe zbog same kompleksnosti izvedbe testa, zbog čega navedene pacijente u pojedinim situacijama treba liječiti RhD negativnim eritrocitnim pripravcima.

## UČESTALOST ANTITROMBOCITNIH PROTUTIJELA KOD PACIJENATA UPUĆENIH NA IMUNOHEMATOLOŠKU OBRADU U KBC-U ZAGREB U RAZDOBLJU OD GODINE DANA

MARIĆ J.<sup>1</sup>, Ćorluka I.<sup>1</sup>

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

• Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Antitrombocitna protutijela određuju se kod pacijenata kada postoji sumnja na imunu trombocitopeniju. Uzroci trombocitopenije (trombociti  $<150 \times 10^9/L$ ) mogu biti smanjena proizvodnja trombocita ili njihova povećana razgradnja, a bolest može biti asimptomatska ili se manifestira povećanom sklonošću za krvarenja u kožu, sluznice i/ili organe. Trombocitopenija može biti primarna ili sekundarna, povezana s drugim stanjima i bolestima, a može nastati i zbog primjene određenih lijekova. Laboratorijska dijagnostika uključuje određivanje slobodnih i vezanih antitrombocitnih protutijela.

**Cilj:** Cilj ovog rada je prikazati učestalost pozitivnih vezanih i slobodnih antitrombocitnih protutijela kod pacijenata kojima je tražena imunohematološka obrada antitrombocitnih protutijela.

**Metode:** U razdoblju od godine dana (ožujak 2020.–ožujak 2021.) u Odjelu za transfuzijsku medicinu Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb testirano je 316 uzoraka odraslih pacijenata kojima je tražena imunohematološka obrada antitrombocitnih protutijela.

Imunohematološko ispitivanje uključivalo je određivanje vezanih antitrombocitnih protutijela na protočnom citometru BD FACSCanto II metodom imunofluorescencije koja omogućuje razlikovanje protutijela razreda IgG i IgM. Slobodna antitrombocitna protutijela određena su na fluoroanalizatoru Luminex metodom na mikrosferama (Xmap, eng. Multi-analyte profiling beads) koja omogućuje dokazivanje slobodnih antitrombocitnih protutijela.

Učestalost protutijela prikazana je prema dobnim skupinama pacijenata te prema odjelima odakle su zahtjevi upućeni na imunohematološku obradu. Rezultati su prikazani kao postotak ili udio pozitivnih rezultata, ovisno o broju pacijenata u pojedinim skupinama.

**Rezultati:** Od 316 pacijenata upućenih na imunohematološku obradu antitrombocitnih protutijela najviše je zahtjeva bilo za bolničke pacijente s Interne klinike (30%) naročito s odjela hematologije (7%) zatim za pacijente koji se ne liječe na KBC-u (28%) i pacijente dnevne hematološke bolnice (19%).

Od svih upućenih zahtjeva 42% bilo je pozitivno. Analizom protutijela na protočnom citometru, pozitivnih vezanih je bilo 29% uzoraka, a najviše pacijenata ima pozitivna vezana IgG+IgM protutijela (41/91), dok kod određivanja slobodnih protutijela najviše pacijenata ima polispecifična protutijela na glikoprotein (GP) IIb/IIIa (16/59) i na GP Ia/IIa (9/59). Uz antitrombocitna protutijela Luminex metodom otkrivena su i 28/59 pozitivna pacijenata na anti-HLA protutijela, koja se također određuju u sklopu imunohematološke obrade antitrombocitnih protutijela.

Podjelom pacijenata po dobi, najviše ispitivanih pacijenata je između 60 i 79 godina, a postotak/udio pozitivnih uzoraka u svim skupinama podjednak.

**Zaključak:** Imunohematološkim ispitivanjem antitrombocitnih protutijela utvrđeno je da su u ispitivanoj populaciji najučestalija protutijela na GPIIb/IIIa i protutijela na HLA-I. Podjelom pacijenata po dobi, između grupa nema razlike u pozitivnim rezultatima antitrombocitnih protutijela (u svim skupinama približno isti postotak pozitivnih nalaza).

## ZNAČAJNOST SPECIFIČNOSTI PROTUTIJELA U HEMOLITIČKOJ BOLESTI FETUSA I NOVOROĐENČETA (HDFN)

TUMPAK M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KBC Zagreb

• Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

**Uvod:** Hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HDFN) imunološki je posredovana bolest do koje dolazi uslijed nepodudarnosti majčinih i djetetovih eritrocitnih antigena. Tijekom trudnoće i poroda dolazi do fetomateralnog krvarenja. Majčin imunološki sustav aktivira se potaknut eritrocitnim antigenima djeteta naslijeđenim od oca koja prepoznaje kao strane te počinje stvarati protutijela koja su usmjerena na djetetove eritrocite. Naj-



češći uzrok HDFN je ABO ili RhD nepodudarnost između majke i djeteta, no bolest mogu uzrokovati i protutijela iz drugih sustava krvnih grupa, ukoliko je majka aloimunizirana ranijim trudnoćama, pobačajima ili transfuzijama. Pretraživanje antieritrocitnih protutijela kod majke provodi se indirektnim antiglobulinskim testom (IAT) tijekom trudnoće. Kod novorođenčadi, direktni antiglobulinski test (DAT) je prva pretraga nakon poroda koja može upozoriti na razvoj HDFN. Zbog hemolize eritrocita može doći do anemije i hiperbilirubinemije koja se očituje žuticom, a u težim oblicima bolesti može doći do fetalnog hidropsa ili smrti. Liječenje HDFN provodi se fototerapijom, intrauterinom transfuzijom, eksangvinotransfuzijom ili transfuzijama koncentratom eritrocita.

**Cilj:** Cilj ovog rada bio je ispitati učestalost i specifičnost protutijela koja mogu dovesti do razvoja HDFN.

**Metode:** Ovo retrospektivno istraživanje uključivalo je novorođenčad koja su zbog sumnje na HDFN upućena na imunoematološku (IH) obradu u KBC Zagreb kroz razdoblje 01.06.2018. – 30.06.2021. Podaci su analizirani iz transfuzijskog informacijskog sustava Hemo Tools. Ispitivanje je obuhvaćalo određivanje krvne grupe i DAT-a metodom aglutinacije u mikrostupcu i IAT-a s 0.8% test eritrocitima Surgiscreen (Ortho) na uređaju za automatsko ispitivanje Vision (Ortho). U slučaju pozitivnih rezultata DAT-a i IAT-a provodilo se dodatno testiranje koje je uključivalo određivanje specifičnosti antieritrocitnih protutijela s 0.8% test eritrocitima, Panel C (Ortho), kemijsku eluciju komercijalnim kitom Gamma ELU-KIT II (Immucor) i određivanje eritrocitnih antigena monoklonskim serumima (Ortho) aglutinacijom u epruveti.

**Rezultati:** U promatranom razdoblju analizirano je 160 uzoraka novorođenčadi koja su poslana na IH obradu HDFN. Ispitivanjem su otkrivena 138 (86.25%) pozitivna i 22 (13.75%) negativna DAT-a. Od 160 novorođenčadi, HDFN je otkrivena kod njih 150 (93,75%). Od 10 (6,25%) novorođenčadi koja nije razvila HDFN, kod njih 8 (80%) uzrok pozitivnog DAT-a bili su lijekovi, a u dva (20%) slučaja radilo se o pasivnom prijenosu protutijela, u prvom slučaju o anti-E protutijelu prenešenom putem transfuzijskog liječenja, a u drugom o anti-D protutijelu prenešenom nakon terapije intravenoznim imunoglobulinima (IVIG). Najčešći uzrok HDFN bila je ABO nepodudarnost sa 124 (82,67%) slučaja, slijede ju RhD nepodudarnost s 14 (9,33%) slučaja dok su ostala protutijela uzrokovala 12 (8,00%) slučaja HDFN, među kojima po 4 (2,67%) slučaja anti-K i anti-c specifičnosti. Gestacijska dob ispitivane novorođenčadi s HDFN bila je 26+6 do 41+4 tjedana, s porođajnom težinom između 690–4450g. Kod 46 (28,75%) djece stanje je zahtijevalo transfuzijsko liječenje ili primjenu IVIG-a: 33 (20,63%) je transfundirano krvnim pripravcima, a 13 (8,13%) liječeno IVIG-om.

**Zaključak:** ABO nepodudarnost većinom izaziva blagu HDFN, a specifična protutijela Rhesus i Kell sustava krvnih grupa, anti-D, anti-c i anti-K, mogu dovesti do teške kliničke slike. Analizom podataka dolazimo do zaključka kako su u trogodišnjem razdoblju na KBC-u Zagreb dijagnosticirana i liječena novorođenčad s težom kliničkom slikom HDFN. Pravovremenim otkrićem specifičnih antieritrocitnih protutijela kod trudnice i uspješnim mjerama prevencije i liječenja moguće je smanjiti neželjene ishode HDFN.

## ULOGA TEHNIČARA I PRVOSTUPNIKA MEDICINSKO-LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U ANALIZI REZULTATA UNUTARNJE KONTROLE KVALITETE (UKK) U LABORATORIJU ZA HEMOSTAZU HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU

ČEHULIĆ M.<sup>1</sup>, Popov A.<sup>1</sup>, Očić T.<sup>2</sup>, Kovačević M.<sup>1</sup>, Kajfeš M.<sup>1</sup>, Tomičić M.<sup>1</sup>

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

• Odjel za dijagnostiku trombocita i leukocita i hemostazu

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

• Odjel za informatiku

**Uvod:** Osiguranje kvalitete rezultata laboratorijskog ispitivanja provodi se uspostavom sustava unutarnje i vanjske kontrole kvalitete testiranja. Vanjska kontrola kvalitete (VKK) provodi se sudjelovanjem u nacionalnim i/ili međunarodnim kontrolama kvalitete. Unutarnja kontrola kvalitete (UKK) radi se svakodnevno prije izvođenja testova, s kontrolnim uzorcima plazme u normalnom i patološkom rasponu. Vremenski period prikupljanja podataka UKK za analizu mora biti dovoljno dug da obuhvati dovoljan broj serija (lotova) reagensa, kalibratora, kontrolnih normalnih i patoloških uzoraka plazme, najmanje 6 do 12 mjeseci.

**Cilj:** 1. Analizirati podatke UKK za test određivanja fibrinogena za razdoblje od jedne godine.

2. Prikazati statističku analizu rezultata UKK dobivenih iz programa za kontrolu kvalitete (QC), BCS XP analizatora, izraženu kao srednja vrijednost (SV), standardna devijacija (SD) i koeficijent varijacije (KV %).

**Metode:** Kvantitativno određivanje fibrinogena (Fib) u humanoj plazmi učinjeno je metodom koagulometrije po Clauss-u, s reagensom Multifibren U, na BCS XP-Siemens analizatoru za ispitivanje hemostaze. Rezultat je izražen u g/L. Izmjereno vrijeme u sekundama, obrnuto je proporcionalno količini fibrinogena. Analizator automatski preračunava vrijeme u sekundama u g/L, na temelju kalibracijske krivulje izvedene s kalibracijskom plazmom (Fibrinogen Calibrator Kit). Kalibracijske krivulje rade se za tri razine vrijednosti fibrinogena: normalnu-Fib, nisku patološku-Fib.low i visoku patološku-Fib.high vrijednost. Kalibracijska krivulja izmjerena na 570 nm-Fib 570 koristi se za lipemičan, hemolitičan ili ikteričan uzorak.

Postupak unutarnje kontrole kvalitete (UKK) – dnevna procesna kontrola, učinjen je svaki dan prije izvođenja testova hemostaze, s kontrolnom komercijalnim normalnom plazmom (Control N) i patološkom plazmom (Control P).

Kriterij prihvatljivosti rezultata određivanja fibrinogena s reagensom Multifibren U je koeficijent varijacije (KV %) do 10 % za normalnu i patološku kontrolnu plazmu, prema proizvođaču Siemens.

**Rezultati:** U razdoblju od 25.5.2020. do 30.4.2021. godine za test određivanja Fibrinogena (g/L) s reagensom Multifibren U, na BCS XP-SIEMENS analizatoru učinjeno je 245 dnevnih procesnih kontrola s normalnom kontrolnom plazmom (Control N, 8 serija). S patološkom kontrolnom plazmom (Control P, 8 serija) učinjeno je 230 dnevnih kontrola. Za navedeno razdoblje KV rezultata određivanja fibrinogena bio je 5,03 % za normalnu kontrolnu plazmu i 3,71 % za patološku kontrolnu plazmu.

**Zaključak:** Periodičkom provjerom rezultata UKK za razdoblje od jedne godine, za test Fibrinogen (g/L), za normalni i patološki raspon mjerenja svi su rezultati bili zadovoljavajući.