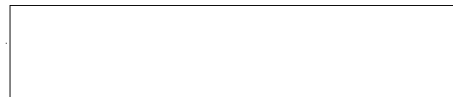


Approved For Release 2008/06/27 : CIA-RDP80T00246A005000100001-4

Page Denied



STAT

transfuzije

6

IZDAJE SAVEZNA KOMISIJA ZA TRANSFUZIJU KRVI
BEOGRAD

S A D R Ž A J

<i>Dr P. Jerina-Lah:</i> KLINIČKA PRIMENA FRAKCIJA PLAZME	3
<i>Dr Olga Litričin i dr Vera Damjanović:</i> UPOTREBA FIBRIN - FILMA U OFTALMOLOGIJI	11
<i>Dr V. Pešić:</i> PRILOG LEČENJU HIPOPROTEINEMIJA KOD CIROZA I NEFROZA	17
<i>J. Pajević, dr B. Simonović, D. Đurović:</i> REZULTATI ISPITIVANJA MO- GUĆNOSTI KONZERVACIJE ERITROCITA NA NISKIM TEMPERA- TURAMA	22
<i>Dr Mirjana Latal-Duančić:</i> SLUČAJ POLIAGLUTINABILNOSTI	26
<i>Aleksandar Mitrović:</i> IZDVAJANJE NESPECIFIČNOG ANTITELA IZ SA- LIVE NESEKRETORA	29
<i>Aleksandar Mitrović:</i> ANTI-A ₁ ANTITELO U SERUMU PASA	32
<i>Lj. Kostić-Todorović, dr B. Simonović, S. Brajović, V. Tihi:</i> MIKROIMUNO- ELEKTROFOREZA	34
<i>Dr Zoran Rolović:</i> PRIMENA KRVI I KRVNIH DERIVATA U LEČENJU HEMOFILIJE	39
<i>V. Grozdanić, dr B. Simonović:</i> NEKI PROBLEMI U VEZI PIROGENIH MATERIJA I IZVOĐENJA PIROGENOG TESTA	45
<i>Mr Milan Lukić:</i> NEKI PROBLEMI GUMENOG MATERIJALA ZA TRANS- FUZIJU	54
PITANJE MEĐUNARODNE STANDARDIZACIJE TRANSFUZISKE OPREME	67
PROPISI O SLUŽBI TRANSFUZIJE KRVI U NR SRBIJI	72
PRIKAZI KNJIGA	77
SAOPŠTENJE O STRUČNOM SASTANKU TRANSFUZIOLOGA	80

BILTEN TRANSFUZIJE

UREĐIVAČKI ODBOR :

**Puk. prof. Isidor Papo, prof. Stanoje Stefanović,
potpukovnik dr Vladimir Vuletin, dr Paula Lah,
dr Artur Polak, dr Miran Hočevar, dr Branimir Simonović**

UREDNIK :

Dr Branimir Simonović

SAVEZNA KOMISIJA ZA TRANSFUZIJU KRVI

BEOGRAD

Jul – 1958

BILTEN TRANSFUZIJE

Broj 4 — Septembar 1957

- Dr I. Tadžer: Život trombocita kod hipersplenizma
Dr Z. Rolović: Određivanje antihemofiličnog faktora u antihemofiličnoj i suvoj plazmi
Dr B. Dinić: Orijentaciona titracija aglutinina u krvi davalaca radi dobijanja test-seruma ABO
V. Tihi, dr B. Simonović: Elektroforetska slika seruma i plazme normalnih zamoraca
D. Đurović, dr B. Simonović: Sadržaj natrijuma i kalijuma u suvoj plazmi
Prof. P. Moureau: Opasni univerzalni davalac
Dr P. Jerina-Lah, dr D. Letić: Značaj gama-globulina u kliničkoj upotrebi
Dr P. Jerina-Lah: Gama-globulin u zaštiti od poliomijelita
J. Spužić, A. Zweers, V. Tihi, B. Simonović: Senzibilizacija na proteine krvi i dekstran
Mr ph. N. Radovanović: Pripremanje fibrinogena za intravenoznu primenu
Dr Z. Rolović: Intravenozna primena fibrinogena kod hemoragičnih sindroma
Mr ph. N. Radovanović: Pasterizovani rastvor proteina plazme
Organizacija davalaca i služba prikupljanja krvi u nekim centrima za transfuziju krvi u inostranstvu
Neki podaci iz godišnjih izveštaja ustanova za transfuziju u Jugoslaviji
Prikazi knjiga
Novosti
Saopštenja

Broj 5 — Maj 1958

- Dr B. Radojčić, dr B. Dinić: Imunotrombocitopenije
Dr P. Jerina-Lah: Smetnje odnosno neprilike koje se mogu pojaviti u vezi sa transfuzijom
Dr A. Polak i dr M. Fišer-Herman: Ispitivanje serumskih proteina kod nehemolitičkih transfuzionih smetnji
Dr Ljerka Glonar: Anti-Rh senzibilizacija
Dr Miran Hočevar: Problematika dobijanja anti-Rh seruma
Dr B. Simonović, dr S. Dimitrijević, B. Simonović, A. Mitrović, V. Tihi: Raspodela krvnih grupa u Jugoslaviji
Dr B. Simonović, N. Radovanović, V. Tihi: Elektroforetska slika proteina plazme
Dr V. Pešić i dr B. Simonović: Elektroforetske promene proteina u plazmi kod dece obolele od tuberkuloze
Dr M. Dekleva: Elektroforetska slika kod parazitarne crevne oboljenja
Biohemisko odeljenje: Rezultati kontrole suve plazme
V. Krznarić: Analiza godišnjih izveštaja ustanova za transfuziju u FNRI 1957 god.
Dr B. Dinić: VI Kongres evropskog društva za hematologiju
N. Radovanović: Izveštaj sa simpozijuma »Krvni derivati i krvni zamenici«

Izdaje: Savezna komisija za transfuziju krvi. — Odgovorni urednik: dr Branimir Simonović, Svetosavska ul. 39, Beograd. — Uredništvo: Zavod za transfuziju krvi NRS, Svetosavska ul. 39.

Zavod za transfuziju krvi — Beograd

KLINIČKA PRIMENA FRAKCIJA PLAZME

Dr P. Jerina-Lab

Moderna nauka o transfuziji krvi nastoji da iz pune krvi izdvoji pojedine njene sastojke — frakcije, kako bi se mogle primenjivati u izolovanom stanju već prema potrebama organizma; time postizemo odgovarajuće lečenje i štedimo skupocen lek kao što je ljudska krv. Već u Drugom svetskom ratu, a naročito u vremenu iza rata, tehnika frakcionisanja se znatno usavršila i istovremeno toliko pojednostavila, da danas sve veće ustanove transfuzije skoro u svim zemljama spremaju frakcije krvi za laboratorijske ili terapijske svrhe.

(O Gama-globulinu i antihemofilčnoj plazmi pisano je u br. 4 Biltena; mi ćemo u ovom napisu dopuniti podatke o *Albuminu* iznesene u Biltenu 1954 godine, kao i podatke o produktima fibrina i trombina, koji su zapravo dopuna člancima o fibrinogenu Biltena br. 4).

ALBUMIN

Albumin se sprema u 20% soluciji u dozama od 125 ccm; rastvor je sterilan i apirogen. Osmotski pritisak u plazmi proizvode elektroliti i belančevine plazme, ali je albumin u stvaranju pritiska najvažniji, prvo, što je nosilac 80% od ukupnog osmotskog pritiska u plazmi (125 ccm 20% albumina je ekvivalentno 450 ccm plazme), a drugo, što je njegova molekula veća od elektrolita pa se više zadržava u krvotoku. Viskoznost 20% albumina jednaka je viskoznosti venske krvi sa hematokritom 25; ta smanjena viskoznost olakšava intravensku primenu. Što se tiče elektrolita, u rastvoru albumina uglavnom je zastupljen natrijum pošto ga ima u samom albuminu, potom u natrijevom mandalatu, koji se dodaje kao stabilizator, i u puferu, koji se upotrebljava za postizanje neutralnosti solucije (pH 7,2). Ukupno ima natrijuma u rastvoru albumina koji spremaju razne ustanove u raznim zemljama od 2,25 do 8,10 grama na litar. Pri spravljanju solucije albumina nastojimo da sadrži što manje natrijuma, naročito zbog primene pri lečenju nefroza i ciroza, kod kojih je on nepoželjan. Naš albumin ima oko 2,7 grama natrijuma na 1 litar, znači da jednom dozom

od 125 ccm bolesnik prima prosečno 0,34 grama natrijuma. Albumin se stabilizuje prilikom produkcije 10 časova na 60°C. Rok upotrebe je 3 do 5 godina.

Čuvanje albumina nije potrebno baš na temperaturi od 0°C. Dovoljna je temperatura od +4 do +8°C, odnosno temperatura hladnih podrumskih prostorija. Albumin se primenjuje bez određivanja krvnih grupa.

Zavod transfuzije u Beogradu proizvodi albumin od 1955 godine. Prvi klinički opiti albumina vršeni su u Americi 1941, a 1942 godine već počinje redovna proizvodnja za američku vojsku.

Najvažnije dejstvo albumina u organizmu je što 1 g albumina veže na sebe, prema raznim autorima, 13 do 20 g vode bilo da ju je dobio zajedno sa albuminom, bilo da ju albumin privlači iz ekstravaskularne tečnosti; zbog toga je i hematokrit, uzgred rečeno, snižen posle infuzije albumina a povećan volumen plazme. Prema *Leutscher-u* i *Thorn-u*, povećanje volumena plazme posle infuzije 1 doze albumina iznosi 25 do 30%, a koloidno-osmotski pritisak se povećava za 10 do 20%. Isti autori tvrde, da albumin napušta plazmu u toku 48 časova, ali da ne biva kvantitativno izlučen u mokraći, odnosno da se odnos albumin-globulin u izlučenoj mokraći ne povećava. Pri proučavanju sudbine intravenski primenjenog albumina, *Eckard* i sar. su utvrdili da se albumin zadržava u krvotoku duže od 48 h, da difunduje iz krvotoka u limfu, ostaje u ravnoteži sa albuminom u krvi i da biva postepeno razložen u aminokiseline koje se uključe u metabolizam proteina tkiva. *Ebert*, *Stead*, *Cour* i *rand* zaključuju na osnovu hemodilucije da se albumin zadržava u krvotoku do 6 sati posle davanja. *Eckard*, na osnovu eksperimenata, zastupa gledište da dnevna doza od 37,5 grama albumina intravenski odgovara održavanju bilansa azota kod normalnih osoba pod uslovom da je infundirani albumin jedini izvor azota; dalje, da 37,5 grama intravenski unetog albumina može biti zamenjeno sa 50 grama albumina primljenog per os. *Thorn* je primetio, u slučaju peroralnog davanja albumina cirotičarima, da diureza kod njih počinje nekoliko dana kasnije u upoređenju sa onima koji su ga primili intravenozno. Smatra se da se intravenski primljen albumin više pretvara u protoplazmu nego ako je data plazma. (Ovo poslednje ispitano je na grupi bolesnika sa osteoporozom, pa se donekle ne može smatrati uopštenom činjenicom).

Dejstvo unesenog albumina je, dakle, trojako: a) pošto veže na sebe vodu, albumin predstavlja sredstvo za povećanje volumena krvi; b) uneseni albumin se nagomilava u tkivima kao nutritivno sredstvo, a pošto su dnevne potrebe proteina 13 grama, to jednom dozom albumina pokrивamo dnevne potrebe proteina uopšte, jer hipoproteinemije su uglavnom hipoalbuminemije; c) pri primeni albumina kod nefroza i ciroza albumin povećava volumen plazme i time dovodi do povećanja glomerularne filtracije i povećanja diureze, što je poželjno kod ascita. Istovremeno dolazi do ispravljanja hipoalbuminemije, a time i do poboljšanja stanja parenhima jetre i bubrega, odnosno do poboljšanja njihove funkcije.

Od početka proizvodnje, u 1955 godini, do danas naš Zavod je izdao oko 2500 boca albumina koje su primenjene na 30 do 50 raznih odeljenja i klinika.

Albumin je, prema podacima odnosnih odeljenja, primenjivan kod hirurških slučajeva, tj. kod šoka, traume, opekotina, za ispravljanje *hipovolemije*, odnosno hemokonzentracije, što se podudara sa podacima iz literature. Smatramo da se lekari u navedenim slučajevima ipak više opredeljuju za upotrebu pune krvi i plazme, prvo, što im je obična transfuzija više poznata i, drugo, što je kod tih slučajeva potrebno podizanje hemoglobina i broja eritrocita. Ali pritom ne smemo zaboraviti na praktičnost pakovanja albumina za masovnu upotrebu. Mi smo videli da je težina i zapremina pakovanja kompleta plazme 5 puta veća od odgovarajuće količine albumina, a šta ta razlika predstavlja za avionske pošiljke ne treba ni isticati. Nije onda nimalo čudno da su neke zapadne armije desantnim jedinicama, mornarici i u vazduhoplovstvu, dodeljivale albumin umesto krvi i plazme. Preimućstvo albumina je i u tome što može u slučajevima hitnosti biti primenjen u toku 3-10 minuta (Amer. armija).

Veću grupu, od dosad navedene za potrebe hitne pomoći, predstavljaju oboljenja sa *hipoproteinemijom*, bilo kod hirurških, ginekoloških ili pedijatrijskih slučajeva, bilo kod nefroze ili ciroze. Među najčešće navedenim dijagnozama vidimo pri pregledu prispelih izveštaja da je albumin primenjivan kod hipoproteinemije karcinoma, ehinokoka, benignih tumora, kod hroničnih odnosno gnojnih holecistita, odnosno kod sprečenog uzimanja proteina hranom (usled smetnji ili operacije na jednjaku ili na drugim delovima intestinalnog trakta), kod raznih fistula creva i kod akutnog hemoragičnog pankreatita. U slučajevima hipoproteinemije usled malignih oboljenja vredno ga je davati samo kod bolesnika kod kojih je predviđena operativna terapija, ili je sa uspehom izvršeno odstranjenje tumora, odnosno, bolje rečeno, ne treba ga trošiti kod beznadežnih slučajeva opšteg stanja, jer je albumin skup i izrađen iz ljudske krvi.

Postoje već iskustva i sa davanjem albumina *per os*, odnosno sondom. Na Dečjoj klinici u Beogradu (doc. dr Žujović) izvršeni su sledeći opiti: dvanaestoro atrofične dece (napr. 16 meseci staro dete težilo je 7450 g, od 9 meseci 5000 g, a od 8 meseci 3800 g itd.) dobijala su albumin *per os* i sva su imala uz hipoproteinemiju i neko interkurentno oboljenje (kao eksudativnu dijatezu, bronhit, ekcem, vicium cordis itd.). Deca su primala pored dijetalne ishrane i vitamine ali ne plazmu i transfuziju krvi. Albumin je davan *per os* bez korigensa u količinama 1 do 6 kafenih kašika dnevno, i to 7, 14 pa 24 dana uzastopce. Deca su, dakle, dobijala dnevno 1 do 2 g albumina na kilogram telesne težine. Albumin su deca, osim u dva slučaja, dobro podnela uz vidno poboljšanje kliničkog stanja, i prosečno su dobijala u težini dnevno 50 grama.

Na Hirurškoj klinici VMA albumin je primenjivan *sondom* kod 6 bolesnika sa jednom od sledećih dijagnoza: Stenosis oesofagi, fistula stercolaris i kod psihoneurotičkih stanja, kad bolesnik odbija svako primanje hrane. Bolesnici su dnevno primali 1 do 2 doze albumina. Prema

kliničkim podacima bolesnici su bolje reagovali na davanje albumina nego na transfuzije, jer je posle prethodnog davanja transfuzije krvi i plazme nivo proteina od 5 g sa oko 10 davanja albumina brzo popravljen na normalne vrednosti.

Napominjemo da uz redovnu produkciju sterilnog albumina uvek naiđe poneka pirogena serija, koja može da se depirogenizuje ponovnim prečišćavanjem, ali se sa korišću može upotrebiti za davanje per os ili sondom, u primerima koje smo naveli.

Thorn i saradnici imali su najbolje uspehe posle davanja albumina kod *ciroznih bolesnika* sa edemima, niskim nivoom proteina bez retencije azota, sa normalnim krvnim pritiskom. Uspehi su perzistirali iako se prestalo sa davanjem albumina. — Naprotiv, Patek je kod više slučajeva imao suprotne rezultate, bez efekta kod bolesnika sa cirozom koje je lečio 3 do 16 dana; albumin je, po njegovom mišljenju, čak prešao u ascit. — Petersdorf je kod dve normalne osobe posle primene 25% albumina naišao čak na antidiuretsko delovanje albumina. — Kunkel je objavio vrlo duge serije lečenja albuminom, i to od 4 do 80 jedinica, kod 17 bolesnika, od kojih je njih 14 imalo ascit, i postigao je diurezu; pored davanja albumina bolesnici su primali visoku vitaminsku i proteinsku hranu bez ograničenja soli. Nije opazio razliku između davanja albumina sa visokim i sa niskim sadržajem natrijuma. Bolesnici sa izraženom portalnom opstrukcijom i dugotrajnim ascitom pokazali su se najotporniji u pogledu izazivanja diureze, najbolje su reagovali bolesnici sa niskim serum-albuminom i ascitom, naročito posle infektivnog hepatita. Bolesnici su se daleko bolje osećali i povećavali apetit. Armstrong i Gibson imali su paralelne rezultate i smatraju da Patek i drugi nisu imali povoljne rezultate, jer su obrađivali bolesnike sa dugotrajnim (9 do 24 meseca) zastarelim ascitom, odnosno što su pri lečenju davali premale doze. — Prema ispitivanju Keys-a i Govaerts-a, nije iznenađujuća pojava da posle davanja albumina kod ciroza ponekad dolazi do diureze bez povećanja cirkulišućeg albumina, ili obrnuto, što bi moglo ukazati na to da dejstvo albumina nije samo u smislu vezivanja vode, nego i u smislu promenjene limfne drenaže, odnosno u promenjenom portalnom pritisku. Koju ulogu igra albumin kod edema i diureze nije još potpuno rasvetljeno, kao što nije prečišćeno ni pitanje da li je propuštanje albumina kod nefroza uzrok povećane propustljivosti albumina prilikom glomerularne filtracije, ili je uzrok poremećenje tubula koji dovoljno ne apsorbuju albumin. — Pitanje dejstva albumina biće verovatno više ispitano pomoću kontrole izotopima. (O efektu lečenja ciroza i nefroza vidi članak dr Perišić).

Albumin se daje obično dnevno 1 do 2 doze od 125 ccm (20%), tj. oko 1 g na kilogram težine. *Davanje albumina* treba izvoditi vrlo polagano, tako da infuzija traje najmanje 45 minuta, odnosno daje se 20 kapi na minut, a poželjno je još laganije. Time izbegavamo preopterećenje krvotoka, na šta moramo obratiti mnogo više pažnje kod srčanih bolesnika; insuficijencija miokarda je kontraindikacija za davanje albumina.

Polagano davanje preporučuje se i zbog eventualne pravovremene intervencije u slučaju da u toku davanja albumina primetimo reakciju, što može biti slučaj kod svake infuzije. Da bi se obezbedilo polagano davanje a ujedno unela tečnost, napr. kod dehidratiranih bolesnika, albumin možemo davati sa rastvorom glikoze; fiziološki rastvor NaCl ne treba davati gde postoje edemi ili druge kontraindikacije za unošenje natrijuma. Obično se daje u navedenim slučajevima 1 litar tečnosti na 1 do 2 doze albumina. Albumin se primenjuje intravenski, nema smisla davati ga intramuskularno mada su ga neki autori, prema literaturi, davali čak intraperitonealno.

Komplikacije pri davanju albumina mogu biti sledeće: usled parazenskog davanja mogu nastati infiltrati na mestu punkcije; albumin može da prouzrokuje i pirogene reakcije u slučaju da produkt nije apirogen ili da sadrži osim albumina još izvesne frakcije; preopterećenje krvotoka koje smatramo najtežim odražava se dispnejom, glavoboljom, edemom pluća, itd. Opisane su reakcije usled senzibilizacije, kao i krvarenje iz ozleđenih sudova usled povećanja volumena plazme, ako prethodno nismo zaustavili krvarenje. White navodi čak slučajeve embolije zbog naglo povećanog volumena krvi posle davanja albumina kod operisanih bolesnika. Albuminom se ne prenosi infektivni hepatit.

Od albumina kod nas pripremljenog, od 2500 doza primenjenih na raznim odeljenjima, imali smo oko 16 reakcija koje su vremenski nejednako raspoređene. Na prvih 1400 doza (1955 i 1956 god.) bilo je 12 reakcija, dok je kod daljih 1100 (od početka 1957 dosada) bilo 3. Među prvima bilo je teških sedam a među poslednjim dve. (Holandski autor Krijnen navodi na 13.000 transfuzija albumina 30 reakcija; White, SAD, na 1945 doza 22 temperaturne reakcije). Ne bismo mogli tvrditi da je uzrok toj razlici toliko poboljšana proizvodnja — jer nam je metoda pripremanja ista od početka spravljanja albumina — nego da se više radi o većim iskustvima u davanju albumina, kao i o brižljivijem postavljanju indikacija i kontraindikacija. Ako analiziramo reakcije, vidimo da je u nekoliko slučajeva došlo do izvesnih znakova preopterećenja krvotoka; u jednom slučaju do hematemeze, odnosno krvarenja iz variksa jednjaka. U nekoliko slučajeva davanje albumina moralo se prekinuti, jer su se pojavili izvesni znaci anafilaktičnog šoka; koprivnjača se pojavila kod 5 od navedenih slučajeva. Iskustva su pokazala da se više očekuju anafilaktičke pojave kod bolesnika sa cirozom nego sa nefrozom, jer je oštećena jetra više sklona da proizvodi antitela.

Naše mišljenje, kao i mnogi podaci iz literature, ukazuju da može nastupiti senzibilizacija posle davanja krvi i njenih produkata, kao što je i albumin. Belančevina krvi, iako je humanog porekla, može prema opšte primljenom shvatanju prouzrokovati senzibilizaciju; mi smo videli da se reakcija javlja češće kod ponovnih davanja nego kod prvih davanja albumina. O povoljnom dejstvu antihistaminika u smislu smanjenja tih vrsta reakcija danas govore iskustva pa se može pre davanja albumina primenjivati antihistaminika, naročito kod ponovnih davanja albumina i težih

disproteinemija. Samo po sebi se razume da adekvatna terapija reakcija mora biti primenjena odmah čim se pojave prvi znaci. U ovoj terapiji nikako ne treba izostaviti hidrokortizon.

PRODUKTI FIBRINOGENA I TROMBINA ZA LOKALNU PRIMENU

Fibrinska pena

Fibrinska pena je produkt fibrinogena i trombina, a predstavlja sušterastu masu fibrinskih vlakana velike površine; fibrin naime zaustavlja sitna krvarenja, gde šavovima i ligaturama nije moguće zaustaviti krvavljenje, odnosno pomaže fiksiranje graftova kod raznih plastika. Fibrinska pena je pakovana sterilno u suvom stanju. Neposredno pre upotrebe natapamo je fiziološkim rastvorom ili, još bolje, rastvorom trombina. (Nastojimo da uz fibrinsku penu pakujemo i suv trombin čija bi solucija služila za otapanje, ali to uvek ne uspevamo jer je produkcija trombina iz čovečje plazme minimalna). Fibrinsku penu, dok je u suvom stanju, možemo u slučaju da je sterilnost pakovanja narušena, presterilisati. Fibrinskom penom ne prenosi se virus infektivnog hepatita jer se steriliše na 150°.

O efikasnosti upotrebe fibrinske pene potiču podaci iz Amerike još za vreme Drugog svetskog rata (produkcija firme Morrison C. Singer, autori Corell, White). Osim u slučajevima koje ćemo navesti o primeni naše fibrinske pene, u literaturi se navode podaci još o upotrebi fibrinske pene za tamponiranje šupljina kod prostatektomije (Defoort), kod torakoplastike (Linden, Hedberg) kod operacija parenhimatoznih organa (Pitscher, Light) i eksterpacije rektuma (Jenkins).

Slično fibrinskoj peni može se napraviti i želatinska pena (npr. Spongostan, Danska). Upotreba želatinske pene je opisana u mnogim literaturama.

Dosada je upotrebljeno u raznim ustanovama u zemlji od 1955 godine oko 2500 komada u našem Zavodu proizvedene fibrinske pene. Uglavnom se primenjivala kod neurohirurških operacija (za tamponiranje postoperativnih loža, za pokrivanje defekata sinusa), kod otorinolaringoloških (za punjenje cavum tympani posle timpanoplastike ili masteidektomije), kod ortopedskih (za zaustavljanje krvarenja iz kosti), i kod ginekoloških operacija (za hemostazu pri vaginalnim plastikama). U stomatologiji mogu se tamponirati šupljine prilikom većih krvarenja posle vađenja zuba.

Fibrinska pena se resorbuje; kod obdukcionog materijala posle 3 dana nalazila se još na licu mesta, dok se posle 7 do 8 dana nisu videli više ostaci (Neurohirurška klinika Beograd). Slučajeva infekcije prema primljenim izveštajima nije bilo, kao ni smetnji zbog nedovoljne resorpcije pene.

Fibrinski film

Fibrinski film je istog sastava kao fibrinska pena; napravljen je od fibrinogena i trombina specijalnom metodom kao elastična, prozirna supstanca; njezin apsorbiditet zavisi od tehnike izrade. Sličan film se može takođe napraviti iz želatinske mase. Upotrebu takvog filma opisuju mnogi autori i firme (Busch, Hansen, Ferrosan – Danska).

Baily, Ingraham su upotrebljavali fibrinski film za plastiku dure umesto ranije upotrebljavanog materijala od gutaperke, metala, fascie late. Engleska literatura navodi već u 1946 godini rezultate primene fibrinskog filma, a kojeg je izradio Kekwick, kod neurohirurških operacija u Londonu. Između fibrinskog filma i okolnih tkiva, naime, ne stvore se suviše atezije i kad se film apsorbuje nova membrana stvorena iz uraščujućih krvnih sudova i tkiva pokriva defekt u duri.

Autori Lozner i Deaver pisali su o primeni plazme-trombina kao načinu fiksacije transplantata bez šva, odnosno zavoja; trombin gruš, naime, plazmu za nekoliko minuta, i to se dejstvo koristi za stvaranje fibrinskog filma in situ; mesto transplantacije odnosno ranjavanja kože pospemo, naime, plazmom i trombinom.

Fibrinski film se kod nas još ne priprema mada su prethodni opiti u toku, ali se ima izvesnog iskustva sa stavljanjem fibrinskog filma in situ pri lečenju očne rožnjače (o čemu će biti reči u sledećem članku doc. dr Litričin).

Trombina, zbog manjih kvantitativnih količina u plazmi, kao što je već rečeno, ne spremamo mnogo; da bi se, prema podacima iz literature, upotrebljavao za posipanje prilikom sitnih krvavljenja tkiva odnosno ranjenih mesta kože, trebalo bi ga spremati iz goveđe plazme. Takođe nemamo iskustva ni sa primenom trombina peroralno, ili u zglob, o čemu takođe pišu strani autori.

Zaključak

Opisana su za terapiju važna fiziološka svojstva albumina, fibrinske pene i fibrinskog filma; izneseni su podaci iz literature o njihovoj primeni, kao i izveštaji o primeni albumina (2500 doza) i fibrinske pene (2500 komada) proizvedene u Zavodu transfuzije Beograd.*

* (Zavod transfuzije u Beogradu zahvaljuje doc. dr Litričin (Očna klinika, Beograd), asist. dr Perišić (Interna klinika A, Beograd) na dostavljenim priložima o kliničkoj primeni albumina, odnosno fibrinskog filma, čija zapažanja u celosti objavljujemo; zahvaljujemo takođe za saopštene podatke dr Mikešu i dr Labošu (bolnica Banja Luka), doc. dr Zujović (Pedijatrijska klinika Beograd), majoru dr Rebernišeku (VMA), apotecu Kliničke bolnice Ljubljana, Internoj klinici Skoplje, i ostalim odeljenjima i lekarima koji obaveštavaju naš Zavod o primeni frakcija plazme).

LITERATURA

- Berner Kolloquium: Die Chemie der menschlichen Bluteiweise* 1956.
Gibson: Blood and Bloodderivatives USA.
Stefanović: Bolesti jetre, Med. knjiga, 1956.
Lancet, 16 mart 1957.
Le Sang, № 1/56.
Materijal i dokumentacija za kurseve transfuzije pri nacionalnom centru transfuzije u Parizu.
Le Scalpel, № 42, okt. 1949.
Bilten transfuzije, 1954.
White-Weinstein: Blood derivatives and substitutes — Williams a. Wilkins.
Acta Scandinavica, fasc. V, vol. XCVII.
Surgical Newsletter, 1952.
Acta Pharmacologica, Copenhagen 1947/3.

Summary

Blood transfusion Institute — Belgrad

CLINICAL APPLICATION OF ALBUMIN AND FIBRIN PREPARATS

Dr. P. Jerina-Lah

In the article the author described physiological characteristic of albumin, fibrin foam and fibrin film, important for the therapy. He also gave data from the literature on the application of these products, as well as results obtained from hospitals on the application of albumins (2.500 doses) and fibrin foam (2.500 pieces) which were prepared in the Blood transfusion institute in Belgrad.

Klinika za očne bolesti Medicinskog fakulteta u Beogradu
Upravnik: Prof. dr V. Čavka

UPOTREBA FIBRIN-FILMA U OFTALMOLOGIJI

Dr Olga Litričin i Dr Vera Damjanović

Istraživanja, koja su potrebe Drugog svetskog rata osobito ubrzala, dovela su do izdvajanja pojedinih frakcija krvne plazme i određivanja njihovog hemiskog sastava. Od mnogobrojnih frakcija za nas su od interesa trombin i fibrinogen. Ovi sastavni delovi plazme uvedeni su u terapiju upotrebu raznih grana medicine. Njihova se upotreba osniva, prvo, na činjenici da in situ veštački stvoreni fibrin može da deluje hemostatično, a zatim na osobini da predstavlja »fiziološki lepak ili tutkalo« (Tassman), tj. stavljen na ranu stvara na njoj tanak sloj koji deluje athezivno i spaja njene krajeve, a pod sobom dozvoljava ubranu epitelizaciju.

Fibrin-film upotrebljava se u oftalmologiji kod operacije katarakte (Tassman, Grósz) radi biološkog slepljivanja rane; kod keratoplastike (Katzin) za fiksiranje kalema; u toku operacije odlubljenja mrežnjače subretinalno unošenje trombina (Brown) omogućuje biološku replikaciju mrežnjače, a kod raznih kornealnih afekcija (Tassman; Levy; Thorpe; Cuendet i Michels) želi se postići pokrivanje defekata rožnjače radi brže regeneracije njenoga tkiva pod opnicom koja zaštićuje rožnjaču od spoljnih nadražaja.

Grósz je pokušao kod operacije katarakte stavljanje trombina pod kecljak vežnjače kod 25 bolesnika sa nepotpunim uspehom, ali je zapazio da se prednja komora brzo formirala. Ostatak trombina može korisno da posluži za hemostazu (operacije mišića, suzna kesica).

Weisser je uspešno primenio fibrin-film u blizu 100 slučajeva defekata epitela rožnjače raznog porekla, hemiskih povreda, ulceracija, hroničnih i akutnih keratita. Dejstvo leka je proveravao i na ogleđnim životinjama. Korisno je da se ovome leku dodaju antibiotici i sulfonamidi kad za njih postoji indikacija. Ovaj autor je klinički dobijao ne samo brzo umirenje bolova, već i brže izlećenje same bolesti, te pretpostavlja

da »fibrin-film sadrži antitela koja mogu koristiti u lečenju ulkusa i drugih infekcija«.

T a s s m a n i saradnici su koristili fibrin-film počev od 1946 godine kod raznih oboljenja rožnjače sa gubitkom površne supstance i kod rana rožnjače koje ne zjape, i to sa zadovoljavajućim rezultatom. Rastvorima trombina i plazme dodavali su i methylcellulosu, koja je davala bolju čvrstinu i jaču atherentnu sposobnost fibrin-filmu.

L e v y naglašava osobinu fibrin-filma da izvanredno brzo uklanja bol kod lezije rožnjače, a smatra da su nezgode ovoga načina lečenja njegova skupoća i komplikovana aplikacija.

T h o r p e je lečio fibrinom ulcerozne keratite i epidemični keratit i saopštio da je imao veoma dobre rezultate kod jedne trećine lečenih ulceroznih keratita.

C u e n d e t i M i c h e l s su upotrebili fibrin-film kod 30 slučajeva raznih mehaničkih i hemiskih povreda rožnjače i bakterijskih i virusnih keratita. Dobre rezultate su postigli u 50%, poboljšanja u 27%, a neuspeha su imali kod 7 bolesnika. Ovo lečenje se pokazalo najuspešnije kod traumatskih keratita, hemiskih povreda rožnjače i herpetičnih keratita.

Preparati se nalaze u prometu, i to trombin bovinog porekla, a fibrinogen u preparatima normalne humane plazme. Kod nas su se, na našu sugestiju, počela da pakuju u malim bočicama oba preparata u suvom stanju u Zavodu za transfuziju krvi u Beogradu, i to Trombin u bočicama od 1.000 i. j. sa 1 ccm rastvarača fiziološkog rastvora, kao i suva plazma koja posle rastvaranja ima koncentraciju normalne plazme.

Tehnika davanja

Posle dovoljne anestezije kokainom, fiksiranja kapaka Dessmares-ovom kašikom ili prstima, brižljivog ispiranja oka antibiotikumom i sušenja površine rožnjače i vežnjače mlazom toplog vazduha, stavlja se 1–2 kapi rastvora trombina (1.000 i. j. na 1 ccm), a odmah zatim 1–2 kapi rastvora plazme (plazma u prahu rastvori se pomoću 0,5 ccm fiziološkog rastvora). Sušenje ove mešavine vrši se pomoću toplog vazduha u toku 3–5 minuta. Pre vađenja Desmarres-a i zatvaranja oka, pažljivo se preseku končići fibrina u prelaznim borama. Prvo previjanje vrši se 48 časova posle intervencije. Davanje fibrina može da se ponavlja dok se ne postigne željeni uspeh.

Naši slučajevi

Fibrin-film smo upotrebili za slepljivanje operativne rane odnosno za pokrivanje defekata na rožnjači kod ukupno 11 slučajeva, među kojima je bilo:

Upotreba fibrin-filma u oftalmologiji

13

Br. slučaja	Br. aplikacija	R e z u l t a t i		
		Dobar	Zadovoljav.	Rđav
2 sluč. Ekstrakcije senilne katarakte	1	1		1
2 sluč. Keratitis herpeticus	2	1	1	
1 sluč. Keratitis filamentosa	4			1
2 sluč. Erosio corneae	1	2		
1 sluč. Causoma corneae [Ca(OH) ₂]	1	1		
1 sluč. Žljeb posle kornealnog reza	2	1		
2 sluč. Vulnus perforans corneae	2		2	
11 slučajeva Sve ga :		6	3	2

U cilju brzog slepljivanja operativne rane dali smo fibrin-film odmah po završenoj operaciji vađenja katarakte kod jedne bolesnice. Tok operacije je bio normalan, sočivo je izvađeno intrakapsularno uz totalnu iridektomiju. Previjanje smo vršili sutradan po operaciji i tom prilikom je zapaženo da je konjunktivalni kecljak bio podignut, a njegove ivice slepljene — stanje je bilo sumnjivo na subkonjunktivalni prolaps staklastog tela. Sledećih dana bilo je očigledno da se radi o prolapsu, te je učinjena revizija rane. Ovoga puta fibrin nismo upotrebili, a bolesnica je otpuštena 19-og dana po reintervenciji sa zadovoljavajućim stanjem na oku. Kod drugog slučaja katarakte postoperativni tok je bio normalan sa brzim uspostavljanjem prednje komore.

Dva slučaja herpetičnih oboljenja rožnjače, od kojih je jedan bio u recidivu, predstavljala su teže oblike ovog keratita, sa mnogim defektima tkiva, dubljim infiltratima, smanjenom osetljivošću i znatnim subjektivnim smetnjama. Oba bolesnika su lečena uobičajenim sredstvima: lokalno atropinom, antibioticima, abraziranjem i utrljavanjem metilsalicilne kiseline i tinkture joda; velikim dozama B vitamina parenteralno. Bolesnik sa recidivom je u dva maha zračen rendgenom. Sva primenjena sredstva ostala su bez rezultata; postojala su i dalje znatna oštećenja epitela, duboki infiltrati, a subjektivne smetnje nisu iščezavale. Kod oba slučaja stavljen je fibrin-film na rožnjaču, a pored njega je apliciran atropin i Aureomycin mast. Kontrolni pregled posle dva dana pokazao je da je broj i prostranstvo aridiranih mesta na rožnjačama mnogo manji, oči mirnije, a subjektivno stanje bolje. Ponovljeno davanje fibrina imalo je za rezultat potpunu epitelizaciju kod oba slučaja, praćenu prestankom svih subjektivnih smetnji. Kod jednog bolesnika pod epiteliziranom rožnjačom postojala su još dva mala duboka infiltrata, koja su iščezla pod daljim uobičajenim lečenjem.

Istu metodu upotrebili smo i kod bolesnice sa teškim oblikom obostranog filamentoznog keratita, koji je lečen pune dve godine, za koje

vreme je bolesnica ležala u tri maha na našoj klinici. Pored sve poznate terapije davana je lokalno i 40% glukoza, tri puta je zračena rendgenom. Stanje je uvek ostajalo nepromenjeno: mnogi crtasti defekti epitela rožnjače sa finim končićima. U toku poslednjeg ležanja na klinici 1955 god. stavljen je fibrin-film, prvo na jedno oko, a drugo je služilo za kontrolu. Dva dana kasnije imali smo utisak da je fibrinom pokriveno oko mirnije, a broj defekata epitela manji. Ponovljeno je davanje fibrina, ovoga puta na oba oka, ali sada bez ikakvog uspeha — promene su postojale i dalje u istom broju i prostranstvu. Bolesnici smo dali fibrin ukupno četiri puta bez ikakvog uspeha. Videli smo je krajem 1956 god. još uvek u teškom stanju.

Ogrebotine rožnjače sa većim gubitkom epitela pokazale su brzo zarašćivanje posle pokrivanja fibrinom. Radilo se o dva slučaja sa površnim povredama rožnjače stranim telima ali na većem prostranstvu. Kod oba bolesnika dat je odmah po prijemu fibrin uz atropin i antibiotika lokalno, a posle 2 dana rožnjače su bile epitelizirane, oba oka mirna, subjektivne tegobe iščezle.

Isti rezultat smo imali kod bolesnika sa površnom opekotinom rožnjače i vežnjače gašenim krečom. Posle brižljivog ispiranja oka stavljen je fibrin-film, atropin i adevit. Prvi kontrolni pregled pokazao je negativan fluorescenski test, mirno oko i odsustvo bolova.

U istu grupu slučajeva uvrstili bismo i bolesnicu gde je posle operacije katarakte, četrnaestog dana po operaciji još uvek postojao na mestu kornealnog reza dubok žleb koji je u celini primao fluorescein. Oko je pokriveno fibrinom dva puta u razmaku od po dva dana, posle čega je rana potpuno epitelizovala.

Dalju grupu bolesnika predstavljaju dva mala bolesnika sa prolapsima dužice posle spontane sveže perforacije ekcematoznog ulkusa rožnjače. U oba slučaja se radilo o malim prolapsima kroz sitne perforativne otvore. Posle operativnog uklanjanja prolabirane dužice, na oko je stavljen deblji sloj fibrina. U jednom slučaju, gde je otvor bio nešto veći, preko fibrinom pokriveno rožnjače navučena je i plasticirana vežnjača. Dva dana kasnije komora je bila formirana, na mestu veće perforacije videlo se malo epitelizovano udubljenje. Oba slučaja su otpuštena sa klinike sa malim leukomima, kod jednog od njih je ostala fina prednja sinehija.

Diskusija

Iako je broj naših slučajeva veoma skroman, moguće je učiniti naša prva zapažanja.

Od dva slučaja, gde smo fibrin dali radi pričvršćivanja keceljka posle operacije katarakte, jedan ocenjujemo kao neuspeo, jer je odmah postoperativno došlo do prodiranja staklastog tela pod vežnjaču.

Postignutim uspehom kod dva slučaja virusnog keratita bili smo zadovoljni, jer se u oba slučaja radilo o upornim oboljenjima, rezistentnim na sve dotadašnje lečenje.

Kod opisanog slučaja upornog recidivirajućeg filamentoznog keratita nismo dobili željeni uspeh, ali smo zapazili znatno subjektivno smanjenje bolova, što je uostalom bilo primećeno i kod ostalih bolesnika.

Kod svih bolesnika gde je fibrin upotrebljen u cilju ubrzanja epitelizacije postignut je dobar rezultat (slučajevi erozija i hemiskog oštećenja rožnjače, slučaj postoperativnog žleba kornealnog reza i perforativne rane rožnjače). Kod ovih bolesnika epitelizacija je išla brže no što smo navikli da vidimo lečeći uobičajenim metodama.

Zaključak

Naš materijal nam ne dozvoljava da procenimo korisnost primene fibrina za zatvaranje rane kod katarakte.

Kod upornih, dugotrajnih i recidivirajućih herpetičnih keratita fibrin može da posluži kao veoma koristan adjuvans svoj ostaloj terapiji i da znatno skрати tok bolesti.

Površina oštećenja tkiva rožnjače, kao i sitne perforativne rane, predstavljaju, prema našim rezultatima, glavni domen za upotrebu fibrina.

Davanje fibrina ne izaziva nikakve subjektivne tegobe, već naprotiv donosi bolesniku znatno olakšanje uklanjanjem bolova.

Tehnika davanja nije komplikovana i može se sprovesti i ambulantno.

LITERATURA

1. *Brown L.*: Progr. in Opth. a. Otolaryng., Heinemann, London, 1952, 289. cit. Cuendet et Michels.
2. *Cuendet J. F. et Michels V.*: Ophthalmologica, Basel—New York, 1954, 127, 301—304.
3. *Katzin H. M.*: Arch. of Opth., Chicago, 1946, 35, 415, cit. Grosz.
4. *Levy J.*: A. M. A. Arch. Opth., Chicago, 1954, 51, 685—686.
5. *Tassman J.*: A. M. A. Arch. Opth., Chicago, 1954, 51, 684—685.
6. *Thorpe H.*: A. M. A. Arch. Opth., Chicago, 1954, 51, 686.
7. *Grósz S.*: Kl. Monatsbl. Aug., Frankfurt, 1949, 115, 393—395.
8. *Weissner C. W.*: A. M. A. Arch. Opth., Chicago, 1954, 51, 681—683.

S u m m a r y

Ophthalmological Clinic of the Medical Faculty, Beograd

THE USE OF FIBRIN FILM IN OPHTHALMOLOGY

Dr. Olga Litričin, Dr. Vera Damjanović

In chronic, recidiv and long duration herpetic keratit fibrin, can be a very usefull aid and can shorten the illness when used in addition to other therapeutic measures.

The surface damages to cornea, and small perforative wounds are, in the experience of authors, the main indications for the use of fibrin.

Fibrin application do not cause any subjective disturbances, but on the contrary give the patient a feeling of ease by reducing pain.

The fibrin application technique is not complicated, and it is easy to use in out-patient practice.

Medicinski fakultet — Interna A klinika, Beograd

**PRILOG LEČENJU HIPOPROTEINEMIJA
KOD CIROZA I NEFROZA
(NA INTERNOJ A KLINICI)**

Dr V. Perišić

Bolesnici i metod ispitivanja

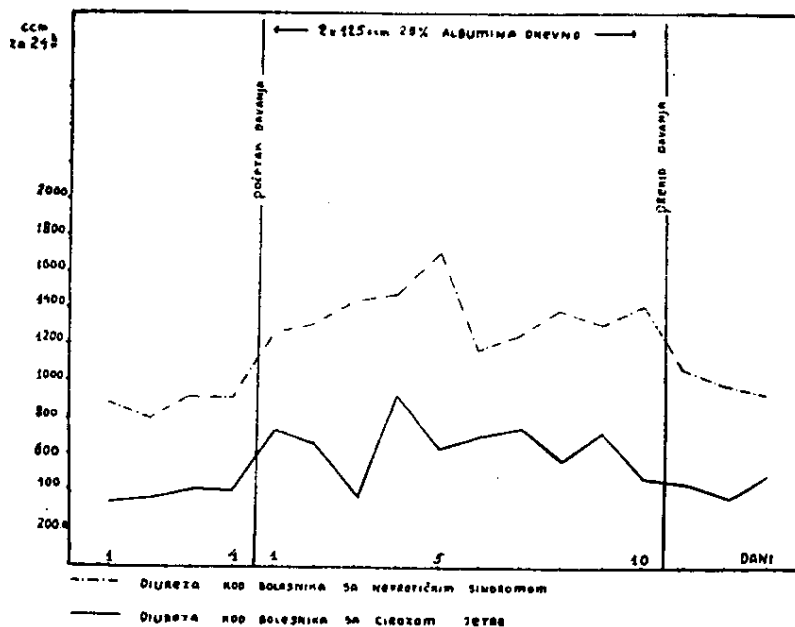
Efekat davanja albumina ispitivan je na I Internoj klinici kod 10 bolesnika, od kojih 5 sa dekompenzovanom cirozom jetre (znaci insuficijencije, ascit, edemi) i 5 bolesnika sa nefrotičkim sindromom kod kojih su hipoalbuminemija, albuminurija, edemi pa čak i ascit kod nekih, uz normalnu ureu u krvi, bili jasno izraženi. Sem u slučaju jedne bolesnice, svim ostalim bolesnicima davan je 20% albumin intravenski sa sadržajem natrijuma ca 0,34 g na 125 ccm.

Rezultati

Efekat albumina na diurezu kod ispitivanih bolesnika bio je znan; pretstavljen je na sl. 1. U većini slučajeva on je dovodio do povećanja diureze za oko 100% u odnosu na prosečno izlučivanje urina pre albuminske primene. Diuretički efekat albumina kod bolesnika sa nefrotičkim sindromom bio je znatno veći od efekta u slučajevima dekompenzovanih ciroza jetre (kao što se vidi iz sl. 1), i dovodio brzo do iščezavanja edema a u nekim slučajevima i ascitične tečnosti, ukoliko je kod tih bolesnika postojala.

Efekat kod ciroza, međutim, na izlučivanje vode putem urina, kao i edemske i abdominalne tečnosti klinički, bio je znatno manji. Izuzetak čine dva od 5 bolesnika kod kojih je ovaj efekat na izlučivanje vode bio jednak dejstvu kod bolesnika sa nefrotičkim sindromom. Jedan od ovih bolesnika bila je pomenuta bolesnica koja je umesto 25%-og primala 20% albumin.

Dejstvo albumina na ukupnu koncentraciju belančevina u serumu, kao i pojedine belančevinske frakcije, bio je znatan kod obe ispitivane



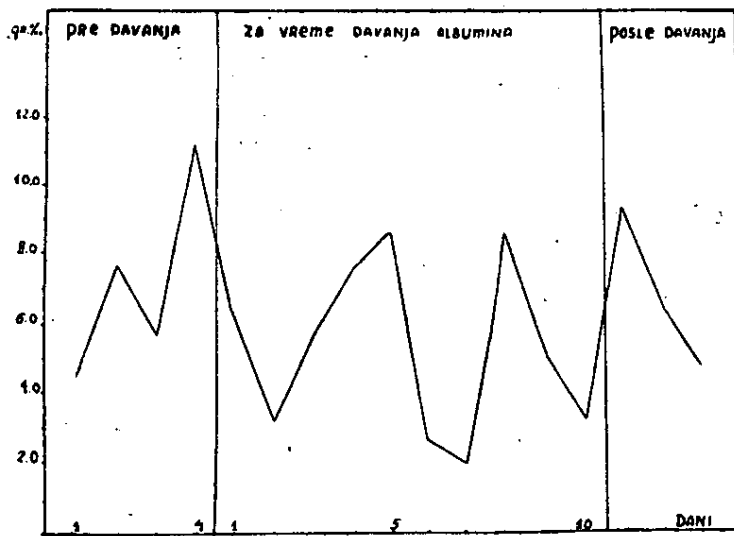
Slika 1

grupe bolesnika. Promene u količini ukupnih belančevina u serumu i promene u sastavu krvnih belančevina najbolje se mogu prikazati grafički (slika 2). Iz slike se vidi postepen porast albuminske frakcije belančevina za vreme davanja albumina kao i neposredno posle prekida davanja, i to kako kod bolesnika sa nefrotičkim sindromom tako i kod bolesnika sa cirozom jetre. Međutim, iako se koncentracije celokupnih belančevina, kao i albumina u serumu, popravljaju u slučajevima bolesnika sa nefrotičkim sindromom, apsolutna vrednost i proteinemije i albumina u serumu, izražene u g%, još uvek znatno zaostaju ispod normalnih vrednosti. (Od prosečno 3,67 g% pre, na 4,36 g% za vreme davanja albumina za celokupne proteine, i od 0,75 g% prosečno pre, na 1,23 g% za vreme davanja za apsolutne vrednosti albumina u serumu). Ako se uzme da je najniža normalna vrednost za albumine u serumu (prema našim elektroforetskim ispitivanjima od 2,93–5,25 g%) 2,93 g%, onda vidimo da su dobijene vrednosti posle lečenja albuminima još uvek bile 2 puta niže od normalnih.

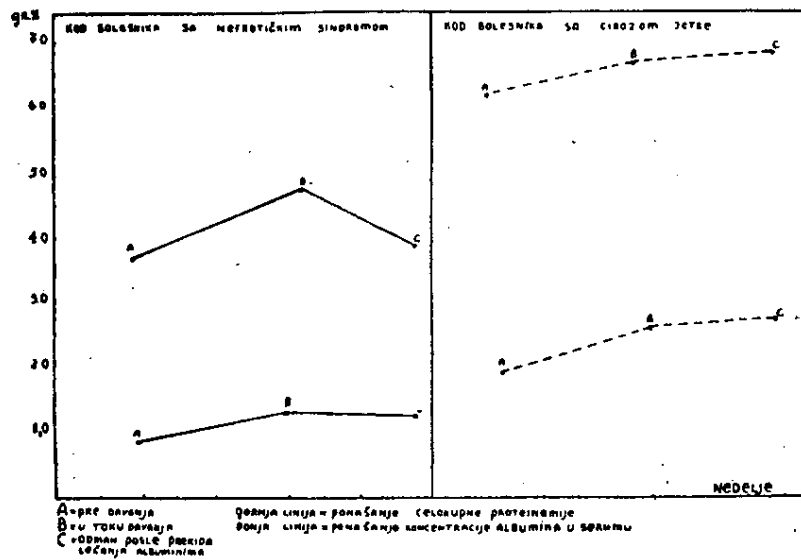
Upoređivanjem ponašanja proteinemije sa ponašanjem albuminurije za vreme davanja albumina (slika 3) videćemo da ona ostaju bez efekta na albuminuriju i da su veća povećanja proteinemije uz veliku albuminuriju neostvarljiva. Međutim, održavanje nesmanjene albuminurije za

Prilog lečenju hipoproteinemija

19



Slika 2



Slika 3

vreme davanja albumina je i razumljivo, s obzirom da oni ne mogu uticati na promenu propustljivosti bubrežnog filtra.

Dejstvo davanja albumina na proteinemiju kod bolesnika sa znatnom portalnom hipertenzijom – kod dekompenzovanih ciroza jetre – mora se posmatrati i sa stanovišta unošenja velikih, koncentrovanih količina azotnih materija, koje u nekim slučajevima mogu biti i štetne. Efekat manje koncentrovanih albumina, koji istovremeno sadrže i manje natrijuma, čini nam se daleko bolji i na diurezu i na popravljanje proteinskog sastava seruma, kao što se i pokazalo u slučaju jedne naše bolesnice.

Slučaj druge naše bolesnice ukazuje na mogućnost da velika koncentracija albumina može biti i od štete za bolesnika sa odmaklom insuficijencijom jetre. Bolesnica je posle nekoliko dana davanja albumina upala u stanje hepatičke prekomе sa pojavom »flapping« tremora i gubitkom svesti. Ovo stanje bolesnice popravljeno je davanjem velikih doza kortizona i prekidom unosa albumina.

Kako su ovakva stanja, posle unošenja velikih količina azotnih materija i njihovog prenošenja kroz veoma oštećenu jetru direktno do centralnog nervnog sistema, već opisana od strane Davison-a i sar. kod ciroze jetre, to smo mišljenja da su velike količine belančevina i u ovom slučaju ciroze jetre dovele do neuroloških pojava i komplikacija.

Zaključak

Ako rezimiramo iznesene rezultate o dejstvu albumina na popravljanje diureze i koncentracije belančevina u serumu, možemo reći da je, uopšte uzevši, davanje albumina u slučajevima hronične hipoproteinemije ispitivano samo kod pomenute dve grupe bolesnika, bilo povoljno. Klinički efekat se ogledao u iščezavanju edema, popravljanju diureze i opšteg stanja bolesnika, a laboratoriski u delimičnom, ponekad znatnom, popravljanju ukupnih belančevina i albumina u serumu. Ovakav efekat je naročito karakterističan za određeni stadijum bubrežnog oboljenja nazvan nefrotičkim sindromom, dok je u slučajevima ciroza jetre dejstvo albumina bilo slabije izraženo. U izvesnim slučajevima ciroze jetre davanje albumina skopčano je sa potencijalnom opasnošću od intoksikacije centralnog nervnog sistema azotnim materijama.

S u m m a r y

Internal A Clinic of the Medical Faculty, Beograd

**THERAPY OF HIPOPROTEINEMIA IN CIRRHOSIS AND NEPHROSIS
(ON THE INTERNAL A CLINIC)**

Dr. V. Perišić

The infusions of albumin in two groups from five patients suffering from chronic hypoproteinemia gave good results manifested with the disappearance of oedema, better diuresis and improved condition of the patients. Laboratory findings show slight and sometimes significant values of higher proteins content. This is especially seen in nephrotic patients with nephrotic sindrom, while in the case of cirrhosis the effect of albumin is weaker. In some cases of cirrhosis the application of albumin is a potential danger for the intoxication of the central nervous system with nitrogen compounds.

Zavod za transfuziju krvi — Beograd

**REZULTATI ISPITIVANJA
MÖGUĆNOSTI KONZERVACIJE ERITROCITA
NA NISKIM TEMPERATURAMA**

J. Pajević, dr B. Simonović, D. Đurović

Otkriće, da glicerol štiti ćelije od razornog dejstva mržnjenja, stvorilo je novo područje za proučavanje mogućnosti konzervacije različitih tkiva na niskim temperaturama.

Radovi Strumia-e, Mollison-a i Slovitera-a na zamrzavanju eritrocita pružili su nam osnovne podatke o metodama konzervisanja ovih ćelija.

Eritrocite izdvojene iz pune krvi posle izdvajanja plazme za sušenje konzervisali smo po metodi Mollison-a (1) na temperaturi od -20 do -25°C . Metoda konzervisanja je veoma jednostavna: smeša eritrocita prethodno opranih fiziološkim rastvorom i rastvorom glicerola (40% u 3,2% natrijum-citratu) drži se prvo 30 minuta do 1 sat na temperaturi od $+4^{\circ}\text{C}$, a zatim se ostavlja u ledenici na temperaturi od -20 do -25°C .

Radi ispitivanja promena citoloških i fizioloških osobina ovako konzervisanih eritrocita, vršili smo, po njihovom otapanju (u kupatilu od 38 do 40°C), niz biohemiskih analiza. Stepem hemolize meren je spektrofotometriški; kapacitet vezivanja kiseonika rađen je po metodi Van Slyk e-a; koncentracije natrijumovih i kalijumovih jona ispitivane su na plamenom fotometru. Posmatran je i bojen razmaz eritrocita; njihova antigena svojstva ispitivana su sa anti-Rh serumima poznatog titra u albuminskoj sredini, a merena je i osmotska rezistenca ovih ćelija.

Rezultati ovih analiza svedoče o tome da ovako konzervisani eritrociti ne menjaju svoje bitne osobine u periodu od nekoliko meseci do godinu dana, i da su, prema tome, sposobni da, ubrizgani u krvotok, aktivno i normalno ispunjavaju svoj zadatak.

Stepen hemolize eritrocita kretao se uglavnom između 5 i 10%, a osetno se povećavao prilikom neprecizne tehnike konzervacije (neravnomeran raspored glicerola u smeši, stvaranje pene, zadržavanje eritrocita na zidovima boce).

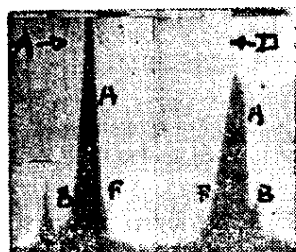
Kapacitet vezivanja kiseonika ovih eritrocita iznosio je prosečno 29,6 ml%.

Sadržaj natrijuma u eritrocitima kretao se između 60 i 70 mg%, a kalijuma između 7,8 i 22,5 mg%. Pad koncentracije kalijuma je reverzibilna pojava i nema nikakvog uticaja na posttransfuziono preživljavanje eritrocita.

Razmazi su pokazivali eritrocite normalnog oblika.

Antigena svojstva ostala su neizmenjena kao i osmotska rezistencija.

Promene u hemoglobinu tokom konzervacije mogu se videti iz sledeće slike:



Elektroforeza levo pokazuje ascendentnu i descendentnu krivu hemoglobina krvi, konzervisane u periodu od 15 dana, gde se jasno uočavaju tri komponente, dok četvrta (neoznačena) predstavlja anomaliju. Kod slike desno vidimo da su se sve komponente spojile u jednu i da sam hemoglobin predstavlja gotovo jednu jedinu komponentu, što se uostalom podudara sa ranije publikovanim radovima o krvi konzervisanoj u raznim sredinama (2, 3).

Preživljavanje eritrocita u organizmu pratili smo Ashbie-vom metodom, sa naporednom kontrolom hemoglobina u Fischer-ovom hemoglobinometru.

Otopljenu smešu eritrocita i glicerola pripremali smo za transfuziju na dva načina.

Metoda sukcesivnog pranja. — Posle centrifugovanja i odbacivanja supernatanta eritrociti su prani sukcesivno u rastvorima sve manjih koncentracija glicerola (16, 8, 4 i 2%) i na kraju fiziološkim rastvorom. Transfuzije ovako pripremljenih eritrocita, koji su bili konzervisani u roku od 1–4 meseca, dali smo na nekim klinikama i u ovom Zavodu. Nijedna od ovih transfuzija nije dala nikakvu reakciju, već su prouzrokovale odgovarajuće poboljšanje broja eritrocita i koncentracije hemoglobina.

Metoda po Sloviter-u (4). — Smeša otopljenih eritrocita, 50% glikoze i fiziološkog rastvora ubrizgana je u krvotok psa, koji je ovu transfuziju podneo bez ikakvih nepovoljnih reakcija.

Primena eritrocita čuvanih na niskim temperaturama. — Ukupan broj lica koji je primio dugo čuvane eritrocite bio je 6. Njima smo transfundovali po 180 ccm eritrocita pripremljenih kako je već ranije opisano, starosti od 1—4 meseca. Pre svake transfuzije rađena je kompletna inter-reakcija, budući da su primaoci ranije primali po oko 50 injekcija krvi. Ovo poslednje je baš i bio jedan od razloga što smo za transfuziju upotreabili lica koja su ranije senzibilizovana. Mora se reći da je svih 6 transfuzija prošlo bez znakova inkompatibilnosti, izuzev jedne gde se pojavila pirogena reakcija lakog stepena (drhtavica, povišena temperatura do 38°C). Od interesa je činjenica da je krv stara preko 4 meseca bolje preživela u organizmu negoli neke od svežijih. Ovo nismo očekivali, utoliko pre što su u hemoglobinu eritrocita postojale promene koje se obično javljaju kod starije konzervisane krvi čuvane na klasičan način.

Dalje je od interesa, da je pirogena reakcija bila potpuno bez uticaja na preživljavanje eritrocita. Opadanje broja preživelih eritrocita u primaocu tokom vremena bilo je postepeno, kao i kada je data potpuno sveža krv, ili eritrociti čuvani u zamrznutom stanju za vreme do mesec dana.

Naglu destrukciju i kratak život eritrocita imali smo u jednom slučaju gde je data transfuzija eritrocita čuvanih u zamrznutom stanju za manje od mesec dana.

Destrukcija je išla tako naglo da je posle 21-og dana ostalo svega oko 20% transfundovanih eritrocita. Kod ostalih, bilo je zaostalih transfundovanih eritrocita između 50 i 70%, sa prosekom od 60%.

Posle transfuzije hemoglobin je ispitivan u toku dva meseca svakih 7 dana kod 5 primalaca. Od interesa je, isto tako, da je posle unošenja eritrocita povišen i hemoglobin, tako da je krajnje povišenje iznosilo prosečno 2 g%. Na tom nivou je hemoglobin stabilizovan i ostao je i posle dva meseca. U slučaju kod koga je opisan nagli pad broja preživelih eritrocita hemoglobin je takođe pao na staru vrednost već posle 5-og dana i održan je na toj visini sve do nove transfuzije, kada je on povišen za 2 g%, na kojoj visini je održan i posle mesec dana.

Zaključak

Čuvanjem eritrocita na niskim temperaturama uspeva se da se njihov život produži bez znatnijih promena. Ovako transfundovani eritrociti preživljavaju u roku koji je poznat kao normalan za konzervisanu krv.

LITERATURA

1. *Mollison P. L.*: Ve Congrès International de Transfusion Sanguine, Paris, 1954, p. 759.
2. *Chanutin A., Berry E.*: J. Clin. Invest., 36:225, 1957.

3. *Chanutin A., Berry E.*: Proceedings of the Sixth Congress of the International Society of Blood Transfusion, Boston, Mass., 3—5 sept. 1956; Ed.: L. Holländer, Basel—Karger, str. 322, 1958.

4. *Sloviter H. A.*: Ve Congrès International de Transfusion Sanguine, Paris, 1954, p. 785.

S u m m a r y

Biochemical Department of the Blood Transfusion Institute, Beograd

CONSERVATION OF ERYTHROCYTES AT LOW TEMPERATURE

J. Pajević, Dr. B. Simonović, D. Djurović

Storage at low temperature can prolong the red cell's life span. During this storage the red cells do not undergo any important changes.

These red cells have the post-transfusional survival which is known for the stored ACD blood.

Zavod za transfuziju krvi — Zagreb

SLUČAJ POLIAGLUTINABILNOSTI
KOD AKUTNE AKVIRIRANE HEMOLITIČKE ANEMIJE

Dr Mirjana Latal-Duančić

Poznato je da ima patoloških stanja kod kojih se javljaju poteškoće u određivanju krvne grupe. U praksi se ipak rijetko događa da se krvna grupa ne može uopće odrediti. U materijalu našeg Zavoda zabilježen je svega jedan takav slučaj, kojega želimo prikazati.

Radi se o krvi bolesnice koja je ležala na internom odjelu jedne naše bolnice pod kliničkom dijagnozom akutne akvirirane hemolitičke anemije, i gdje nismo bili u stanju odrediti krvnu grupu.

Osim snažnih auto- i izoantitijela u serumu, u našem slučaju bila je neobično izražena poliaglutinabilnost eritrocita bolesnice.

Poliaglutinabilnost je imunološki fenomen koji se opisuje kao prolazna pojava kod raznih patoloških stanja. U izvjesnom broju slučajeva radi se o očitoj infekciji. Taj se fenomen susreće i kod akviriranih hemolitičkih anemija s autoantitijelima. U tu grupu spada i naš slučaj.

Reakcije slične onima koje daju poliaglutinabilni eritrociti mogu uslijediti i u slučaju panaglutinabilnosti (Hübener-Thomsen-Friedenreich-ov fenomen). Navedeni fenomen se javlja kod eritrocita koji nisu svježi, gdje je došlo do onečišćenja in vitro sa izvjesnim bakterijama koje svojim enzimima oštećuju površinu eritrocita. Kad se tako promijenjeni eritrociti stave u kontakt s ljudskim serumima, dolazi do aglutinacije.

U našem slučaju takva infekcija nije dolazila u obzir.

Većina autora smatra da uslijed djelovanja enzima na površinu eritrocita dolazi do aktivacije T-antigena. Neki pak autori pretpostavljaju stvaranje novog antigena. Međutim, prava je priroda panaglutinacije još uvijek nepoznata.

Dakako da poliaglutinabilnost izaziva poteškoće u određivanju osnovne krvne grupe. Pažljivim uspoređivanjem nalaza sa test-serumom i test-eritrocitima izbjegava se općenito mogućnost grešaka. U našem slučaju to nije bilo moguće zbog jakih promjena i u serumu bolesnice.

Prikaz slučaja

Radi se o bolesnici koja je naglo oboljela sa visokom temperaturom, tresavicom i ikterusom. Od nalaza spominjemo jaku anemiju, ispod 1,000.000 eritrocita, Hb 20, jaku retikulocitozu i pozitivan indirektni bilirubin.

Naši nalazi:

Kod određivanja krvne grupe sa test-serumima na predmetnom stakalcu dobili smo svagdje snažnu aglutinaciju. Zatim smo pokušali odrediti krvnu grupu uobičajenom metodom u epruveti. U svim epruvetama dobili smo podjednako jaku aglutinaciju. To smo ponovili sa tri puta pranim eritrocitima na raznim temperaturama (20°, 37° i 4°). Nalaz je bio nepromijenjen. Kod dodavanja test-eritrocita serumu bolesnice dobili smo također snažnu aglutinaciju.

Pokušali smo da odredimo Rh faktor bolesnice i dobili smo aglutinaciju. Nalaz nismo mogli smatrati pouzdanim, jer su svi serumi koje smo dodavali eritrocitima bolesnice aglutinirali iste.

Direktni Coombs-ov test bio je jako pozitivan, a indirektni Coombs-ov test kod inkubiranja na 37° negativan. Indirektni Coombs sa koncentriranim AHG serumom i na nižim temperaturama nije rađen.

Napravili smo pokus autoaglutinacije na predmetnom stakalcu (jako pozitivan) i u slanoj sredini sa nepranim i pranim eritrocitima, na raznim temperaturama (20°, 37° i 4°). Autoaglutinacija je bila na svim temperaturama podjednako jaka.

Kod kontrolnog pregleda nakon tri tjedna krvni nalazi su se vidno promijenili. Uspjeli smo odrediti krvnu grupu i Rh faktor na pločici i u epruveti sa tri puta pranim eritrocitima bolesnice. Bolesnica je pripadala krvnoj grupi B, Rh pozitivna. Direktni i indirektni Coombs-ov test bio je negativan. Autoaglutinacija praktički negativna, mjestimično samo u tragu.

Klinički je stanje bolesnice bilo znatno poboljšano.

Zaključak

Prikazan je slučaj poliaglutinabilnosti kod akutne akvirirane hemolitičke anemije.

Smatramo da iznešeni slučaj ima praktično značenje kao prilog upoznavanju poteškoća koje se javljaju kod određivanja krvnih grupa.

LITERATURA

1. Jean Dausset: *Immuno-hématologie biologique et clinique*, Paris, 1957.
2. E. A. Kabat: *Blood group substances*, New-York, 1956.
3. Peter Dahr: *Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion*, Stuttgart, 1952.

4. *L. H. Rasch*: Lehrbuch der Blutgruppenkunde, Berlin, 1954.
5. *L. Heilmeyer, F. Hahn, H. Schubothe*: Hämolitische Anämien auf der Basis abnormer serologischer Reaktionen, *Klin. Wchschr.* 24—25, 193—205, 1947.
6. *Basil-Jones*: An agglutinable factor in red blood cells, *Nature* 1957, 802, 1946.
7. *G. de Murali, R. Hässig, H. Reynier*: Un cas de polyagglutinabilité transitoire des érythrocytes chez une patiente du groupe A, *Revue d'hématologie*, Tome 7, 1952.
8. *P. Chevallier, G. Bilski-Pasquier, A. Eyquem, M. Saint-Paul*: Étude immuno-hématologique d'une anémie hémolitique acquise, *Sem. Hôp.* 30, 4351—4354, 1954.

Summary

Blood Transfusion Institute, Zagreb

A CASE OF POLYAGGLUTINABILITY OF RED CELLS IN A CASE OF ACQUIRED HAEMOLYTIC ANEMIA

Dr. M. Latal-Duančić

A case of polyagglutinability of red cells in a case of acquired haemolytic anaemia is described. It was very difficult to test ABO and Rh blood groups from the patient. Autoagglutination of patient's erythrocytes was very strong at room, thermostat and of refrigerated temperatures.

Zavod za transfuziju krvi — Beograd

IZDVAJANJE NESPECIFIČNOG ANTITELA IZ SALIVE NESEKRETORA

Aleksandar Mitrović

Mogućnosti pojave antitela u nekim organskim tečnostima odavno su poznate. Poznato je takođe da se ova mogu naći, pored seruma, u cističnoj tečnosti i mleku (1, 2). Za salivu se zna da poseduje antitelo koje inhibira rast bakterija (3). Ovo antitelo osetljivo je na visoke temperature, otporno na niske, rastvorljivo u vodi, a precipituje se acetonom, alkoholom i hloroformom. Sem toga, poznato je da se aglutinišuća moć jednog seruma može pojačati tretiranjem kiselinama (4).

Kombinacijom izdvajanja antitela iz pljuvačke i pojačanjem njegove aglutinabilnosti kiselinama, hteli smo da ispitamo osobine ovog inhibitora u pljuvački.

Metode

Na 100 ccm pljuvačke nesekretora dodato je 10 ccm N/10 HCl, 10 ccm etiletra, 10 ccm etilnog 95% alkohola i 2 ccm koncentrovane azotne kiseline (pa), i mešavina je centrifugovana za 30 min. pri 5000 obrtaja/min. na temperaturi od +4° u centrifugi sa hlađenjem. Gornja tečnost se otpipetuje i odbaci, a talogu se doda 50 ccm fosfat-pufera pH 7.7, ostavi da stoji 15 minuta uz često i snažno mućkanje i filtruje kroz filterpapir.

Posle dobijanja bistre tečnosti načini se serija razblaženja za probu aglutinacije (u fiziološkom rastvoru) i na hranljivim podlogama (za inhibicionu probu rasta bakterija).

Atsorpcija je vršena sa opranim ABO eritrocitima na uobičajeni način.

Eritrociti za rad uzimani su od ljudi, pasa, zečeva i svinja, prani tri puta i suspendovani u fiziološkom rastvoru, kada je to bilo potrebno.

Za ispitivanje dejstva fermenta upotrebljavani su tripsin (C & B, USA) i dijastaza (BDH — London).

Rezultati

Kada je materija dobijena iz pljuvačke dovedena u kontakt sa eritrocitima ABO grupe ljudi, eritrocitima pasa, zečeva i svinja, tada je na pločici u roku od pet minuta dobijena aglutinacija sa svim eritrocitima, sem sa svinjskim. Pri tome nije bilo neke određene specifičnosti u pogledu A, B ili O (H) aglutinabilnosti. Isto tako, kada je rađeno sa pljuvačkom od nesekretora raznih grupa, supstanca iz salive nije pokazivala neku specifičnost. Međutim, kada je supstanca dovedena u kontakt sa purifikovanim proteinima plazme, albuminom, humanim gama-globulinom i fibrinogenom, dobijen je posle stajanja od 1 h. masivni precipitat.

Posle apsorpcije pomoću eritrocita A, B, AB ili O, kao i posle apsorpcije zečjim eritrocitima i eritrocitima psa, supstrat je gubio svoje osobine da reaguje sa svim gore pomenutim eritrocitima. Ali, posle apsorpcije sa svinjskim eritrocitima serum nije gubio svoje osobine.

Na podlogama supstanca izolovana iz pljuvačke pokazivala je jako bakteriostatsko dejstvo (u razblaženju 256) za rast na hranljivim podlogama bacila suptilisa, tetani, ozene i strepto- i stafilokoka. Temperatura od 100°, tripsin i dijastaza uništavaju sve gornje osobine pomenutog antitela.

Sumarni pregled

Tretiranjem kiselinama i alkoholom pljuvačke nesekretora A, B, AB i O grupe izolovana je supstanca koja je nespecifično aglutinisala sve eritrocite ljudi, zečeva i pasa, dok svinjski eritrociti nisu stupali u reakciju sa ovom supstancom. Supstanca je precipitovala albumin, gama-globulin i fibrinogen u prečišćenom stanju. Apsorpcijom eritrocitima ljudi (A, B, AB i O grupe), zečjim i pasa supstrat je bio inaktivisan, dok eritrociti svinja nisu uspeli da ga inaktivišu. Supstanca je pokazivala inhibiciju rasta raznih bakterija na hranljivim podlogama (suptilis, b. tetani, strepto-, stafilokoke). Temperatura od 100°, tripsin i dijastaza uništavaju supstancu.

LITERATURA

1. *Morgan*: Brit. J. Exp. Path., 5:25, 1944.
2. *Dold*: Med. Clin., 42:45, 1947.
3. *Landsteiner*: The Specificity of Serological Reactions, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mas., USA, 1946.

Summary

Blood Transfusion Institute, Beograd

THE ISOLATION OF A NONSPECIFIC ANTIBODY FROM
THE NON-SECRETORS SALIVA

A. Mitrović

The author succeeded isolating antibodies from the saliva of A, B, O, AB non secretors with the aid of the acids and ethanse antibodies. The erythrocytes of all groups of men, rabbits and dogs were agglutinated with these antibodies. The erythrocytes of swine were not agglutinated. The antibodies also showed precipitin reaction with purified albumin, gamma-globulin and fibrinogen. Absorption with human, rabbits and dogs erythrocytes inhibited the antibodies, but erythrocytes from swine did not do so. The antibodies showed inhibition for the growth of some bacteria in bacteriological media.

Zavod za transfuziju krvi — Beograd

ANTI-A₁ ANTITELO U SERUMU PASA

Aleksandar Mitrović

Prisustvo antitela specifičnih za grupne antigene, sličnih antitelima u ljudskom serumu, davno je identifikovano. Landsteiner i dr. (1) našli su da zečji serum može da poseduje anti-P antitela. Young i drugi su to utvrdili kod pasa (2), Witbsky i Okabe kod preživara (3), a otkrivena su antitela i kod drugih životinja.

Prilikom naših ispitivanja mi smo hteli da utvrdimo specifičnost antitela u serumu pasa i da eventualno praktično iskoristimo pojedina antitela.

Materijal i metode

Posle uzimanja krvi od pasa, serum je izdvajan posle stajanja krvi od 24 h. u ledenici. Za ispitivanje specifičnosti antitela uzimani su poznati A₁, A₂, B, O, A₁B i A₂B eritrociti koji su prani tri puta u fiziološkom rastvoru.

Za kontrolu specifičnosti seruma načinjena je 2% suspenzija eritrocita, dok su za apsorpciju seruma upotrebljavani koncentrovani eritrociti.

Probe na antitela su rađene na sobnoj temperaturi, u termostatu (+37°) i u ledenici (+4°), dok je apsorpcija rađena na sobnoj temperaturi za 2 h. i za 24 h. u ledenici, posle čega je mešavina eritrocita i seruma centrifugovana, serum izdvojen a sediment odbačen.

Titracija seruma je rađena u slanoj i albuminskoj sredini, pomoću Coombs-ovog testa i encimske probe.

Rezultati i diskusija

Proba specifičnosti seruma po opisanim metodama pokazala je da serum psa aglutiniše sve eritrocite, uključujući i eritrocite grupe O. Aktivnost ove reakcije je bila veoma slaba jer eritrociti nisu bili aglutinisan u titru seruma višem od 4 (w), samo je aktivnost seruma za eritrocite

A₁ i A₁B išla do titra 512 sa Coombs-ovim serumom i pomoću eritrocita tretiranih fermentima (u slanoj sredini titar je bio 256!).

Serum je pokazivao najveću specifičnost za A₁ eritrocite, dok je istovremeno pokazivao i slabu anti-O aktivnost. Od interesa je baš da serum nije pokazivao anti-H već pravu anti-O reakciju, koja nije bila tako jaka da bi poslužila za rad. Anti-B aktivnost seruma je bila veoma lako inhibirana odgovarajućim eritrocitima.

Potpuna apsorpcija A₂, A₂B, B i O eritrocitima dala je serum koji je specifično, veoma lepo, reagovao sa A₁ eritrocitima do razblaženja 128.

Sumarni pregled

U serumu psa nađena je anti-A, B i O aktivnost. Posle apsorpcije ostalih antitela ostalo je anti-A₁ sa titrom 128.

LITERATURA

1. Landsteiner, Levine: J. Immunol., 20:179, 1931 i 18:87, 1930.
2. Young et al.: J. Immunol., 66:37, 1951.
3. Witebsky, Okabe: Klin. Wochschr., 6:1095, 1927.

S u m m a r y

Blood Transfusion Institute, Beograd

THE ANTI-A₁ ANTIBODY IN DOG SERA

A. Mitrović

The sera from dogs showed anti-A, B and O activity. After absorption of some antibodies, some sera showed high anti-A₁ potency.

Zavod za transfuziju krvi — Beograd

MIKROIMUNOELEKTROFOREZA

I. DOBIJANJE, IZBOR I KONTROLA ANTI-SERUMA ZA NEKE PLAZMA I SERUM-PROTEINE

Lj. Kostić-Todorović, dr B. Simonović, S. Brajović, V. Tibi

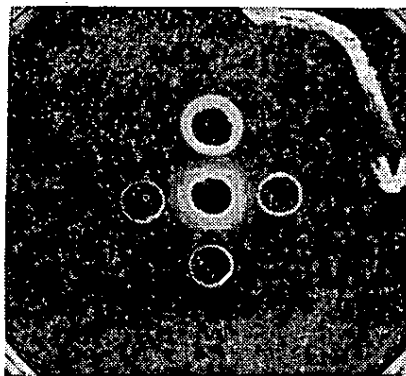
Imunoelektroforeza pretstavlja sredstvo u identifikaciji reakcije precipitacije antigena pomoću specifičnog antitela. Pri tome elektrostatske snage vrše razlaganja antigena na njegove komponente, posle čega ove stupaju u reakciju sa odgovarajućim antiserumom. Prema tome, za imunoelektroforezu uopšte, bitno je da se za odgovarajući antigen pripremi odgovarajući antiserum.

Kada se u Petrijevu kutiju stavi agar, u jedan otvor u centru antiserum, a okolo antigeni različitih vrsta, tada će antiserum i antigeni lagano difundirati kroz sredinu i na mestima gde se sretnu antigen sa odgovarajućim antiserumom pojaviće se jasna bela traka koja označava specifičnost reakcije precipitacije (1). Na sličan način ista reakcija se može izvesti u epruvetama, s tom razlikom što će se zone precipitacije javiti na granicama dodira antigena i antitela (2).

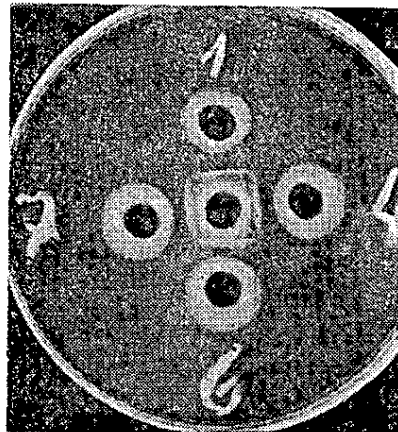
Ako se antigen stavi prema anodnom kraju jedne ploče od stakla prekrivene agarom, posle propuštanja struje dobija se razvijena slika toga antigena, što zavisi od broja njegovih komponenata i vremena propuštanja struje. Ako se posle razvijanja antigena stavi serum, ovaj će reagovati sa onim komponentama za koje poseduje odgovarajuće antitelo. Ako smo kao antigen uzeli serum i posle razvijanja seruma dodavali antiserum (serum protiv seruma), tada se može dobiti više komponenata nego što se dobija klasičnom Tizelijus-ovom ili papirnom elektroforezom (3, 4, 5, 6).

U već sada klasičnoj metodi imunoelektroforeze (3, 4) postoji jedan krupan nedostatak: reakcija se odvija veoma sporo, tako da je za definitivni rezultat potrebno čekati često puta i 14 dana. Sem toga, potrebno je dosta materijala, i pitanje je da li je celishodno čekati toliko vremena sa toliko utroška. Dosadašnja iskustva govore da je ovo moguće uraditi na mikroskopskoj pločici sa mnogo manje materijala, utroška vremena i struje.

U izboru životinja za imunizaciju odlučili smo se za kokoške pošto one veoma brzo proizvode precipitine, sem toga potreban je mali broj imunizacija da bi se dobili odgovarajući antiserumi (7, 8). Upotrebom kokošaka za imunizaciju mi smo dosada dobili anti-gama-globulin serum (9), anti-serum, anti-plazma i anti-dekstran serum. Pomoću ovih seruma dosada su vršena razna ispitivanja sa kliničkim i eksperimentalnim materijalom i o tome neće biti reči na ovom mestu. Ovde bi hteli da iznesemo samo neke rezultate dobijanja i kontrole ovih seruma.



Slika 1. — Reakcije antiseruma (u centru) sa različitim koncentracijama gama-globulina. Idući od gornjeg kruga prema putu strelice postavljene su koncentracije gama-globulina: 2%, 0,2, 0,1 i 0,05 g%.



Slika 2. — Anti-gama serum (D:K) i razni normalni ljudski serumi. Brojevi označavaju numeraciju upotrebljenog seruma.

Materijal i metode

Humani gama-globulin je dobijen kao 16% rastvor od Odeljenja za frakcije plazme Zavoda za transfuziju krvi. Pripremljen je po modifikaciji Cohn-ove metode (10, 11).

Serum je predstavljao mešavinu raznih seruma od zdravih osoba.

Plazma, koja je služila kao antigen za imunizaciju kokošiju, predstavlja isto tako mešavinu plazme zdravih osoba, izdvojene iz krvi uzete u ACD rastvoru.

Životinje. — Za imunizaciju smo upotrebili 5 kokošaka i 15 petlova soja Roc-Island, starih od 6–12 meseci.

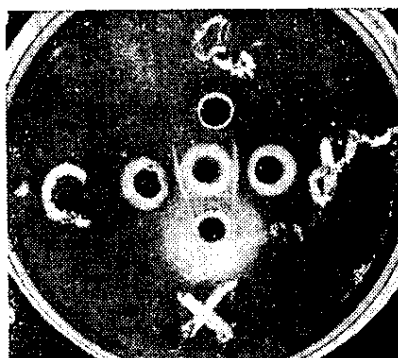
Za dobijanje anti-seruma i anti-plazma seruma upotrebili smo po pet petlova.

Imunizacija. — Antigen je ubrizgavan tri puta nedeljno, sa razmakom od nedelju dana između svake serije novih injekcija. U slu-

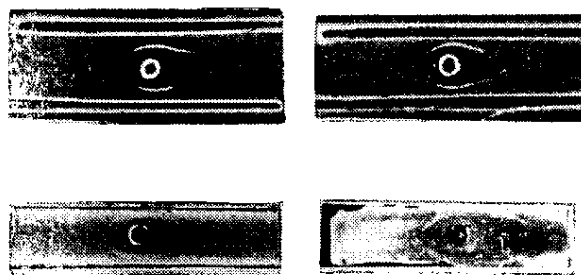
čaju da je serum bio zadovoljavajući od životinje je uzimano 10 ccm pune krvi, posle čega je, radi održavanja titra, životinja primila novu seriju injekcija. Samo izuzetno životinje su žrtvovane.

Agarne pločice. — Uziman je 3% agar i stavljan na mikroskopsku pločicu u debljini od 1 mm. Pomoću debele igle za venepunkciju, čiji je vrh presečen, načinjen je u centru otvor za antigen. Oštrim žiletom, prema poprečnim krajevima pločice, na oko 5 mm od ivica, načinjeni su kanali (40×1 mm).

Elektroforeza. — U centar agarne pločice stavlja se antigen i za vreme od 15 minuta propušta struja jačine 250 V i 8–16 mA. U kanale se stavlja antiserum i pločica ostavlja u kutiju u koju je stavljan vlažan filterpapir (da bi se izbeglo naglo sušenje). Prvi znaci reakcije čitaju se već posle 6–8 časova, dok se definitivni rezultat dobija trećeg dana.



Slika 3. — Anti-gama-serum sa raznim antigenima. Gore (a) albumin, zatim slede gama-globulin (g), hemoglobin (X) i normalni ljudski serum (c).



Slika 4. — U gornjem redu u centru 2% gama-globulin, u kanalima leve pločice jedan anti-gama-serum (D₁ K), kod desne (drugi serum). Dole, levo, preparat bojen Azokarminom-G, desno, Amidoschwartz-om.

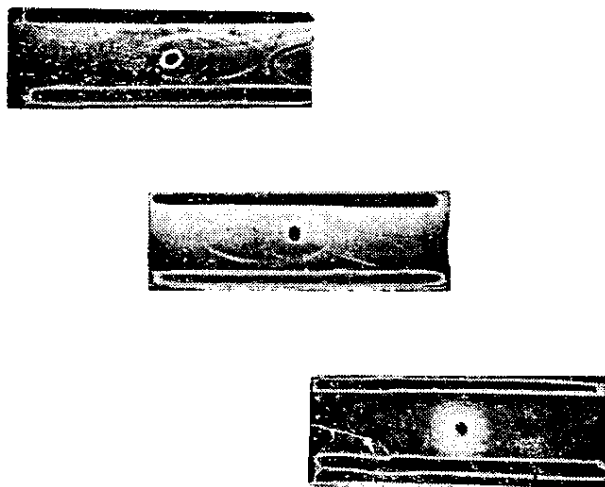
Rezultati

Od 20 životinja imunizovanih gama-globulinom u prvih mesec dana dobili smo serum od 7. Pojava antitela manifestovala se pozitivnim rezultatima dobijenim: Coombs-ovim testom, Coons-ovom precipitin-probom, difuzionom metodom u Petrijevoj kutiji i epruveti. Imunoelektroforetski dobijena je jasna komponenta već posle 8 časova od postavljanja anti-seruma.

U ispitivanju specifičnosti antiseruma upotrebene su sve pomenute metode i različiti antigeni. Pre svega, upotrebjeni su antigeni koji su trebali da daju specifičnu reakciju: serum i gama-globulin. Od nespecifičnih antigena upotrebjeni su albumin, hemoglobin, alfa i beta lipoproteini i fibrinogen. Fibrinogen ovde upotrebljavan pripremljen je na specijalan način, tako da je predstavljao 99% čisti preparat.

Reakcije sa pojedinim antigenima pokazale su visoku specifičnost anti-gama seruma. Ovaj je davao jasne reakcije i u koncentracijama od 0,05 g%, dok je sa raznim ljudskim serumima davao reakcije različitog intenziteta (vidi sl. 1, 2, 3, 4).

Što se tiče anti-plazma i serum-seruma, oni su davali različite slike i sa različitim antigenima. Karakteristično je za oba seruma, bilo da je anti-plazma ili anti-serum, da daju reakcije sa prečišćenim fibrinogenom u obliku dvostruke linije precipitacije.



Slika 5. — Serum anti-serum u gornjim kanalima, u donjim anti-gama-globulin (prve dve slike). Kao antigen (u centru) poslužio je gore normalni ljudski serum, dole serum tuberkuloznog pacijenta. Treća slika dole predstavlja čist fibrinogen u kontaktu sa anti-plazma i anti-serum serumima.

Zaključak

Za pojedine komponente ljudske plazme, kao i za celu plazmu, moguće je dobiti specifične precipitirajuće antiserume, uz pomoć kojih je moguće imunoelektroforetski razviti pojedine antigene.

ADDENDUM

Bojenje preparata

Posle razvijanja precipitacije (oko 3-eg dana) preparat se stavlja na površinu suvog sterilizatora koji je već zagrejan. Kada je preparat sasvim osušen, stavlja se da stoji tačno 5 minuta na 100°C u suvom sterilizatoru, posle čega se vadi i hladi. Ohlađen preparat se stavlja u Azocarmin-G, dvostruko jače koncentracije od one koja se upotrebljava za papirnu elektroforezu, i stoji do 1 sat. Odbojavanje se postiže u višestrukim izmenama destilovane vode, pri čemu zone precipitacije ostaju jasno obojene. Najbolji rezultati se postižu kada se za svako bojenje pravi novi rastvor Azocarmin-a.

LITERATURA

1. *Oucterlony O.*: Acta, Path. Microbiol. Scand., 32:231, 1953.
2. *Oudin J.*: Compt. Rend. Acad. Sc., 228:1890, 1949.
3. *Grabar P., Williams C. A.*: Biochim. Biophys. Acta, 10:193, 1953.
4. *Grabar P., Williams C. A.*: J. Immunol., 74:158, 1955.
5. *Grabar P., Williams C. A.*: J. Immunol., 74:391 i 397, 1955.
6. *Gitlin D., Hitzig W., Janeway Ch.*: J. Clin. Invest., 35:1199, 1956.
7. *Goodman M. & al.*: J. Lab. Clin. Med., 49:151, 1957.
8. *Goodman M. & al.*: J. Lab. Clin. Med., 50:758, 1957.
9. *Janković, Simonović, Linkoln*: Vox Sanguinis (u štampi).
10. *Cohn et al.*: J. A.: Chem. Soc., 68:459, 1946.
11. *Radovanović N.*: Simpozijum o zamenicima za plazmu i plazma derivatima, Varšava, Decembar 1957.

Autori odano zahvaljuju dr Skvaržil-u iz Centra za transfuziju krvi u Pragu, za neke bitne podatke i njegova iskustva u pogledu mikroimuno-elektroforeze.

Summary

Biochemical Department of the Blood Transfusion Institute, Beograd

MICROIMMUNOELECTROPHORESIS

I. Preparation, selection and control of anti-sera for some plasma and serum proteins

Lj. Kostić, Dr. B. Simonović, S. Brajović, V. Tihi

With some chicken anti-gamma globulin, anti-plasma and anti-serum sera research workers succeeded to develop specific precipitin reaction using agare microscopique slide technique electrophoresis. The reaction is specific except with fibrinogen which gave two precipitine lines with all sera. Albumin, alfa, beta and gamma globulin gave reactions with specific sera only.

Zavod za transfuziju krvi — Beograd

PRIMENA KRV I KRVNIH DERIVATA U LEČENJU HEMOFILIJE

Dr Z. Rolović

U toku poslednjih nekoliko godina dogodile su se značajne promene kako u shvatanju hemofilije tako i u njenom lečenju.

Sve do nedavno hemofilija je bila shvaćena kao određeno oboljenje sa karakterističnom simptomatologijom i naslednošću, prouzrokovano nedostatkom jednog specifičnog proteina plazme. Međutim, novija saznanja o koagulaciji a naročito o stvaranju krvnog tromboplastina izmenila su ovo shvatanje tako da je danas opšte prihvaćeno gledište, da termin hemofilija podrazumeva grupu oboljenja kod kojih su kliničke manifestacije prouzrokovane izolovanim ili kombinovanim nedostatkom specifičnih plazminih globulina, tzv. antihemofilnih faktora, koji su neophodni za normalan rad koagulacionog mehanizma.

Ovi faktori su otkriveni i potvrđeni od strane niza autora. Još 1936 godine su Patek i Stetson (1), u eksperimentu koji se smatra danas klasičnim, dokazali da nedostatak jednog globulina — čije su karakteristike kasnije drugi istraživači još detaljnije proučili — dovodi do klasične hemofilije ili hemofilije A francuskih autora.

Godine 1952 opisali su Aggeler i White (2) pod imenom P. T. C. — deficita, a potpuno nezavisno od njih Biggs-ova i saradnici (3) pod imenom Christmas-ove bolesti, hemoragični sindrom koji protiče pod slikom hemofilije, kod koga je dokazan nedostatak jednog drugog specifičnog globulina nazvanog najčešće AHG-B.

Svega nekoliko meseci kasnije Rosenthal i sar. (4) opisuju novi hemoragični sindrom koji se po svojoj kliničkoj slici i naslednim osobinama donekle razlikuje od klasične hemofilije, ali se može smatrati njenim varijetom. Kod ovog sindroma je otkriven nedostatak jednog novog faktora koji se inače nalazi u plazmi normalnih osoba. Njegovo najšire prihvaćeno ime je AHG-C.

I na kraju, postoji pokušaj da se dokaže prisustvo još jednog faktora potrebnog za stvaranje tromboplastina [Spaet i Aggeler] (5), faktora AHG-D, mada dosada još nije opisan hemoragični sindrom uslovljen njegovim nedostatkom.

Ako se izuzmu vrlo retki slučajevi hemofilije C i napomene da lečenje hemofilije B ne zadaje velike teškoće, onda se može reći da je terapijski problem usredsređen na pitanje lečenja klasične hemofilije, tj. hemofilije A.

Lečenje hemofilije danas se svodi jedino na davanje krvi i krvnih derivata. Ostala sredstva starijeg i novijeg datuma kao što su: koagulen, kongocervenilo, histamin, estrogene, ekstrakt placente itd. nemaju nikakvo ili veoma slabo i nesigurno dejstvo. Kortizon se upotrebljava jedino kao dopunsko sredstvo, i to u specijalnim slučajevima uspostavljanja refraktarnog stanja na dotadašnju terapiju.

Osnovni cilj u lečenju hemofilije je da se popravi hemostatični defekat obolelog unošenjem AHG u efikasnim vrednostima i da se na taj način zaustavi krvarenje, a u slučajevima znatne iskrvavljenosti da se nadoknadi izgubljena krv.

S obzirom da je faktor koji nedostaje prisutan u normalnoj humanoj plazmi, izgledalo bi da je pitanje lečenja jednostavno. Međutim, terapija hemofilije postavlja niz problema koji proističu iz fizikohemiskih svojstava AHG i njegovog ponašanja u organizmu obolelog. Tu na prvom mestu dolazi pitanje izvornog materijala, tj. oblika u kome će ovaj faktor biti unesen u organizam obolelog, njegova efektivna doza koja je u stanju da obezbedi potpuni hemostatični efekat, i problem uspostavljanja refraktarnog stanja u toku terapije.

Kao izvor AHG stoji na raspoloženju sveža krv, sveža, zamrznuta ili sušena plazma, prva frakcija po Cohn-u i u novije vreme AH koncentrat humanog i životinjskog porekla.

Sveža krv, a još mnogo više sveža plazma, predstavlja još uvek jedan od najčešće upotrebljenih izvora. Svakako da je njihova koncentracija u AHG-u najveća a sredina u kojoj se AHG nalazi najpovoljnija i najbliža uslovima u organizmu. Međutim, upotreba sveže krvi i plazme kao efikasnog izvornog materijala vrlo je ograničena zbog toga što koncentracija AHG u njima vrlo brzo opada. Mnogi autori su dokazali da već u toku prvog sata koncentracija AHG opada na 90%, a posle tri sata na oko 50% od svoje prvobitne vrednosti, mada je sigurno da se konzervisanjem na +4°C on može održati i duže ali ne više od 12 časova; bar ne u onoj koncentraciji koja ima zadovoljavajuću terapijsku efikasnost. Dokazano je takođe da količina AHG varira u prilično širokim granicama u plazmi raznih normalnih osoba (od 75 do 130%). Dakle, s jedne strane teškoća u pribavljanju apsolutno sveže krvi, a s druge, prilično velike varijacije u AHG, orijentise na takve izvore AHG u kojima bi njegov sadržaj bio konstantan i efikasan, a takođe i u svako doba dostupan.

Najnovija dostignuća tehnike konzervisanja krvi; mržnjenje na -25°C, a naročito metoda liofilizacije, omogućili su da se ovi zahtevi donekle ispune. Naime, ukoliko se sveža plazma odvoji od uobličjenih elemenata krvi i zamrzne u roku od 3 sata posle uzimanja na -25°C, praktično će celokupna količina AHG biti očuvana. Ovakva plazma može se osušiti direktno iz zamrznutog stanja metodom liofilizacije po

Greaves-u (6). Na taj način vrlo efikasne količine AHG mogu biti konzervisane na vremenski vrlo dug period (nekoliko godina). Mešanjem plazmi od nekoliko davalaca (jedan pul = 10 davalaca) dobija se takođe i plazma sa uravnoteženom količinom AHG u svakoj boci koja se, sem toga, može i kvantitativno odrediti. Ovakva plazma poznata je pod imenom antihemofilne plazme.

Međutim, da bi ona opravdala svoj naziv, potrebno je prilikom njene pripreme obratiti pažnju na veliki broj tehničkih pojedinosti. Krv prilikom uzimanja ne sme da se penusa, jer ulazak i male količine vazduha dovodi do znatne razgradnje AHG; u toku uzimanja potrebno je krv stalno mešati sa konzervansom; boce i konzervansi moraju pre upotrebe biti ohlađene. Prilikom sušenja mora se voditi računa da u boci bude ostvaren što bolji vakuum, kao i nizak procenat vlage. Na taj način se dobija vrlo efikasna plazma. Nasuprot gledištu izvesnih autora (7), mi smo u Zavodu za transfuziju krvi u Beogradu, vodeći računa o svemu ovome, dobijali plazmu u kojoj je procenat AHG bio oko 85 do 90% (8).

Sve do 1954 godine ovo su bila jedina sredstva u lečenju krvavljenja kod hemofilicara. Mada su se ona sve do danas zadržala u upotrebi, sve više se teži da se u što manjoj zapremini unesu u organizam efikasne količine AHG. Ova težnja proizilazi iz saznanja da je »preživljavanje« in vivo unetog AHG veoma kratko, tj. oko 6 do 12 časova. S druge strane, podizanje njegovog nivoa za otprilike 1/10 od vrednosti kod normalnih osoba zahteva brzo davanje oko 1 litra sveže plazme, kao i ponavljanje tih količina u veoma kratkom vremenskom roku. Na taj način postoji opasnost da, zbog relativno male antihemofilne moći ljudske plazme ili zbog suviše velikih zahteva organizma, dođe do preopterećenja krvotoka pre nego što se postigne potpuna hemostaza. Zbog toga su činjeni pokušaji za dobijanje što koncentrovanijeg AH preparata. Prvi radovi potiču od McFarlane-a (9) i kasnije Bidwell-a (10) sa animalnim AHG. Međutim, makoliko da ovi preparati imaju vrlo visok AH potencijal (20 puta jači od ljudskog), unošenje heterogenih belančevina u čovečji organizam pretstavlja veliku opasnost, iako je, po poslednjim saopštenjima, Bidwell uspeo da iz svinjske plazme izdvoji AHG koji se ni in vivo ni in vitro nije pokazao antigenim.

Radovi Kekwick-a, koji je kao izvorni materijal upotrebio humanu plazmu, daju nadu da će ovakav preparat naći širu primenu. Rešivši specijalnim postupkom mnoge tehničke probleme, on je uspeo da dobije preparat čija je jačina izražena kao aktivnost/mg proteina bila oko 20 do 25 puta veća od aktivnosti sveže plazme. Primenjen u 6 slučajeva hemofilije ovaj preparat je dao odlične rezultate bez uzgrednih pojava (11). Međutim, on sadrži dosta veliki procenat fibrinogena (oko 70%), tako da se u ovom slučaju pre može govoriti o frakciji I po Cohn-u nego o antihemofilnom koncentratu. Zbog toga metoda Shinowara (12) izgleda specifičnija. U našem Zavodu je već dobijen takav jedan preparat koji je u eksperimentima in vitro pokazao vrlo veliku jačinu. Oko 75 mg svog preparata odgovaralo je aktivnosti koju ima 100 ml sveže plazme.

Na osnovu ovoga može se reći da su prednosti AH preparata nesumnjive, i to naročito u hitnim slučajevima kada je potrebno u toku nekoliko minuta podići hemostatični nivo AHG u organizmu, kao i u slučajevima kada je potrebno često unošenje. Ipak, rutinska primena biće moguća tek onda, kada bude rešeno pitanje antigenosti odnosno stvaranja imunih antitela u toku ponovnih davanja. Danas je još suviše malo rezultata, da bi se o ovome moglo diskutovati, mada treba napomenuti da se imunološka stanja često javljaju i posle primanja pune krvi i plazme.

Pitanje efektivne doze koja je u stanju da obezbedi hemostazu zauzima takođe vrlo važno mesto u lečenju hemofilije. Od strane raznih autora preporučivane su razne doze krvi ili plazme. Tako *Rosenthal* (13) smatra da će 2,5 ml/kg krvi u toku 24 sata imati zadovoljavajući efekat; *Alagile* i drugi da je u toku 24 sata potrebno dati oko 500 ml sveže plazme itd. (14).

Međutim, razvoj laboratorijske tehnike, otkriće vrlo osetljivih bioloških proba koje omogućavaju sve potpunije proučavanje koagulacionih poremećaja kod hemofilije kao i biohemiskih svojstava AHG, navodi na potpuno individualno tretiranje svakog hemofilnog bolesnika. Ovo tim pre što dosada nije moglo biti sa sigurnošću utvrđeno koja koncentracija AHG u krvi obolelog ima hemostatični nivo. Ovaj verovatno varira od zadatka koji mu se postavlja. Dok je 10% AHG dovoljno za prestanak hematurije, taj procenat je izrazito nedovoljan za prestanak krvarenja iz hirurških rana.

Danas laboratorija raspolaže sa vrlo osetljivim i specifičnim koagulacionim probama koje dozvoljavaju uvid u veličinu deficita u krvi obolelog, pa prema tome i približno tačno određivanje količine AHG koja je potrebna da se taj deficit nadoknadi. To su, pre svega, test generacije tromboplastina i test utroška protrombina. Klasično vreme koagulacije je zadržalo svoj značaj samo u sklopu ostalih koagulacionih proba, jer je danas poznato da postoje hemofilije kod kojih je vreme koagulacije normalno. Pomoću TGT (test generacije trombina) i utroška protrombina može se ustanoviti sa zadovoljavajućom tačnošću procenat koagulacionog defekta a takođe i pratiti efekat lečenja. Sem toga, pomoću ovog testa dodavanjem in vitro plazmi obolelog normalne plazme u različitim porcijama može se približno tačno ustanoviti količina AHG koja je potrebna organizmu da bi se postigla hemostaza. Tako, prema *Beamon*-u (15), koncentracija od 20 do 40% AHG je dovoljna da koncentracija protrombina postane normalna. Nažalost, rezultati dobijeni in vitro ne odgovaraju uvek stanju in vivo i često su potrebne mnogo veće količine plazme da bi se postigla hemostaza. Prema tome, prilikom određivanja količine AHG (u bilo kom obliku da se unosi) koju treba transfundovati u organizam obolelog treba uzeti u obzir celokupno kliničko stanje kao i kretanje osetljivih koagulacionih proba.

Isto tako, i odluka o trenutku obustavljanja lečenja posle uspostavljanja kliničke remisije donosi se individualno prema odnosnom slučaju. Mnogi autori smatraju da ne treba težiti za tim da se procenat AHG u plazmi obolelog putem novih transfuzija diže do vrednosti koje se sretaju

u normalnom organizmu. Kao opšti kriterijum može se uzeti da, ako se vrednost od 30% u plazmi obolelog zadržava i posle prekida transfuzije, tada ne postoji opasnost od novih krvarenja i da bi dalje unošenje AHG bilo nepotrebno (16).

U vezi s tim postavlja se i pitanje preventivnog unošenja AHG. Neki autori stoje na stanovištu da je kod hemofilije, čak i onda kada je u fazi latencije, potrebno unositi AHG. Međutim, ako se zna da se AHG zadržava u organizmu svega 6 do 12 časova, onda se može zaključiti koliko je ovo gledište neopravdano, izuzimajući slučajeve kada bolesniku pretstoji neki hirurški zahvat (vađenje zuba, tonzilektomija).

U izvesnom broju slučajeva transfuzija ne dovodi do uobičajenog terapiskog efekta. Ovi neuspesi terapije predstavljaju najveću opasnost za obolelog i vezani su za pojavu specifičnih antitela prema AHG-u koja se mogu otkriti koagulacionim i serološkim testovima. Mada se zna da ovi imunološki procesi nastaju u toku ponovljenih transfuzija, pravi predisponirajući faktori su još potpuno nepoznati. Jer činjenica je da postoje hemofiličari kod kojih se ni posle velikog broja čestih transfuzija nikad nije razvilo refraktarno stanje. Istaknuta je takođe pretpostavka, da se ovakva stanja razvijaju mnogo češće ako se AHG unosi u obliku koncentrata nego u razblaženom obliku, kao i to da je bolesnik sa niskim nivoom ovoga faktora mnogo izloženiji antigenom dejstvu.

I pored toga što sve ove pretpostavke nemaju konačnu potvrdu, o njima se uvek mora voditi računa pri preventivi refraktarnog stanja. To znači, da broj i količinu transfuzija treba svesti na nužnu meru a za AH koncentrat odlučivati se samo onda kada je to neophodno. Ako se razvilo refraktarno stanje uprkos svih mera opreznosti, onda kortizon predstavlja prilično efikasno sredstvo, a može se pokušati i sa specifičnom desenzibilizacijom.

Zaključak

U zaključku se može reći, da su sveža i sušena plazma zadržale i danas glavnu ulogu u lečenju hemofilije. One, međutim, predstavljaju supstitucionu terapiju koju treba određivati samo prema potrebama, da ne bi bez osnova izlagali bolesnika senzibilizaciji.

LITERATURA

1. Cit. *Riggs and Mac Farlane: Human Blood Coagulation and its Disorder* Oxford, 1956.
2. *Aggeler: Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1952, 79, 692.
3. *Biggs i sar.: Brit. M. J.*, 1952, 27, 1378.
4. *Rosenthal i sar.: J. Lab. Clin. Med.*, 1953, 45, 123.
5. *Spaet i Aggeler: J. Clin. Invest.*, 1954, 33, 8.
6. *Greaves: The preser. of proteins by Drying.*, London, 1946.
7. *Brinkhous i sar.: A. M. A. Arch. Path.*, 1956, 61, 1.

8. *Rolović*: Bilt. rad. transf., br. 4.
9. *Mc Farlane*: Lancet, str. 1316.
10. *Bidwell*: Brit. J. Haemat., 1955, 1, 1.
11. *Kekwick, Wolf*: Lancet, 1955, 3, 647.
12. *Shinovara*: VI kongr. Blood Trans., Boston.
13. *Rosenthal*: Blood., 1955, 10, 2.
14. *Alagille D.*: Rev. Prat, 1956, 6.
15. *Beamont*: Sem. Hôp. Par., 1955, 31, 20.
16. *Dacie*: Brit. Med. Bull., 1955, 2, 1.

Summary

Blood Transfusion Institute, Beograd

THE USE OF BLOOD AND BLOOD DERIVATIVES IN THE THERAPY OF HEMOPHILIA

Dr. Zoran Rolović

Fresh and dried and fresh dried plasma are today still the main tool in the therapy of hemophilia. They, however, represent a substitutional therapy for those conditions in which patients can be sensibilised with pure antihemophilic proteins.

Zavod za transfuziju krvi — Beograd

NEKI PROBLEMI U VEZI PIROGENIH MATERIJA I IZVOĐENJA PIROGENOG TESTA

Mr V. Grozdanić, dr B. Simonović

U »Biltenu transfuzije«, br. 2, avgust 1956, ukazano je kroz prednacrt minimalnih uslova za obavljanje radova u ustanovama transfuzije da se, pored ostalih kontrola gotovih produkata, mora raditi i ispitivanje prisustva pirogenih materija, koje unete u organizam transfuzijom krvi, plazme ili rastvorima za infuziju, predstavljaju uzročnike pirogenih reakcija, sa poznatim simptomima.

Sam publikacija u našim Biltenima po tom pitanju, u toku zadnjih godina, u okviru sastanaka transfuziologa i u programu kurseva za osposobljavanje rukovodilaca i osoblja za stanice i kabinete transfuzije, održavana su predavanja s ciljem, da se ne samo u velikim centrima, kao što je naprimer Zavod za transfuziju u Beogradu, već u svim ustanovama koje pripremaju konzervisanu krv, plazmu, intravenozne rastvore, pribor za davanje transfuzije itd., odvija u prvom redu takav način rada, koji će isključiti kontaminaciju produkata i materijala sa pirogenima.

S druge strane, takođe je važno, da se prilikom osposobljavanja laboratorija, koje se bave kontrolom pirogenosti, istovremeno stavi na raspoloženje jednoobrazan, zvaničan propis za ispitivanje, te da se isključe nepodudarnosti pri upoređenju rezultata kontrole, koje često puta mogu da budu posledica raznih stavova pri izboru životinja, načinu merenja temperature, sterilizacije pribora za injiciranje, raznih postupaka itd.

Budući da Pharm. Jug. II dosada nije propisala način za ispitivanje pirogenih materija, u našoj zemlji se pirogeni test nije smatrao kao obavezan. Prihvatile su ga samo neke zdravstvene ustanove, veće tvornice lekova i zavodi za kontrolu lekova, iz razloga što se danas u celom svetu moderna medicina orijentiše na izradu takvih preparata, koji mogu i moraju biti garantovanog kvaliteta i koji se ne smeju primeniti u cilju lečenja, ako sadrže pirogene materije, odnosno moraju biti apirogeni. Od velike je važnosti, da se stanje bolesnog organizma ne otežava pirogenim reakcijama, koje ponekad mogu izazvati čak i neočekivano teške komplikacije.

Skoro svaka od laboratorija, koja zasad ispituje pirogenost produkata, radi na bazi propisa stranih farmakopeja (USP XV. 1955 ili USP XIV., str. 744, Ph. Internationalis II 1955 i drugih), sa izvesnim modifikacijama, donetim na osnovu vlastite prakse i mogućnosti.

Zbog toga je i odlučeno da se skupe svi predlozi za ispitivanje pirogenih materija, prodiskutuju i donese jedinstven propis u Addendumu Ph. Jug. II. Naš Zavod želi da pred forum naših stručnjaka iznese svoj predlog za diskusiju, te da ukaže na iskustva pri kontroli pirogenosti onih preparata koje sam proizvodi. Od kristaloidnih rastvora za intravenoznu upotrebu radimo: A. C. D. stabilizator za krv (sastav: natrijev citrat, dextrosa, limunska kiselina), fiziološki rastvor 0,9% NaCl, 5% dextrosu i soluciju kliničkog 6% dextrana; potom, pored sveže ljudske i konzervisane krvi, preparate koji sadrže ljudske belančevine: krvnu plazmu, albumin, gama-globulin, fibrinogen, kao i pribor kojim se daje transfuzija.

Navodeći ove preparate i materijal koji mi ispituje, želimo da ukažemo da nije dovoljno imati kontrolu samo sterilne destilovane vode, koja se upotrebljava u toku pripremnih radova ili kao rastvarač nekog suvog preparata, jer je dokazano da pirogene materije potiču iz raznih izvora.

Prema tome, mi stojimo na stanovištu da se:

1. Mora imati garancija od strane fabrike-proizvođača za hemiske preparate koji služe za izradu rastvora — da su apirogeni.
2. Proizvodnja, čuvanje i manipulacija sa destilovanom i redestilovanom vodom mora se obavljati prema propisima o kojima ćemo kasnije govoriti.
3. Ambalažni materijal — staklene boce, gumeni zapušači, gumene cevi itd. moraju biti standardnog i dobrog kvaliteta, da ne sadrže pirogene materije ili omogućuju njihov razvoj.
4. Kontrola pirogenosti je obavezna za svaku seriju proizvedenih preparata koji se unose intravenozno u organizam pacijenta, kao i za svaku seriju proizvedenih sistema sa kojima se izvodi transfuzija ili infuzija.

Smatrajući da je u praktičnom radu od prvostepene važnosti borba protiv unošenja i razmnožavanja pirogenih materija prilikom samog rada, a da je od drugostepenog značaja depirogenizacija gotovih produkata, nakon pirogene kontrole kada je utvrđeno da su pirogeni, mi ćemo se ukratko osvrnuti na karakter pirogenih materija, način pripreme preparata i pribora i iznećemo naš propis za izvođenje pirogenog testa na životinjama.

U savremenoj literaturi, borba protiv unošenja pirogenih materija postavlja se kao glavni momenat, koji se provlači kroz celokupnu pripremu. To je veoma važno zbog toga, što su pirogene materije po svome karakteru takve da, ukoliko se pojave u destilovanoj vodi ili priboru tokom rada, skoro sigurno ostaju i u konačno sterilnom produktu.

Nameće se pitanje, koje su sve osobine pirogenih materija i odakle potiču?

1. Za pirogene materije je karakteristično da su termogene za živi organizam i da prouzrokuju povećanje temperature do izvesnog maksimuma u prvom ili drugom satu posle unošenja, nakon čega se ona vraća

na normalu. Obično 4–5 sati posle infuzije povišena temperatura se više ne konstatuje.

2. Neobično su lako rastvorljive u destilovanoj vodi, a nerastvorljive u alkoholu i acetonu.

3. Po veličini su manje od 50 milimikrona i prolaze kroz filtre. Izuzetak su EKS šihte Seitz-ovog filtra, koje ih apsorbuju u porama, kao što to može učiniti i aktivni ugalj i kaolin. Ova apsorpcija može praktično predstavljati depirogenizaciju, ali nije preporučljivo da se to izvodi, jer se rastvori, osim propuštanja kroz pomenute apsorbenste, moraju još dalje profiltrirati kroz specijalne karborundum ploče i slično.

4. Pirogene materije su identifikovane kao polisaharidi sa molekularnom težinom 62.000.

5. Termostabilne su na temperaturama koje uništavaju bakterije i spore (autoklav 120°C), a jedino se inaktiviju sterilizacijom suvim vazduhom na temperaturi 200–250°C u toku dva sata. Ali tu temperaturu ne mogu da izdrže naši preparati, odnosno materijal, kao što je guma.

Pirogene materije su najčešće bakteriskog porekla. Mogu predstavljati intaktne mrtve bakterije (patogene ili apatogene), razložene otpatke bakterija ili produkte metabolizma bakterija. Prema tome, izvor pirogenih materija su najčešće klice koje se normalno nalaze u vazduhu.

Ostali izvori mogu biti anorganske ili organske prirode: alkalne primese iz stakla boce, sumpor iz gumenih cevi i zapušača, zaostaci plazma-proteina u loše opranim bocama itd.

Specijalno je dokazano da hemiska kontaminacija sa pirogenima može poteći iz dva izvora:

1. Uključivanjem pirogena u kristale hemikalija, napr. natrijeva hlorida, natrijeva citrata u trenutku kada se oni obrazuju sa kristalnom vodom, prilikom kristalizacije u produkciji.

2. Razvojem bakterija u toku čuvanja produkata, kao što su: dekstroza, natrijev citrat, inulin, heparin i aminokiseline.

Iz ovoga se da zaključiti, da destilovana i redestilovana voda nisu jedini izvor pirogenih materija, kako se to ranije smatralo. Naprotiv, sada je utvrđeno, da ni trostruka destilacija ne pruža ništa više bezbednosti od jedinstvene, ali savršeno izvedene destilacije u aparatima koji destilat obezbeđuju od spoljne sredine i hlađenja na sobnu temperaturu, jer postoji mogućnost naknadne kontaminacije bilo iz vazduha bilo od hemijskih supstanci.

Uzimajući u obzir napred navedeno o pirogenim materijama, priprema materijala i rastvora ne svodi se samo na običnu tehniku sklapanja sistema, odmeravanja i rastvaranja supstance, filtriranja i sterilizacije, već se pri radu mora nastojati, da izvođenje bude u što kraćem vremenu u vidu lančanog sistema od početnih radova do sterilizacije.

Hemiske supstance treba da primamo uz garanciju fabrike kao čiste i apirogene. Sveže destilovanu apirogenu vodu moramo pripremiti u dovoljnim količinama. Staklo i guma moraju biti standardnog kvaliteta.

Njihovo čišćenje obavljati solidno, upotrebom hemiskih i mehaničkih sredstava, prema propisima. Logično je da se upotrebi samo onaj materijal koji je ispravan i koji neće ni na koji način dovesti u pitanje kvalitet finalnog produkta. Naprimer, boce kod kojih se zapazi da posle sterilizacije u rastvoru povećavaju alkalitet ili otpuštaju »kristaliće« odnosno »ljuspice« stakla, odmah treba izbaciti iz upotrebe. Guma, odnosno gumene cevi i zapušači za boce, još dok su nove, a pogotovo ako se više puta upotrebe, podležu uticaju hemiskih sredstava i temperaturi sterilizacije i mogu se izmeniti u pogledu elastičnosti, postati lepljive itd., što su znaci prve faze raspadanja. Veliki je rizik upotrebljavati i dalje takvu gumu, jer ona, pored ostalih negativnih osobina, predstavlja dobru podlogu za razvoj pirogenih materija. Naše fabrike proizvode medicinsku gumu u nedovoljnim količinama i kvalitet često puta uopšte ne odgovara našim zahtevima, te se još i danas teško nabavljaju gumeni artikli za rad, tako da je to jedan od znatnih problema naše zdravstvene službe, specijalno službe transfuzije. Prema tome, na gumu moramo gledati sa rezervom, pre montiranja sistema sprovesti dobro ispiranje i kuvanje u apirogenoj destilovanoj vodi i posle završene pripreme odmah sterilisati, te čuvati do upotrebe u ambalaži koja ne dozvoljava pristup vlage i vazduha.

Još više brige treba posvetiti pripremi sistema, brizgalica i igala, naročito onih koji su već bili u upotrebi. Nikako se ne sme dozvoliti, da se posle završene transfuzije krv ili plazma zgrušaju u gumenim cevima. Sistem se mora odmah isorati hladnom vodom, razmontirati i predati na dalje hemisko pranje i čišćenje. Ako se tako ne radi, koagulumi se u toj meri pričvrste za zidove gumenih cevi, da se pri procesu pranja ne mogu sasvim odstraniti. To znači praktično da takve gumene cevi više nisu za upotrebu i moraju se baciti. Ukoliko bi se takve cevi upotrebile, sigurno je da bi nakon transfuzije sa njima došlo do pirogene reakcije. Ovakve nečistoće, proteinske prirode, uzrokuju stvaranje i naglo razmnožavanje pirogenih materija, koje se ne mogu odstraniti ispiranjem apirogenom vodom i sterilizacijom u autoklavu.

Spravljanje rastvora treba da je pod uslovima potpune asepticnosti. Nakon filtracije sa nuč ili sa Seitz-ovim filtrima treba u sterilne boce razliti sistemom za razlivanje pojedine doze i neposredno izvršiti sterilizaciju u autoklavu, tako da rad traje ukupno od 1–3 sata. Ovako pripremljeni rastvori u transfuziskim bocama mogu se čuvati do 3 meseca. Za duže čuvanje zapušač se mora bolje obezbediti.

O ostalim momentima na koje se nailazi u praktičnom radu nećemo ovde govoriti, jer to je manje-više poznato. Dodajemo samo još napomenu, da je najveći procenat pirogenih reakcija posledica loše spremljenog pribora (boce, gumeni zapušači, cevi i ostalo), pogotovu ako se priprema vrši od strane ustanova koje nemaju sve uslove za pravilan rad i gde se još uvek vodi računa samo o sterilnosti a ne misli se na apirogenost.

Daleko od svega je bitnije ko radi i kako manipuliše sa preparatima koje treba posle primenjivati na bilo koji način. Propisi (Savet za narodno zdravlje NR Srbije, Služb. glasnik NR Srbije 15-II-1958), izričito podvlače

da to moraju biti kvalifikovane osobe; isto zahtevaju i »Minimalni uslovi pod kojima se obavlja rad u ustanovama za transfuziju« (vidi »Narodno zdravlje«, 1-2/57). Svuda se, dakle, traži da osoblje bude kvalifikovano.

Bazirajući na tim činjenicama, kao i na onome što je napred rečeno, pomenuti propisi ne dozvoljavaju pripremu materijala i intravenskih rastvora u svakoj ustanovi za transfuziju. Međutim, činjenica je da se naši transfuziolozi najviše susreću sa ovim problemom i da ispred svih drugih moraju prvenstveno da reše pitanje metode pirogenih kontrola. Naša iskustva pokazuju da se ovakva pitanja ne rešavaju niti kroz diskusiju niti putem pojedinačnih eksperimenata, već kroz masovnu praktičnu primenu jedne određene metode. Tek kroz nekoliko desetina, pa i stotina izrađenih testova, može se dati definitivni zaključak. Osobe koje na tim testovima rade moraju biti višestruko obrazovane. Pre svega, moraju biti medicinska lica koja znaju šta je pirogena reakcija kod čoveka i kakve poremećaje može ona da izazove. Ova lica moraju dobro poznavati etiologiju pirogenih supstanci. Dalje, moraju bar delimično poznavati osnovne bakteriološke principe. Isto tako moraju dobro poznavati principe asepsa i preduzimanje preventivnih mera u sprečavanju pojave pirogenih reakcija. Moraju takođe imati i osnovna znanja iz biologije životinja sa kojima rade. Naravno, takav se kadar ne može podići preko noći.

Mi smo danas još uvek svedoci koliko apoteka pri bolnicama, a naročito i priličan broj fabrika, sprema na veoma primitivan način rastvore za injekcije. O pirogenim kontrolama ne bi imali šta da kažemo sem da se one tek izuzetno izvode. Mi smatramo da je svaka ustanova koja sprema rastvore za injekcije *dužna da sama preventivno, pored ostalih kontrola, obavezno uradi i pirogeni kontrolu svake producirane serije.*

Osnovni principi na kojima bazira kontrola na pirogene materije kod nas

Zapažanja koja ovde iznosimo baziraju na osnovu dugogodišnjeg iskustva. Zavod za transfuziju krvi u Beogradu počeo je sa pirogenim kontrolama od 1952 god. i do danas je izvršio nekoliko hiljada. Osoblje je u početku vršilo svakodnevno bar po jednu pirogeni kontrolu, a posle izlaska pomenutih propisa Komisije za lekove vrše se prosečno 2-3 dnevno.

U pogledu kontrole materijal je veoma raznovrstan. Pored fiziološkog rastvora, dekstroze, ACD rastvora, rastvora dekstrana, dolaze na ispitivanje prazne boce, sistemi za transfuziju i dr. Od proteinskih preparata koji dolaze na ispitivanje dobijamo pre svega plazmu, ponekad punu krv, svaku seriju albumina, gama-globulina, fibrinogena za intravenoznu aplikaciju, kao i svaki novi proteinski preparat spravljen iz normalne ljudske plazme.

Na ovom mestu treba podvući dve stvari. Pre svega, sa kontrolom ACD rastvora mora se oprezno postupati, doziranje podešavati prema

dozi tolerancije zeca za natrijum-citrat koji se nalazi u ovom stabilizatoru. Ako se o tome ne vodi računa, kontrola se neće moći izvesti. Drugo, nijedan proteinski preparat u čistom stanju ne predstavlja poteškoću za pirogenu kontrolu kao što je ljudska plazma. Sama plazma za eksperimentalne životinje predstavlja heteroprotein, koji samim tim ne samo da može da izazove jednu, za nas, »nespecifičnu« reakciju, već je i antigen. Individualna osetljivost životinja prema ovom skupu antigena može se ne retko primetiti i samo iskustvo i ponovna kontrola, na drugim životinjama, ukazuju na pojavu heteroproteinske reakcije u prvoj kontroli. S druge strane, životinje koje se upotrebe za ove svrhe, mogu se za ponovnu kontrolu upotrebiti samo u toku iduće nedelje iza prve kontrole, u protivnom nastupaju već normalno dobro poznate imunitetne pojave, koje su naročito izrazite posle nedelju dana od prve injekcije. Ne slažemo se s mišljenjem da se iste životinje mogu upotrebiti za druge svrhe, jer je danas vrlo dobro poznato da su i mnogi polisaharidi antigeni (među njima i dextran) i da već stvoren imunitet može izazvati reakcije koje daju pogrešnu sliku o isprobanom preparatu.

Kad se govori o upotrebi zečeva, treba svakako reći da je kod nas zaveden izvesni sistem u upotrebi jedne »serije« zečeva. Pod »serijom« mi podrazumevamo 5 zečeva, koje upotrebljavamo u glavnoj kontroli, i pet rezervnih koji bi bili upotrebljeni u eventualnim ponovnim ispitivanjima. Smanjivanje broja zečeva od 5 na manje, ne samo da nema naučne osnove, već može dovesti do pogrešnog interpretiranja rezultata. Uostalom, i statistički, pored toga i biološki, može se dokazati da je ispravnije raditi sa većim brojem zečeva. U tome je USA farmakopeja daleko ispravnija negoli oni propisi koji predlažu smanjivanje broja životinja. Međutim, ukoliko biološki postoji verovatnoća o individualnom reagovanju pojedinih rasa zečeva, ipak u svakodnevnoj praksi, gde se svakodnevno vrše ispitivanja pirogenih materija, nije moguće izvršiti selekciju baš onakvih zečeva kakvi su nam potrebni (albino). Zato će onaj ko radi rutinski svakako biti prinuđen da se zadovolji i sa nekom drugom rasom od propisane. Ukoliko akademska diskusija ukazuje na to, praksa pokazuje da je ovaj momenat od veoma malog praktičnog značaja i da ne bi trebalo da taj razlog ometa normalno sprovođenje testa. Za praksu je daleko važnije da imamo zdrave životinje i da pazimo odakle ih nabavljamo. Svakako je veliki nedostatak neposredovanje velike farme koja bi davala ispravne životinje. Uzimanje zečeva iz farmi nekih instituta pokazalo je da se dosta često dobijaju već obrađivani zečevi, koji po svim propisima izgledaju normalni, ali kada se vrše dublja ispitivanja seruma ispostavlja se da su ti zečevi već imunizovani. U nekim ispitivanjima, od pre nekoliko godina, mi smo kod jedne serije od 20 zečeva pronašli veoma uvećanu gama-frakciju i ispitivanjima došli do zaključka da su se životinje seljakale od instituta do instituta.

Pitanje merenja temperature kod zečeva usmereno je u dva pravca: 1) čime meriti i 2) kako meriti? Mora se istaći da je u tome od bitne važnosti da se životinje pre svega naviknu na merenje temperature, dok je sve ostalo daleko manje važnije. Navikavanje životinja mora ići ne

samo u pravcu merenja temperature, već i navikavanja na novu ishranu, novu sredinu i nov ljudski personal. Radi toga, pre nego što počnemo s radom na novim životinjama, ostavljamo ih da se navikavaju najmanje nedelju dana. Posle toga sledi trodnevno četverostruko merenje temperature (u intervalima od po 1 sat). Nismo našli nikakvu razliku između staklenog i električnog termometra. Električni ima samo tu prednost što uštedi dosta vremena, ali je veoma nepogodan pri visokim varijacijama spoljne temperature. S druge strane, ako je neko već kontrolisao kablove ovoga termometra, videće da postoji »individualna« razlika (tj. odstupanje) u temperaturama svakog određenog kabla. Zbog toga nam se čini da su stakleni termometri daleko pogodniji, iako merenje njima iziskuje dosta vremena.

Veoma je važno da jedna ista osoba obavlja merenje temperature. Ta osoba treba da ima srednjemedicinsko obrazovanje i da voli životinje. Svaka osoba ne može sa istom vernošću da izvede opit, kao osoba koja zna šta je pirogena reakcija (i čak ju je možda videla na nekom odeljenju), i ako ne voli životinje i ne pokazuje ljubav prema njima. Treba podvući da su životinje osetljive i na ovaj momenat i da o njemu treba voditi i tekako računati.

Pri pripremi materijala za pirogenu kontrolu treba, pre svega, voditi računa da on ne bude izvor pirogene reakcije kod životinje. Zato igle, brizgalice i destilat koji se upotrebljava za pranje materijala treba da su besprekorni. Mnogo će biti lakše ako se za ovo upotrebe staklene termorezistentne brizgalice, ali svako maltretiranje visokim temperaturama dovodi do oštećenja materijala. Pri ubrizgavanju materijala za ispitivanje treba biti oprezan i davati ga veoma lagano. Mi nismo primetili nikakvo preopterećenje krvotoka, ako je injiciranje izvođeno od iskusne osobe. Zato svi propisi i predviđaju vreme ubrizgavanja jednog preparata. Isto tako se ne slažemo sa nekima koji vrše probu sa destilovanom vodom. Nije nam pri čitanju takvih rezultata jasno da li je stvarno rađeno sa destilovanom vodom, ili u nekoj modifikaciji. Destilovana voda svakako izaziva hemolizu eritrocita zečeva usled već odavno poznatih biofizičkih fenomena. Mi ne ispitujemo destilovanu vodu, već fiziološki rastvor koji je načinjen od nje.

U interpretaciji rezultata, kako »normalne« temperature pre ubrizgavanja rastvora tako i kasnije posle injekcije, mi izbegavamo računsko zbrojavanje i deljenje. Čim je jedan zec, koji ranije nije pokazivao ničega abnormalnog, reagovao povišenjem temperature, ogled ponavljamo na novih pet zečeva. Ovakav sistem rada otkrio nam je svoje velike prednosti. Smatramo da nije logično da se prostom računicom može oduzeti jedan skok temperature preko normale.

Najzad, trebalo bi istaći da se i u našoj i inostranoj literaturi ističe bojazan da zec nije slučajno dao »nenormalno« povišenu temperaturu posle ubrizgavanja solucije koja se ispituje, dok se nigde ne tretira pitanje slučajeva kada postoji rezistentnost životinje tako da ona uopšte ne reaguje.

Prvi slučaj, kada životinja reaguje »abnormalnim« povišenjem temperature, daleko je manje opasan po primaoca i on igra više ekonomsku ulogu (odbacivanje jedne serije preparata) nego medicinsku. Daleko je opasnije ako životinja ne reaguje posle opitnog ubrizgavanja jer se time može desiti da se jedan pirogeni preparat izda kao apirogen.

*

Ako bi trebalo dati neki predlog za dopunu Farmakopeje, mi bi ukazali na sledeće:

I. *Broj životinja*: serija od 5 zečeva, za ponovnu kontrolu isto toliko.

Aklimatizacija životinja: 7—10 dana.

Rasa: najbolje albino, inače prema uslovima.

Rok upotrebe životinje: sedam dana od prve injekcije.

Kontrola temperature pre opita: tri dana uzastopce, četiri puta dnevno u razmacima od jednog sata.

Specijalna predostrožnost: kontrola životinja na zdravstveno stanje, skotnost itd. Eventualno elektroforetska slika proteina seruma.

Izdvajanje mužjaka od ženki.

Povremeno davanje sulfamida.

II. *Ubrizgavanje*: veoma lagano, 10 ccm za 5 minuta.

Doziranje: kristaloidni i koloidni rastvori 10 ccm/kg.

Proteini plazme 2 ccm/kg.

Ostali proteinski rastvori: dozirati tako da procenat proteina odgovara procentu u plazmi.

Merenje temperature: jedan sat pre ubrizgavanja, jedan sat posle i još dva merenja nakon ovog poslednjeg, u razmacima od 1 sata.

Interpretacija rezultata: skok temperature iznad maksimalnog skoka kod jednog zečeva: a) za kristaloidne otopine od 0,6° naviše; za plazma-proteine 1,1°. Potvrda: na novoj seriji od 5 zečeva.

Ubeležavanje rezultata (protokol): što prostije i praktičnije; poseban protokol za račune, poseban za neradne životinje.

Specijalne predostrožnosti: prilikom doziranja preparata za ubrizgavanje voditi računa o toleranciji.

Prilikom ubrizgavanja destilovane vode voditi računa da li nije nastupila hemoliza zečjih eritrocita.

III. *Specijalne mere prilikom i pre kontrole*:

Pirogeni kontrolu treba, po mogućstvu, da radi ista osoba.

Za svaku seriju izrađenog i pirogen-kontrolisanog preparata potrebna je i klinička potvrda.

Za rad upotrebljavati staklene brizgalice sterilisane na 180°, u slučaju nemogućnosti sav materijal za pirogeni kontrolu pripremati po propisima spremanja materijala za transfuziju.

Životinje nabavljati po mogućnosti sa iste farme.

*

Na kraju bismo rekli da Jugoslovensku farmakopeju II svakako treba dopuniti sa propisima o ispitivanju pirogenog materijala. Smatramo da je bitno donošenje propisa, da se ova kontrola obavezno radi za svaku seriju pripremljenog preparata, naročito za intravenoznu primenu, bez obzira gde se on pripravlja.

Zaključak

Pošto Jugoslovenska farmakopeja ne sadrži još propise o ispitivanju pirogenosti materijala za infuzije, odnosno rastvora za infuzije, autori iznose svoj prilog diskusiji za adendum Jugoslovenske farmakopeje po istom pitanju, i to na bazi višegodišnjih vlastitih iskustava.

S u m m a r y

Blood Transfusion Institute, Beograd

SOME PROBLEMS OF PYROGENIC TEST

Mr. Grozdanić, Dr. Simonović

As the modern Yugoslav Pharmacopeia has not yet directions for the investigation about the pyrogenic test for infusion materials, the authors give their contribution to the discussion for »addendum Pharmacopoeae« of this question, based on personal experience and observation of several years.

Odeljenje za kontrolu lekova Apoteke Vojno-medicalne akademije, Beograd

NEKI PROBLEMI GUMENOG MATERIJALA ZA TRANSFUZIJU

Mr Milan Lj. Lukić

Uporedo sa povećanjem broja datih transfuzija krvi i njenih derivata javljaju se, pored ostalih, i problemi u vezi sa gumenom materijom za transfuzijsku opremu. Za dobro poznate nezgode, kao što su prolazna urtikarija i razne druge alergične pojave koje obično prolaze bez ikakvih opasnosti, iako mogu da budu itekako ozbiljne, zatim reakcije hemolitičnog tipa, drhtavica, groznica, bolovi u lumbalnom predelu, kao i za one težih posledica koje se katkad dešavaju, mogu se naći razni uzroci. Međutim, uzrok za dobar deo tih nezgoda nije uvek lako utvrditi, i on se često traži u neodgovarajućem kvalitetu gumenog materijala u opremi za transfuziju. I pored svih mera opreznosti prilikom uzimanja, čuvanja i davanja krvi, mogućnost kontaminacije nije mala. Naprimer, u SAD je nađeno da je 5-10% svih krvnih konzervi u bolnicama bilo kontaminirano (1). Dobar deo toga može se pripisati ne samo tehničarima uzimanja već i gumenom materijalu.

Gumeni materijal — čepovi, cevi za sisteme i kapice za filter — može da bude nedovoljno elastičan, suviše tvrd ili mek, da slabo izdržava temperaturu i pritisak prilikom sterilizacije pa da postane suviše mekan ili lepljiv, da (naročito ukoliko se radi o čepovima) otpušta boju i raznovrsne više ili manje štetne i škodljive sastojke. Ovi sastojci se najčešće mogu jasno definisati, naprimer: amonijak, teški metali, olovo, isparljivi i rastvorljivi sulfidi, koji su svi sa toksikološke strane važni; ili sumpor nevezan prilikom vulkanizacije.

Međutim, postoji i čitav niz drugih sastojaka koji nisu tačno poznati a koji mogu imati štetno delovanje. To su materije kiselog ili baznog karaktera koje menjaju reakciju, redukujuće materije i one koje imaju bakteriostatsko, oksidativno-katalitičko, pirogeno ili toksično dejstvo. Najzad, među nepoznatim škodljivim materijama su i one koje menjaju otpornost crvenih krvnih zrnaca prema promeni osmotskog pritiska, što dovodi do njihove hemolize sa poznatim posledicama (hemoglobinska nefroza, albuminurija, anurija, uremija itd.).

Da bi se sve ove nezgode izbegle u novije vreme — od 1950 god. naovamo naročito — pokušava se, s jedne strane, zamena gume pogodnijim materijalom koji bi morao da bude inertniji i postojaniji od nje, a s druge, popravkom kvaliteta gume. U ovom cilju se u većini država sveta donose standardi za gumu za transfuziju u koje se uključuje i ispitivanje gume. Prva stvar koju je trebalo utvrditi jesu propisi kojima gumeni materijal treba da odgovara. Koliko je tu bilo nepoznatog i malo poznatog, koliko lutanja i raznolikosti mišljenja, mogu nam najbolje potvrditi raznovrsni odgovori koje je nešto pre 1954 god. dobio jedan tehnički komitet Međunarodne organizacije za standardizaciju na svoj upit zemljama članicama. Neke su, kao Italija, odgovorile da su sasvim zadovoljne trgovačkim materijalom koji se nalazi u prometu, neke su iznele svoje propise koji su bili suviše uopšteni («guma ne sme otpuštati materije koje deluju škodljivo»), a neke ih, mada su visokoindustrijalizovane i kulturne zemlje kao Zapadna Nemačka, uopšte nisu imale. Međutim, od tada se stanje znatno izmenilo i u većini zemalja se na standardizaciji gumenog materijala radi uporedo sa standardizacijom ostalog materijala za transfuzijsku opremu. Mnoge zemlje imaju već svoje standarde i nama izgleda da su najprecizniji i najkompletniji oni iz Zapadne Nemačke. Ali, svakako treba napomenuti da su ispitivanja još u toku, što se može videti po relativnom obilju radova objavljenih u stručnim časopisima (2, 3, 4, 5, 6).

Kod nas je ovo pitanje stavljeno na dnevni red naročito oštro u poslednje vreme. Cilj je da se donesu takvi propisi za kvalitet gumenog materijala kojima će se osigurati minimalni zahtevi (za sada) koji bi bili usklađeni sa mogućnostima naše nedovoljno razvijene industrije gume, za koju proizvodnja toga materijala predstavlja sa ekonomske tačke gledišta samo izvestan teret.

Da bi se uskladile potrebe sa mogućnostima, sredinom aprila ove godine održan je u Zagrebu sastanak predstavnika zavoda za transfuziju krvi iz cele zemlje sa predstavnicima Udruženja preduzeća za industriju gume FNRJ, kao i sa predstavnicima onih naših preduzeća koja su već proizvodila gumene delove za transfuzijsku opremu («Rekord» — Rakovica, «Ris» — Zagreb i «Sava» — Kranj). Predstavnici industrije su sa punim razumevanjem za potrebe zdravstvene službe pokazali spremnost da nastave probe na izradi kvalitetnije gume, s tim da im se postave tačni zahtevi kojih dosada nije bilo.

Na sastanku je odlučeno da se gumeni materijal za intravenske solucije ispituje u Beogradu uz saradnju predstavnika Zavoda za transfuziju krvi NR Srbije i Vojno-medicinske akademije (Odeljenje za kontrolu lekova Apoteke VMA), i da se izrade privremeni uslovi kojima gumeni materijal treba da odgovara. Receptura i način izrade i nadalje ostaju problem kojim će se baviti navedena preduzeća.

Izvršenju odluke je odmah pristupljeno, sastavljeni su privremeni uslovi koji će biti izneti nešto dalje.

Guma i njene osobine

Za razmatranje problema koji se mogu javiti, i javljaju, usled same prirode i raznolikog kvaliteta gume, moramo se, makar i u najkraćim potezima, osvrnuti na sastav, hemizam, osobine i proizvodnju gume.

Materija koja se obično podrazumeva pod imenom »guma« proizvod je dobijen vulkanizacijom nezasićenog ugljovodonika koji se dobija iz mlečnog soka različitih i mnogobrojnih biljaka-kaučuka, sa raznim dodacima. (Materije koje se nazivaju sintetičkim gumama imaju osobine prave gume, ali ustvari nisu guma).

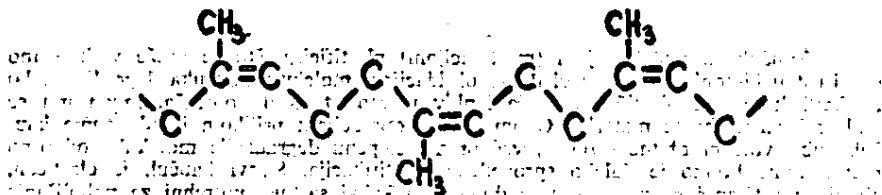
Najveće količine lateksa dobijaju se zarezivanjem plantažnog drveta *Hevea Brasiliensis*. On je sličan mleku a sastoji se od mešavine čvrstih i polučvrstih materija dispergovanih u obliku globula, veličine oko 0,5 mikrona u serumu koji se sastoji od vode i u njoj rastvorenih organskih i mineralnih materija. Isparavanjem normalnog lateksa dobija se 35—40% suve materije čiji najveći deo čini kaučuk (90%), dok se ostatak sastoji od oko 2% tzv. smola, koje ustvari nisu smole nego lipidi, masne kiseline i steroli, zatim od proteina koji su delimično adsorbovani na globulama kaučuka i služe kao zaštitni koloid. Proteini čine oko 2% suve materije. Njih je vrlo teško ukloniti, a naročito ih je vrlo teško ukloniti potpuno. Proteini potpomažu upijanje vlage i tim škode gumi u pogledu električne provodljivosti. Radi toga se u industriji pribegava, prema potrebi, raznim načinima za deproteinizaciju kaučuka, ali se ipak u najbolje prečišćenom kaučuku može naći oko 0,1% proteinskog azota (od oko 0,4% pre prečišćavanja). Teoriski, postoji velika verovatnoća da proteini kaučuka mogu imati znatan uticaj na kvalitet gumenog materijala namenjenog za transfuziju i infuziju, i pored toga što sirova guma pretrpi uticaj mnogobrojnih fizičkih i hemijskih agenasa pre nego što dospe u upotrebu kao materijal za transfuzijsku upotrebu. Ova pretpostavka se ne bi smela odbaciti dok se ne dokaže protivno.

Od organskih materija lateks sadrži još i neke inozitole (kvebrahol), šećere i razne proteolitičke enzime, oksidaze i peroksidaze. Najzad, sirovi kaučuk sadrži 0,15 do 0,5% mineralnih materija, ili u obliku kompleksnih organskih jedinjenja kalijuma, natrijuma, fosfora, gvožđa, kalcijuma, magnezijuma, rubidijuma, ili u obliku dijalizirajućih soli. Bakar i mangan su nađeni u tragovima.

Količine navedenih sastojaka mogu varirati, i sastav sirovog kaučuka koji se dobija iz lateksa zavisi i od porekla lateksa — proizvodi plantaža su čistiji i više ujednačenog kvaliteta, kao i od načina prerade lateksa. Lateks se nekad samo ispari i osuši, a nekad koaguliše i prečišćava. Samo prečišćavanje je mač sa dve oštrice. Njime se uklanjaju i sastojci koje treba ukloniti, ali i oni koji su poželjni, naprimer, prirodni antioksidansi lateksa (steroli). Prema izloženom, može se izvući zaključak da i kvalitet sirovog kaučuka može uticati na one osobine gumenog materijala koje su važne za potrebe transfuzije i infuzije, iako se tokom prerade dodaju raznovrsne materije koje mogu imati jak uticaj na krv, njene derivate, zamenike krvi i infuzione rastvore.

Kaučuk je nezasićeni ugljovodonik sa mnoštvom veza $=C=C=$ u lančanoj makromolekuli sastavljenoj od velikog broja grupa izoprena, bruto formule $(C_5H_8)_n$. Mišljenja o tome koliki je broj n podeljena su, i u literaturi nalazimo razne brojke. *Le Bras* (7) navodi da se kreće između 150 i 4.500, dok kod *Ro f f-a* nalazimo za sirov kaučuk 5.000 do 6.000, a za plastifikovan 1.500 do 2.000 (8). U kojim se granicama taj broj kreće teško je reći, pošto se on može izračunati iz molekularne težine, koju iz sasvim razumljivih razloga u ovom slučaju nije lako odrediti. Ukoliko se sirovi kaučuk više malaksira i plastifikuje, utoliko više dolazi do oksidacije i cepanja molekula na manje frakcije, tako da se od onih najdužih lanaca na početku, čija je srednja molekularna težina 200 do 300 hiljada, dužom malaksacijom dolazi do kraćih sa molekularnom težinom od 25.000 do 30.000, pa čak posle forsirane malaksacije i do onih sa molekularnom težinom manjom od deset hiljada. Treba imati na umu da su frakcije sa manjom molekularnom težinom rastvorljivije od onih sa većom, iako to nije jedini uzrok za njihovu povećanu rastvorljivost. Uopšte sirovi kaučuk nije neki određeni polimer, nego se sastoji od serija homologih polimera koje više ili manje variraju (7). Teoriski, on bi imao hemisko ime poli (2-metil-1,3-butadien) cis-poliizopren.

Mišljenja o načinu vezivanja izoprenskih grupa bila su dugo podeljena, ali sada je opšte usvojeno gledište da to mora biti cis-oblik izomera.



Veliki broj etilenskih - nezasićenih veza čini da kaučuk vrlo lako reaguje, tako da mu se mogu lako adirati i substituirati razne grupe, kao što se može i cepati, izomerizovati, polimerizovati i ciklizirati. Te njegove osobine iskorišćavaju se za preradu i izradu mnogobrojnih vrsta derivata sa raznim hemijskim i fizičkim osobinama. Ali, one u isto vreme predstavljaju i nedostatak pošto utiču na trajnost proizvoda i njegovu ujednačenost.

Kaučuk reaguje sa fenolima, diazonijum solima, aromatičnim aminima, sa kojima može da da neograničen broj azo-boja (7), aldehidima, masnim kiselinama, merkaptanima, anhidridom sumporaste kiseline, raznovrsnim azotnim neorganskim jedinjenjima itd. Treba napomenuti da su izvršena mnogobrojna i obimna ispitivanja kako kaučuk reaguje sa najraznovrsnijim supstancama, o čemu postoji znatna literatura. Mnoge od ovih reakcija mogu biti važne za industriju lekova i transfuziju.

Kiseonik je neprijatelj broj jedan gume. Otkako postoji industrija gume, problem autooksidacije gume, koja kad jednom nastupi lako ide sama od sebe, ne skida se sa dnevnog reda. Pronađena su mnogobrojna antioksidativna sredstva koja deluju sa više ili manje uspeha. To su obično derivati aromatičnih amina ili fenola (na primer fenil beta-naftilamin). Antioksidansi samo produžavaju vek gumi, brane je od starenja (izraz odmaćen u industriji gume). Međutim, u toku prerade silom okolnosti dodaju se i takve ingredijence kojima se olakšava oksidacija. Među njima je važan sumpor. Ukoliko ga ima više vezanog, guma se utoliko lakše oksidira. Radi rešenog mora se obratiti pažnja na dodir gume sa oksidativnim sredstvima, kao što su permanganat, vodonik superoksid, perkiseline itd. Neki metali, naprimer bakar, kobalt i mangan, igraju ulogu vrlo jakih katalizatora oksidativnih procesa, koji veoma aktivno dovode do starenja gume. Starenjem guma gubi elastičnost, postaje sipkava i kruni se.

Pored kiseonika gumi škodi i direktna sunčana svetlost, koja potpomaže oksidaciju, i stoga gumu ne treba bez naročite potrebe izlagati produženom delovanju svetlosti. Oksidacija utiče i na rastvorljivost kaučuka i ukoliko je kaučuk više oksidiran, utoliko se povećava njegova rastvorljivost.

U dodiru sa mineralnim uljima, voskovima, smolama i katranima vulkanizovana guma omekšava. Relativno je nerastvorna u koncentrovanom etanolu, umereno koncentrovanim kiselinama, izuzevši u masnim i oksidativnim kiselinama. Bubri pod uticajem tetrahlor-ugljenika, benzena, nešto slabije u dodiru sa ugljen-disulfidom, etrom, anilinom.

Guma mehanički upija razne hemikalije ili ih apsorbuje. Meka vulkanizovana guma na 25° apsorbuje približno sledeće količine vode: za 1 dan 0,5—1,0% (neke 3% i više, a druge manje od 0,5%), za 7 dana 1—4%, za 100 dana 5—15%, pod uslovom da se uroni u vodu.

Ovo njeno svojstvo je važno naročito u pogledu upijanja materija koje se stavljaju kao konzervansi u rastvorima za transfuziju i infuziju, pošto se na taj način smanjuje njihova koncentracija. Upijanje fenola i metabisulfita je znatno i stoga pre upotrebe gumu treba držati u rastvorima dok se ne zasiti.

Najzad, treba reći da se vulkanizovana guma na višim temperaturama topi uz prethodno omekšavanje, a na niskim postaje krta i gubi elastičnost koju treba da povрати kada se ponovo zagreje na normalnu temperaturu.

*

Kaučuk se malaksacijom (mastikacijom) plastificira, što se može vršiti samo u prisustvu kiseonika. Ovo znači da se oksidacijom molekula kaučuka degradira, tako da kaučuk postaje plastičan a dalje lepljiv i smolast. Kada omekša, mogu mu se dodavati razne čvrste materije. Ovom prvom operacijom prilikom izrade gume kaučuk gubi svoje prvobitne osobine, već prema stepenu degradacije molekule, odnosno prema tome koliko je daleko sprovedena plastifikacija. Sirovi kaučuk je elastičan, ali nije plastičan i ne mogu mu se dodavati nikakvi sastojci potrebni za poboljšanje mehaničkih osobina gume. Da bi mu se vratila elastičnost, on se mora vulkanizovati, čime postaje guma. Vulkanizacija može biti topla, kada se kaučuk greje sa sumporom ili nekim jedinjenjima sumpora. Pri tome se sumpor hemiski vezuje sa kaučukom. Hladna vulkanizacija se obično vrši uronjavanjem kaučuka u rastvor sumpornog hlorida. Vulkanizacijom kaučuka dolazi do intra- i intermolekularnih vezivanja.

U početku se pod vulkanizacijom podrazumevalo dejstvo sumpora i toplote na kaučuk, ali sada se taj izraz primenjuje i na delovanje vrlo velikog broja supstanci koje se međusobno hemiski veoma razlikuju, ali daju isti rezultat. Opšte je prihvaćena teorija da je bitnost vulkanizacije u pretvaranju aglomerata lančastih molekula u trodimenzionalnu mrežu molekula.

Vezivanjem do oko 4% sumpora dobija se meka guma, dalje postaje čvršća (to su tzv. polueboniti) i slabo elastična, a kada se veže 25—32% dobijaju se čvrsti i vrlo otporni eboniti. Vulkanizacija se sada pomaže ubrzivačima, koji su obično baznog karaktera: neke azotne baze i njihovi kondenzacioni proizvodi sa aldehidima, ksantati, tiokarbamati i njima srodna jedinjenja (merkaptobenzotiazol-MBT), alkiltiuramdisulfidi (tetrametiltiuramdisulfid — TMT). Neki od njih sadrže dovoljno sumpora, tako da elementarni sumpor nije ni potreban. Postoji i veliki broj ultraubrzivača, kao naprimer cink-dimetilditiokarbamat. Za većinu ubrzivača potrebni su još i aktivatori, mada i neka od uobičajenih punila mogu da igraju ulogu aktivatora.

Prečišćavanjem kaučuka uklanjaju se prirodni antioksidansi i njih treba zameniti novima. O tome je već bilo reči nešto ranije.

Za povećavanje mekoće, plastičnosti i kohezije gume u toku izrade dodaju se omekšivači (stearin, voskovi, mineralna ulja itd.).

Gumi se, radi njihovog specifičnog dejstva ili iz čisto ekonomskih razloga (kao diluenti), dodaju raznovrsna punila. Za poboljšanje mehaničkih osobina gume dodaju se čađ, cinkoksid, magnezijumkarbonat, talk, barit, kaolin, silicijum-dioksid itd.

Iz ekonomskih razloga pri izradi gume dodaju se i otpaci ili stara regenerisana guma. Ovakvi gumeni proizvodi slabijeg su kvaliteta, i stoga neki propisi, kao naprimer britanski, zahtevaju određeni minimum nove gume (75 težinskih procenata).

Najzad, radi lepšeg izgleda i raznovrsnosti proizvoda gumi se dodaju i razne boje.

Ispitivanje gume

Posle svega izloženog razumljivo je da uzrok za neke od smetnji i nezgoda koje se javljaju prilikom transfuzija treba potražiti u gumenom priboru koji služi za transfuziju i infuziju. One su opisane u stručnoj literaturi i pokušano je da im se objasne uzroci sa više ili manje uspeha. Kođ nas u neprilike u vezi sa transfuzijom skoro obrađene veoma uspešno od strane dr P. Jerine-Lah (9), ali je udeo gumenog pribora relativno malo objašnjen.

Za ispitivanje gume postavlja se sve više uslova, i oni su sve strožiji ukoliko se više otkrivaju uzroci smetnjama i nezgodama prilikom transfuzija.

Ispitivanje gume uključuje veći broj testova kojima ona mora da odgovara. Ti su testovi fizički, hemiski i biološki.

Fizičko ispitivanje

Pored određenog oblika i dimenzija zahteva se da gumeni materijal ima:

1. Vrlo glatku površinu, bez nabora, ispupčenja i udubljenja. Kod gumenih creva važno je da im unutrašnja površina bude glatka, kako se ne bi zadržavala ni najmanja količina materijala koja bi docnije mogla služiti kao izvor pirogenih ili na neki drugi način škodljivih supstanci.

2. Određenu tvrdoću, koja se meri u šor-ima A. («Shore A» je mera za tvrdoću mekšeg materijala, prihvaćena u međunarodnim razmerama). Merenje se vrši kod čepova na sredini donjeg dela, kada se čep postavi na tvrdu podlogu. Obično se zahteva tvrdoća od 40 šora sa tolerancijom od ± 5 .

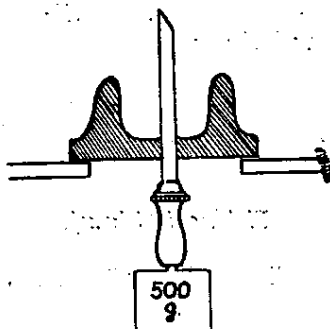
3. Elastičnost, koja je jedna od bitnih osobina gume i glavni razlog što se baš ona upotrebljava za izradu čepova za transfuziju, mada postoji veliki broj plastičnih materija koje su od nje znatno otpornije na razne fizičko-hemisko-biološke agense.

Od gumenih čepova se traži da se posle više proboda iglom prečnika 3 mm ne smeju otkidati delići i da se posle vađenja igle rupa mora zatvoriti sama od sebe da vazduh ne može ulaziti u bocu ni pod pritiskom ni pod vakuumom. Pri tome ispitivanju čep mora biti na boci i dobro pritegnut metalnim zatvaračem, dok se u boci nalazi optički čista destilovana voda.

Od gumenih cevi se zahteva da — posle pranja prema propisima Službe transfuzije krvi i sterilizacije u autoklavu na 120–122° za vreme od 30 min. i sušenja na 80° za to isto vreme — moraju biti tako elastične da pošto se odvijaju zadrže svoj prvobitni oblik. Sem toga, na mestima gde je savijanje izvršeno ne smeju se pokazati pukotine ni nabori, niti se cevi smeju spljoštiti ili slepiti.

U vezi sa elastičnošću gume zavisna je i njena moć prijanjanja. Ispitivanje moći prijanjanja kod čepova vrši se na taj način što se kroz čep probode standardna igla za transfuziju (zasada sa prečnikom od 3 mm), koja se prethodno opere etrom ili hloroformom radi odmašćivanja i osuši, pošto i vlaga deluje kao mazivo, i na donji kraj obesi teg od 500 gr.

Igla se pod tom težinom ne sme izvući pre 2 časa. Čepovi koji su dugo stajali i oksidisali te izgubili elastičnost, a sa njom i moć prijanjanja, ne izdrže ovu probu.



Najzad, gumeni materijal se ispituje i na lepljivost. Poznato je da neke vrste guma na povišenoj temperaturi, a naročito pod uticajem vrele vodene pare, postaju mekane i lepljive. Ispitivanje se vrši posle pranja po propisima Službe transfuzije krvi i sterilizacije u autoklavu na 120–122° za vreme od 30 min. i naknadnog sušenja na 80° za to isto vreme. Prema nekim propisima, naprimer britanskim, guma ne sme postati lepljiva ni posle 6 ili 8 uzastopnih testova po gornjoj šemi. Međutim, kako se sada stoji na stanovištu da se gumeni materijal sme upotrebljavati samo jedanput, to noviji propisi zahtevaju samo jednu sterilizaciju za taj test.

Na niskim temperaturama neke vrste gume postaju krte i lomljive. Stoga se u nekim propisima zahteva i ohlađivanje najmanje na minus 50°, posle čega sa povratkom na normalnu temperaturu guma mora zadržati svoje prvobitne odlike.

Hemisko ispitivanje

Među hemiskim testovima najvažniji su oni kojima se ispituje izlučivanje raznih sastojaka gume, koji u određenim koncentracijama mogu delovati štetno na ljudski organizam neposredno, ili na taj način što će uticati na sadržaj materijala za transfuziju da se on promeni u takvoj meri da bude štetan po organizam.

Ispitivanje postojanosti gume vrši se prema vodi i prema puferskim rastvorima koji imaju različit pH. U ovom drugom slučaju upoređenje se vrši i sa ACD stabilizatorom.

Ranije je naglašeno da se savremena industrija gume služi za vulkanizaciju ubrzivačima od kojih većina sadrži sumpor u tio-obliku (merkaptani, tiurami i sl.). To je razlog što neki standardi zahtevaju da se guma za transfuzijsku opremu izrađuje vrelom vulkanizacijom (dakle sa elementarnim sumporom), pošto sa toksikološke tačke gledišta elementarni sumpor nije toliko važan koliko su važni rastvorljivi i isparljivi sulfidi (4). Stoga je u nemačkim normama (DIN 58 360) odbačen propis Internacionalne organizacije za standardizaciju (a taj se propis nalazi i

u normama nekih drugih država), da se kvantitativno određuje izlučeni sumpor, a prihvaćeno je polukvantitativno ispitivanje na isparljive sulfide. Međutim, kako količina izlučenih sulfida zavisi i od reakcije rastvora, ovo ispitivanje se mora vršiti pri raznim pH.

Za sva ispitivanja postojanosti guma se mora prethodno prati po propisu Službe transfuzije krvi a zatim sterilisati u autoklavu na 120–122° (1,2 atm. nadpritiska) za vreme od 30 min.

Postojanost prema vodi. — Ispitivanje se vrši u Erlenmajerovoj posudi kapaciteta 300 ml, od rezistentnog stakla (Jena G ili Pyrex), sa 3 čepa koji se stave u 200 ml sveže destilovane vode koja ne sadrži teških metala. Erlenmajerova posuda pokrije se čašom za kristalizaciju od istog stakla i autoklavira na gore navedeni način. Radi upoređenja istovremeno se radi i slepa proba bez gume.

Ohlađeni autoklavat mora imati sledeće osobine:

1. mora biti bistar i bezbojan;
 2. na sobnoj temperaturi ne sme imati stran miris (slab miris na gumu dozvoljava se);
 3. ne sme imati gorak ni opor ukus;
 4. ne sme se od slepe probe razlikovati za više od 1,5 pH jedinica.
- Merenje se vrši staklenom elektrodom.

Autoklavat se dalje ispituje na:

5. Amonijak. — 10 ml autoklavata po dodatku 1 ml Neslerovog reagensa, spravljenog po propisu Ph. Jug. I, ne sme dati crvenkasti talog niti se sme obojiti jače žuto nego rastvor za upoređivanje kome je dodato 1,7 ml NH_3 na litar vode (= 0,0001 M).

6. Redukujuće materije. — Redukujuće materije u autoklavatu mogu da budu veoma raznovrsne. Stoga se one izražavaju kao količina stonormalnog permanganata koji se redukuje od strane tih materija (slično se radi i kod vode za piće).

Ispitivanje se vrši na sledeći način: 20 ml autoklavata zakiseli se sa 1 ml razblažene sumporne kiseline (Ph. J. II) i titrira do pojave slabo ružičaste boje. Za ovo se sme utrošiti najviše 5 ml n/100 kalijevog permanganata.

7. Teške metale. — Izraz je malo zastareo. Sada se obično označava svojim pravim imenom, pošto se pod tim podrazumeva ustvari olovo. Olovo može doći kao onečišćenje u nekom dodatku gumi (obično uz cink-oksidi ili uz druga punila). Međutim, olovni oksid se katkad upotrebljava i namerno u nekim fazama prerade gume.

Teški metali, odnosno olovo, mogu se identifikovati na više načina. Jedna od najosetljivijih reakcija je sa ditizonom, bojom koja se rastvara u tetrahlorugljeniku ili hloroformu. Njom se otkrivaju i najmanji tragovi metala. Christiansen (2) je čak uveo i termin ditizonski broj, kojim označava broj dana za koji se pod specijalnim uslovima prviput dobija pozitivna ditizonska reakcija u autoklavatu. On je utvrdio da postoji izvestan paralelizam između ditizonskog broja i pirogenosti autoklavata u tom smislu što su manje ili više direktno proporcionalni.

Međutim, ova reakcija je za praktične svrhe suviše osetljiva i, stvarno, ni guma izrađena sa veoma čistim sirovinama nema manji ditizonski broj od 4–5. Mi u našoj praksi nismo naišli ni na jedan uzorak koji bi imao ditizonski broj u granicama koje je dao Christiansen, koji zahteva da ne sme biti manji od 30. Stoga se radi sa natrijum-sulfidom, koji je znatno manje osetljiv, ali je za praktične svrhe dovoljno osetljiv.

Ispitivanje se vrši na sledeći način: 20 ml autoklavata zakiseli se sa 2 ml sirćetne kiseline (Ph. J. II) i doda 0,5 ml rastvora natrijum-sulfida po DAB VI – (5 delova kristalnog $\text{Na}_2\text{S} + 9 \text{H}_2\text{O}$ rastvori se u mešavini od 10 ml vode i 30 ml glicerola, ostavi nekoliko dana dobro začepljeno i profiltruje više puta kroz malo pamuka nakvašenog vodom) – ne sme se pojaviti zamućenje i talog, i rastvor se ne sme obojiti tamnije nego što se oboji pod istim uslovom sledeći rastvor: 5 ml rastvora za upoređivanje + 15 ml destilovane vode.

Rastvor za upoređivanje: 0,183 olovnog acetata – $(\text{CH}_3\text{COO})_2 \text{Pb}$, 3 H_2O rastvori se u vodi doda 5 ml razblažene sirćetne kiseline (Ph. Jug. II) i dopuni vodom do 1000 ml. 10 ml ovog rastvora razblaži se vodom do 1000 ml, što odgovara 1 mg Pb”.

Po nemačkim propisima (DIN 58 360) olovo se određuje i kvantitativno u pepelu. Dozvoljava se najviše 0,1‰.

8. Suvi ostatak. – Autoklavat ne sme da sadrži više od 10 mg% čvrstih supstancija. Po propisima DIN dozvoljava se samo 5 mg%. Međutim, prema onome što kod nas pokazuje praksa to bi bilo suviše nerealno. Usled toga je povišeno na 10 mg%, što bi odgovaralo praktičnim mogućnostima. Određivanje se vrši isparavanjem 20 ml autoklavata i sušenjem na 100–105° do konstantne težine.

Prema nekim standardima (naprimer DIN) ispitivanje autoklavata vrši se i na:

9. Hloride

10. Sulfate

11. Oksidativno-katalitičke supstance. – Guma može da izlučuje raznovrsne supstance koje deluju kao katalizatori oksidacije, što je naročito nezgodno kod krvi, plazme i nekih rastvora za infuziju. Te supstance nisu dovoljno poznate i dolaze u vrlo malim količinama, da se ne mogu određivati pojedinačno. Radi toga se ispituje samo njihovo približno delovanje, za šta najbolje može poslužiti askorbinska kiselina koja je lako podložna oksidaciji. U autoklavat se stavi određena količina askorbinske kiseline koja se titruje pomoću dihlorfenolindolfenola odmah, zatim posle 24 časa i 3, 7 i 14 dana, i izračuna koja je količina za to vreme razgrađena.

Izlučivanje sulfida u rastvorima različitih pH. – Određivanje izlučenih isparljivih sulfida ne vrši se kvantitativno već im se samo polukvantitativno određuje gornja granica. Ispitivanje se vrši sledećim rastvorima:

1. 80 ml 0,1 M rastvora limunske kiseline
20 ml 0,2 M rastvora natrijum-fosfata
2. 50 ml 0,1 M rastvora limunske kiseline
50 ml 0,1 M rastvora natrijum-fosfata
3. 10 ml 0,1 M rastvora limunske kiseline
90 ml 0,2 M rastvora natrijum-fosfata
4. 100 ml ACD stabilizatora.

Rastvor 1 ima pH 3, a izrađuje se rastvaranjem 21,008 g limunske kiseline (po Sörensen-u) na 100 ml i rastvaranjem 35,62 g sekundarnog natrijum-fosfata (po Sörensen-u) na 1000 ml vode. Rastvor br. 2 ima pH 5, a rastvor br. 3 pH 7,5.

U svaki od ovih rastvora stavi se po 1 čep opran prema propisima Službe transfuzije krvi (rastvori se nalaze u Erlenmajerovim posudama od 200 ml), prekrije čašom za kristalizaciju u koju se stavi okrugli filterpapir prečnika oko 50 mm namočen u rastvor olovnog acetata, i autoklavira kako je to napred navedeno. Istovremeno se rade i probe sa tim istim rastvorima u koje se stavi po 0,25 mg kristalnog natrijum-sulfida.

Pošto se ohlade, rastvori br. 1, 2 i 3 sa zapušačima ne smeju biti mutni niti obojeni, a u rastvoru br. 4 dozvoljava se samo žućkasto-smeđe obojenje. Filterpapiri smeju biti obojeni samo slabo smeđe ali nikako jače od filterpapira nad probnim rastvorima.

Biološko ispitivanje

Biološko ispitivanje služi ustvari kao faktor sigurnosti. — Fizičkim i hemiskim ispitivanjem još nisu isključene sve mogućnosti da gumeni pribor ne deluje štetno i stoga biološko ispitivanje treba da bude kao neka vrsta »supergarancije« za neškodljivost.

Biološkim testovima guma se ispituje na:

1. Toksičnost. — Za ovaj test služe beli miševi težine 20 g \pm 1 g, čuvani pod jednakim uslovima, koji se podele u dve jednake grupe po 10 komada. Prvoj grupi se intravenozno ubrizga po 2 ml autoklavata, a drugoj po 2 ml slepe probe. Nedelju dana posle ubrizgavanja broj obolelih ili uginulih miševa ne sme biti veći u prvoj nego u drugoj grupi.

Autoklavat se izrađuje na sledeći način: 3 čepa se operu po propisima Službe transfuzije krvi i stave u Erlenmajerovu posudu od rezistentnog stakla, preliju sa 200 ml 0,9%-nog rastvora natrijum-hlorida, pokriju čašom za kristalizaciju od istog stakla i sterilišu u autoklavu na 120–122° (1,2 at. nadpritiska) 30 min. Istovremeno se radi i slepa proba.

2. Pirogenost. — Ispitivanje se vrši na zečevima po propisu farmakopeje (USP XIV str. 744). Naša farmakopeja zasada nema takvih propisa, ali će ih imati uskoro. Međutim, propisi svih farmakopeja su veoma slični međusobno tako da se može raditi po makojoj.

3. Osmotsku otpornost crvenih krvnih zrnaca. — Dobro su poznate nezgodne posledice koje nastaju hemolizom eritrocita i izlučivanjem hemoglobina. Pored drugih slabih mesta uzroci se mogu

tražiti i u gumenom materijalu. Stoga je potrebno izvršiti ispitivanje uticaja gumenog materijala na promene otpornosti eritrocita.

Ispitivanje se vrši na sledeći način:

Pripremi se autoklavat kao za ispitivanje toksičnosti i po 1 ml razblažuje i stavlja u 21 epruvetu, tako da koncentracija natrijum-hlorida ide od 0,66 do 0,26% sa razlikom po 0,02% (dakle 0,66, 0,64, 0,62% ... 0,32, 0,30, 0,28, 0,26%) i u svaku epruvetu stavi po 1 kap (0,05 ml) sveže defibrinisane ljudske krvi, pa se oprezno izmeša. Istovremeno se radi i slepa proba, tj. bez autoklavata čepova već samo sa rastvorom natrijum-hlorida. Sve se ostavi 24 časa na sobnoj temperaturi i posmatra početak i kraj hemolize. Normalno, početak je između 0,48 i 0,46%, a potpuna hemoliza biva normalno između 0,32 i 0,30%.

4. **Bakteriostatičnost.** — Ispitivanje bakteriostatičnosti čepova zahteva se u standardima više zemalja. Ono se obično vrši na krvnom agaru zasejanom preko cele površine Petrijeve posude 24 časovnom kulturom *Staphylococcus pyogenes*-a. Na očvršli agar stave se delovi sterilisane gume i sve se inkubiše na 37°C za vreme od 48 časova najmanje. Kada u gumi nema inhibitorских supstanca, streptokok se razvija i eritrociti se hemolizuju.

Ispitivanje gumenih cevi

Zahtevi za gumene cevi neznatno se razlikuju od zahteva za čepove, naročito oni u hemiskom pogledu. Cevi se pre ispitivanja moraju oprati i pripremiti prema propisima Službe transfuzije krvi.

Fizičko ispitivanje je slično ispitivanju čepova i ono je navedeno ranije.

Hemisko ispitivanje gumenih cevi ne vrši se u autoklavatu, već se samo kroz cev dugu 1 m propušta 4 puta ista destilovana voda (200 ml zagrejana na 37°), i to tako da u minutu protiče 3 ml (ili 60 kapi). Propuštena voda se ispituje na:

bistrinu	amonijak
boju	reduktivne materije
miris	teške metale (olovo)
ukus	suvi ostatak
reakciju (pH)	

i na način kako je to propisano za čepove.

Po nekim propisima i za creva se zahtevaju testovi na hloride, sulfate i oksidativno-katalitičke supstance.

Biološko ispitivanje gumenih cevi vrši se na način sličan hemiskom ispitivanju, samo što se mesto destilovane vode ispiranje cevi vrši fiziološkim rastvorom. Zahtevaju se testovi na toksičnost, pirogenost i osmotsku otpornost eritrocita.

Kod nas su vršena ispitivanja čepova iz proizvodnje svih domaćih fabrika, tj. »Rekorda«, »Risa« i »Save«, kao i stranih uzoraka iz više zemalja (»Baxter«, »Sifarma«, iz Holandije, Švajcarske, Nemačke itd.). Početak ispitivanja bio je dosta davno, kada još nije bila prikupljena potrebna literatura, i kad još nije bilo dovoljno ni iskustva ni iskristalisanog mišljenja koji i kakvi zahtevi treba da budu postavljeni. Stoga to ispitivanje nije bilo sistematsko, niti je kod svih uzoraka ispitivano sve što je bilo potrebno, niti su svi testovi rađeni na isti način. U tom svetlu mogu se izneti naša zapažanja, u nadi da će ona ipak moći orijentaciono da posluže dok ispitivanja koja će se otsada vršiti ne budu pružila tačnija saznanja.

Ispitivanja su pokazala u većoj ili manjoj meri odstupanja u svim testovima. Može se reći da nijedan od ispitivanih primeraka ni naše ni strane proizvodnje nije potpuno u svim tačkama odgovarao propisima. U većini slučajeva autoklavati su bili mutni, gorkog ukusa, jakog mirisa, a davali su skoro uvek pozitivnu reakciju na amonijak, teške metale sa ditizonom (dok su na teške metale sa natrijum-sulfidom davali skoro uvek negativnu reakciju), hloride, sulfate, sulfide. Utrošak n/100 kalijum-permanganata bio je uvek preko 3 ml, suvi ostatak oko 10 mg%. Razlika pH između slepe probe i autoklavata je takođe uvek bila preko dozvoljene granice i išla je uvek u alkalnom pravcu. Nijedan uzorak nije bio bakteriostatičan, a rezistencija eritrocita na promenu pritiska bila je uvek normalna. Toksične pojave nisu bile isključene. Međutim, poslednji uzorci »Rekorda« i »Save« znatno su se približili standardu. Naprimera, proizvod »Rekorda« koji je poslednji primljen davao je bistar autoklavat, razlika pH bila je 1,5 (6,3 destilovana voda, 7,8 autoklavat — oba posle autoklaviranja), slabo pozitivnu reakciju na amonijak, utrošak permanganata 4,6 ml, suvi ostatak 9 mg%, rezistencija eritrocita normalna, bakterio-staze nije bilo, isparljivi sulfidi oko 0,12 mg.

Verujemo da će naša domaća industrija posle tačno postavljenih zahteva biti u stanju da izradi gumeni materijal za transfuziju dobrog kvaliteta, utoliko pre što su sadanji zahtevi svedeni na najneophodniji minimum i potpuno realni. Mi smo, s obzirom na pokazanu dobru volju i predusretljivost naše industrije, uvereni da će i sadašnji standard biti prevaziđen, tako da će se moći postaviti i teži zahtevi koji bi bili u granicama svetskih standarda.

Što se tiče stranih proizvoda ispitivanih kod nas, neki su, mada su tehnički bili savršeno izrađeni i izgledali vrlo lepo tako da su mogli zadovoljiti i najvećeg estera, bili daleko ispod naših »liberalnih« normi i proizvoda naše domaće industrije. Najbolji su bili crni čepovi firme »Baxter«, mada i oni nisu potpuno odgovarali.

Najveći deo ispitivanja izvršila je mr Ružica Dimković za šta joj dugujemo osobitu zahvalnost.

Sumarni pregled

Autor članka upozorava na mogućnost pirogenih reakcija prilikom transfuzije krvi koje potiču od lošeg kvaliteta gume. Autor takođe navodi da se u Internacionalnoj organizaciji za standardizaciju prikupljaju podaci o minimalnim uslovima koje su dosad objavile razne zemlje i raspravlja o pitanju kvaliteta gume za pribor transfuzije, odnosno za intravenske solucije. Na osnovu vlastitih ispitivanja inostranih produkata gume za tu upotrebu autor iznosi da su razni propisi veoma strogi i da se teško nađe guma koja bi potpuno odgovarala propisima. Zbog toga, kako autor izveštava, posebna grupa stručnjaka u našoj zemlji donosi na osnovu iskustva propise koji se u članku navode, a koji govore o kvalitetu gume i metodama ispitivanja prema kojima se odlučuje da li guma odgovara upotrebi ili ne.

LITERATURA

1. *Braude i sar.*: J. Lab. Clin. Med., 1952, 39, 902.
2. *Christiansen*: Meddelelser fra Norsk Farm. Selskap, 1951, 13, 121, 135.
3. *Krebs i Wetzel*: Deutsche Apoth. Ztg., 1957, 97, 358.
4. *Krebs i Wetzel*: Deutsche Apoth. Ztg., 1957, 97, 510.
5. *Rondal*: Farmac. Tid., 1956, 169, 176, 210—217.
6. *Wilkinson*: Lancet, 1956, 271, 627.
7. *Le Bras*: Les Derives chimiques du caoutchouc naturel, Dunod, 1950.
8. *Roff*: Fiber Plastics and Rubbers, Butterworths Scientific Publications, 1956.
9. *Lah P.*: Bilten transfuzije, 1958, 5, 11—23.

Summary

Militar Medical Academy — Department of Pharmaceutical control

PROBLEM OF RUBBER FOR BLOOD TRANSFUSION EQUIPMENT

Mr ph. M. Lukić

The author of this article draws the attention to the possibility of appearance of pyrogenic reactions during the blood transfusion, which appear because of the bad quality of the rubber. The author also mentions that the International Organization for Standardization collects data on minimal conditions established in various countries in regard to the quality of rubber used for transfusion sets and intravenous solutions. On the basis of personal investigation of foreign rubber-products the author noticed that these directions were rigorously established and that it was difficult to find rubber which should answer to these rigorous directions. Therefore, a special group of experts made particular directions (mentioned in the article) for the quality of rubber and methods of investigation which should determine the rubber-quality for the use in the transfusion service.

PITANJE MEĐUNARODNE STANDARDIZACIJE TRANSFUZISKE OPREME

Naša služba transfuzije povezana je već od 1954 godine, preko Jugoslovenskog ureda za standardizaciju, sa Internacionalnom organizacijom standardizacije (ISO) na taj način što je naša država posmatrač u tehničkom komitetu (TC 76) za opremu transfuzije, koji je u sklopu ISO-a. Navedeni komitet je dosada više puta zasedavao, a između sastanaka stalno radi na prikupljanju raznih podataka, radova i mišljenja od raznih država. U komitetu se razni problemi razrađuju u posebnim radnim grupama.

Ove godine, avgusta meseca, održaće se ponovo sastanak komiteta za opremu, te smo u vezi s tim primili materijal, koji niže objavljujemo u prevodu, dok će komentari biti izneseni samo u izvodu. Ovaj materijal objavljujemo sa specijalnom željom, da što veći krug medicinskih stručnih radnika, koji se u praksi i kroz literaturu susreću ili rade sa materijalom za transfuziju, dobiju što jasniji uvid šta sve obuhvata predmet standardizacije, na koji način se ona donosi i koliko je njeno postojanje neophodno kao merilo za jednu zemlju, a istovremeno i za donošenje svetskog standarda. Mi zasada konstatujemo da u Jugoslaviji postoji u izvesnom smislu objedinjenost materijala transfuzije, ali ne na bazi propisa standardizacije kojeg bi trebalo da se pridržavamo, već je to uslovila proizvodnja materijala u malom broju fabrika koje mogu izrađivati glavnu opremu transfuzije, a to su 1 fabrika stakla i 3 fabrike gume.

PREVOD ORIGINALA PREDLOGA ZA MEĐUNARODNU STANDARDIZACIJU

1. *Delokrug standardizacije*

Ovaj predlog ISO-a odnosi se na opremu transfuzije koja se upotrebljava više puta; ona ima za cilj sledeće:

- a) da omogući međusobnu razmenu transfuziske opreme koja se upotrebljava u raznim zemljama;
- b) da objedinjuje nazive i oblike transfuziske opreme;
- c) da daje specifikaciju kvaliteta i izvor materijala za opremu.

Predlog je podeljen na sledeće glave:

- Posude
- Zapušači
- Igle za probadanje zapušača
- Glave igle na koju se navlači cev
- Cevi
- Nastavak za spajanje igle sa cevi
- Filtar i brojač kapi
- Etikete za oznaku krvne grupe.

Primedba. Pod nazivom »transfuzijska oprema za medicinsku upotrebu« podrazumeva se oprema za transfuziju ljudske krvi, njenih derivata i drugih rastvora, ali ne uključuje brizgalice za injekcije i slično.

2. Posude

- a) *Materijal.* Boca treba da je napravljena od stakla.
 b) *Hidrolitična rezistencija.* Staklo od kojeg je boca napravljena ne sme da otpušta supstance koje mogu imati štetan uticaj na sadržinu u boci ili na primaoca. **Primedba.** Testove hidrolitične rezistencije vrši Radna grupa B.
 c) *Termalna »šok«-rezistencija.* Normalno napunjena i zatvorena boca treba da izdrži sve promene temperature koje uslovljava normalna upotreba, tj.
 — sterilizaciju u autoklavu u zasićenoj pari na temperaturi do 130°C i
 — hlađenje do —80°C.

d) *Mehanička otpornost.* Boca treba da izdrži dejstvo centrifugalne sile prilikom raznih laboratorijskih operacija.

e) *Način postavljanja boce u viseći položaj.* Boca treba da bude opremljena sa držačem.

Primedba. Držač nije specificiran.

f) *Zatvarač grlića.* Boca treba da ima na grliću odgovarajući zatvarač sa navojima. **Primedba.** Zatvarač nije specificiran.

g) *Graduacija.* Treba da postoje dve modelirane skale sa intervalima od 50 ml; na 100 ml obe skale treba da su obeležene brojevima. Jedna skala služi za skupljanje tečnosti i na njoj se brojke nalaze vertikalno kada posuda stoji. Druga skala služi za oticanje tečnosti i na njoj se brojke nalaze vertikalno kad je posuda obešena.

h) *Unutrašnji dijametar grlića.* Unutrašnji dijametar grlića treba da bude ili 30 mm ili 22,5 mm.

i) *Dimenzije i nominalni kapacitet.* Dimenzije i nominalni kapacitet treba da odgovaraju zahtevima iskazanim u sledećoj tabeli 1, prema unutrašnjem dijametru grlića boce.

Unutrašnji dijametar grlića	22,5 mm	30 mm
Normalni kapacitet	500 ml*	500 ml
Visina	220 mm maximum	152 mm maximum
Dijametar	78 mm maximum	90,5 mm maximum

Primedba. Zahtevi dati pod 1, specificiraju glavne dimenzije utvrđenih tipova boca. Preporučuje se zemljama u kojima služba transfuzije treba još da se razvija da prihvate jednu od datih veličina.

3. Zapušač

a) *Oblik.* Oblik zapušača i materijal od kojeg se pravi treba da budu takvi da se zapušač lako čisti.

b) *Materijal.* Zapušač treba da bude napravljen od materijala koji će izdržati temperaturu od —80°C, kao i temperaturu za vreme sterilizacije u autoklavu u zasićenoj pari od 120—122°C. Materijal ne sme otpuštati štetne supstance koje bi mogle opasno da deluju na sadržinu boce ili na primaoca.

c) *Test bušenja.* Oblik zapušača i materijal od kojeg je napravljen treba da budu takvi da zapušač može da izdrži na sobnoj temperaturi apsolutni pritisak od 0,5 atmosfera, i to posle probadanja iglom promera 3 mm, kao i posle izvlačenja igle.

* Ukoliko je potrebno, kapacitet boce se može povećati na 540 ml.

d) *Obeležavanje.* Gornja površina gumenog zapušača treba da bude podeljena na četiri jednaka kvadranta. Dva dijagonalno suprotna kvadranta treba da budu obeležena brojem »1« — za sakupljanje tečnosti, a druga dva dijagonalno suprotna treba da budu obeležena brojem »2« — za oticanje tečnosti.

4. Iгла za probadanje zapušača

a) *Dužina.* Dužina igle za probadanje zapušača ne treba da bude manja od 25 mm.

b) *Spoljni dijametar.* Maksimalni spoljni dijametar treba da bude 3 mm za igle koje se upotrebljavaju za sistem uzimanja krvi. Igle koje se upotrebljavaju za sistem davanja krvi, tj. igla putem koje curi krv iz boce, treba da ima maksimalni spoljni dijametar od 4 mm.

c) *Šupljina.* Šupljina cevi igle treba da bude okrugla i istog dijametra kao i šupljina olive, odnosno glave igle. Unutrašnja površina šupljine igle treba da bude glatka, iz jednog dela i bez šavova.

d) *Glava igle.* Glava igle (spoljni dijametar) koja služi za spajanje sa cevi mora biti u skladu sa cevi.

5. Cevi

Cevi treba da su napravljene od prirodne gume, uključujući tu latex, sintetičku gumu i drugi pogodan sintetički materijal. Materijal od kojeg su cevi napravljene ne sme otpuštati štetne supstance koje bi mogle opasno delovati na sadržinu boce ili na primaoca.

6. Adapter za spajanje igle i cevi

Adapter za spajanje igle i cevi treba da bude dugačak približno 10 mm. Maksimalni spoljni dijametar treba da bude 5,5 mm. Slobodni kraj adaptera treba da je cilindričan, sa spoljnim dijametrom od 4 mm.

7. Filtar i kapaljka

Komora filtra. Komora filtra, zajedno sa kapaljkom, treba da bude takvog kapaciteta da može filtrirati najmanje 1.000 ml krvi (stare najmanje 14 dana) za 30 minuta, a pri slobodnom padu. Iгла za davanje treba da bude pričvršćena za sistem, ali ne i za venu bolesnika. Na kapaljci treba da bude obeležen broj kapi koji je ekvivalentan jednom ml.

Primerdaba. Pod terminom »krv« podrazumeva se mešavina ljudske krvi (3,5 volumena) i Loutit-Mollison-ove antikoagulantne mešavine (1 volumen).

Razblaženje u vodi ove poslednje je sledeće:

Di-sodium acid citrat	1,7 do 2%
Dextrosa	2,5%

8. Etikete za krvne grupe

Etikete za obeležavanje krvnih grupa treba da se zasnivaju na A, B, O i Rh sistemima i da budu obeležene crnim slovima na beloj osnovi.

(O tipu igle (Rekord, Luer, itd.) biće diskutovano na posebnom sastanku standardizacije pod rubrikom — brizgalice za medicinsku upotrebu).

KOMENTARI SEKRETARIJATA ZA OPREMU TRANSFUZIJE,
TEHNIČKOG KOMITETA ISO-a (u izvodu)

Komentar ad 2. — Posude

Preporučuje se kao uslov izdržljivosti boce da može izdržati autoklaviranje na 120—122°C i suhu sterilizaciju do 160°C.

U pogledu centrifugalne sile, staklo treba da izdrži 2000 g.

Zavrtanj za grlić boce nije specificiran.

Obc skale za graduaciju treba da budu na istoj strani boce.

Boce sa užim grličem ne smeju biti većeg dijametra nego što je predviđeno, jer bi to smetalo prilikom čišćenja.

Komentar ad 3. — Zapušači

Posle probadanja zapušača iglom, spoljnog promera 4,0 mm, kroz stvorenu rupu ne sme da curi tečnost.

Komentar ad 4. — Igle za probadanje zapušača

Na osnovu predloga mnogih zemalja igla na sistemu za davanje krvi kojom se probada zapušač može da bude šira od 3,0 mm.

Nastavci za spajanje igle sa cevi mogu imati dužinu 16 mm i spoljni promer 5 mm. Takvi nastavci su pogodni za gumene cevi čiji je unutrašnji promer 4,76 mm.

Komentar ad 7. — Filtar i brojač kapi

Sekretarijat je primio nekoliko diskusija:

1. De Gowin, Hardin, Alsewer: Brzina filtriranja krvi zavisi od promera igle kojom dajemo transfuziju. Minimalni zahtev filtracije je da ugrušci krvi ne zapuše iglu za davanje transfuzije. Teško je reći koji je najbolji filtari za krv, jer naprimer filtari od 200 meša (otvora u tkanju mreže filtra) još uvek je pregrub i ne može da zadrži ugruške koji bi mogli da zapuše plućne kapilare.

2. Walter, Bellamy, Murphy su, na osnovu svojih istraživanja, uočili poteškoće pri davanju transfuzije koje potiču od sistema, a to su:

— sporo oticanje krvi iz boce u filtari;

— teško isterivanje vazduha iz cevi sistema;

— neoticanje krvi zbog stvorenog koaguluma u kapaljci, koji je ponekad takav da izgleda kao da krv curi u mlazu, a ustvari je oticanje sprečeno;

— veličina kapi iz raznih kapaljki je različita.

Zbog tih i drugih nepredviđenih smetnji autori se slažu da se specificiraju sledeći delovi sistema za davanje:

— Lumen igle koja odvodi krv iz boce prilikom davanja transfuzije mora imati najmanje promer 4 mm. Deo igle koji se nalazi zaboden u boci treba da ima normalan otvor na vrhu, a nisu potrebni nikakvi otvori ni pukotine sa strane, za ulazak krvi.

— Filtari treba da ima 70×70 meša na 1 cm², a ukupna površina filtra treba da bude 32 cm².

— Ako je filtari od plastične mase, ne sme se deformisati pod negativnim pritiskom od 125 cm vode.

— Volumen kapaljke treba da ima 8 cm³.

— Iglari za punkciju vene bolesnika mora imati promer najmanje 1,4 mm (17 gauge), da bi se omogućilo brzo proticanje krvi, i to pod pritiskom, čak 300 ml u minutu.

— Sistem mora biti pripremljen tako, da pomoću njega dajemo krv direktno iz one boce u koju je krv uzeta od davaoca.

e) Coaksey: Ugrušci krvi sastoje se iz zgrudvanih eritrocita, komadića fibrina, trombecita. I najmanji od tih ugrušaka veći su nekoliko puta od pojedinog eritrocita. Ako su otvori u filtru samo nekoliko puta veći od eritrocita, onda se filter brzo zapuši i postaje praktično neupotrebljiv. Ako su otvori deset puta veći od eritrocita, onda je filter već upotrebljiv, što praktično odgovara uzorku filtra koji ima veličinu otvora 70 mikrona. Iskustvo je pokazalo da bi, ako bi ti otvori bili veći a transfuzija se davala pod pritiskom, prošli i takvi ugrušci koji mogu biti opasni, pogotovu ako površina filtra nije dovoljno velika. U slučaju davanja transfuzije pod pritiskom otvori na filtru ne bi smjeli imati promjer veći od 140 mikrona.

Autor predlaže da filter mora imati najmanje 56 cm² i da je na njemu najmanje 50.000 otvora. Ovaj predlog je dat na osnovu stotina testova u toku šestogodišnjeg praktičnog rada.

U diskusiji su izneseni i podaci raznih država:

Država	Površina filtra	Otvora u tkanju filtra
Kanada	25 do 38 cm ²	7000 na inč ²
Meksiko	23 cm ²	1300 na cm ²
Holandija	20 cm ²	Unutrašnji promjer otvora je 100 mikrona
Norveška i Švedska	16 cm ²	230 na cm ²
Švajcarska	26 cm ²	1300 na cm ²
Engleska (nailon)	22,6 cm ²	62 do 78 na cm ²
(triko)	38,7 cm ²	129 do 139 na cm ²
(metal)	22,6 cm ²	280 na cm ²
S A D	24 do 30 cm ²	7000 na inč ²
Jugoslavija (svila ili pamuk)	36 cm ²	cirka 625 na cm ²

Napomena. Naš filter ima ukupno 22.000 otvora; on dopušta da 350 ccm krvi stane 14 dana prođe sistem za davanje u toku 7 do 8 minuta, pod uslovom da je igla za probadanje čepa 2,8 mm unutrašnjeg promera i da igla za davanje nije u veni pacijenta.

Stavljajući gornji materijal na uvid kolegama transfuziolozima i ostalim našim saradnicima, očekujemo od njih odgovore, odnosno diskusiju po tačkama koje se odnose na izmenu u pogledu naših postojećih normi za materijal i pribor.

Verujemo da se kroz praktičan rad, prilikom davanja transfuzija i infuzija, tokom vremena dešavaju ponekad izvesne poteškoće tehničke prirode, koje bi se mogle izbjeći blagovremenim ispitivanjem, napr. kvaliteta nekog novog filtra, čepa, itd.

Savezna komisija za transfuziju

PROPISI O SLUŽBI TRANSFUZIJE KRVI U NR SRBIJI

U vezi niza mera koje su preduzete u NR Srbiji na sređivanju organizacije zdravstvene službe doneseni su i propisi o službi transfuzije krvi. Ovakve mere treba pozdraviti jer je transfuzija kao nauka veoma napredovala, dok su, s druge strane, još uvek postojali oštri znaci da se ona ne sprovodi onako kako to zahtevaju savremeni principi. Pokazalo se, naime, da na terenu rad u mnogim mestima još uvek bazira na zastarelim predratnim metodama. Tako, još uvek postoje shvatanja da ustanova za transfuziju treba sama da obezbeđuje davaoce, dok se ostali zdravstveni radnici i građani za to ne interesuju. Nije pravilno shvaćeno ni mesto ustanove kao takve. Najčešće se ona smatra kao producent, a ne kao stručni rukovodilac po pitanjima koja duboko zadiru u svakodnevnu praksu. Serologija krvnih grupa (ABO i Rh) potpuno se ignorisala, dok je dublja razrada nekih ozbiljnijih pitanja koja se susreću u svakodnevnoj praksi sasvim zapostavljena. Radi takvih pojava dešavalo se da su za rukovodioce postavljeni lekari bez ikakvih kvalifikacija, dok su ostali bitni poslovi koje sprovodi srednjemedicinski personal poveravani nekvalifikovanom kadru. Zar nemamo još uvek pojava da pripremu sistema za transfuziju ne kontroliše sestra, da krvne grupe određuje »dobar« bolničar, da transfuziju daje bolničar koji »ima dosta iskustva«, itd., itd. Zar se još uvek ne tvrdi da se i ranije »moglo bez transfuzije«, da je istina da se malo primenjuje krv »ali su operacije uspele i bez krvi«, kao i da se mnogo troši krv? Ovakva tvrđenja, a i rad koji je napred iznesen, bez ikakvog su naučnog osnova i ničim nisu dokazana. Možda je istina da se bolesnik površno obradi, ali nije istina da je mogao bez transfuzije, bar ne u najvećem broju slučajeva. Poznati su nam slučajevi čak i takvog stava da se krv ne sme mnogo trošiti, kako bi se snizila cena bolesničkog dana. Uštede na ovaj način su skupe, jer bolesnik daleko duže leži od stvarnih potreba i bolesnički dani se produžuju. Međutim, stvar stoji tako da smo mi zemlja koja relativno malo troši krvi na broj bolesničkih postelja (V. »Bilten« br. 5, str. 75, 1958).

Principi na kojima bazira »Pravilnik« su sledeći:

- 1) U ustanovama za transfuziju može da radi osoblje koje je kvalifikovano za taj rad;
- 2) Ustanove za transfuziju moraju imati određene uslove pod kojima moraju da rade;
- 3) Ustanove za transfuziju krvi prikupljaju i obrađuju krv, a zajedno sa Crvenim krstom i ostalim društvenim organizacijama brinu se za prikupljanje donalaca;
- 4) Ustanove za transfuziju rade koristeći moderne principe transfuzije;
- 5) Ustanovama za transfuziju takođe je bitno pitanje kako se transfuzija sprovodi kod pacijenata.

Ovi propisi i »Minimalni uslovi« (izdati od Saveznog zavoda za narodno zdravlje, v. »Nar. zdravlje« 1—2/57) svakako da su neophodni u sprovođenju prvih mera za poboljšanje službe transfuzije i kao takve treba pozdraviti. Oni, kao početni, imaju svakako nedostataka, ali budući da su prvi treba to shvatiti i kasnija praksa doneće potrebne ispravke.

Dr B. S.

**PRAVILNIK O OSNIVANJU, ORGANIZACIJI I RADU
USTANOVA ZA TRANSFUZIJU KRVI**

Na osnovu člana 1 Uredbe o donošenju republičkih propisa o organizaciji zdravstvenih ustanova (»Službeni list FNRJ« br. 16/54), Savet za narodno zdravlje Narodne Republike Srbije donosi

**PRAVILNIK
O OSNIVANJU, ORGANIZACIJI I RADU USTANOVA
ZA TRANSFUZIJU KRVI**

Opšte odredbe

Član 1

Kabineti za transfuziju krvi, stanice za transfuziju krvi i Zavod za transfuziju krvi (u daljem tekstu: kabineti, stanice i Zavod) su ustanove za transfuziju krvi koje vrše poslove u vezi sa prikupljanjem, raspodelom i preradom ljudske krvi, proizvoda od ljudske krvi i zamenika plazme.

Član 2

Kabineti se mogu obrazovati u bolnicama, i to u mestima gde postoji stanica za transfuziju krvi ili Zavod za transfuziju krvi.

Kabinet je organizaciona jedinica bolnice.

Kabinet se obrazuje po prethodno pribavljenom stručnom mišljenju Zavoda za transfuziju krvi.

Član 3

Stanicu za transfuziju krvi obrazuju zdravstvene ustanove kao svoju organizacionu jedinicu.

Stanica se obrazuje po prethodno pribavljenom stručnom mišljenju Saveta za narodno zdravlje Narodne Republike Srbije.

Član 4

Zavod za transfuziju krvi je samostalna zdravstvena ustanova osnovana od Izvršnog veća NR Srbije.

Član 5

Ustanove za transfuziju krvi mogu se osnivati, odnosno obrazovati ako su prethodno obezbeđene prostorije, uređaji i ostala oprema, finansijska sredstva i stručni kadrovi potrebni za normalan rad ustanove.

Zadaci

Član 6

Kabinet ima sledeće zadatke:

— da vrši prikupljanje ljudske krvi, prvenstveno od srodnika i poznanika bolesnika;

— da dostavlja krv radi obrade stanici za transfuziju krvi;

— da čuva prikupljenu krv za potrebe bolnice u čijem se sastavu nalazi;

— da dostavlja izveštaje o radu određenim ustanovama i organima.

Pored navedenih zadataka, kabinet vodi evidenciju o datim transfuzijama i prati kvalitetno sprovođenje transfuzije u bolnici kojoj pripada.

Član 7

Kabinet je dužan da obezbedi tehničko i stručno sprovođenje transfuzije krvi u bolnici, u koju svrhu ima u dovoljnim količinama: sistema za transfuziju krvi, zamjenika za plazmu — fiziološki rastvor, dekstroze, dekstrana i dr., suve plazme, frakcije plazme, seruma za određivanje ABO i Rh krvnih grupa i potrebnog materijala za istraživanje antitela.

Član 8

Pripremljena krv, koja se čuva u kabinetu, mora se upotrebiti u roku od 10 dana. Po isteku ovog roka, kabinet šalje krv teritorijalno nadležnoj stanici, odnosno Zavodu. Krv se može uputiti i pre ovog roka stanici ili Zavodu u slučaju da se ista pojavljuje kao višak, kako bi je stanica odnosno Zavod na vreme upotrebili.

Član 9

Stanica ima sledeće zadatke:

- da prikuplja davaoce krvi u mestu i bližoj okolini;
- da priprema konzervisanu krv prikupljenu od dobrovoljnih davalaca, kao i od rodbine i prijatelja bolesnika, u saradnji sa Crvenim krstom, odnosno sa zdravstvenim osobljem ustanove u kojoj se bolesnik leči;
- da obrađuje i čuva prikupljenu krv;
- da priprema pribor za konzervisanje krvi;
- da proizvodi, po potrebi, sredstva za zamenu plazme (fiziološki rastvor i glikozu);
- da saraduje sa zdravstvenim ustanovama i da im pruža stručnu pomoć u pogledu obezbeđenja uslova za pravilno rukovanje i upotrebu ljudske krvi i proizvoda od ljudske krvi;
- da dostavlja izveštaje o radu određenim ustanovama i organima.

Član 10

Stanica mora imati dovoljne količine sistema za davanje transfuzije krvi.

Pored toga stanica mora da ima: suhu plazmu, frakcije plazme i razne test-serume.

Član 11

Zavod ima sledeće zadatke:

- da organizuje i prikuplja ljudsku krv, da priprema i prerađuje prikupljenu krv i da proizvodi sredstva za zamenu plazme;
- da snabdeva zdravstvene ustanove ljudskom krvlju, proizvodima od krvi i sredstvima za njihovu zamenu;
- da obrazuje rezerve stabilnih proizvoda od krvi;
- da priprema gotove pribore za transfuziju krvi za potrebe stanica, kabineta i bolnica;
- da pruža stručnu pomoć stanicama i kabinetima;
- da organizuje i održava kurseve za stručno osposobljavanje medicinskog osoblja na poslovima pripremanja, prerade i upotrebe ljudske krvi za potrebe lečenja;
- da saraduje sa zdravstvenim ustanovama;
- da radi na unapređenju službe transfuzije krvi;
- da obrađuje statistički materijal primljen od stanica i kabineta i da ga dostavlja određenim ustanovama i organima.

Član 12

Radi ostvarivanja zadataka iz prethodnog člana i uspešnog vršenja poslova predviđenih ovim pravilnikom, Zavod ima pravo i dužnost:

- da od zdravstvenih ustanova, u čijem sastavu postoje kabineti i stanice, traži obaveštenje i statističke podatke o njihovom radu;

— da ostvaruje uvid u ustanove za transfuziju krvi na teritoriji NR Srbije pod kojim uslovima čuvaju, obrađuju i stavljaju u promet proizvode koji služe za transfuziju krvi;

— da stavlja eventualne primedbe zdravstvenoj ustanovi u vezi sa radom stanice ili kabineta;

— da organu koji vrši nadzor nad radom zdravstvene ustanove u kojoj postoji kabinet ili stanica, predlaže preduzimanje odgovarajućih mera radi obezbeđenja njihovog pravilnog funkcionisanja.

Davaoci krvi

Član 13

Uzimanje krvi vrši se od lica koje je dobrovoljno na to pristalo.

Uzimanje krvi vrši se pod uslovima koji su određeni rešenjem Komisije za lekove pri Saveznom zavodu za narodno zdravlje br. 116/57.

Član 14

Uzimanje krvi od davalaca vrši isključivo lekar ili posebno osposobljena lica sa srednjom medicinskom školom pod nadzorom lekara.

Član 15

Svaki prijavljeni davalac, bez obzira da li mu je uzeta krv ili nije, mora se cidentirati u administrativnom protokolu i zdravstvenom listu davalaca. Davaocu od kojeg je uzeta krv obavezno se izdaje potvrda o datoj krvi u vidu legitimacije, zahvalnice i sl.

Član 16

Krv se može davati licu kome je potrebna samo nakon prethodnog određivanja krvne grupe primaoca i davaoca i nakon proverene unakrsne probe. Krvna grupa se određuje po pravilu u ustanovama za transfuziju krvi, a u bolničkim odeljenjima od strane osoblja koje je za to osposobljeno na posebnim kursovima.

Član 17

U prikupljanju davalaca krvi ustanove za transfuziju krvi saraduju sa organizacijama Jugoslovenskog crvenog krsta.

Prostorije i oprema

Član 18

Kabineti i stanice imaju prostorije i opremu prema spisku koji se daje u prilogu i koji je sastavni deo ovog pravilnika.

Osoblje

Član 19

Kabinetom rukovodi lekar koji je za ovu službu osposobljen na posebnom kursu.

Na poslovima kabineta lekar može raditi i pored svoje redovne dužnosti.

Pored lekara, kabinet treba da ima najmanje jednog lekarskog pomoćnika osposobljenog na posebnom kursu za rad u kabinetu.

Član 20

Stanicom rukovodi lekar koji je osposobljen za rad u službi transfuzije krvi. Pored lekara stanica treba da ima najmanje dva lekarska pomoćnika osposobljena na posebnom kursu za rad u stanici.

Član 21

Zavodom rukovodi upravnik Zavoda koji mora biti lekar sa višegodišnjom praksom u službi transfuzije krvi. Broj osoblja potrebnog za rad Zavoda utvrđuje se sistematizacijom radnih mesta.

Zajedničke odredbe

Član 22

U svrhu standardnosti i obezbeđenja kvaliteta materijala ustanove za transfuziju krvi dužne su da se u pogledu glavnih osobina i oblika pribora pridržavaju određenih uputstava koja će se naknadno propisati.

Član 23

Ustanove za transfuziju krvi moraju se pridržavati određenih programa (»plazma-program«) donetih od strane nadležnih organa. U ovu svrhu stanice za transfuziju krvi dužne su da u zajednici sa Zavodom utvrđuju godišnje planove korišćenja terena koji će obrađivati mobilne ekipe Zavoda, odnosno stanica.

Plan republičkog doprinosa za određene programe (»plazma-program«) utvrđuje Savet za narodno zdravlje NR Srbije na predlog Zavoda.

Stanice i druge zdravstvene ustanove su dužne da pružaju pomoć mobilnim ekipama Zavoda koje su prvenstveno zadužene za ostvarenje utvrđenih programa (»plazma-programa«).

Član 24

Pored ustanova za transfuziju krvi, ostale zdravstvene ustanove čuvaju proizvode od krvi pod nadzorom lekara.

Ostale odredbe

Član 25

Upravljanje, finansiranje, kao i nadzor nad stručnim radom kabineta, stanica i Zavoda vrši se po postojećim propisima.

Član 26

Postojeći kabineti, stanice i Zavod svoju organizaciju i rad imaju saobraziti odredbama ovog pravilnika u roku od jedne godine po njegovom stupanju na snagu.

Član 27

Ovaj pravilnik stupa na snagu danom objavljivanja u »Službenom glasniku Narodne Republike Srbije«.

Broj 5498/57
(Sl. glasnik NRS br. 7/58)
U Beogradu, 30 januara 1958 god.

Pretsednik
Saveta za narodno zdravlje NR Srbije
Dr Jovan Cekić, s. r.

PRIKAZI KNJIGA

P. Chevallier, A. Fiehrer: DES NOUVEAUX SYNDROMES HÉMORRAGIQUES — LA DYSPROTHROMBIE (Novi hemoragični sindromi — disprotrombinemije); Masson et Cie, Paris, 1957.

Autori su u ovoj monografiji obradili sindrome koji nastaju kao posledica poremećaja II faze koagulacije, odnosno formiranja trombina.

U predgovoru je istaknuto da se pod terminom disprotrombije podrazumevaju sve one hemoragične pojave koje karakteriše produženo Quick-ovo protrombinsko vreme, za koje se danas zna da nije samo funkcija nivoa protrombina već i koncentracije dva druga faktora, konvertina i akcelerina.

S obzirom na ova saznanja o formiranju trombina, danas se često govori o protrombinskoj aktivnosti neke plazme, podrazumevajući pod tim sve faktore od kojih zavisi ta aktivnost. Disprotrombinemije obuhvataju one hemoragične sindrome kod kojih je smanjena protrombinska aktivnost.

Sto strana ove monografije obuhvataju sledeće glave:

- a) Podelu disprotrombinemija (esencijalne i sekundarne);
- b) Kliničke pojave u vezi sa njima;
- c) Biološko-koagulacione testove za diferencijaciju;
- d) Neka teoretska razmatranja, i
- e) Terapiju.

Podela disprotrombinemija na esencijalne, koje su retke, i sekundarne, koje su češće, data je veoma pregledno i didaktično. Dat je i pregled koji omogućuje brzu dijagnozu disprotrombinemija.

I pored nešto pretencioznog naslova, monografija predstavlja dobar priručnik za onoga koji se bavi problemima koagulacije kako zbog svoje preglednosti, tako i opsežne bibliografije.

Dr Zoran Rolović

PAPER ELECTROPHORESIS. Ed. for the Ciba Foundation: G. E. W. Wolstenholme, E. C. P. Millar; J. & A. Churchill LTD, London, 1956, str. 224, cena 35 s.

Knjiga predstavlja referate sa sastanka skoro svih najeminentnijih predstavnika po pitanju papirne elektroforeze. Sastanak je održan od 27 do 29 jula 1955 god., i mada je prošlo dosta vremena i neke stvari iz referata dosta napredovale, ipak knjiga predstavlja bazu kako za početnike tako i za one koji su na ovom polju napredovali.

U svome referatu W. Grassmann iznosi opšte metode papirne elektroforeze i njenu primenu u medicinske i biohemiske svrhe, pri čemu je prodiskutovao o nekim prednostima i nedostacima metode. Diskutujući o tipovima aparatura, on predviđa budućnost elektroforezi visoke voltaže i elektroforezi sa papirnom zavesom.

J. de Wael iznosi rezultate ispitivanja kod oboljenja pasa. E. M. Abdel-Wahab, V. H. Ress, D. J. R. Laurence ispitivanja A/G odnosa i referišu da je posle bojenja amidc-švarcom ovaj odnos iznosio 1.7. J. C. White, G. H. Bearen, M. Elis su izneli metode ispitivanja hemoglobina, dok H. Laurell saopštava ispitivanja uticaja ACTH i kortizona na polisaharid koji se vezuje za proteine, kao i kod izvesnih oboljenja. E. Koiw detaljno saopštava svoju metodu papirne elektroforeze.

Fizikhemiske osnove papirne elektroforeze i njihov uticaj na tip aparata izneo je H. Svensson, a J. de Wael je izneo uticaj evaporacije i difuzije na razvijanje proteina na papiru.

Analizu materijala dobivenog na papiru izneli su E. M. Crook i N. H. Martin.

O uticaju raznih faktora na dobijanje i proračun vrednosti iz proteinskih krivulja govorili su H. G. McDonald i S. Chr. Sommerfelt.

O bojama i bojenju lipoproteina referisali su G. Franglen i H. G. McDonald.

O perspektivama papirne elektroforeze govorio je E. I. Durum.

Krajnji referat B. Kickhofena iznosi rezultate visokovoltazne elektroforeze.

I sami referati, kao i obimna diskusija o njima interesantni su zbog naučno-kritičkih analiza metode u celini, uspeha i nedostataka. Naročita pažnja obraćena je praktičnom značaju. Pored čisto tehničkih teškoća sa kojima se sreće svaki radnik u laboratoriji, mogu se naći i iskustva koja ukazuju i na sasvim, naizgled, obične detalje koji su od velikog uticaja na dobijanje ispravnih rezultata.

Knjiga može biti od velike koristi svima onima koji se bave papirnom elektroforezom.

Dr B. Simonović

L. Hejhal - P. Firt: OTAZKY LEČENI PRUDKEHO KRVACEN, Ed. Nakladatelství Československé Akademie Věd, Praha, 1954, str. 299.

U svom delu, nagrađenom od Čehoslovačke vlade, autori tretiraju probleme etiologije pulmonalne staze i pada srčane radnje prilikom primene masivnih količina krvi. Oni su ispitivali dejstvo natrijum-citrata, heparina i hipertoničnih rastvora glikoze i natrijum-hlorida, kao i razlike između intravenozne i intraarterijalne primene krvi.

Pri ispitivanju transfuzije hepariniziranom krvi, oni nisu našli razlike između intraarterijalnog i intravenoznog načina davanja, ali kada je krv sadržavala natrijum-citrat, našli su da je intraarterijalni način bolji zbog direktnog toksičnog dejstva natrijum-citrata na desno srce prilikom brzog intravenoznog davanja. Eksperimentalnim ispitivanjima oni su pokazali da se davanjem kalcijum-glukonata i novokaina uklanja toksično dejstvo natrijum-citrata koje je jako izraženo i pri brzom intravenoznoj transfuziji. Doziranjem su utvrdili da je najbolje dati preventivno 30 ccm 10% kalcijum-glukonata na svakih 500 ccm transfundovane krvi, i to tako da se 15 ccm ubrizga pre transfuzije, 15 ccm posle datih 100 ccm, i iza svakih sledećih 500 ccm krvi još po 10 ccm. Injekcije kalcijuma treba davati lagano i neprekidno. Naročito se preporučuje davanje kalcijuma kod hemoragija, jer su u takvim stanjima osobe daleko podložnije negativnim uticajima citrisane krvi.

U pogledu doziranja krvi, smatraju da je potrebno davati onoliko koliko je izgubljeno. Višak transfundirane krvi može imati neželjenih posledica (preopterećenje). Kod posthemoragičnih anemija treba davati prolongirano transfuzije pune krvi ili koncentrovanih eritrocita.

Autori podvlače značaj kontrole venskog pritiska. Step en varijacije igra ulogu u doziranju kalcijuma i regulaciji oticanja krvi. Svaki nagli skok treba kupirati davanjem 5 ccm kalcijuma, čime se za 10—15 minuta posle davanja kalcijuma postiže povraćaj pritiska na normalu za 10 do 15 sek. Ako se to ne postigne ni za 30 sekundi, tada treba ili prekinuti transfuziju ili dati još kalcijuma. Transfuzija se može nastaviti jedino ako je pritisak vraćen na normalu, ali ona tada mora biti sporija. Kon-

Arteriovenskog pritiska mora se nastaviti i posle završetka transfuzije, čak i posle 2—3 sata, naročito ako se radi o srčanim bolesnicima.

Što se tiče plazme, tu pre transfuzije treba davati 15 ccm kalcijuma, posle datih 100 ccm 25 ccm, a iza svakih daljih 500 ccm još po 15 ccm 10% kalcijum-glikonata. Ako venozni pritisak raste, davati 5 do 10 ccm.

Što se tiče 1% novokaina, njega treba davati 0,15 ccm na kilogram težine, a u toku potrebno je infundirati 0,25% novokain 5 kapi/minut.

Zbog opasnosti od koagulacije i tromboze kalcijum nikada ne treba davati u isti ekstremitet.

U daljim poglavljima autori diskutuju o vrednosti pojedinih zamenika za plazmu i smatraju da pri ruci treba imati despecificiranu animalnu plazmu i dekstran.

U izlaganju o šoku, oni smatraju da u slučaju zastoja srca usled hemoragije treba pre svega dati intraarterijalno transfuziju a zatim pokušati druge metode. Ali ako se pri tome daje citrisana krv, mora se davati kalcijum. Dodavanje hipertoničnih (40—50%) rastvora dekstroze krvi može biti štetno. Fibrilacija srca se takođe sprečava davanjem kalcijuma. Oticanje krvi, tj. brzina oticanja, zavisna je u prvom redu od prečnika igle. U slučaju prestanka srčane radnje, potrebno je omogućiti ne samo inspiraciju već i aktivnu ekspiraciju. Posle reanimacije intraarterijalna transfuzija nema prednosti nad intravenoznom i zato treba nastaviti sa ovom poslednjom.

Dr B. Simonović

OBAVEŠTENJE USTANOVAMA
ODNOSNO SARADNICIMA TRANSFUZIJE
O STRUČNOM SASTANKU U 1958 GODINI

Obaveštavamo Vas da će se stručni sastanak lekara koji rade u ustanovama transfuzije, odnosno lekara na klinikama i bolničkim odeljenjima koji se bave problemima transfuzije uopšte, održati poslednjih meseci ove godine u sličnoj organizaciji i opsegu kakav je bio sastanak prošle godine u Beogradu. Datum i mesto održavanja sastanka objaviće se naknadno.

Teme na sastanku biće uglavnom slobodne, ali je veoma poželjno da svaki saradnik transfuzije razmotri da li raspolaže materijalom, odnosno da li bi bio voljan da obradi instruktivan materijal »O d a v a o c u k r v i«, jer bi na sastanku bilo tretirano pitanje davaoca (obrada davaoca u statističkom, zdravstvenom i socijalnom pogledu, dalje u pogledu granica davanja i višestrukog primanja krvi, kao i u pogledu postupanja zdravstvenog radnika prema davaocu, itd.).

Molimo Vas da na stručni sastanak i saradnju pozovete kako lekare tako i farmaceute koji rade na transfuziji ili se bave problemima transfuzije u Vašoj ustanovi.

Isto tako Vas molimo da nam teme prijavite do kraja avgusta ove godine, kako bi se mogao sastaviti privremeni program sastanka i sprovesti njegova organizacija.

KOMISIJA ZA TRANSFUZIJU KRVI FNRJ

**OBAVEŠTENJE PORUČIOCIMA
ODNOSNO ČITAOCIMA BILTENA**

BILTEN ĆE IZLAZITI PREMA DOSADASNJIM ISKUSTVIMA
2-3 PUTA GODIŠNJE.

UREDNIŠTVO ĆE SE TRUDITI, ĆIM SREDI FINANSISKA
PITANJA ŠAMPANJA, DA BILTEN IZLAZI ŠTO REDOVNIJE,
BAR 2-3 MESECA JEDANPUT.

CENA BILTENA IZNOSI OKO 150 DINARA PO BROJU I
RAČUN ĆE BITI DOSTAVLJEN PRETPLATNICIMA UZ SVAKI
BROJ.

UREDNIŠTVO MOLI PRETPLATNIKE DA
PRETPLATU POLAŽU UREDNO.

Page Denied