Mogućnosti prikupljanja konvalescentne COVID-19 plazme u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Split

Franić, Doris

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:758164

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-16**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Doris Franić

MOGUĆNOSTI PRIKUPLJANJA KONVALESCENTNE COVID-19 PLAZME U ZAVODU ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU KBC SPLIT

Diplomski rad

Akademska godina:

2020./2021.

Mentor:

doc. dr. sc. Dejana Bogdanić

Split, listopad 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Doris Franić

MOGUĆNOSTI PRIKUPLJANJA KONVALESCENTNE COVID-19 PLAZME U ZAVODU ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU KBC SPLIT

Diplomski rad

Akademska godina:

2020./2021.

Mentor:

doc. dr. sc. Dejana Bogdanić

Split, listopad 2021.

Zahvaljujem od srca svojoj dragoj mentorici doc.dr.sc. Dejani Bogdanić na pristupačnosti, pomoći, savjetima i svemu što je učinila za mene.

Beskrajno hvala mojoj obitelji bez čije ljubavi i podrške ovo ne bi bilo moguće.

Hvala svim mojim prijateljima i kolegama što mi svaki dan pokazuju koliko sam sretna što ih imam.

Sadržaj

1. UVOD 1
1.1. Transfuzijska medicina 2
1.2. Krvni pripravci 2
1.2.1. Koncentrati eritrocita 2
1.2.2. Koncentrati trombocita 3
1.2.3. Svježe smrznuta plazma 4
1.2.4. Krioprecipitat 4
1.2.5. Granulociti 4
1.3. COVID-19 5
1.3.1. Etiologija 5
1.3.2. Epidemiologija 5
1.3.3. Patofiziologija 6
1.3.4. Rizični čimbenici 7
1.3.5. Klinička slika i dijagnoza 8
1.3.6. Liječenje 10
1.4. Rekonvalescentna COVID-19 plazma 11
1.4.1. Ciljevi, opseg i dodana vrijednost EU 12
1.4.2. Odobrenje sakupljanja, ispitivanja, obrade, skladištenja i distribucije rekonvalescentne plazme 12
1.4.3. Kvalificiranost donora 12
1.4.4. Sakupljanje, obrada i skladištenje plazme 13
1.4.5. Ispitivanje donirane plazme 14
1.4.6. Distribucija rekonvalescentne plazme 15
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA 18
3. ISPITANICI I METODE 20
3.1. Ispitanici 21
3.2. Ustroj istraživanja 21

3.3. Metode istraživanja 21
3.4. Statistička analiza 21
4. REZULTATI 23
5. RASPRAVA 29
6. ZAKLJUČCI 32
7. LITERATURA 34
8. SAŽETAK 42
9. SUMMARY 45
10. ŽIVOTOPIS 48

1. UVOD

1.1. Transfuzijska medicina

Transfuzijska medicina bavi se uzimanjem krvi od dobrovoljnih darivatelja krvi, testiranjem, proizvodnjom i čuvanjem krvnih pripravaka te s druge strane prijetransfuzijskim ispitivanjem i praćenjem učinkovitosti transfuzijskog liječenja kao i komplikacijama transfuzijskog liječenja (1).

1.2. Krvni pripravci

Veliki napredak u području transfuzijske medicine bio je razvitak proizvodnje i terapije pojedinim krvnim pripravcima. Rijetko kada je pacijentima potrebna transfuzija pune krvi osim u slučaju masivnih krvarenja i traume. Danas je osnovno načelo transfuzijskog liječenja – ciljano transfuzijsko liječenje onim krvnim komponentama koje nedostaju bolesniku. U krvne pripravke spadaju koncentrati eritrocita, koncentrati trombocita, plazma i krioprecipitat kao i njihove modifikacije (2).

Kako različite komponente krvi imaju različitu relativnu gustoću i specifičnu težinu, mogu se razdvojiti centrifugiranjem. Krvne komponente strane bolesniku mogu izazvati štetne učinke u rasponu od blagih alergijskih do fatalnih reakcija, stoga se krvni pripravci modificiraju i proizvode kao leukoreducirani, ozračeni, smanjenog volumena, oprani u fiziološkoj otopini ili uz pomoć tehnike inaktivacije patogena (3).

Afereza je postupak dobivanja jedne ili više krvnih komponenti strojnim uzimanjem pune krvi, centrifugiranjem i odvajanjem ciljne komponente te vraćanjem preostalih komponenti tijekom ili po završetku postupka (4). Ovim se postupkom može odvajati i skupljati ciljana specifična komponenta krvi ili se uklanjati štetna komponenta (5).

1.2.1. Koncentrati eritrocita

Koncentrat eritrocita najčešći je korišteni krvni pripravak. Eritrociti osiguravaju transport kisika krvlju u anemičnih pacijenata ili pacijenata koji krvare (6). Koncentrat eritrocita mora biti ABO podudaran s krvnom grupom primatelja. Sadrži jednaku količinu

hemoglobina kao i puna krv, a vrijednost hematokrita je 70% (7). Rok upotrebe iznosi od 28-35 dana, a čuvaju se na temperaturi od 2-6°C (6).

Eritrocitni pripravak sa smanjenim brojem leukocita proizvodi se postupkom filtracije kroz leukocitni filter. Preporuča se filtriranje prije pohrane unutar 48 sati nakon donacije krvi, obzirom da dolazi do raspadanja leukocita. Oprane koncentrate eritrocita dobivamo višestrukim pranjem koncentrata eritrocita fiziološkom ili hranjivom otopinom (1). Oprani koncentrati eritrociti su pripravci iz kojih su uklonjeni proteini plazme. Primjenjuje se samo ukoliko kod pacijenta postoji preosjetljivosti na proteine plazme, odnosno ako su pacijenti imali teške alergijske reakcije kod transfuzije krvnih pripravaka. Odluka o liječenju eritrocitnim pripravcima je složena jer ovisi o više čimbenika. Najvažniji su klinički simptomi, laboratorijski nalazi te planirani operacijski zahvati za svakog pojedinog bolesnika. Cilj liječenja nije podizanje hemoglobina na normalnu razinu, već podizanje na onu razinu koja će ukloniti simptome anemije. Indikacija za transfuzijsko liječenje kod akutne anemije je koncentracija hemoglobina (8).

1.2.2. Koncentrati trombocita

Koncentrati trombocita proizvode se centrifugiranjem i izdvajanjem trombocita iz donacije pune krvi ili postupkom trombafereze. Iz donacije pune krvi proizvodi se jedna jedinica koncentrata trombocita, dok se postupkom trombafereze od jedne osobe dobije 6-8 jedinica koncentrata trombocita. Koncentrati trombocita se čuvaju na temperaturi od 22°C ± 2°C do 5 dana. Tijekom skladištenja protresanje trombocita mora biti dostatno kako bi se osigurala dostupnost kisika, ali i dovoljno blago kako bi se spriječilo njihovo oštećenje tijekom skladištenja (9).

Treći uzrok smrti povezanih s transfuzijskim liječenjem je bakterijska kontaminacija uzrokovana primjenom koncentrata trombocita. Razvitak vrućice unutar 6 sati u pacijenta koji je primio transfuziju trombocita treba pobuditi sumnju na sepsu. U prilog mogućoj kontaminaciji ide činjenica čuvanja trombocita na sobnoj temperaturi (7).

1.2.3. Svježe smrznuta plazma

Svježe smrznuta plazma je pripravak proizveden iz donacije pune krvi ili postupkom plazmafereze. Svježe smrznuta plazma mora biti odvojena od krvi unutar 6 sati od donacije krvi, zatim zamrznuta i pohranjena na temperaturi od -25°C ili nižoj (1). Sastoji se od vode, elektrolita, lipida, ugljikohidrata i proteina. Obzirom da se najčešće daje za prevenciju i liječenje krvarenja, treba biti održana koncentracija svih faktora zgrušavanja, ali drugih sastojaka plazme. Ukoliko je pohranjena na -25°C rok trajanja iznosi 12 mjeseci, a ako se pohrani na temperaturi od -65°C rok trajanja može iznositi i do 7 godina (10).

1.2.4. Krioprecipitat

Krioprecipitat se pripravlja polaganim topljenjem svježe smrznute plazme na temperaturu od 4°C. Bogat je faktorom VIII i fibrinogenom, a sadrži i von Willebrandov faktor i fibronektin dok su ostali proteini plazme prisutni samo u tragovima (6). Uglavnom se upotrebljava kao koncentrirani niskovolumni pripravak za nadoknadu fibrinogena kod hipofibrinogenemije, kod von Willebrandove bolesti kada na raspolaganju nema specifičnog koncentrata vWF, u liječenju bolesnika sa stečenim i nasljednim manjkom faktora zgrušavanja, kod manjka faktora VIII kada na raspolaganju nema specifičnog koncentrata faktora VIII te pri masivnim transfuzijama (11).

1.2.5. Granulociti

Transfuzija granulocita primjenjuje se rijetko i to u bolesnika s dokazanom životno ugrožavajućom bakterijskom ili gljivičnom infekcijom te neutropenijom. Uglavnom se primjenjuju u bolesnika nakon citotoksične kemoterapije. Koncentrat se pripravlja leukaferezom i skladišti na temperaturi 20-24°C te se mora upotrijebiti u roku od 24 sata. Zbog određene količine ostatnih eritrocita pripravci granulocita moraju biti ABO i RhD podudarni s primateljem. Prije transfuzije se ozrače kako bi se spriječila reakcija presatka protiv primatelja (6).

1.3. COVID-19

1.3.1. Etiologija

Koronavirusi su pozitivni jednolančani RNA virusi koji imaju proteinski omotač. Promjera su 60–140 nm, a karakteriziraju ih šiljaste projekcije proteina na površini, koje pod elektronskim mikroskopom izgledaju kao kruna (lat. coronam) pa otuda i naziv koronavirusi (12).

Postoje četiri podobitelji koronavirusa: alfa, beta, gama i delta. Alfa i beta koronavirusi naočigled potječu od sisavaca, posebno od šišmiša, a gama i delta-virusi uglavnom potječu od svinja i ptica. Među sedam podtipova koronavirusa koji su u stanju zaraziti ljude, beta-koronavirusi mogu izazvati ozbiljne bolesti i smrtne slučajeve, dok alfakoronavirusi uzrokuju asimptomatske ili blago simptomatske infekcije. SARS-CoV-2 pripada B liniji beta-koronavirusa i usko je povezan sa virusom SARS-CoV (13). Unatoč tome što je porijeklo SARS-CoV-2 trenutno nepoznato, naveliko se pretpostavlja da potječe od životinje čime se implicira zoonotski prijenos. Napravljene genomske analize sugeriraju da je SARS-CoV-2 najvjerojatnije nastao iz soja pronađenog kod šišmiša. Genomska usporedba između ljudske sekvence SARS-CoV-2 i poznatih životinjskih koronavirusa, doista je otkrila visoku podudarnost (96%) između SARS-CoV-2 i betaCoV RaTG13 šišmiša (lat. Rhinolophus affinis) (14).

1.3.2. Epidemiologija

Virus SARS-CoV-2 uzročnik je koronavirusne bolesti 2019 (COVID-19). Prvi slučaj COVID-19, Kineske vlasti su prijavile WHO-u 31.12.2019. godine. Radilo se o pacijentu u gradu Wuhanu, u Hubei provinciji (15). No unatoč tome, naknadnim uvidom utvrđeno je da je prvi oboljeli pacijent u Wuhanu hospitaliziran 17.11.2019. godine (12). Nakon početnog izvješća iz Kine, bolest se brzo širila, a broj slučajeva se pri tome eksponencijalno povećavao. Prvi slučaj izvan kontinentalne Kine, zabilježen je na Tajlandu 11.1.2020, a unutar nekoliko mjeseci bolest se proširila na sve kontinente, osim na Antarktiku. Konačno, 11.3.2020. od strane WHO-a, bolest COVID-19 je proglašena pandemijom (16).

Do dana 17.9.2021. godine, ovom zaraznom bolesti je zaraženo 227.909.513 osoba s 4.685.679 smrtnih slučajeva širom svijeta. U Hrvatskoj je do 17.9.2021. godine zaraženo 389.654 osoba, od čega je 8.481 osoba preminulo (17).

1.3.3. Patofiziologija

Prijenos infekcije COVID-19 uglavnom se odvija s osobe na osobu putem respiratornih kapljica. Mogući je i prijenos oralno- fekalnim putem. Prisutnost samog virusa potvrđena je u ispljuvku, brisevima ždrijela i fekalijama, a prijavljen je i vertikalni prijenos SARS-CoV-2, odnosno prijenos s majke na dijete tijekom trudnoće ili poroda (18).

Gornji dišni sustav glavno je mjesto ulaska virusa SARS-CoV-2. U ranoj fazi infekcije, cilj SARS-CoV-2 su epitelne stanice bronha i nosa te pneumociti (19). To izaziva virusni upalni odgovor koji aktivira urođeni i stečeni imunološki sustav (koji obuhvaća humoralni i stanični imunitet). U kasnijim fazama infekcija može progredirati prema hiperinflamaciji u plućima. Tada produženi upalni odgovor zbog ubrzane replikacije virusa dovodi do narušavanja integriteta endotelne barijere i infekcije endotelnih stanica plućnih kapilara. To dovodi do respiratorne insuficijencije, a u težim slučajevima i do ispunjavanje alveolarnih prostora plućni edemom s formiranjem hijalinih membrana te nastanku ARDS-a (18).

Ovo negativno napredovanje gotovo uvijek je popraćeno nereguliranim lokalnim i sustavnim imunološkim odgovorom, koji uključuje pojačanu cirkulaciju i plućnu infiltraciju stanica mijeloidne loze, pogotovo monocita, makrofaga i neutrofila (20).

Utvrđeno je da SARS-CoV-2 ulazi u stanice domaćina putem S proteina (engl. spike protein) koji se veže za enzim ACE2 čime je omogućena internalizacija virusa (19). S protein je najznačajniji za patogenezu jer se unutar njegove S1 podjedinice nalazi RBD (engl. *receptor binding domain*), dio odgovoran za vezanje za stanice „domaćina“ te S2 podjedinica odgovorna za fuziju virusne i stanične membrane. Strukturnom i funkcionalnom analizom pokazano je da se S protein SARS-CoV-2 virusa veže na angiotenzin konvertirajući enzim 2 (ACE2), što bi značilo da sve stanice ljudskog organizma koje imaju na staničnoj memebrani transmembranski protein ACE2 potencijalno mogu biti „domaćin“ novom koronavirusu (14). ACE2 dominantno se nalazi na epitelnim stanicama plućnih alveola i tankog crijeva. Dodatno, ACE2 prisutan je i na vaskularnim endotelnim stanicama, glatkom mišiću, bubrezima, epidermisu kože te oralnoj i nazalnoj sluznici (21). Nakon vezanja RBD SARS-CoV-2 virusa

na ACE2, aktiviraju se humane proteaze (proteaza stanične membrane-TMPRSS2 i lizosomalna proteaza katepsin) koje omogućuju ulazak virusa u stanicu (22). Nakon ulaska u stanice i biosinteze virusnih proteina, slijedi replikacija virusa te masovna apoptoza stanica domaćina praćena otpuštanjem novonastalih kopija. Posljedično tome, dolazi do otpuštanja pro-inflamatornih citokina koji dovode do vazodilatacije i povećane kapilarne permeabilnosti uzrokujući intersticijski i alveolarni edem. Zbog oštećenja i „curenja" pneumocita tipa II smanjena je razina surfaktanta, a samim time površinska napetost je povišena. Dolazi do kolapsa alveola što remeti izmjenu plinova (hipoksemija) i povećanog rada dišne muskulature. Upalni medijatori potiču otpuštanje neutrofila, koji potom otpuštaju kisikove radikale, hidrolaze i proteaze u svrhu razgradnje stanica od interesa (23).

Epidemiološki podaci govore u prilog činjenici da je ACE2 ekspresija u mlađih odraslih osoba povećana u odnosu na stariju populaciju (24). Težina virusne infekcije usko je povezana sa stupnjem zrelosti i kapacitetom vezanja ACE2 jer je pokazano da bitnu ulogu u patogenezi plućnog zatajenja čini degradacija angiotenzina II putem vezanja za ACE2 (25). ACE2 razgradnjom Ang II smanjuje njegove potencijalno štetne učinke (smanjena dostupnost NO, zadržavanje vode i natrija, oksidativni stres) i tako održava ravnotežu između dvije osovine: ACE2/Ang(1-7)/Mas receptor i ACE/Ang II/AT1R (26,27). ACE2 također svojim djelovanjem smanjuje ekspresiju makrofaga, a kako SARS-CoV-2 smanjuje ekspresiju ACE2 time potiče njihovu ekspresiju (28,29). Štoviše, simptomi SARS-CoV-2 infekcije poput perzistentnog febriliteta, višestrukog zatajenja organa te obrasca citokinske aktivnosti podudaraju se sa simptomima sindroma MAS (engl. *Macrophage Activation Syndrome*) (30).

1.3.4. Rizični čimbenici

Jedan od najznačajnijih faktora rizika je svakako starija životna dob. Infekcija virusom SARS-CoV-2 rjeđa je u ljudi mlađih od 14 godina i često je asimptomatska. Također, starenje nepovoljno utječe na funkciju pluća i odgađa aktiviranje stečenog imunološkog sustava što rezultira povećanom replikacijom virusa. Nadalje, smatra se da su infekciji sa SARS-CoV-2 podložniji muškarci. Estradiol, koji je prisutan u visokoj koncentraciji u žena, djelovanjem na proteine koji su izraženi u plućima i povećava mjeru udjela topljivog ACE2, blokira ulaz SARS-CoV-2 u stanice (31). Postojeći komorbiditeti nerijetko doprinose težini i konačnom ishodu bolesti. Najveći utjecaj na samu težinu bolesti ima KOPB i druge bolesti koje

zahvaćaju respiracijski sustav. Od ostalih najrelevantniji su hipertenzija, dijabetes, kronična bubrežna bolest, kardiovaskularne bolesti, cerebrovaskularna bolest i maligne bolesti (32). Boravak u zatvorenim prostorijama te obavljanje djelatnosti koje su često u kontaktu s oboljelim od SARS-CoV-2 poput zdravstvenih djelatnika također povećavaju rizik oboljenja od COVID-19 (31).

Za bolest koja primarno zahvaća pluća, za očekivati je da će štetne životne navike kao pušenje te postojeće plućne bolesti povećati rizik za razvoj ozbiljnijih simptoma. Ipak, ni kronične plućne bolesti, a pogotovo pušenje, ne navode se kao značajni rizični čimbenik za razvoj i lošiji tijek SARS-CoV-2 infekcije (33).

1.3.5. Klinička slika i dijagnoza

Najčešći simptomi COVID-19 infekcije su povišena temperatura, zimica, grlobolja, šmrcanje, mialgije, suhi kašalj, kratkoća daha, gubitak okusa i mirisa. Teži oblik s pneumonijom razvija se u 10–15% oboljelih, dok 5% bolesnika bude kritično bolesno i zahtjeva liječenje u jedinicama intenzivne medicine (34). Iako manje zastupljena, klinička slika COVID-19 infekcije u dijela ispitanika prezentirana je gastrointestinalnim (anoreksija 10,2%, dijareja 4%, mučnina 8,4%) i hepatalnim (smanjenje serumske razine albumina 39,8%, AST elevacija 22,8%, ALT elevacija 20,6%) simptomima. Prisutnost izvanrespiratornih simptoma povezana je s težom kliničkom slikom COVID-19 infekcije (35). Također je primijećeno da tijekom bolesti COVID-19 postoji povećani rizik za nastanak arterijske i venske tromboze zbog upalne aktivacije koagulacijskih mehanizama, hipoksije, imobilizacije te se opisuju slučajevi plućne embolije, duboke venske tromboze, cerebrovaskularnih incidenata i infarkta miokarda u bolesnika hospitaliziranih zbog COVID-19, pogotovo među bolesnicima u jedinicama intenzivne medicine (36).

Smatra se da je u 80% zaraženih koji su pokazali umjerene simptome infekcije ili su bili asimptomatski, prirođeni imunološki odgovor dovoljno brzo i efikasno reagirao omogućivši kontrolu tijeka infekcije i promptnu aktivaciju stečenog imunološkog odgovora (37,38). U starijoj populaciji ili u ljudi s lošim imunitetom zbog određene pridružene bolesti, imunološki sustav je kompromitiran i zbog toga je imunološki odgovor odgođen (39). Sporiji odgovor omogućuje virusu više vremena za replikaciju i njegovo širenje, a zbog toga dolazi do pojačanog prirođenog imunološkog odgovora – stvaranja citokina. Djelovanjem citokina

može nastati nekontrolirana upalna reakcija koja šteti više nego što koristi oštećujući neinficirane stanice i tkiva. Taj fenomen naziva se citokinska oluja, a preklapa se s kliničkim entitetom ARDS-a (engl. A*cute Respiratory Distress Syndrome*) (40).

Vrijeme inkubacije u prosjeku iznosi od 3 do 6 dana s medijanom vrijednosti oko 5 dana (41). Razdoblje od razvoja simptoma do smrtnog ishoda varira od 6 do 41 dan ovisno o dobi i imunološkom statusu pacijenta, a bolesnici stariji od 60 godina pokazuju brži razvoj COVID-19 bolesti (42,43). Infektivnost asimptomatskih osoba jednaka je infektivnosti simptomatskih (44).

Kod uporabe dijagnostičkih testova za detekciju SARS-CoV-2 virusa koristi se nukleinska kiselina i proteini virusa te antitijela razvijena zbog prisutnosti virusa u ljudskom organizmu. Detekcija nukleinske kiseline pomoću RT–PCR (engl. *real - time reverse transcription - polymerase chain reaction*) smatra se zlatnim standardom (45). S obzirom na to, prvi korak u postupku sa SARS-CoV-2 infekcijom je brza i ispravna detekcija pomoću RT-PCR, a stopa detekcije po određenim mjestima uzorkovanja je: 32-48% za bris orofarinksa, 63% za bris nazofarinksa, 79-93% za bronhoalveolarnu lavažu, 72-76% za uzorak sputuma te 29% za uzorak stolice (45,46). RT-PCR koristi početnice koje se vežu za različite dijelove virusnog genoma. Zbog novonastalih varijacija RNK sekvenci, kao i zbog neadekvatnog uzimanja brisa postoji mogućnost dobivanja lažno negativnih rezultata (47).

Serološka djagnostika jedna je od alternativa RT-PCR-u. Stvaranje protutijela primarni je imunološki odgovor organizma na SARS-CoV-2 infekciju. Neutralizirajuća protutijela unutar 7 dana od infekcije razvije do 50% zaraženih, a svi zaraženi unutar 14 dana. Razine IgM protutijela povećavaju se tijekom prvog tjedna trajanja infekcije, dosežu vrhunac nakon 2 tjedna i nakon toga njihova razina opada. IgG protutijela mogu se detektirati nakon jednog tjedna, ali ona ostaju u plazmi u visokoj koncentraciji tijekom dužeg vremena u svrhu zaštite od reinfekcije (48).

Brzi antigenski test detektira prisutnost SARS-CoV-2 virusnog antigena u uzorku respiratornog trakta zaražene osobe. Test je vrlo koristan jer ukoliko je došlo do vezivanja antigena s protutijelom koje je naslonjeno na papirnatu trakicu unutar 30 minuta vizualno će se prikazati signal kao znak nastale reakcije. Detekcija antigena moguća je samo u slučaju aktivne replikacije virusa. Shodno tome, test se može koristiti u identifikaciji novonastale ili akutne infekcije (49).

Od nespecifičnih metoda, pomoć pri dijagnozi mogu pružiti slikovne metode. Tako RTG toraksa obično pokazuje obostrane infiltrate na plućima, ali može biti i normalan u ranoj bolesti. Više osjetljiva i specifična metoda je CT koji se koristi kao dodatni test u slučaju negativnog nalaza RT-PCR testa, a uz prisutnu visoku kliničku sumnju na SARS-CoV-2 infekciju. Osim toga, CT može poslužiti u procjeni ozbiljnosti SARS-CoV-2 infekcije, a obično pokazuje infiltrate, subsegmetalne konsolidacije i zasjenjenja poput „mliječnog stakla“ (50,51).

Većina laboratorijskih nalaza COVID-19 nije specifična i često se nađe u pneumonijama. Najčešća hematološka abnormalnost je limfopenija (19). Korisni biomarkeri su CRP koji je povišen u većine te prokalcitonin koji je obično granicama normalnih vrijednosti, a njegov porast iznad tih vrijednosti označava bakterijsku koinfekciju ili teži klinički tijek same bolesti. Porast ostalih biomarkera poput d-dimera i ALT, odnosno AST sugeriraju teži klinički tijek i gori ishod (52).

1.3.6. Liječenje

Liječenje je u osnovi suportivno i simptomatsko. U hospitaliziranih bolesnika, od medikamentozne terapije, primjenjuje se kortikosteroidna terapija (npr. deksametazon 6mg, po potrebi i više, dnevno kroz 10 dana). Primjena kortikosteroida pokazala je korisnost samo u liječenju bolesnika kojima je bio potreban jedan od oblika oksigenoterapije (53). Antimalarici (hidroksiklorokin) su jedno vrijeme bili korišteni u liječenju SARS-CoV-2 infekcije, ali pošto nisu pokazali klinički značajnu korisnost u liječenju više nisu preporučeni oblik terapije (54). Antibiotik azitromicin korišten je u liječenju ne samo zbog prevencije bakterijskih koinfekcija koje su zastupljene u nešto manje od 10% oboljelih, nego i zbog svog antivirusnog i imunomodulacijskog djelovanja (55,56). Ipak, pojedine studije nisu pronašle terapeutsku korisnost nakon primjene azitromicina u ljudi kojima nije dokazana bakterijska koinfekcija te svakako treba biti svjestan da rutinska primjena antimikrobne terapije dugoročno može dovesti do povećanja bakterijske rezistencije (54,57). Primjena antivirusne terapije (remdesivir, lopinavir/ritonavir) također je akutalna, iako još nema kliničkih dokaza o njenom terapijskom učinku (54). Visoka incidencija trombotskih/tromboembolijskih incidenata povezana s prokoagulantnim stanjem (povišeni D-dimeri) dokazano je smanjena profilaktičkom primjenom antikoagulantne terapije (niskomolekularni heparin) (58,59).

Uz lijekove, hospitalizirani bolesnici zbog SARS-CoV-2 infekcije liječeni su jednim od oblika oksigenoterapije ovisno o stupnju razvoja kliničke slike. U bolesnika s perifernom saturacijom kisika (Spo2) izmjerenom pulsnim oksimetrom 94-97% primjenjivana je maska s kisikom i nosna kanila (60). U bolesnika s razinama Spo2 <94%, s kronično opstruktivnom plućnom bolesti (KOPB), s frekvencijom disanja >30 ili s perzistentnom dispnejom korištene su venturijeve maske s 40% udjelom kisika. U slučaju da se i dalje ne uspjevaju zadržati vrijednosti Spo2 >92% ili ako dispneja kontinuirano traje primijenjuje se terapija visokim protocima kiska (HFNO) (61). Pacijenti koji uz primjenu HFNO >50L/min i udjelom kisika >70% ne pokazaju zadovoljavajuće respiracijske parametre prelaze na neinvanzivnu ventilaciju (NIV) (60). U slučaju razvoja hiperkapnije (egzacerbacije KOPB-a ili plućni edem), hemodinamske nestabilnosti, višestrukog organskog zatajenja, abnormalnog mentalnog statusa ili pogoršanja Spo2 potrebno je postaviti endotrahealni tubus i započeti invanzivni način ventilacije. U pacijenata s teškim ARDS-om preporučen je pronacijski položaj 16-18 sati dnevno (62-64).

1.4. Rekonvalescentna COVID-19 plazma

Plazma prikupljena od pacijenata koji su preboljeli zarazne bolesti tijekom mnogih desetljeća, koristi se za profilaksu i/ili liječenje raznih zaraznih bolesti iako su dokazi o njezinoj učinkovitosti i sigurnosti uglavnom ograničeni na empirijska izvješća. Odnosi se kao rekonvalescentna plazma te se može koristiti za proizvodnju (hiper) imunoglobulinskih koncentrata (lijekovi dobiveni iz plazme). Kao što je istaknuto od strane WHO- ove Blood Regulators Network (65), organizirani program prikupljanja rekonvalescentne plazme ili seruma od preživjelih mogao bi pružiti potencijalno vrijedna empirijska izvješća, dok podaci o učinkovitosti i sigurnosti njezine uporabe prikupljaju se putem randomiziranih kontroliranih kliničkih ispitivanja. U svojim privremenim uputama o zalihama krvi tijekom pandemije COVID-19, objavljene u srpnju 2020. (66), WHO ponavlja da je COVID-19 rekonvalescentna plazma, kao eksperimentalna terapija, prikladna za procjenu u kliničkim studijama ili kao polazni materijal za proizvodnju eksperimentalnih hiperimunih imunoglobulina. Nadležna tijela Europske unije za krv i krvne komponente i Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) slažu se da bi plazma oporavljenih pacijenata mogla biti dragocjen resurs za podršku liječenju bolesti u randomiziranim kliničkim ispitivanjima ili kontrolnim studijama plazme transfuzijom i u razvoju lijekova dobivenih iz plazme (67).

1.4.1. Ciljevi, opseg i dodana vrijednost EU

Cilj je pokrenuti koordiniran i učinkovit pristup prikupljanja rekonvalescentne plazme u cijeloj EU, podržavajući mogućnosti liječenja akutno bolesnih pacijenata (ili pacijenata u opasnosti od akutne bolesti) plazmom u okviru opservacijskih studija, u randomiziranim slučajevima i slučajevima -kontrolirana klinička ispitivanja i za hitnu uporabu, te dugoročno, za razvoj koncentrata imunoglobulina.

1.4.2. Odobrenje sakupljanja, ispitivanja, obrade, skladištenja i distribucije rekonvalescentne plazme

EU nadležno tijelo treba odobriti krvne ustanove za darivanje, prikupljanje, obradu i testiranje, osim ako je država članica postavila strože zahtjeve ili njihovo postojeće odobrenje već pokriva te aktivnosti za bilo koju plazmu za transfuziju, uključujući rekonvalescentnu plazmu. To će omogućiti brzo stvaranje nacionalnih i EU zaliha rekonvalescentne COVID-19 plazme. Odobrenje treba navesti namjeravanu uporabu (terapeutska uporaba u odobrenom protokolu ispitivanja, kliničko ispitivanje, nadzirana upotreba pristupa ili hitna uporaba) ili kao izvorni materijal za proizvodnju specifičnih koncentrata imunoglobulina. Zahtjevi kvalitete i sigurnosti za rekonvalescentnu plazmu regulirani su nadležnim tijelom za krv i komponente krvi u državi članici (68).

1.4.3. Kvalificiranost donora

Donatori rekonvalescentne plazme mogli bi se regrutirati izravno korištenjem nacionalnih registara pacijenata zaraženih COVID-19 i oporavljenih, gdje god takvi registri postojali. Strategije dijeljenja osobnih podataka moraju biti u skladu s nacionalnim pravilima i propisima EU o zaštiti podataka. Krvne ustanove trebale bi pristupiti potencijalnim rekonvalescentnim darivateljima plazme u skladu s nacionalno dogovorenim procedurama. Kriteriji za darivanje krvi ili plazme su: prethodna dijagnoza COVID-19 dokumentirana pozitivnim RT-PCR-om ili pozitivnim testom na antigen SARS-CoV-2 ili pozitivnim testom na protutijela na SARS-CoV-2, bez obzira je li pojedinac imao simptome ili ne. Pojedinci koji nisu testirani, ali imaju jasnu povijest simptoma COVID-19 također mogu donirati. Također

treba odgoditi razdoblje od najmanje 14 dana nakon otklanjanja simptoma. Potencijalne davatelje koji nisu imali kliničke znakove bolesti treba prihvatiti na darivanje barem 14 dana nakon što laboratorijski dokazi o klirensu virusne RNA iz gornjih dišnih putova ili pozitivan test na prisutnost protutijela na SARS-CoV-2. Primatelji cjepiva protiv COVID-19 koji nikada nisu bili zaraženi COVID-19 ne zadovoljavaju definiciju "rekonvalescentnih" davatelja plazme. S obzirom na sve veći broj odobrenih cjepiva i postojanje varijanti virusa koje mogu izbjeći neutraliziranje, poželjno je osigurati da rekonvalescentna plazma prikupljena od donatora sadrži antitijela izravno povezana s njihovim imunološkim odgovorom na infekciju virusom SARS-CoV-2 koja je prevladavajuća u lokalnoj populaciji. Međutim, cijepljene osobe mogu donirati standardnu plazmu. Ako se pokaže da ta plazma sadrži SARS-CoV-2 koji neutralizira visoki titar antitijela, krvne ustanove mogu razmotriti ponovno imenovanje za kliničku uporabu kao ekvivalent rekovalescentnoj plazmi. Prihvatljivi davatelji rekonvalescentne plazme koji su primili cjepivo protiv COVID-19 nakon oporavka od bolesti mogu donirati. Donatori bez povijesti transfuzije krvi, donorice koje nikada nisu bile trudne ili koje su testirane i utvrđeno je da su negativne na anti-HLA antitijela pomoću potvrđenog testa, smatraju se podobnim. Poznato je da akutna ozljeda pluća povezana s transfuzijom može biti potaknuta protutijelom protiv HLA i HNA antigena te vrlo nisku učestalost anti-HNA antitijela u populaciji davatelja krvi. Prisutni su uglavnom kod žena s poviješću trudnoće, obično zajedno s anti-HLA antitijelima. Stoga će odgađanje anti-HLA pozitivnih donatora također isključiti većinu pozitivnih na anti-HNA antitijela. Na temelju lokalne procjene rizika, krvne ustanove mogle bi razmotriti uključivanje provjere protutijela na HNA (69-71).

1.4.4. Sakupljanje, obrada i skladištenje plazme

U idealnom slučaju, davatelji će donirati plazmu plazmaferezom, ali tamo gdje to nije moguće, može se prikupiti i cijela krv, uz odvajanje plazme u krvi. Treba slijediti standardni postupak davanja, uključujući intervale među donacijama koji se obično primjenjuju za one koji doniraju više puta. Plazmu za transfuziju dobivenu plazmaferezom treba podijeliti prije smrzavanja na manje uzorke od najmanje 200 ml po jedinici. Finalni proizvodi namijenjeni transfuziji kao rekonvalescentna plazma ili za proizvodnju imunoglobulinskog proizvoda COVID-19 trebaju biti posebno označeni kao rekonvalescentna plazma/krv (ili slično) COVID-19. Treba primijeniti obradu koja se rutinski primjenjuje u zemlji ili krvnom zavodu

za pripremu plazme za transfuziju. Stoga bi se smanjenje patogena trebalo primijeniti ako je to bila uobičajena praksa u krvnom zavodu i ne bi se trebalo uvoditi za ovu određenu komponentu krvi ako se obično ne primjenjuje za plazmu za transfuziju. Rekonvalescentnoj plazmi treba dati isti rok trajanja kao i standardnoj plazmi koja je obrađena na isti način (72-74).

1.4.5. Ispitivanje donirane plazme

Protutijela na SARS-CoV-2 trebaju se mjeriti u uzorku dobivenom od davatelja prije ili tijekom davanja, ili iz donirane plazme nakon davanja ili nakon svih koraka obrade, kada se primjenjuje smanjenje patogena. Volumen uzorka trebao bi biti dovoljan za ponavljanje ispitivanja. Test neutraliziranja virusa ili test vezivanja antitijela mogu se koristiti za izravno ili neizravno određivanje in vitro titra neutralizirajućih antitijela u doniranoj plazmi. Najčešće korištene metode za otkrivanje anti-SARS-CoV-2 Ig su imunosorbentni testovi, kao što su enzimski imunosorbentni testovi (ELISA) (72-74).

Studije su pokazale da titar anti-Spike proteinskih IgG antitijela (anti-spike ektodomain (ECD) i domena vezanja za receptore (RBD)) dobro koreliraju s titrom antitijela koja neutraliziraju virus in vitro. Plazmu s nepoznatim titrom neutralizirajućih antitijela ili titrom ispod definiranog praga prema protokolu pojedine ustanove ne treba koristiti u terapijske svrhe COVID-19 i treba ih staviti na raspolaganje za drugu standardnu uporabu kao što je transfuzija ili frakcioniranje (75).

Validacija metoda određivanja titra neutralizirajućih protutijela SARS-CoV-2 IgG u dobrovoljnih davatelja krvi provodila se međusobnom suradnjom Kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split, Zavoda za transfuzijsku medicinu KBC-a Split te Centra za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji u Zagrebu. Potrebno je bilo utvrditi točnost i pouzdanost testa MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG protutijela u cilju određivanja titra neutralizirajućih IgG protutijela SARS-CoV-2 te usporedba s rezultatima testa neutralizacije u svrhu korštenja COVID- 19 plazme. U procesu validacije testiran je 21 uzorak dobrovoljnih davatelja krvi (DDK) prikupljen u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split pri čemu je korišten uzorak „pune krvi“. DDK preboljeli su COVID- 19, a krv su mogli darovati 28 dana nakon prestanka simptoma bolesti. U Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu prikupljeno je 10 uzoraka DDK koji su također testirani u procesu validacije. Sveukupno je 31 uzorak poslan Centru za istraživanje i prijenos znanja u

biotehnologiji u Zagreb i Kliničkom zavodu za mikribiologiju i parazitologiju KBC-a Split za određivanje neutralizirajućih protutijela IgG SARS-CoV-2. Nakon obrade svih uzoraka DDK koji su bili na raspolaganju (iz Splita i Zagreba) i usporedbom rezultata dobivenih dvjema metodama (test neutralizacije te MAGLUMI test), analize ukazuju da rezultati testa neutralizacije lijepo koreliraju s MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG kemiluminiscentnom (CLIA) metodom te da je odnos među rezultatima opisan logaritamskom krivuljom. Plazme čiji rezultat iznosi ≥ 10.05 AU/ml smatraju se da imaju neutralizirajući učinak i da se mogu koristiti kao COVID-19 rekonvalescentna plazma, a plazme čiji reultat iznosi 1-10.04 AU/ml smatraju se pozitivnim, ali nisu dovoljne za proizvodnju COVID-19 plazme dok je granična vrijednost 1 AU/ml. Budući da je rekonvalescentna plazma DDK s neutralizirajućim razinama specifičnih IgG protutijela pokazala učinkovitost u liječenju pacijenata s bolešću uzrokovanom COVID-19, ukazala se potreba za validacijom ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant testa koji je namijenjen za kvalitativnu i kvantitativnu detekciju protutijela IgG, uključujući neutralizirajuća protutijela, na domenu vezanja receptora (RBD) S- proteina virusa. Na Zavodu za transfuzijsku medicinu obavljeno je testiranje 21-og istovjetnog uzorka DDK pri čemu su korišteni uzorci „pune krvi“. Na uzorcima su provedene tri metode testiranja: metoda neutralizacije u Centru za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji u Zagrebu, metoda Maglumi određivanja titra neutralizirajućih protutijela IgG SARS- Co-2 S- RBD pri Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split te metoda ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant test na Zavodu za transfuzijsu medicinu KBC-a Split. Plazme čiji rezultat u metodi ispitivanja ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant test, iznose ≥ 840 AU/ml smatraju se da imaju neutralizirajući učinak i da se mogu koristiti kao COVID-19 rekonvalescentna plazma, a plazme čiji reultat iznosi 50-839 AU/ml smatraju se pozitivnima, ali nisu dovoljne za proizvodnju COVID-19 plazme dok je granična vrijednost 50 AU/ml (76).

1.4.6. Distribucija rekonvalescentne plazme

Rekonvalescentnu plazmu trebaju distribuirati Banke krvi na zahtjev bolnice uz određene uvjete:

1. Bolesnik s potvrđenom COVID-19 infekcijom u ranoj ili umjereno ranoj kliničkoj fazi bolesti (prema klasifikaciji WHO-a) i/ili oslabljenog humoralnog imuniteta;
2. Ako je moguće, plazmu primjeniti unutar 3 dana od početka simptoma ili odmah po prijemu u bolnicu;

3. Obvezan informirani pristanak na transfuziju rekonvalescentne plazme COVID-19.

Nije utvrđena međunarodna standardizirana jedinica za razinu titra niti trenutno postoji kalibracija za pouzdano uspoređivanje titra među nepovezanim studijama. Stoga bi svaki program za rekonvalescentnu plazmu trebao navesti svoj prag titra neutralizirajućih antitijela kako bi se omogućila korelacija titra antitijela i ishoda pacijenta. U liječenju pacijenata s COVID-19 treba koristiti samo plazmu s visokim titrom neutralizirajućih antitijela. Predložena doza rekonvalescentne plazme visokog titra je jedna jedinica, a za plazmu niskog titra mogu se transfuzirati dvije jedinice rekonvalescentne plazme. Ako se žele transfuzirati dvije jedinice, one bi trebale biti od različitih donatora (77,78). Kako bi se osigurala sljedivost liječenja plazmom ustanove za liječenje trebaju prikupljati podatke o bolesniku:

1. Spol, dobni raspon (21 - 30, 31 - 40 itd.), raspon indeksa tjelesne mase, komorbiditeti;

2. Vrijeme transfuzije (u danima od početka bolesti);

3. Broj, volumen i titar protutijela (s referencom na primijenjeni test) transfuzijske jedinice;

4. Paralelne terapije koje se daju pacijentu (osim potporne njege);

5. Klinički simptomi i laboratorijski parametri - prema ljestvici progresije bolesti (Tablica 1.) u sljedećim vremenskim točkama prije transfuzije, više od 5 dana nakon transfuzije te prilikom otpusta (ako je pacijent preživio);

6. Sve ozbiljne nuspojave ili događaji koji su vjerojatno povezani s transfuzijom;

7. Trajanje hospitalizacije (ako nema smrti).

Tablica 1. *WHO* redna ljestvica za kliničko poboljšanje COVID-19

Stanje pacijenta	Opis	Rezultat
Nezaražen	Bez kliničih ili virooloških dokaza infekcije	0
Ambulantno liječen	Bez ograničenja u aktivnostima	1
	Ograničenje aktivnosti	2
Hospitaliziran, blaga bolest	Hospitaliziran, bez terapije kisikom	3
	Maska s kisikom ili nosne kanile	4
Hospitaliziran, teška bolest	Neinvazivna ventilacija ili kisik s visokim protokom	5
	Intubacija i mehanička ventilacija	6
	Ventilacija + dodatna potpora za organe – ECMO, RRT	7
Mrtav	Smrt	8

Ovom se popisu mogu dodati i drugi parametri, poput titra antitijela pacijenta prije SARS-CoV-2 (neutralizirajućeg) prije transfuzije, ovisno o lokalnim kliničkim protokolima. Preporučuje se da se gore navedeni rezultati ishoda dostave bankama krvi kako bi se omogućila izgradnja sveobuhvatne slike na razini EU -a. Podaci iz kontroliranih kliničkih ispitivanja se moraju analizirati prema unaprijed definiranom planu analize i protokolu kliničkog ispitivanja te prijaviti platformi EU. Također moraju se prijaviti i ozbiljne nuspojave i događaji. To će omogućiti redovitu procjenu sigurnosti i učinkovistosti od strane nadležnih tijela i stručnjaka te poboljšati protokol prikupljanja testiranja, obrade, pohrane, distribucije i rekonvalescentne plazme (79).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA

Ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi mogućnost prikupljanja konvalescentne COVID-19 plazme u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Split.
2. Utvrditi statistički značajnu povezanost razine titra SARS-CoV-2 IgG protutijela s vremenskim razdobljem od preboljenja COVID-19 i kliničkom slikom kod darovatelja krvi.

Hipoteze su:

1. Preboljeli COVID-19 u anamnezi darovatelja krvi ne znači nužno i prisutnost učinkovite razine titra SARS-CoV-2 IgG protutijela.
2. Razina titra SARS-CoV-2 IgG protutijela je u korelaciji s vremenskim razdobljem od preboljenja COVID-19 i kliničkom slikom kod darovatelja krvi.
3. Na razinu titra SARS-CoV-2 IgG protutijela utječe cijepljenje jednom dozom nakon bolesti.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

Ispitanici su darovatelji krvi s preboljelim COVID-19 u anamnezi u razdoblju od 17.02.2021. do 10.05.2021. godine. Ispitivanjem je obuhvaćeno 170 ispitanika pri Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split. Plan ovog istraživanja je u skladu sa Zakonom o zaštiti prava pacijenata (NN169/04, 37/08), Zakonom o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18) te odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN55/08, 139/15) i pravilima Helsinške deklaracije WMA 1964–2013 na koje upućuje Kodeks. Etičko povjerenstvo KBC-a Split odobrilo je istraživanje rješenjem broj 500-03/21-01/93.

3.2. Ustroj istraživanja

Istraživanje je oblikovano prema načinu dobivanja podataka kao opservacijsko, a obzirom na vremensku orijentaciju kao retrospektivno istraživanje.

3.3. Metode istraživanja

U istraživanju su korišteni anamnestički podaci na liječničkom pregledu prije postupka uzimanja krvi i rezultati testiranja razine titra SARS-CoV-2 IgG protutijela u uzorku krvi darovatelja. Testiranje razine titra protutijela rađeno je testom MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG, proizvođača Snibe za kvantitativno određivanje SARS-CoV-2 IgG protutijela kemiluminiscentnom (CLIA) metodom pri Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split i testom ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant testom, proizvođača Abbott za kvalitativnu i kvantitativnu detekciju protutijela CLIA metodom pri Zavodu za transfuzijsku medicinu. U istraživanju se koriste deskriptivne statističke metode.

3.4. Statistička analiza

Podaci su se unosili u Excel i statistički obradili u računalnom programu SPSS verzije 20 (SPSS inc.,Armonk,N.Y.,USA). Tijekom statističke obrade koristili smo se Mann-

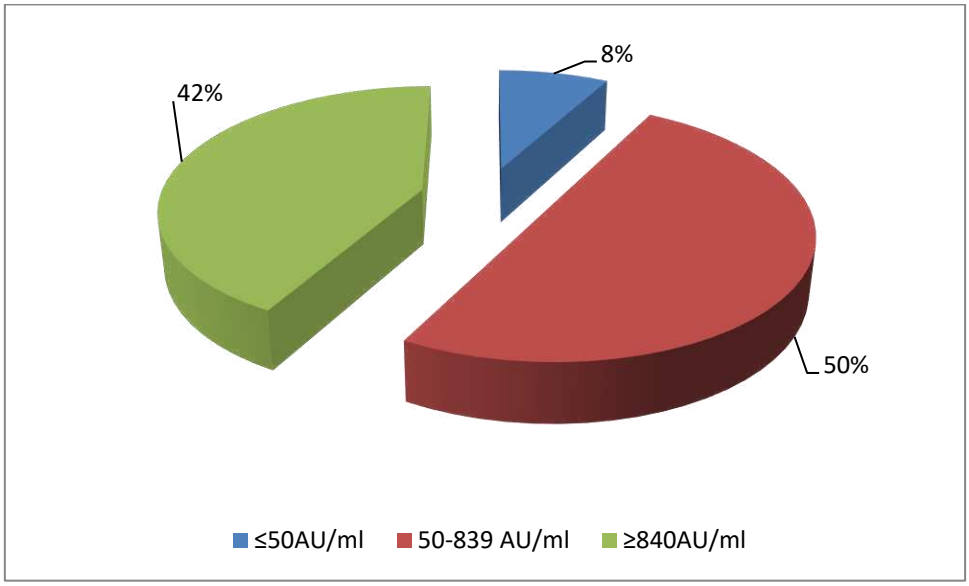
Whitneyevim testom, χ^2 testom i Kruskal-Wallis testom. Rezultati su interpretirani na razini značajnosti $P < 0,05$ i prikazani u tablicama.

4. REZULTATI

Od 17.02.2021. do 10.05.2021. godine u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split napravljeno je 60 testova plazme ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant. Test je napravljen u 60 muškaraca, medijana životne dobi 38 godina (Q1-Q3: 29-47; min-max:19-67).

Od 60 testova titar je iznosio:

- ≤50 AU/ml u 5 (8%) testova
- 50-839 AU/ml u 30 (50%) testova
- ≥840 AU/ml u 12 (42%) testova



Slika 1. Prikaz udjela ispitanika prema vrijednostima titra ≤50; 50-839; ≥840 AU/ml

U Tablici 2. Prikazana je životna dob ispitanika u odnosu na vrijednost titra

Tablica 2. Prikaz medijana (Q1-Q3; min-max) životne dobi ispitanika u odnosu na dobivenu vrijednost titra

Vrijednost titra ≤1 (AU/ml)	Dob (god)	*P**
≤50	44 (32-48; 30-51)	0.084
50-839	32 (26-41; 19-67)	
≥840	41 (34-50; 21-64)	

*Kruskal-Wallis test

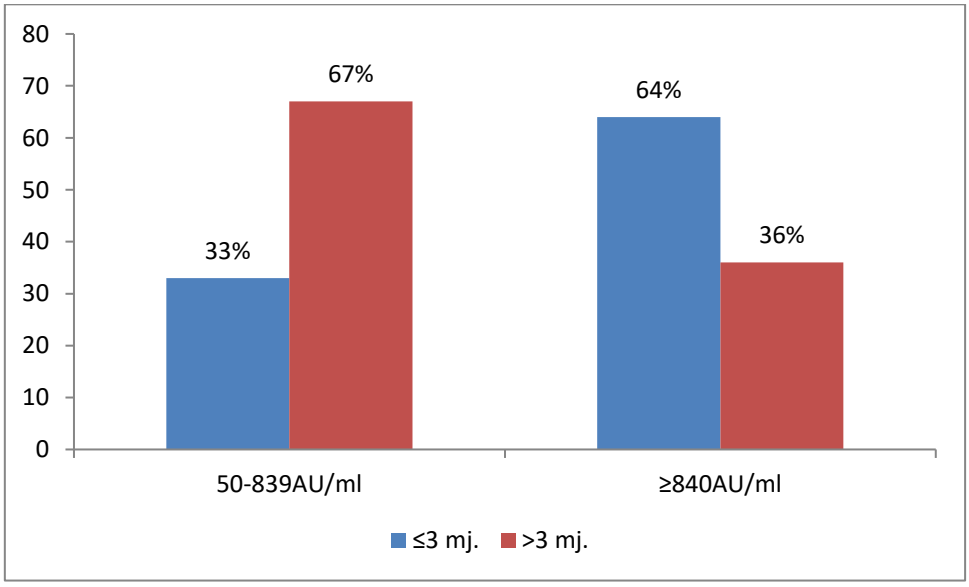
Nismo dokazali statistički značajnu razliku životne dobi ispitanika u odnosu na vrijednosti titra ($\chi^2 = 5.0$; P=0.084).

U Tablici 3. Prikazat ćemo kliničku sliku ispitanika, vrijeme proteklo od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme

Tablica 3. Prikaz broja (%) ispitanika prema kliničkoj slici i vremenu proteklom od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme u odnosu na vrijednost titra

	Titar (AU/ml)					
	≤50	50-839	≥840	*P**	Odds ratio (95% CI)	*P*†
Klinička slika						
blaga	3 (100)	30 (100)	22 (96)			
teška	0	0	1 (4)			
Vrijeme (mjeseci)				0.046	3.5 (1.2-11)	0.026
≤3		10 (33)	16 (64)			
>3		20 (67)	9 (36)			

*χ^2 test ;† logistička regresija



Slika 2. Prikaz vrijednosti titra (≤50; 50-839; ≥840 AU/ml) u odnosu na vrijeme preboljenja COVID-19 do doniranja plazme

Od ukupnog broja ispitanika za koje su bili dostupni podataci o kliničkoj slici (N=56) njih 55 (98%) imalo je blagu kliničku sliku.

Postoji statistički značajna povezanost vremena preteklog od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme s vrijednostima titra (50-839; ≥840) (χ^2= 4.0; *P*=0.046). Udio ispitanika s

vremenom većim od 3 mjeseca u skupini sa titrom od 50-840 AU/ml za 1.9 puta je veći nego udio istih u skupini ispitanika sa titrom ≥840 AU/ml. Udio ispitanika sa vremenom ≤ 3 mjeseca za 1.9 puta je veći u skupini ispitanika sa titrom ≥840 AU/ml nego u skupini titra 50-839 AU/ml.

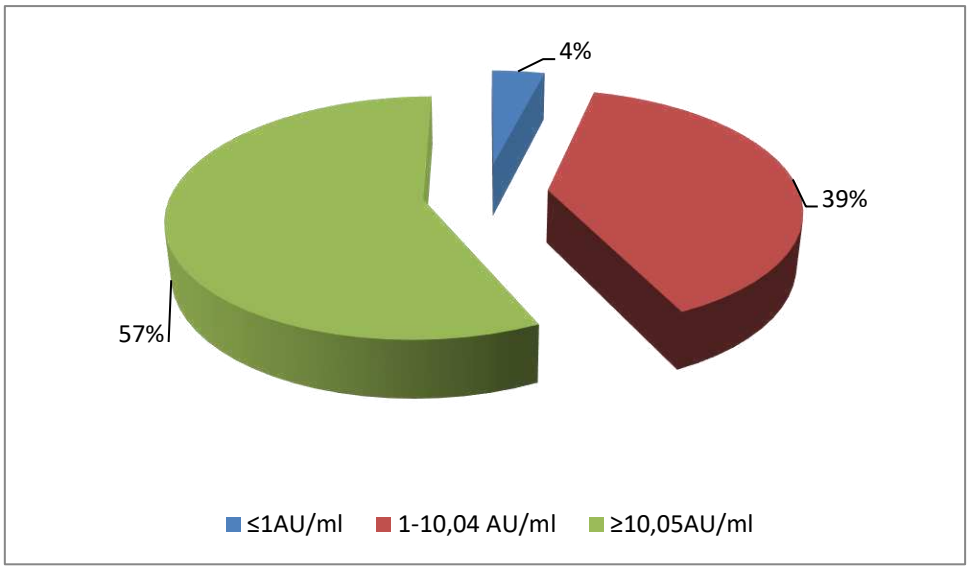
Izgled za pojavnost titra ≥840 AU/ml u odnosu na titar 50-839 AU/ml za 3.5 puta je veći u skupini ispitanika čije je vrijeme bilo ≤ 3 mjeseca u odnosu na one čije je vrijeme bilo >3 mjeseca (odds ratio: 3.5; 95% CI: 1.2-11; *P*=0.026).

Od ukupnog broja ispitanika njih 5 (8%) je cijepljena jednom dozom mjesec dana prije doniranja plazme. Medijan životne dobi 39 godina (min-max: 31-50). Svih 5 cijepljenih ispitanika imalo je titar ≥840 AU/ml. Dvojici ispitanika vrijeme preboljenja COVID-19 do doniranja plazme bilo je ≤3 mjeseca, a trojici više od 3 mjeseca.

U razdoblju od 17.02.2021. do 10.05.2021. god. pri Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split napravljeno je 110 testova plazme MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG . Test je napravljen u 110 muškaraca, medijana životne dobi 42 godine (Q1-Q3: 31-49; min-max:18-65).

Od 110 testova titar je iznosio:

- ≤1 AU/ml u 4 (4%) testova
- 1-10.04 AU/ml u 43 (39%) testova
- ≥10.05 AU/ml u 63 (57%) testova



Slika 3. Prikaz udjela ispitanika prema vrijednostima titra ≤1; 1-10.04; ≥10.05 AU/ml

U Tablici 4. Prikazana je životna dob ispitanika u odnosu na vrijednost titra

Tablica 4. Prikaz medijana (Q1-Q3; min-max) životne dobi ispitanika u odnsu na dobivenu vrijednost titra

Vrijednost titra ≤1 (AU/ml)	Dob (god)	*P**
≤1	35 (27-51; 26-55)	0.075
1-10.04	37 (31-48; 22-61)	
≥10.05	44 (35-51; 18-65)	

*Kruskal-Wallis test

Nismo dokazali statistički značajnu razliku životne dobi ispitanika u odnosu na vrijednosti titra ($\chi^2 = 5.0$; P=0.075).

U Tablici 5. Prikazat ćemo kliničku sliku ispitanika, vrijeme preteklo od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme

Tablica 5. Prikaz broja (%) ispitanika prema kliničkoj slici i vremenu proteklom od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme u odnosu na vrijednost titra

		Titar (AU/ml)			
		≤1	1-10.04	≥10.05	*P**
Klinička slika					
	blaga	4 (100)	34 (90)	51 (91)	
	teška	0	4 (10)	5 (9)	
Vrijeme (mjeseci)					0.283
	≤3	2 (50)	8 (20)	18 (30)	
	>3	2 (50)	33 (80)	42 (70)	

*χ^2 test ;† logistička regresija

Od ukupnog broja ispitanika za koje su bili dostupni podatci o kliničkoj slici (N=98) njih 89 (91%) je imalo blagu kliničku sliku.

Razdioba ispitanika prema vremenu dolaska u odnosu na vrijednosti titra nije se statistički značajno razlikovala (χ^2=2.5; P=0.283).

Izgled za pojavnost titra ≥10.05 AU/ml u odnosu na titar 1-10.04 AU/ml za 3.5 puta je veći u skupini ispitanika čije je vrijeme bilo ≤ 3 mjeseca u odnosu na one čije je vrijeme bilo >3 mjeseca (odds ratio: 3.5; 95% CI: 1.2-11; *P*=0.026).

Od ukupnog broja ispitanika bio je samo jedan cijepljeni jednom dozom mjesec dana prije doniranja plazme. Vrijeme preboljenja COVID-19 do doniranja plazme je bilo više od 3 mjeseca, titar ≥10.05 AU/ml.

5. RASPRAVA

Organizirani program prikupljanja rekonvalescentne plazme ili seruma od preživjelih mogao bi pružiti potencijalno vrijedna empirijska izvješća dok podaci o učinkovitosti i sigurnosti njezine uporabe prikupljaju se putem randomiziranih kontroliranih kliničkih ispitivanja. U ovom istraživanju analizirani su ispitanici dobrovoljni darovatelji krvi u Zavodu za transfuzijsku medicinu, uzorci krvi su testirani u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split, Centru za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji Zagreb te Zavodu za transfuzijsku medicinu. U svojim privremenim uputama o zalihama krvi tijekom pandemije COVID-19, objavljene u srpnju 2020. (66), WHO ponavlja da je COVID-19 rekonvalescentna plazma, kao eksperimentalna terapija, prikladna za procjenu u kliničkim studijama ili kao polazni materijal za proizvodnju eksperimentalnih hiperimunih imunoglobulina. Sukladno tome, u periodu od 17.02.2021. godine započelo se s testiranjem davatelja krvi u Zavodu za transfuzijsku medicinu s ciljem prikupljanja rekonvalescentne COVID-19 plazme i njezino korištenje u eksperimentalnoj terapiji.

S obzirom na životnu dob ispitanika nije dokazana statistički značajna razlika u odnosu na vrijednosti titra protutijela. Većina ispitanika imala je blagu kliničku sliku.
Prilikom korištenja ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant testa uočili smo da postoji statistički značajna povezanost vremena preteklog od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme s vrijednostima titra (50-839 AU/ml; ≥840 AU/ml). Udio ispitanika sa vremenom većim od 3 mjeseca u skupini sa titrom od 50-840 AU/ml za 1.9 puta je veći nego udio istih u skupini ispitanika sa titrom ≥840AU/ml. Udio ispitanika sa vremenom ≤ 3 mjeseca za 1.9 puta je veći u skupini ispitanika sa titrom ≥840 AU/ml nego u skupini titra 50-839 AU/ml što se moglo i pretpostaviti s obzirom na već poznata saznanja o životnom vijeku protutijela (80).

U istraživanje su bili uključeni i cijepljeni ispitanici kod kojih je uočena visoka razina titra protutijela, ali nije statistički dokazano zbog malog broja ispitanika. Tema rekonvalescentne COVID-19 plazme kod cijepljenih ispitanika može biti predmet daljnih istraživanja.

Prilikom korištenja testa MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD pri Kliničkom zavodu za mikribiologiju i parazitologiju KBC-a Split razdioba ispitanika prema vremenu dolaska u odnosu na vrijednosti titra nije se statistički značajno razlikovala. Izgled za pojavnost titra ≥840 AU/ml u odnosu na titar 50-840 AU/ml za 3.5 puta je veći u skupini ispitanika čije je vrijeme bilo ≤ 3 mjeseca u odnosu na one čije je vrijeme bilo >3 mjeseca što je uočeno i u prethodnom testu provođenom na Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split. U ovom

istraživanju bio je uključen jedan cijepljeni ispitanik i kod njega je uočena visoka razina titra protutijela.

Iz ovih istraživanja može se zaključiti da vrijeme od preboljenja COVID-19 do vremena doniranja ima bitnu ulogu u vrijednostima titra protutijela i da se time djeluje na područje edukacije dobrovoljnih darovatelja krvi, ali i općenito populacije. Daljna istraživanja mogla bi se usmjeriti na vrijednosti titra protutijela nakon provedenog cijepljenja kao i na pojedine vrste cjepiva (77, 78).

Glavno ograničenje ove studije jest maleni broj ispitanika pogotovo cijepljenih. Ostala ograničenja su podaci skupljeni iz jednog referentnog centra, kratko vremensko razdoblje u kojem su uzeti uzorci plazme te svi ispitanici su muškarci tako da se nije mogao usporediti titar antitijela muškaraca i žena.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata dobivenih istraživanjem možemo zaključiti sljedeće:

1. ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant test korišten u Zavodu za transfuzijsku medicinu može biti metoda izbora za određivanje titra neutralizirajućih IgG protutijela na SARS-CoV-2 u svrhu korištenja COVID-19 konvalescentne plazme.
2. Nije dokazana statistički značajna razlika životne dobi ispitanika u odnosu na vrijednosti titra SARS-CoV-2 IgG protutijela u populaciji dobrovoljnih davatelja krvi.
3. Utvrđena je statistički značajna povezanost vremena preteklog od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme s vrijednostima titra SARS-CoV-2 IgG protutijela u populaciji dobrovoljnih davatelja krvi.
4. S obzirom da je većina ispitanika imala blagu kliničku sliku ne možemo zaključiti na povezanost razine titra protutijela SARS-CoV-2 i težine kliničke slike.
5. S obzirom na mali broj ispitanika ne možemo zaključiti na povezanost razine titra protutijela SARS-CoV-2 i cijepljenja.

7. LITERATURA

1. Grgičević D. Proizvodnja krvnih pripravaka. U: Grgičević D. i sur. Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi. Zagreb; Medicinska naklada; 2006. str 76-107.
2. Dzik S. James Blundell, Obstetrical Hemorrhage, and the Origins of Transfusion Medicine. Transfus Med Rev. 2018;32(4):205–212. 20. Hillyer C, Shaz B. Transfusion Medicine and Hemostasis. 3. izd. Elsevier; 2019. Str. 3–6.
3. Basu D, Kulkarni R. Overview of blood components and their preparation. Indian J Anaesth. 2014;58(5):529-37.
4. Pravilnik o posebnim tehničkim zahtjevima za krv i krvne pripravke, Narodne novine, br. 80/07, 79/13 i 13/16.
5. Dieruckx D, Macken E. The abc of apheresis. Acta Clin Belg. 2015;70(2):95-9.
6. Ellingson KD, Sapiano MRP, Haass KA, Savinkina AA, Baker ML, Chung K-W, i sur. Continued decline in blood collection and transfusion in the United States–2015. Transfusion (Paris). 2017;57(Suppl 2):1588–1598.
7. Miller R. Miller's anesthesia. 8. izd. Philadelphia: Elsevier; 2015. Str. 1830–1867
8. Sović D. Reakcija na eritrocitne pripravke U: Golubić Ćepulić B i sur. Liječenje eritrocitnim krvnim pripravcima. Zagreb; Zavod za kliničku transfuziologiju KBC-a Zagreb; 2002. str 99-109.
9. Kaufman RM, Djulbegovic B, Gernsheimer T, Kleinman S, Tinmouth AT, Capocelli KE, et al. Platelet transfusion: a clinical practice guideline from the AABB. Ann Intern Med. 2015;162(3):205-13.
10. American Association of Blood Banks. Blood component Descriptions. U: Brecher ME, editor. Technical Manual. 14. izd. Bethesda (MD): AABB; 2003. str. 164-170.
11. Mesarić J. Transfuzijsko liječenje - prvi dio. Medicinar. 2010;51(1):27–29.
12. Sharma A, Tiwari S, Deb MK, Marty JL. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2): a global pandemic and treatment strategies. Int J Antimicrob Agents. 2020;56:106054.
13. Velavan TP, Meyer CG. The COVID-19 epidemic. Trop Med Int Health. 2020;25:278-80.
14. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat Med. 2020;26:450-2.
15. Weston S, Frieman MB. COVID-19: knowns, unknowns, and questions. mSphere. 2020;5:e00203-20.
16. Chowdhury SD, Oommen AM. Epidemiology of COVID-19. J Dig Endosc. 2020;11:3-7.

17. Vlada Republike Hrvatske. Službena stranica Vlade za pravodobne i točne informacije o koronavirus. Zagreb: Vlada Republike Hrvatske; 2021 [citirano 17. rujna 2021.].Dostupno na: https://www.koronavirus.hr/
18. Azer SA. COVID-19: pathophysiology, diagnosis, complications and investigational therapeutics. New Microbes New Infect. 2020;37:100738.
19. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): A Review. JAMA. 2020;324:782-93.
20. Wauters E, Thevissen K, Wouters C, Bosisio FM, De Smet F, Gunst J i sur. Establishing a unified COVID-19 "immunome": Integrating coronavirus pathogenesis and host immunopathology. Front Immunol. 2020;11:1642.
21. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. J Pathol. 2004;203:631–7.
22. Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A i sur. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020;117:11727–34.
23. Yang M. Cell pyroptosis, a potential pathogenic mechanism of 2019-nCoV infection. SSRN Electron J. 2020. doi:10.2139/ssrn.3527420.
24. Xie X, Chen J, Wang X, Zhang F, Liu Y. Age- and gender-related difference of ACE2 expression in rat lung. Life Sci. 2006;78:2166–71.
25. Kai H, Kai M. Interactions of coronaviruses with ACE2, angiotensin II, and RAS inhibitors-lessons from available evidence and insights into COVID-19. Hypertens Res. 2020;43:648–54.
26. Imanishi T, Ikejima H, Tsujioka H, Kuroi A, Kobayashi K, Muragaki Y i sur. Addition of eplerenone to an angiotensin-converting enzyme inhibitor effectively improves nitric oxide bioavailability. Hypertension. 2008;51:734–41.
27. Guang C, Phillips RD, Jiang B, Milani F. Three key proteases--angiotensin-I-converting enzyme (ACE), ACE2 and renin--within and beyond the renin-angiotensin system. Arch Cardiovasc Dis. 2012;105:373–85.
28. Patel VB, Mori J, McLean BA, Basu R, Das SK, Ramprasath T i sur. ACE2 deficiency worsens epicardial adipose tissue inflammation and cardiac dysfunction in response to diet-induced obesity. Diabetes. 2016;65:85–95. 41
29. He L, Ding Y, Zhang Q, Che X, He Y, Shen H i sur. Expression of elevated levels of pro-inflammatory cytokines in SARS-CoV-infected ACE2+ cells in SARS patients:

relation to the acute lung injury and pathogenesis of SARS. J Pathol. 2006;210:288–97.

30. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. Autoimmun Rev. 2020;19:102537.
31. Rashedi J, Mahdavi Poor B, Asgharzadeh V, Pourostadi M, Samadi Kafil H, Vegari A i sur. Risk factors for COVID-19. Infez Med. 2020;28:469-74.
32. Fang X, Li S, Yu H, Wang P, Zhang Y, Chen Z i sur . Epidemiological, comorbidity factors with severity and prognosis of COVID-19: a systematic review and metaanalysis. Aging (Albany NY). 2020;12:12493-503.
33. Wolff D, Nee S, Hickey NS, Marschollek M. Risk factors for Covid-19 severity and fatality: a structured literature review. Infection. 2021;49:15–28.
34. Vince A. COVID-19, pet mjeseci kasnije. Lijec Vjesn. 2020;142:55–63.
35. Zarifian A, Zamiri Bidary M, Arekhi S, Rafiee M, Gholamalizadeh H, Amiriani A i sur. Gastrointestinal and hepatic abnormalities in patients with confirmed COVID-19: A systematic review and meta-analysis. J Med Virol. 2021;93:336–50.
36. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM i sur. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. Thromb Res. 2020;191:145–7.
37. Vardavas CI, Nikitara K. COVID-19 and smoking: A systematic review of the evidence. Tob Induc Dis. 2020;18(March):20.
38. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP i sur. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Travel Med Infect Dis. 2020;34:101623.
39. Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia. Emerg Microbes Infect. 2020;9:727–32.
40. Fu Y, Cheng Y, Wu Y. Understanding SARS-CoV-2-mediated inflammatory responses: From mechanisms to potential therapeutic tools. Virol Sin. 2020;35:266–71.
41. Park M, Cook AR, Lim JT, Sun Y, Dickens BL. A systematic review of COVID-19 epidemiology based on current evidence. J Clin Med. 2020;9:967.

42. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. J Autoimmun. 2020;109:102433
43. Wang W, Tang J, Wei F. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. J Med Virol. 2020;92:441–7.
44. Chen Y, Wang AH, Yi B, Ding KQ, Wang HB, Wang JM i sur. Epidemiological characteristics of infection in COVID-19 close contacts in Ningbo city. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2020;41:667–71.
45. Liu R, Han H, Liu F, Lv Z, Wu K, Liu Y i sur. Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020. Clin Chim Acta. 2020;505:172–5.
46. Xu Y, Cheng M, Chen X, Zhu J. Current approaches in laboratory testing for SARS-CoV-2. Int J Infect Dis. 2020;100:7–9.
47. Shen Z, Xiao Y, Kang L, Ma W, Shi L, Zhang L i sur. Genomic diversity of severe acute respiratory syndrome-Coronavirus 2 in patients with Coronavirus disease 2019. Clin Infect Dis. 2020;71:713–20.
48. Hou H, Wang T, Zhang B, Luo Y, Mao L, Wang F i sur. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. Clin Transl Immunology. 2020. doi:10.1002/cti2.1136.
49. Gorse GJ, Donovan MM, Patel GB. Antibodies to coronaviruses are higher in older compared with younger adults and binding antibodies are more sensitive than neutralizing antibodies in identifying coronavirus-associated illnesses. J Med Virol. 2020;92:512–7.
50. Hosseiny M, Kooraki S, Gholamrezanezhad A, Reddy S, Myers L. Radiology perspective of Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Lessons from severe acute respiratory syndrome and Middle East respiratory syndrome. AJR Am J Roentgenol. 2020;214:1078–82.
51. Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). Indian J Pediatr. 2020;87:281-6.
52. Frater JL, Zini G, d'Onofrio G, Rogers HJ. COVID-19 and the clinical hematology laboratory. Int J Lab Hematol. 2020;42:11-8.
53. RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, et al. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19. N Engl J Med. 2021;384:693–704.

54. Chalmers JD, Crichton ML, Goeminne PC, Cao B, Humbert M, Shteinberg M i sur. Management of hospitalised adults with coronavirus disease 2019 (COVID-19): a European Respiratory Society living guideline. Eur Respir J. 2021;57:2100048.
55. Chalmers JD, Boersma W, Lonergan M, Jayaram L, Crichton ML, Karalus N i sur. Long-term macrolide antibiotics for the treatment of bronchiectasis in adults: an individual participant data meta-analysis. Lancet Respir Med. 2019;7:845–54.
56. Langford BJ, So M, Raybardhan S, Leung V, Westwood D, MacFadden DR i sur. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2020;26:1622–9.
57. Serisier DJ. Risks of population antimicrobial resistance associated with chronic macrolide use for inflammatory airway diseases. Lancet Respir Med. 2013;1:262–74.
58. Mouhat B, Besutti M, Bouiller K, Grillet F, Monnin C, Ecarnot F i sur. Elevated D-dimers and lack of anticoagulation predict PE in severe COVID-19 patients. Eur Respir J. 2020;56:2001811.
59. Kamel AM, Sobhy M, Magdy N, Sabry N, Farid S. Anticoagulation outcomes in hospitalized Covid-19 patients: A systematic review and meta-analysis of case-control and cohort studies. Rev Med Virol. 2021;31:e2180.
60. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, evaluation, and treatment of Coronavirus (COVID-19). In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
61. Wu C-N, Xia L-Z, Li K-H, Ma W-H, Yu D-N, Qu B i sur. High-flow nasal-oxygenation-assisted fibreoptic tracheal intubation in critically ill patients with COVID-19 pneumonia: a prospective randomised controlled trial. Br J Anaesth. 2020;125:e166–8.
62. Whittle JS, Pavlov I, Sacchetti AD, Atwood C, Rosenberg MS. Respiratory support for adult patients with COVID-19: Respiratory Support for COVID-19. J Am Coll Emerg Physicians Open. 2020;1:95–101. 46
63. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected: interim guidance, 13 March 2020. World Health Organization; 2020.
64. The clinical establishments. Clinical Management Protocol Covid-19 Version 4 updated 27-6-2020 [Internet]. India. Gov.in. 2020. [citirano 16. lipnja 2021.]. Dostupno na: http://www.clinicalestablishments.gov.in/NEWS/1055.aspx

65. WHO Blood Regulators Network, Position Paper on Use of Convalescent Plasma, Serum or Immune Globulin Concentrates as an Element in Response to an Emerging Virus September 2017.
66. WHO Guidance on maintaining a safe and adequate blood supply during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and on the collection of COVID-19 convalescent plasma. Interim guidance. 10 July 2020.
67. Cheng Y, Wong R, Soo YO, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2005;24(1):44-46.
68. Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. The Lancet Microbe. 2021;2(1):e13-e22.
69. Sachs UJ, Link E, Hofmann C, Wasel W, Bein G. Screening of multiparous women to avoid transfusion-related acute lung injury: a single centre experience. Transfus Med. 2008;18(6):348- 54.
70. Reil A, Keller-Stanislawski B, Günay S, Bux J. Specificities of leucocyte alloantibodies in transfusion-related acute lung injury and results of leucocyte antibody screening of blood donors. Vox Sang. 2008;95(4):313-7.
71. Gottschall JL, Triulzi DJ, Curtis B, Kakaiya RM, Busch MP, Norris PJ, et al. The frequency and specificity of human neutrophil antigen antibodies in a blood donor population. Transfusion. 2011;51(4):820-7.
72. Salazar E, et al. Relationship between Anti-Spike Protein Antibody Titers and SARS-CoV-2 In Vitro Virus Neutralization in Convalescent Plasma. bioRxiv [Preprint]. 2020 Jun 9:2020.06.08.138990. doi: 10.1101/2020.06.08.138990. PMID: 32577662; PMCID: PMC7302218.
73. Okba, N. M. A., et al. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. Emerg Infect Dis 26(7): 1478-1488.
74. Kruger, S., et al. (2021). Performance and feasibility of universal PCR admission screening for SARS-CoV-2 in a German tertiary care hospital. J Med Virol. (6) Bal, A., et al. (2021).
75. Luchsinger LL, et al. Serological Assays Estimate Highly Variable SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Activity in Recovered COVID19 Patients. Journal of Clinical Microbiology. 2020;58(12):e02005-20.

76. Preporuka FDA U.S. Food & Drug Administration od dana 09. Ožujka 2021.g.
77. Duan K, Liu B, Li C, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. Proc Natl Acad Sci USA. 2020;117(17):9490-9496.
78. Shen C, Wang Z, Zhao F, et al. Treatment of 5 critically Ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. JAMA. 2020;323(16):1582–1589
79. US FDA. Convalescent Plasma – FDA. https://www.fda.gov/media/141477/download
80. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19 [published online ahead of print, 2020 May 12]. Allergy. 2020;10.1111/all.14364. doi:10.1111/all.14364.

8. SAŽETAK

Ciljevi istraživanja: Utvrditi mogućnost prikupljanja konvalescentne COVID-19 plazme u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Split te povezanost razine titra SARS-CoV-2 IgG protutijela s vremenskim razdobljem od preboljenja COVID-19 i kliničkom slikom kod darovatelja krvi.

Ispitanici i metode: Ispitanici su darovatelji krvi s preboljelim COVID-19 u anamnezi u razdoblju od 17.02.2021. do 10.05.2021. godine . U istraživanju su korišteni anamnestički podaci na liječničkom pregledu prije postupka uzimanja krvi i rezultati testiranja razine titra SARS-CoV-2 IgG protutijela u uzorku krvi darovatelja. Testiranje razine titra protutijela rađeno je testom MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG za kvantitativno određivanje SARS-CoV-2 IgG protutijela kemiluminiscentnom (CLIA) metodom pri Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju i testom ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant testom za kvalitativnu i kvantitativnu detekciju protutijela CLIA metodom pri Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split.

Rezultati: Od 17.02.2021. do 10.05.2021. godine u Zavodu za transfuzijsku medicinu KBC-a Split napravljeno je 60 testova plazme ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant. Test je napravljen u 60 muškaraca, medijana životne dobi 38 godina. Nismo dokazali statistički značajnu razliku životne dobi ispitanika u odnosu na vrijednosti titra (χ^2 = 5.0; P=0.084). Od ukupnog broja ispitanika za koje su bili dostupni podataci o kliničkoj slici (N=56) njih 55 (98%) je imalo blagu kliničku sliku. Postoji statistički značajna povezanost vremena preteklog od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme s vrijednostima titra (50-839; ≥840) (χ^2= 4.0; P=0.046). Od ukupnog broja ispitanika njih 5 (8%) je cijepljeno jednom dozom mjesec dana prije doniranja plazme. Svih 5 cijepljenih ispitanika imalo je titar ≥840 AU/ml.

U istom razdoblju pri Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split napravljeno je 110 testova plazme MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG . Test je napravljen u 110 muškaraca, medijana životne dobi 42 godine. Također nismo dokazali statistički značajnu razliku životne dobi ispitanika u odnosu na vrijednosti titra (χ^2 = 5.0; P=0.075) kao i od ukupnog broja ispitanika za koje su bili dostupni podataci o kliničkoj slici (N=98) njih 89 (91%) je imalo blagu kliničku sliku. Razdioba ispitanika prema vremenu dolaska u odnosu na vrijednosti titra nije se statistički značajno razlikovala (χ^2=2.5; P=0.283). Od ukupnog broja ispitanika bio je samo jedan cijepljeni jednom dozom mjesec dana prije doniranja plazme i imao je titar ≥10.05 AU/ml.

Zaključci: Rezultati ovog istraživanja ukazuju da se na Zavodu za transfuzijsku medicinu može prikupljati konvalescentna COVID- 19 plazma. Ne može se dokazati statistički značajna razlika životne dobi ispitanika u odnosu na vrijednosti titra. Većina ispitanika je imala blagu kliničku sliku. Postoji statistički značajna povezanost vremena preteklog od preboljenja COVID-19 do doniranja plazme s vrijednostima titra protutijela.

9. SUMMARY

Diploma thesis title: Possibilities of collecting convalescent COVID-19 plasma in the Department of Transfusion Medicine, University Hospital of Split.

Objectives: To determine the possibility of collecting convalescent COVID-19 plasma in the Department of Transfusion Medicine, University Hospital of Split and the relationship between the level of SARS-CoV-2 IgG antibody titer with the time period from COVID-19 recovery and the clinical picture in blood donors.

Subjects and methods: Subjects were blood donors with a history of COVID-19 in the period from 17.02.2021. to 10.05.2021. year . The study used anamnestic data on a medical examination before the blood sampling procedure and the results of testing the level of SARS-CoV-2 IgG antibody titers in a donor blood sample. Testing the antibody titer level was performed by the MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG test for the quantitative determination of SARS-CoV-2 IgG antibodies by the chemiluminescent (CLIA) method at the Clinical Department of Microbiology and Parasitology and the ARC SARG II Co-II test test for qualitative and quantitative detection of antibodies by the CLIA method at the Department of Transfusion Medicine, Clinical Hospital Center Split.

Results: From 17.02.2021. to 10.05.2021. 60 plasma tests of ARC SARS-CoV-2 IgG II Quant were performed in the Department of Transfusion Medicine of the Clinical Hospital Center Split. The test was done in 60 men, median age 38 years. We did not prove a statistically significant difference in the age of the subjects in relation to the titer values (χ^2 = 5.0; P = 0.084). Of the total number of subjects for whom clinical picture data were available (N = 56), 55 (98%) had a mild clinical picture. There is a statistically significant association of the time elapsed from COVID-19 recovery to plasma donation with titer values (50-839; ≥840) (χ^2 = 4.0; P = 0.046). Of the total number of subjects, 5 (8%) were vaccinated with a single dose one month before plasma donation. All 5 vaccinated subjects had a titer ≥840 AU / ml.

In the same period, 110 plasma tests of MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG were performed at the Clinical Department of Microbiology and Parasitology of the Clinical Hospital Center Split. The test was performed in 110 men, median age 42 years. We also did not prove a statistically significant difference in the age of the subjects in relation to the titer values (χ^2 = 5.0; P = 0.075) as well as from the total number of subjects for whom clinical picture data were available (N = 98) 89 of them (91%) had a mild clinical picture. The distribution of subjects according to the time of arrival in relation to the titer values,

significantly did not differ statistically (χ^2 = 2.5; P = 0.283). Of the total subjects, only one was vaccinated with a single dose one month before plasma donation and had a titer ≥10.05 AU / ml.

Conclusion: The results of this study indicate that convalescent COVID-19 plasma can be collected at the Department of Transfusion Medicine. A statistically significant difference in the age of the subjects in relation to the titer values cannot be proven. Most subjects had a mild clinical picture. There is a statistically significant association of the time elapsed from COVID-19 recovery to plasma donation with antibody titer values.

10. ŽIVOTOPIS

Osobne informacije:

Ime i prezime: Doris Franić

Državljanstvo: hrvatsko

Datum i mjesto rođenja: 22. siječnja 1996. godine, Split

Adresa stanovanja: Strožanačka cesta 71, 21312 Podstrana

Telefon: 0917366703

E-mail: franicdoris@gmail.com

Obrazovanje:

2002.-2010. Osnovna škola Strožanac, Podstrana

2010.-2014. III. gimnazija Split

2014.-.2021. Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, studijski program medicina

Materinski jezik:

Hrvatski jezik

Znanja i vještine:

Engleski jezik (aktivno)

Vozačka dozvola B kategorije

Aktivnosti:

2017. sudjelovanje i volontiranje na skupu predavanja i volontiranja „ Praktična znanja za studente“, Split