

Plazmacitoza u perifernoj krvi bolesnika zaraženih virusom Dengue

Grujić, Tena

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:728398>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Tena Grujić

PLAZMACITOZA U PERIFERNOJ KRVI
BOLESNIKA ZARAŽENIH VIRUSOM
DENGUE

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Tena Grujić

PLAZMACITOZA U PERIFERNOJ KRVI
BOLESNIKA ZARAŽENIH VIRUSOM
DENGUE

Diplomski rad

Osijek, 2020.

Rad je ostvaren u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu.

Mentorica: Doc. dr. sc. Mirjana Stupnišek

Rad ima 47 listova, 10 tablica i 12 slika.

ZAHVALA

Uz veliko poštovanje želim zahvaliti svojoj mentorici doc. dr. sc. Mirjani Stupnišek na stručnoj i nesebičnoj pomoći tijekom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem kolegicama i kolegama na Odjelu za patologiju i citologiju Opće županijske bolnice Pakrac i bolnice hrvatskih veterana na susretljivosti i razumijevanju tijekom studiranja.

Također, zahvaljujem svim svojim prijateljicama i prijateljima koji su uvijek bili uz mene.

I na kraju, najveću zahvalnost želim iskazati svojoj obitelji koja je vjerovala u mene i moj uspjeh. Hvala na potpori, strpljenju i odricanju tijekom studiranja.

SADRŽAJ

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU.....	II
POPIS TABLICA.....	III
POPIS SLIKA.....	IV
1. UVOD	1
1.1. Plazmacitoza.....	1
1.2. Virus <i>dengue</i>	2
1.3. Bolest <i>dengue</i>	4
1.3.1. Kliničke manifestacije.....	5
1.3.2. Dijagnoza.....	6
1.3.3. Liječenje	6
1.3.4. Prevencija bolesti	7
1.4. Medicinsko laboratorijska dijagnostika	7
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	9
3. ISPITANICI I METODE.....	10
3.1. Ustroj studije	10
3.2. Ispitanici	10
3.3. Metode.....	10
3.4. Statističke metode.....	11
4. REZULTATI.....	12
5. RASPRAVA	28
6. ZAKLJUČAK	33
7. SAŽETAK	34
8. SUMMARY	35
9. LITERATURA	36
10. ŽIVOTOPIS	39

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU (abecednim redom)

CYD-TDV	cjepivo protiv <i>dengue</i> , Dengvaxia
DENV	<i>dengue</i> virus
DENV infekcija	<i>dengue</i> virusna infekcija
ELISA	enzimski imunosorbentni test engl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
IFA	neizravni imunofluorescentni test engl. <i>Immunofluorescence assay</i>
IL-10	interleukin 10
IL-35	interleukin 35
PCR	polimerazna lančana reakcija engl. <i>polymerase chain reaction</i> ;
RNK	ribonukleinska kiselina engl. <i>ribonucleic acid</i> , RNA
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija engl. <i>World Health Organization</i> , WHO
TGF- β	transformirajući čimbenik rasta beta engl. <i>Transforming growth factor beta</i>

POPIS TABLICA

Tablica 1.	Prikaz bolesnika prema dobi, spolu, danu bolesti kod prvog pregleda i broju simptoma.....	12
Tablica 2.	Prikaz simptoma i njihova učestalost pojavljivanja prema spolu.....	13
Tablica 3.	Prikaz simptoma prema dobnim skupinama.....	13
Tablica 4.	Prikaz broja plazma stanica ovisno o danu bolesti prilikom izrade diferencijalne mikroskopske krvne slike kod troje različitih bolesnika....	16
Tablica 5.	Prikaz aritmetičkih sredina praćenih laboratorijskih pretraga prema danu pregleda.....	20
Tablica 6.	Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti.....	23
Tablica 7.	Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema dobi i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti.....	24
Tablica 8.	Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti za peti dan bolesti.....	25
Tablica 9.	Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti za šesti dan bolesti.....	26
Tablica 10.	Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti za sedmi dan bolesti.....	27

POPIS SLIKA

Slika 1.	Broj simptoma prema danu bolesti kod prvog pregleda.....	14
Slika 2.	Zastupljenost promatranih bolesnika prema mjestu zaraze.....	15
Slika 3.	Prikaz broja zaraženih osoba po mjesecima u četverogodišnjem razdoblju.....	15
Slika 4.	Prikaz aritmetičke sredine broja plazma stanica u krvnoj slici ovisno o danu bolesti.....	17
Slika 5.	Prikaz aritmetičke sredine broja trombocita u ispitivanih bolesnika prema danima bolesti.....	17
Slika 6.	Prikaz aritmetičke sredine broja leukocita u ispitivanih bolesnika prema danima bolesti.....	18
Slika 7.	Prikaz aritmetičke sredine broja limfocita u ispitivanih bolesnika prema danima bolesti.....	18
Slika 8.	Prikaz broja trombocita u izdvojenom slučaju bolesnice prema danima bolesti.....	19
Slika 9.	Prikaz broja leukocita u izdvojenom slučaju bolesnice prema danima bolesti.	19
Slika 10.	Prikaz broja limfocita u izdvojenom slučaju bolesnice prema danima bolesti.....	20
Slika 11.	Prikaz rezultata diferencijalnih krvnih slika po danima bolesti napravljenih na automatskom hematološkom brojaču.....	21
Slika 12.	Prikaz rezultata diferencijalnih krvnih slika po danima bolesti napravljenih mikroskopskom analizom.....	22

1. UVOD

1.1. Plazmacitoza

Plazmacitoza u perifernoj krvi je vrlo rijedak nalaz, najčešće povezan s leukemijom plazma stanica, a rijetko sa zaraznim bolestima (1, 2) i virusnim infekcijama (3). Karakterizira ju povećana količina poliklonskih plazma stanica (najzreliji oblik B limfocita) u cirkulaciji (4), koje stvaraju mnogo različitih protutijela, takozvanih imunoglobulina, kao odgovor na ulazak brojnih stranih tvari ili antigena u tijelo.

Plazmacitoza, karakterizirana prolaznom prisutnošću poliklonskih plazma stanica u cirkulaciji, čest je, ali nedovoljno istražen, hematološki nalaz kod *dengue* virusne (DENV) infekcije. Najizraženija je u akutnoj fazi tijekom prvog tjedna bolesti i potpuno nestaje u roku 14 dana od pojave simptoma. Plazma stanice obično se ne opažaju u perifernoj krvi i nemaligna krvna plazmacitoza kod DENV infekcije do sada je u literaturi opisana u malom broju slučajeva. Moguće objašnjenje za ograničena izvješća o plazmacitozi u krvi kod DENV infekcije moglo bi biti uporaba automatiziranih staničnih brojača za određivanje populacije perifernih stanica. Nedostatak ovih automatiziranih sustava je nemogućnost prepoznavanja plazma stanica u krvi. Štoviše, u nalazima dobivenima na brojačima, za plazma stanice se navodi da su atipični limfociti, a povišen broj dokazan je u akutnoj fazi infekcije (4).

Tijekom DENV infekcije plazmacitoza je još uvijek nedovoljno opisana i podcijenjena jer je prolazna, a prepoznaje se samo pažljivim mikroskopskim pregledom razmaza krvi (3), stoga je bitno ukazati na važnost njenog prepoznavanja kao pokazatelja zaraze dengom. Može se objasniti intenzitetom imunološkog odgovora i stvaranjem velike količine interleukina (3).

Imunosustav djeluje preko posrednika (medijatora), a to su limfociti. Oni prema svojoj funkciji mogu biti limfociti B, koji upravljaju sintezom i izlučivanjem protutijela, odnosno humoralnom imunošću, i limfociti T, koji su odgovorni za funkciju tzv. stanične imunosti. Ove dvije osnovne funkcije specifične otpornosti organizma nisu odvojene, dapače, vrlo su čvrsto povezane i međusobno ovisne. Tijekom infekcije limfociti B dolaze u dodir s uzročnikom bolesti, odnosno njegovim antigenima na ulaznim vratima infekcije, zatim u limfnim čvorovima te u krvotoku i u tkivima. Nakon tog kontakta limfociti se preoblikuju u plazma stanice koje proizvode specifična protutijela, a nastaju kao posljedica kontakta s

mikroorganizmom koji je izbjegao sve mehanizme nespecifične obrane domaćina. Limfociti T specifični za DENV također pridonose imunopatogenezi bolesti (5).

Protutijela se proizvode pomoću terminalno diferenciranih B stanica, plazmablasta i plazma stanica. Nedavna istraživanja pokazala su da akutnu fazu i primarnih i sekundarnih DENV infekcija karakterizira veliko povećanje postotaka plazmablasta, osobito u bolesnika s teškom dengom. Važno je da, osim proizvodnje protutijela, B stanice imaju različite funkcije i igraju važnu ulogu u prezentaciji antigena, upali i proizvodnji imunosupresivnih citokina poput interleukina-10 (IL-10), transformirajućeg čimbenika rasta beta (engl. *Transforming growth factor beta*, TGF- β) i interleukina-35 (IL-35). Na primjer, B stanice s regulatornim funkcijama, nazvane Bregs, imaju važnu ulogu u održavanju tolerancije i homeostaze, obzirom da je primijećeno kako suzbijaju upalne reakcije kod autoimunih poremećaja i virusnih infekcija. Uočeno je da različite podgrupe B ljudskih stanica pokazuju regulatorne funkcije kao što su CD24^{hi} CD27⁺ B10 stanice, CD19⁺ CD24^{hi} CD27^{int} plazmablasti i CD19⁺ CD24^{hi} CD38^{hi} prijelazne B stanice proizvodnjom imunosupresivnih citokina IL-10 i TGF- β . U kontekstu infekcije DENV-om, ne zna se mnogo o odgovorima B stanica neovisnih o protutijelima, ali ono što se zna je da neispravan odgovor B-stanica u ranoj akutnoj fazi infekcije može pridonijeti patogenezi bolesti DENV infekcije (6).

Još jedan od važnih kliničkih znakova DENV infekcije je smanjenje broja leukocita (leukocitopenija) i trombocita (trombocitopenija) u perifernoj krvi bolesnika, što može značajno narušiti obranu imunološkog sustava. Uzrok trombocitopenije i leukocitopenije tijekom DENV infekcije još uvijek nije dovoljno istražen, ali može biti povezan s ozbiljnom supresijom populacije koštane srži, uključujući hematopoetske matične stanice i megakariocite, potomke leukocita i trombocite (7).

Prema podacima u radu Antonyja i suradnika, pregledom razmaza periferne krvi pacijentice kojoj je dokazana DENV infekcija, uočene su i poneke stanice s ekscentrično smještenim jezgrama s više istaknutih citoplazmatskih vakuola, morfološki u skladu s Mott-ovim stanicama (8).

1.2. Virus *dengue*

Virus *dengue* (DENV) mali je jednolančani RNK virus iz obitelji *Flaviviridae*, rod *Flavivirus* (9). Rod *Flavivirus* sadrži više od 53 članova od kojih su neki: virus žute groznice, virus

Zapadnog Nila, virus japanskog encefalitisa, virus krpeljnog encefalitisa (10). Većinu prenose artropodi (komarci ili krpelji) i zato se nazivaju i arbovirusima (11). Čovjek se inficira ubodom zaraženog komarca roda *Aedes*. Najvažniji vektor je *Aedes aegypti*, ali je posljednjih godina sve važniji vektor, osobito u Europi, *Aedes albopictus* (tigrasti komarac) (5). Druge vrste roda *Aedes* koje prenose bolest uključuju *Aedes polynesiensis* i *Aedes scutellaris* (12). Ljudi su glavni domaćini virusa, no isti može zaraziti i druge primat. Do zaraze može doći samo jednim ubodom (13).

Razlikujemo četiri serotipa virusa *dengue*, a to su: DENV-1, DENV-2, DENV-3 i DENV-4 (5, 9). Svaki serotip nakon infekcije ostavlja doživotnu imunost na isti serotip, te kratkotrajnu križnu imunost. Svi serotipovi mogu uzrokovati teške i smrtonosne oblike bolesti. Postoje i genske varijacije među serotipovima s potencijalno virulentnijim varijacijama (14).

Godišnje se ovim virusom inficira 35 - 60 milijuna ljudi. Oko 2.000 - 5.000 djece godišnje umire od ove bolesti. Virus se na čovjeka prenosi komarčevom slinom, replicira se u ciljnim organima, inficira leukocite i limfno tkivo, te se oslobađa u cirkulaciju. Ubodom i sisanjem krvi zaraženog čovjeka, ženka komarca unosi virus koji se replicira u crijevu i drugim organima, te inficira pljuvačne žlijezde komarca, te se na taj način dalje širi. Ženke se hrane primarno tijekom dana. Nesu jaja i produciraju larve najčešće u otvorenim spremištima za vodu (5, 14).

DENV infekcija može se prenijeti i putem zaraženih transfuzijskih pripravaka krvi i doniranjem organa (15). Vertikalni prijenos (s majke na dijete) tijekom trudnoće i kod poroda također je zabilježen (16, 17).

Pri ubodu zaraženog komarca, virus *dengue* ulazi u kožu i veže se na leukocite, prodire u njih, te se razmnožava unutar stanica dok one putuju tijelom. Napadnuti leukociti počinju proizvodnju brojnih signalnih proteina, kao na primjer interferona, koji su odgovorni za mnoge simptome poput povišene temperature, simptoma nalik gripi i teških bolova. Kod teških infekcija virus se razmnožava velikom brzinom i može zahvatiti mnoge druge organe (npr. jetru i koštanu srž), dok tekućina iz krvotoka prodire kroz stijenke malih krvnih žila u tjelesne šupljine. To rezultira smanjenim volumenom krvi u krvnim žilama i smanjenjem krvnog tlaka do vrlo niske vrijednosti, zbog čega vitalni organi nisu dovoljno opskrbljeni krvlju. Nadalje, poremećaj rada koštane srži dovodi do smanjenog broja trombocita, koji su potrebni za učinkovito zgrušavanje krvi; to povećava rizik od krvarenja, druge velike komplikacije *dengue* (18).

Početak 2019. godine, Svjetska zdravstvena organizacija, SZO (engl. *World Health Organization*, WHO) navela je dengue kao potencijalnu prijetnju među deset bolesti za 2019. godinu, a tadašnje epidemije u mnogim zemljama potvrdile su ovo opažanje. Epidemije *dengue* uglavnom imaju sezonski obrazac, a prijenos je često vrhunac za vrijeme i nakon kišnih sezona. Nekoliko faktora pridonosi ovom porastu, a oni uključuju visoku razinu populacije komaraca, osjetljivost na cirkulirajuće serotipove, povoljne temperature zraka, oborine i vlažnost zraka, a svi oni utječu na reprodukciju i obrasce hranjenja populacije komaraca, kao i razdoblje inkubacije virusa *dengue*. Nedostatak proaktivnih kontrolnih intervencija i osoblja neki su od drugih izazova (19).

U Hrvatskoj prvi slučaj ugriza komarca *Aedes albopictus* zabilježen je na području Zagreba u listopadu 2004. godine, a u jesen 2005. godine i u brojnim mjestima duž jadranske obale. Tijekom 2007. godine u nas su dokazana dva importirana slučaja denga groznice, nakon čega su importirani slučajevi kontinuirano bilježeni. U kolovozu 2010. godine zabilježen je prvi slučaj autohtone denga groznice u Hrvatskoj, na poluotoku Pelješcu. Iako Hrvatska nije endemsko područje za dengue, prisutnost odgovarajućeg vektora, kao i moguća opasnost od importiranih slučajeva *dengue* zahtijeva suvremenu i pravodobnu dijagnostiku ove bolesti (20).

Denga je endemska bolest u više od 110 zemalja i godišnje od nje oboli od 50 do 100 milijuna ljudi, oko 500.000 biva hospitalizirano, umire oko 12.500 – 25.000, a otprilike 2,5 milijardi ljudi živi u endemskim zemljama *dengue* (9, 21). Druga je najvažnija tropska bolest poslije malarije, iako je SZO ubraja u jednu od 16 najviše zanemarenih tropskih bolesti (22). Do 2003. godine denga je bila klasificirana kao potencijalno sredstvo bioterorizma, no kasnija izvješća rezultirala su deklasifikacijom jer se zaključilo da je virus teško prenosiv i da izaziva hemoragijsku groznicu u relativno malom broju ljudi (23). U 2019. godini broj slučajeva denga groznice prijavljenih SZO-u iznosi 4,2 milijuna. Najveći broj prijavljenih slučajeva bio je u Africi, Americi, istočnom Mediteranu, jugoistočnoj Aziji i zapadnom Tihom oceanu, s time da Azija predstavlja oko 70 % globalnog tereta bolesti (17).

1.3. Bolest *dengue*

Dengue je akutna bolest s vrućicom, glavoboljom, mialgijom i osipom, uzrokovana nekim od četiri različita virusa koji pripadaju rodu *Flavivirus*, porodica *Flaviviridae* (5). Infekcija

jednim serotipom pruža doživotni imunitet tom virusu, ali ne postoji unakrsna zaštitna imunost na ostale serotipove. Različiti klinički ishodi jedno su od obilježja DENV infekcije. Ishodi se kreću od asimptomatske infekcije do infekcije koja može rezultirati blagom vrućicom (*dengue* groznica) ili teškom hemoragijskom vrućicom (*dengue* hemoragijska groznica) i *dengue* šok sindromom. Bolest se većinom pojavljuje u tropskim i subtropskim krajevima, ali je prisutnost komarca *Aedes albopictus* dokazana i u Hrvatskoj (20, 24).

Dengue je španjolski homonim za »*ki denga pepo*« na Swahiliju, što opisuje iznenadnu pojavu grčeva uzrokovanu zlim duhovima. Najstariji za sada otkriven opis ove bolesti je u kineskoj medicinskoj enciklopediji iz dinastije Chin (265 - 420 g.). Kinezi su dengue zvali »vodeni otrov«, te su pretpostavljali da bolest ima neke veze s insektima (14).

1.3.1. Kliničke manifestacije

Infekcija DENV kreće se od nedefinirane vrućice, klasične *dengue* groznice, *dengue* hemoragijske groznice i *dengue* šok sindroma. Bilo koji od ovih ishoda može se razviti kako kod odraslih, tako i kod djece (20, 24).

Nedefinirana vrućica javlja se kada je DENV infekcija asimptomatska ili blago simptomatska (25). Pri klasičnoj *dengue* groznici javljaju se glavobolja, vrućica, bolovi u mišićima i zglobovima, mučnina, povraćanje, osip, te različite hemoragijske manifestacije (petehije, purpura, ekhimoze, gingivalno krvarenje, hematemeza, melena, hematurija, pojačano menstrualno krvarenje). Zabilježeni su i encefalitis, te encefalopatije uz letargiju, konfuziju, sve do pojave kome, uz grčeve, rigiditet vrata, te pareze. Da bismo postavili dijagnozu *dengue* hemoragijske groznice potrebno je prema SZO zadovoljiti četiri neophodna kriterija: postojanje vrućice ili podatak o nedavnoj vrućici, hemoragije, trombocitopenija, te objektivni podaci o propusnosti krvnih žila (povišeni hematokrit 20 % i više, niski albumin, pleuralne i druge efuzije). Opasni znaci koji upućuju na nepovoljan razvoj *denga* hemoragijske vrućice su: intenzivna i stalna bolnost u trbuhu, stalno povraćanje, nagli prijelaz vrućice u hipotermiju sa znojenjem i prostracijom, te iscrpljenošću i somnolencijom. *Denga* šok sindrom razvija se u četiri stupnja. U prvom stupnju nalazimo vrućicu i nespecifične opće simptome, te pozitivan tourniquet test kao jedini dokaz hemoragija, dok drugi stupanj, pored

svoga navedenog uključuje i spontano krvarenje. U trećem stupnju razvijaju se znaci cirkulatorne insuficijencije, dok u četvrtom stupnju zapažamo jasan šok (5, 14).

Inkubacijsko razdoblje iznosi od 3 - 14 dana, ali najčešće 4 - 7 dana. Iako su simptomi općenito blaži negoli kod odraslih, djeca su podložnija teškim komplikacijama (21).

1.3.2. Dijagnoza

Dijagnoza *dengue* se postavlja na temelju kliničke slike, potvrđenih simptoma i objektivnog pregleda (21). Važan kriterij koji treba uzeti u obzir u dijagnozi DENV infekcije jest povijest putovanja ili boravka u *dengue* endemičnom području u roku od dva tjedna od početka simptoma. U ranom stadiju bolest je teško razlikovati od drugih virusnih infekcija. Moguća dijagnoza postavlja se na temelju postojanja povišene temperature i najmanje dva od sljedećih simptoma: mučnine i povraćanja, osipa, općeg osjećaja boli, niskog broja leukocita ili drugih alarmirajućih simptoma. Najranija promjena vidljiva u laboratorijskim pretragama je nizak broj leukocita, a kasnije se može javiti i porast hematokrita istodobno s naglim smanjenjem broja trombocita (24). U istraživanju Guilarde i suradnika 2008. godine dokazano je i povećanje razine jetrenih enzima (26).

1.3.3. Liječenje

Ne postoje specifična cjepiva ili antivirusni tretmani protiv *dengue* groznice. Indicirana je upotreba paracetamola za smanjivanje vrućice. Treba izbjegavati acetilsalicilnu kiselinu i nesteroidne antiinflamatorne lijekove, poput ibuprofena (5, 19). Potrebno je pratiti krvni tlak, hematokrit, broj trombocita te stanje svijesti i diurezu (5). Pravodobna medicinska skrb iskusnih zdravstvenih radnika može spasiti živote smanjujući stopu smrtnosti s više od 20 % na manje od 1 %. Održavanje pacijentovog volumena tjelesnih tekućina je od velike važnosti za liječenje teške *dengue*. Bolesnici s dengom trebaju potražiti medicinski savjet nakon pojave prvih znakova upozorenja (17).

1.3.4. Prevencija bolesti

Prevencija bolesti uvijek ostaje prioritet za javno zdravstvo. Uključuje zaštitu od uboda komaraca primjenom različitih sredstava protiv komaraca i ono najvažnije da mjere suzbijanja komaraca u principu predstavljaju jedini pravi način uklanjanja opasnosti od infekcije. Inicijative podizanja svijesti javnosti igraju glavnu ulogu u ovom nastojanju. Cijepljenje ostaje još jedna snažna preventivna mjera. Međutim, cjepivo protiv *dengue* još uvijek je u fazi razvoja (27).

Prvo cjepivo protiv *dengue*, Dengvaxia (CYD-TDV) koje je razvio Sanofi Pasteur, dobilo je dozvolu u prosincu 2015. godine i odobrila su ga regulatorna tijela u 20-ak zemalja. U studenom 2017. godine objavljeni su rezultati dodatne analize koja je retrospektivno utvrdila serostatus u vrijeme cijepljenja. Analiza je pokazala da je skupina sudionika ispitivanja za koje je u trenutku prvog cijepljenja zaključeno da su seronegativni, imala veći rizik za obolijevanje od teške *dengue* i hospitalizaciju od *dengue* u usporedbi s necijepljenim sudionicima. Kao takvo, uporaba cjepiva namijenjena je osobama koje žive u endemskim područjima, u dobi od 9 - 45 godina, koje su prethodno imale najmanje jednu dokumentiranu infekciju virusom *dengue* (17).

Osim pokušaja da se kontrolira širenje komaraca roda *Aedes* i rada na cjepivu protiv *dengue*, kontinuirano se radi i na antivirusnim lijekovima kojima bi se liječila *dengue* groznica i sprječavale teške komplikacije (10).

1.4. Medicinsko laboratorijska dijagnostika

DENV infekcija može se dijagnosticirati mikrobiološkim laboratorijskim pretragama (17). Iako se zlatnim standardom smatra izolacija virusa, ipak postoji mnogo nedostataka u ovom postupku. Izolacija virusa je skupa, a potrebno je i šest do deset dana da se replicira u stanicama kulture tkiva. Stoga se ne može preporučiti za kliničku dijagnozu i upravljanje slučajevima. U dijagnostici se rutinski koriste serološki testovi kao što je enzimski imunosorbentni test (ELISA, od engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*), te dodatno razni testovi amplifikacije nukleinskih kiselina (PCR, od engl. *polymerase chain reaction*; polimerazna lančana reakcija). Virus se može izolirati tijekom viremične faze (unutar pet

dana od početka bolesti) iz seruma i pune krvi (5, 27). Ovi uzorci pogodni su za izolaciju virusa, te serološke testove ili PCR (14).

Tijekom primarne infekcije virusom *dengue* specifična IgM protutijela mogu se detektirati u serumu u oko 50 % bolesnika tri do pet dana nakon početka bolesti, u oko 80 % bolesnika nakon pet dana te u gotovo svih bolesnika nakon deset dana. IgM protutijela dosežu maksimalne vrijednosti oko dva tjedna nakon pojave simptoma te obično nestaju za dva do tri mjeseca. Nizak titar IgG protutijela može se naći već krajem prvog tjedna bolesti, nakon čega postupno raste i ostaje detektabilan dugo vremena nakon preboljele infekcije, a možda i doživotno. Tijekom ponovne (sekundarne) infekcije drugim serotipom virusa *dengue* titar IgG protutijela raste brže i doseže više vrijednosti nego u primarnoj infekciji. Titar IgM protutijela u sekundarnoj infekciji znatno je niži, a vrlo često i ispod razine detekcije. U serološkoj se dijagnostici najčešće primjenjuje ELISA test te neizravni imunofluorescentni test (IFA, od engl. *Immunofluorescence assay*) koji određuju klase IgM i IgG protutijela. Pri interpretaciji nalaza treba isključiti moguće križne reakcije s drugim flavivirusima. Prednost IFA testa u odnosu prema ELISA testu jest mogućnost određivanja protutijela specifičnih za serotip. Iako su često prisutne križne reakcije između serotipova, titar protutijela na serotip virusa koji je uzrokovao infekciju (tzv. homologna protutijela) obično je viši od titra heterolognih protutijela (20).

Rutinski hematološki testovi također su neizmjerljivo korisni. Progresivno smanjenje broja leukocita, odnosno leukocitopenija, zatim trombocitopenija, koja najčešće dolazi s povećanjem hematokrita od trećeg do sedmog dana bolesti, i plazmacitoza čine dijagnozu *dengue* vjerojatnom (27). Bitno je naglasiti i važnost mikroskopske analize perifernog razmaza krvi koji je ključan u detektiranju plazmacitoze jer samo pomoću nje možemo uočiti plazma stanice. Referentni intervali za pretragu kompletne krvne slike na hematološkom analizatoru i diferencijalne krvne slike na mikroskopu za odraslu dob su: leukociti $3,4 - 9,7 \times 10^9/L$; segmentirani granulociti 44 - 72 rel %, nesegmentirani granulociti 0 - 2 rel %, limfociti 20 - 46 rel %, monociti 2 - 12 rel %, eozinofilni granulociti 0 - 7 rel %, bazofilni granulociti 0 - 1 rel %, plazma stanice 0 rel %, reaktivni limfociti 0 rel %, metamijelociti 0 rel %; trombociti $158 - 424 \times 10^9/L$.

Brza i pouzdana laboratorijska dijagnostika *dengue* infekcije izuzetno je poželjna za kliničare zbog rane dijagnostike težih oblika bolesti, potvrde slučajeva i diferencijalne dijagnoze prema drugim infektivnim bolestima.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovog istraživanja jesu:

1. Usporediti kliničke simptome *dengue* u ispitivanih bolesnika prema spolu, dobi i danu bolesti.
2. Usporediti vrijednosti ukupnog broja trombocita, ukupnog broja leukocita i broja limfocita u ispitivanih bolesnika prema danima bolesti.
3. Ispitati pojavnost plazmacitoze te utvrditi najvišu vrijednost broja plazma stanica u diferencijalnoj krvnoj slici ispitanika prema danima bolesti.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao presječna studija iz povijesnih podataka (28).

3.2. Ispitanici

U istraživanje smo uključili bolesnike oba spola, s potvrđenom dijagnozom *dengue*, liječene u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu, u četverogodišnjem razdoblju od ožujka 2016. godine do veljače 2020. godine te smo analizirali njihove povijesti bolesti. Iz istraživanja smo isključili bolesnike kojima nije učinjena kompletna krvna slika, kao i one koji imaju nepotpunu medicinsku dokumentaciju. Kod uključenih ispitanika dijagnoza *dengue* potvrđivana je serološkim i/ili molekularnim metodama.

3.3. Metode

Podaci o bolesnicima s dijagnozom *dengue*, u četverogodišnjem razdoblju od ožujka 2016. godine do veljače 2020. godine prikupljeni su iz povijesti bolesti te su prikazani: dob, spol, epidemiološki podaci, mjesec prijama u bolnicu, trajanje bolesti u danima, klinički simptomi, komplikacije, te vrijednosti laboratorijskih pretraga (broj trombocita, broj leukocita, broj limfocita, broj plazma stanica). Krvne slike analizirane su na automatskom hematološkom analizatoru UniCel DxH 800 Beckman Coulter, a za ispitivanje pojavnosti plazma stanica rađena je mikroskopska diferencijalna krvna slika razmaza periferne krvi bojena metodom May-Grünwald Giemsa (29) te analizirana na svjetlosnom mikroskopu pod povećanjem od 1000x. Referentni intervali korišteni u ovom radu u svrhu statističke analize sukladni su s dokumentom "Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije" (30).

Pri izradi ovog rada poštivane su etičke norme, hrvatski zakoni i međunarodne konvencije. Protokol i postupci ispitivanja odobreni su od strane Etičkog povjerenstva Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Osijek Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku. Dobiveni rezultati statistički su obrađeni.

3.4. Statističke metode

Od statističkih metoda korištene su mjere centralne tendencije (aritmetička sredina ili medijan) i mjere varijabilnosti (standardna devijacija, raspon) ovisno o dobivenoj raspodjeli (distribuciji) podataka mjerenih varijabli. Rezultati su prikazani tablično i grafički. Statistička analiza obavljena je programskim paketom Microsoft Excel 2019 MSO (16.0.10364.20059).

4. REZULTATI

U četverogodišnjem razdoblju od ožujka 2016. do veljače 2020. godine, prikupljeni su iz povijesti bolesti i analizirani podaci o bolesnicima s dijagnozom *dengue*, liječeni u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu. Iz istraživanja su isključeni bolesnici kojima nije učinjena kompletna krvna slika, kao i oni koji imaju nepotpunu medicinsku dokumentaciju.

U ovo istraživanje uključeno je 16 ispitanika, oba spola, starijih od 18 godina. Raspon dobi je u intervalu od 24 – 64 godine. U Tablici 1. prikazani su osnovni podaci o bolesnicima.

Tablica 1. Prikaz bolesnika prema dobi, spolu, danu bolesti kod prvog pregleda i broju simptoma

		Muškarci	Žene	Ukupno
Broj bolesnika		6	10	16
Dob bolesnika	Aritmetička sredina	49,0	38,9	42,7
	Medijan	47,5	33,5	43,0
Dan bolesti kod prvog dolaska	Aritmetička sredina	5,2	4,9	5,0
	Medijan	5,0	4,5	5,0
Broj simptoma	Aritmetička sredina	3,3	4,5	4,1
	Medijan	3,0	4,5	4,0

Iz Tablice 1. vidljivo je da su muškarci oboljeli od *dengue* groznice stariji od žena te su se na prvi pregled u Kliniku javljali nešto kasniji dan bolesti u odnosu na žene. Također, kod prvog pregleda žene su imale veći broj simptoma od muškaraca.

U Tablici 2. prikazani su simptomi te učestalost njihova pojavljivanja u promatranih 16 bolesnika prema spolu. U prosjeku su bolesnici imali četiri simptoma. U muškaraca je prijavljivana nešto manji broj simptoma (3,3) za razliku od žena (4,5). Može se primijetiti da je najučestaliji simptom febrilitet koji je prisutan kod sedam osmina bolesnika, dok je jedan bolesnik bio subfebrilan. Prosječna temperatura svih bolesnika bila je 38,8 °C. Medijalna temperatura bila je 39 °C. Osip je sljedeći simptom po pojavnosti, a svaki drugi bolesnik imao je glavobolju.

Tablica 2. Prikaz simptoma i njihova učestalost pojavljivanja prema spolu

Simptomi	Spol		Ukupno (*n=16)
	Muškarci (*n=6)	Žene (*n=10)	
Febrilitet (>38 °C)	6	8	14
Znojenje	1	2	3
Glavobolja	2	6	8
Zimica	3	4	7
Tresavica	2	4	6
Mučnina i povraćanje	1	4	5
Kašalj	1	3	4
Opći alglički sindrom	0	3	3
Oticanje zglobova	0	2	2
Osip	4	9	13

*n = broj ispitanika

Sedam od šesnaest bolesnika bilo je hospitalizirano, dok ih je devetero bilo liječeno ambulantno. U prosjeku su bolnički pacijenti imali više simptoma od ambulantskih pacijenata.

Prikaz simptoma prema dobnim skupinama vidljiv je iz Tablice 3. Ispitanici su, radi malog broja, podijeljeni u dvije skupine, a u svakoj se nalazi po osam bolesnika.

Tablica 3. Prikaz simptoma prema dobnim skupinama

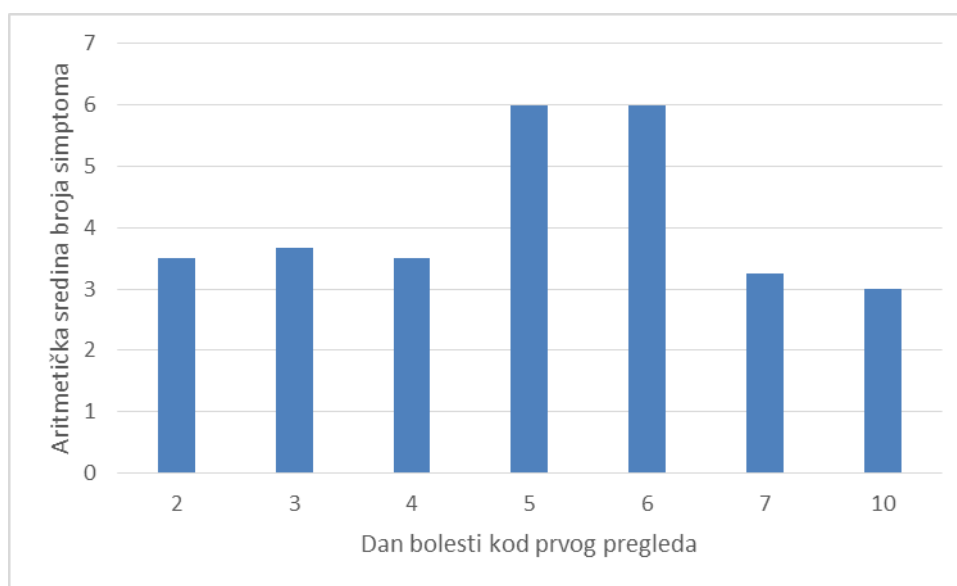
Simptomi	Dobne skupine	
	24 – 43 (*n=8)	44 – 64 (*n=8)
Febrilitet (>38 °C)	6	8
Znojenje	0	3
Glavobolja	4	4
Zimica	4	3
Tresavica	5	1
Mučnina i povraćanje	3	2
Kašalj	1	3
Opći alglički sindrom	2	1
Oticanje zglobova	0	2
Osip	7	6

*n = broj ispitanika

U prosjeku pacijenti u dobnoj skupini od 24 do 43 godine imaju 4 simptoma, a u dobnoj skupini 44 do 64 godine 4,13 simptoma.

Također, u prvoj dobnoj skupini nalazi se jedan muškarac i sedam žena, a u drugoj pet muškaraca i tri žene.

Na Slici 1. prikazana je aritmetička sredina broja simptoma u bolesnika prema danu bolesti kod prvog pregleda.



Slika 1. Broj simptoma prema danu bolesti kod prvog pregleda

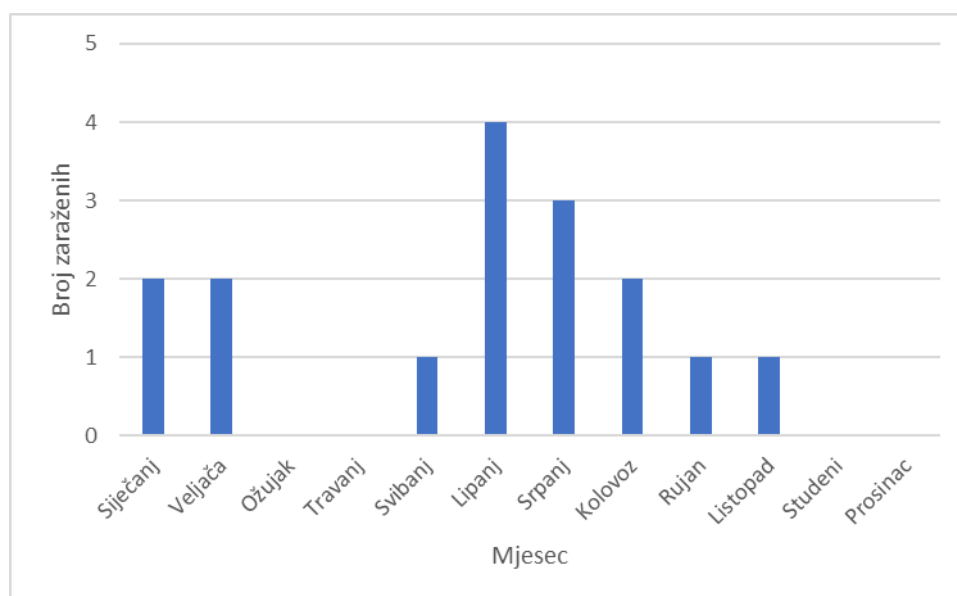
Kod svih ispitivanih bolesnika infekcija je importirana. Bolesnici su virusom zaraženi na području Brazila, Filipina, Indonezije, Kenije, Maldiva, Meksika, Nepala, Šri Lanke i Tajlanda (Slika 2.). U svakoj zemlji se zarazio jedan bolesnik, izuzev Tajlanda gdje ih se zarazilo četvero te Indonezije gdje se zarazilo pet bolesnika. Od 16 ispitivanih bolesnika, troje su bili strani državljani koji su bili na proputovanju kroz Hrvatsku, dok je preostalih 13 hrvatskih državljana bilo na turističkom putovanju u endemskom području. Ugrize komaraca primijetilo je troje bolesnika.



Slika 2. Zastupljenost promatranih bolesnika prema mjestu zaraze

Područja označena žuto su ona područja gdje se zarazio po 1 promatrani bolesnik, u ljubičastim područjima zaraženo je 4 promatranih bolesnika, u plavom 5 bolesnika (na karti nema narančaste i roze boje jer se niti na jednom mjestu nije zarazilo točno dva, odnosno točno tri promatrana bolesnika).

U nastavku je prikazana distribucija zaraze *dengue* virusom po mjesecima (sve zaraze u određenom mjesecu skupno za razdoblje od ožujka 2016. do veljače 2020. godine) (Slika 3.).



Slika 3. Prikaz broja zaraženih osoba po mjesecima u četverogodišnjem razdoblju

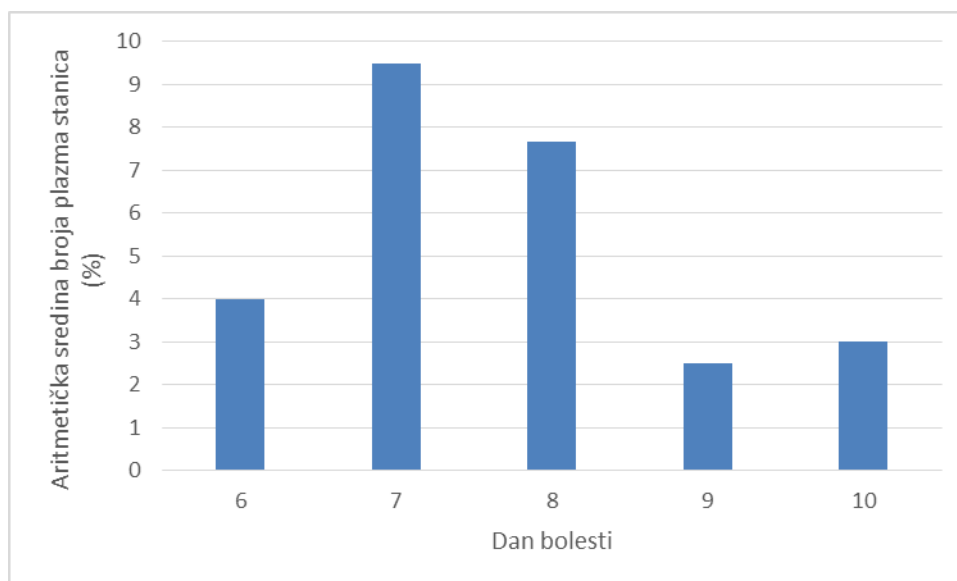
Za promatranih 16 bolesnika sveukupno su analizirane 53 krvne slike. Od toga je u 11 bolesnika diferencijalna mikroskopska krvna slika rađena 14 puta, dok smo kod ostalih 5 bolesnika imali samo kompletnu krvnu sliku sa analizatora. Trima bolesnicima napravljene su po dvije diferencijalne mikroskopske krvne slike i prikazani su u Tablici 4. pod A, B, C. U čak 10 slučajeva pronađene su plazma stanice u krvi. U četiri slučaja kada nisu pronađene plazma stanice radilo se o dvije krvne slike rađene četvrti dan bolesti, jedne peti te jedne dvanaesti dan bolesti.

Tablica 4. Prikaz broja plazma stanica ovisno o danu bolesti prilikom izrade diferencijalne mikroskopske krvne slike kod troje različitih bolesnika

Bolesnik	Dan bolesti prilikom izrade diferencijalne mikroskopske krvne slike	Plazma stanice (%)	Dan bolesti prilikom izrade diferencijalne mikroskopske krvne slike	Plazma stanice (%)
A	7.	6	12.	0
B	8.	6	9.	3
C	5.	0	8.	6

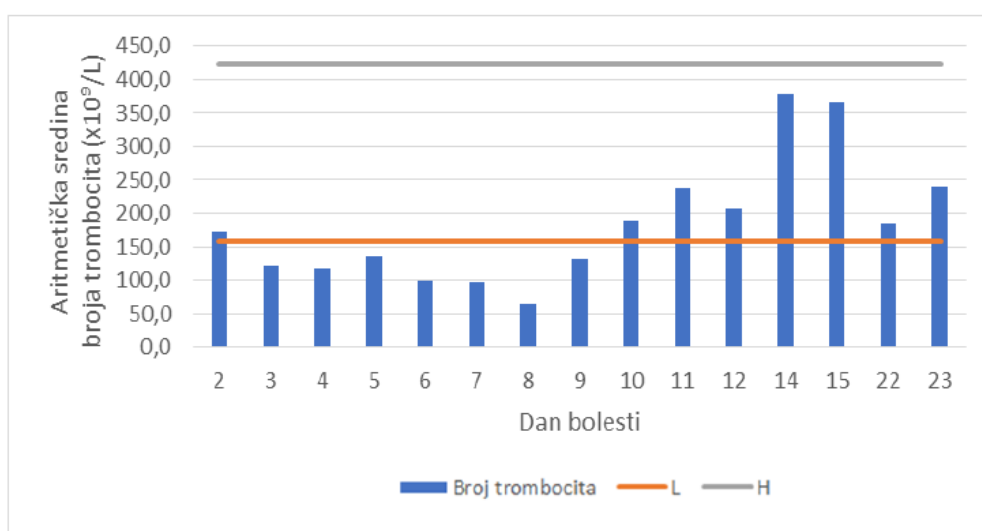
Plazma stanice pronađene su u bolesnika kojima je krvna slika rađena između šestog i desetog dana bolesti što je i prikazano na Slici 4. gdje je vidljivo da je plazmacitoza najviše prisutna sedmog i osmog dana bolesti.

Najviša pojedinačna vrijednost broja plazma stanica u mikroskopskoj diferencijalnoj krvnoj slici bila je 13 %, a zabilježena je sedmog dana bolesti u bolesnice koja je imala težu kliničku sliku.



Slika 4. Prikaz aritmetičke sredine broja plazma stanica u krvnoj slici ovisno o danu bolesti

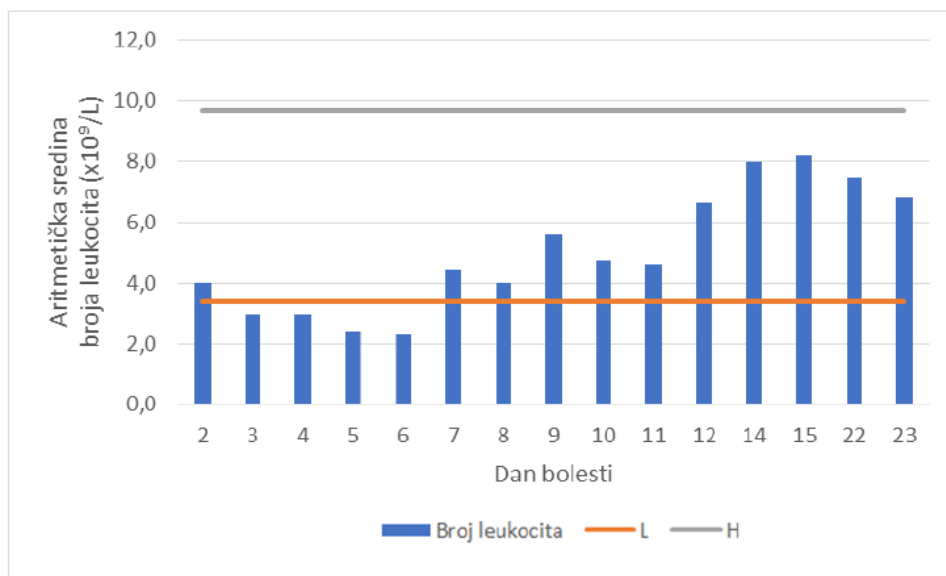
U analizu su uključene 53 krvne slike napravljene u svih 16 bolesnicima. Prvi analizirani dan bolesti je drugi, a zadnji dvadeset i treći (Slika 5.). Najmanji broj trombocita ($50 \times 10^9/L$) bio je prisutan u krvnoj slici rađenoj sedmi dan bolesti, a najveći ($378 \times 10^9/L$) četrnaesti dan bolesti.



L - donja granica referentnih vrijednosti; H - gornja granica referentnih vrijednosti

Slika 5. Prikaz aritmetičke sredine broja trombocita u ispitivanih bolesnika prema danima bolesti

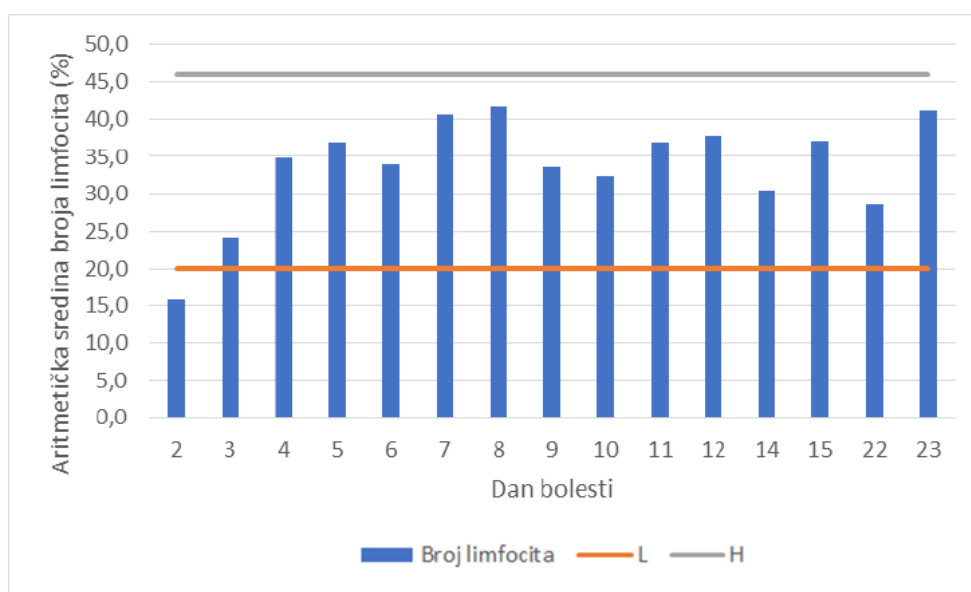
Najmanji broj leukocita ($1,5 \times 10^9/L$), javio se u krvnoj slici rađenoj peti dan bolesti, a najveći ($10,7 \times 10^9/L$) sedmi dan bolesti (Slika 6.).



L - donja granica referentnih vrijednosti; H - gornja granica referentnih vrijednosti

Slika 6. Prikaz aritmetičke sredine broja leukocita u ispitivanih bolesnika prema danima bolesti

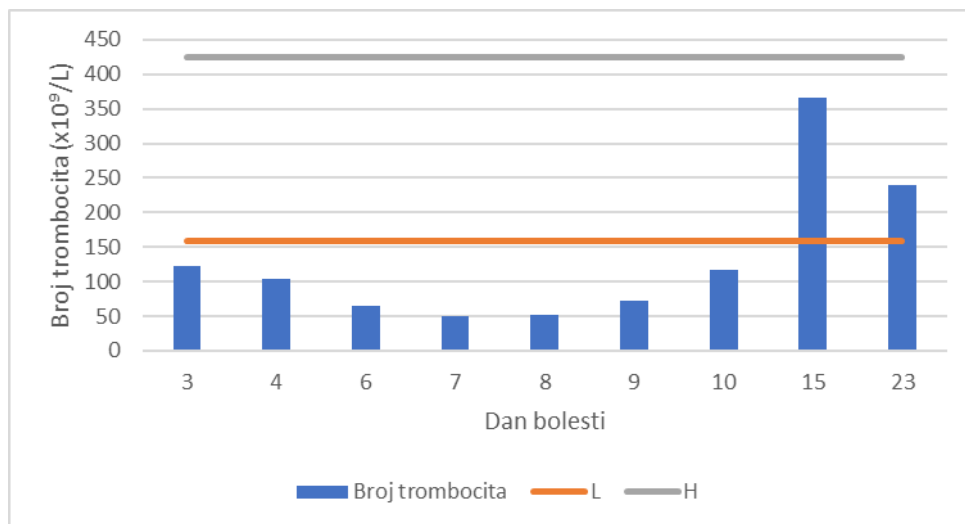
Najmanji udio limfocita (6,8 %), javio se u krvnoj slici rađenoj drugi dan bolesti, a najveći (50,1 %) sedmi dan bolesti (Slika 7.).



L - donja granica referentnih vrijednosti; H - gornja granica referentnih vrijednosti

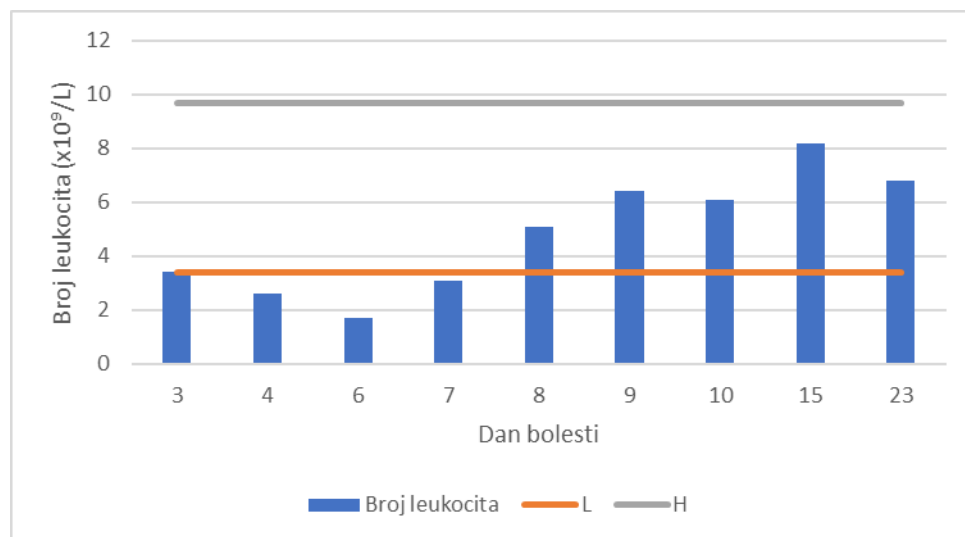
Slika 7. Prikaz aritmetičke sredine broja limfocita u ispitivanih bolesnika prema danima bolesti

U nastavku je prikazan broj trombocita (Slika 8.), leukocita (Slika 9.) i limfocita (Slika 10.) u izdvojenom slučaju bolesnice kojoj su krvne slike rađene devet puta – od trećeg do dvadeset i trećeg dana bolesti.



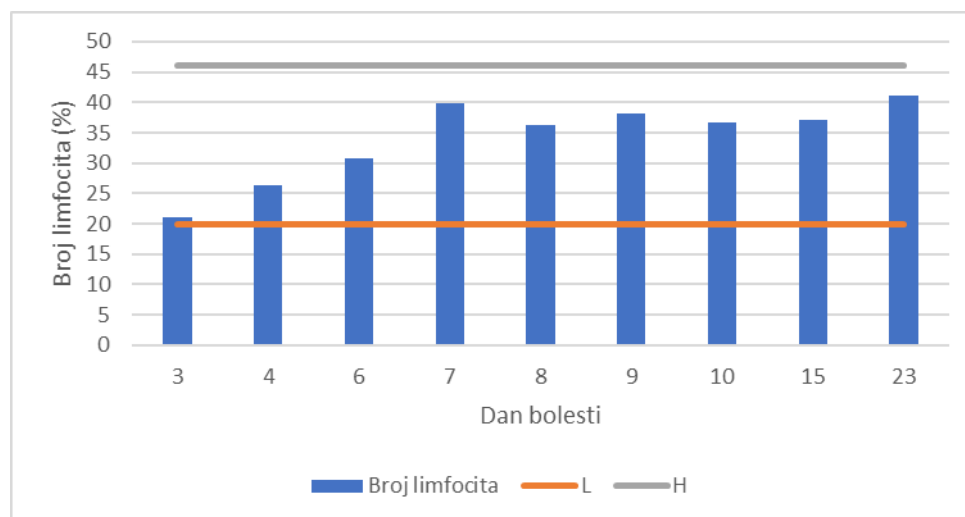
L - donja granica referentnih vrijednosti; H - gornja granica referentnih vrijednosti

Slika 8. Prikaz broja trombocita u izdvojenom slučaju bolesnice prema danima bolesti



L - donja granica referentnih vrijednosti; H - gornja granica referentnih vrijednosti

Slika 9. Prikaz broja leukocita u izdvojenom slučaju bolesnice prema danima bolesti



L - donja granica referentnih vrijednosti; H - gornja granica referentnih vrijednosti

Slika 10. Prikaz broja limfocita u izdvojenom slučaju bolesnice prema danima bolesti

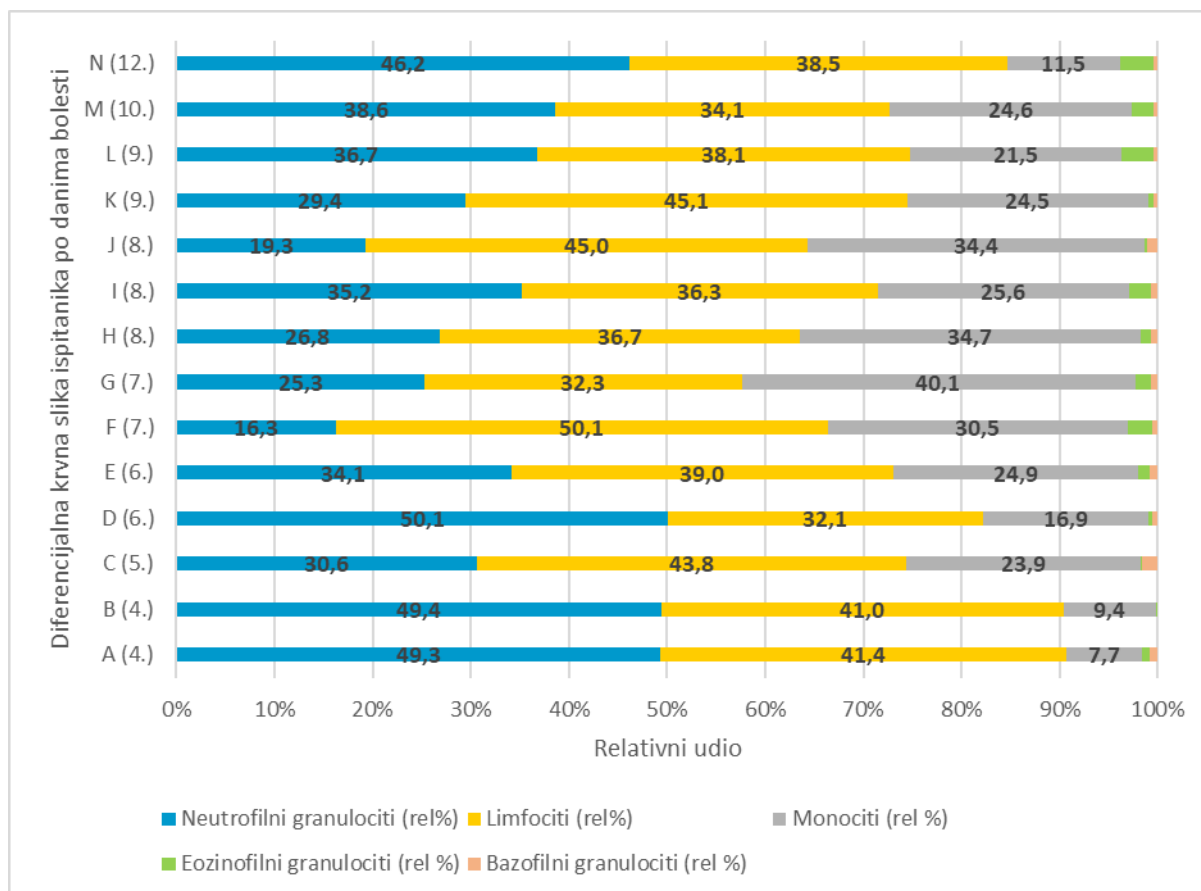
U ispitivanih bolesnika aritmetičke sredine laboratorijskih pretraga prema broju krvnih slika kod određenog dana pregleda vidljive su u Tablici 5.

Tablica 5. Prikaz aritmetičkih sredina praćenih laboratorijskih pretraga prema danu pregleda

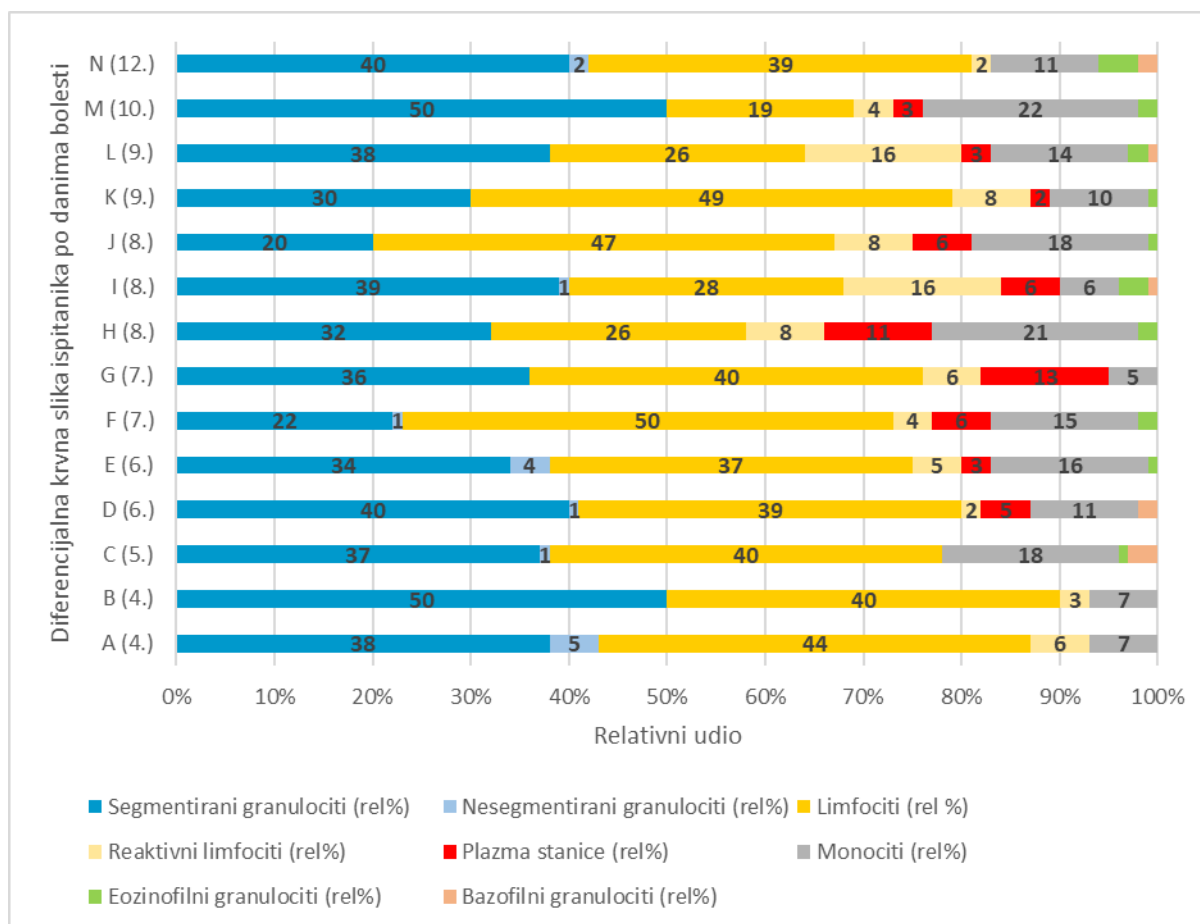
Pregled	Br. krvnih slika	\bar{x} broja trombocita ($\times 10^9/L$)	\bar{x} broja leukocita ($\times 10^9/L$)	\bar{x} broja neutrofilnih granulocita (rel %)	\bar{x} broja limfocita (rel %)	\bar{x} broja monocita (rel %)	\bar{x} broja eozinofilnih granulocita (rel %)	\bar{x} broja bazofilnih granulocita (rel %)
1.	16	130,5*	3,5	52,7	30,6	15,3*	0,9	0,5
2.	15	129,5*	4,2	45,1	34,5	17,4*	1,1	0,6
3.	9	139,3*	3,6	44,6	36,8	16,4*	1,5	0,8
4.	6	161,3	4,4	40,6*	37,7	19,3*	1,5	0,9
5.	2	60,0*	3,8	30,4*	40,4	27,3*	1,2	0,9
6.	2	71,0*	4,7	28,0*	41,6	28,0*	1,7	0,8
7.	1	116,0*	6,1	42,1*	36,6	17,3*	3,5	0,5
8.	1	367,0	8,2	47,0	37,1	12,7*	2,5	0,7
9.	1	239,0	6,8	46,8	41,1	9,4	1,9	0,8

\bar{x} - aritmetička sredina; *vrijednosti izvan referentnog intervala

Prikazani su i rezultati napravljenih diferencijalnih krvnih slika na automatskom hematološkom analizatoru (Slika 11.) te mikroskopskih (Slika 12.) po danima bolesti.



Slika 11. Prikaz rezultata diferencijalnih krvnih slika po danima bolesti napravljenih na automatskom hematološkom brojaču



Slika 12. Prikaz rezultata diferencijalnih krvnih slika po danima bolesti napravljenih mikroskopskom analizom

Od ukupno 53 napravljene krvne slike za promatranih 16 bolesnika, 36 krvnih slika napravljeno je ženama, a 17 muškarcima (Tablica 6.). 31 krvna slika odnosi se na bolesnike iz dobne skupine od 24 do 43 godine, a 22 krvne slike na bolesnike iz dobne skupine od 44 do 64 godine (Tablica 7.).

Za polovicu bolesnika izrađene su na hematološkom analizatoru 3 krvne slike ili manje, dok su za drugu polovicu bolesnika izrađene 3 krvne slike ili više. Aritmetička sredina broja izrađenih krvnih slika je 2,7 ukoliko izostavimo bolesnika kojem je napravljeno 6, te bolesnice kojoj je napravljeno 9 krvnih slika. Aritmetička sredina broja izrađenih krvnih slika je 3,3 za 16 promatranih pacijenata.

U Tablicama 8., 9. i 10. prikazane su vrijednosti laboratorijskih pretraga prema spolu za krvne slike rađene peti, šesti i sedmi dan bolesti.

Tablica 6. Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti

		Spol	
		Muškarci	Žene
Broj krvnih slika u analizi		17	36
Trombociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	112,0	148,1
	Standardna devijacija	47,6	75,0
	Medijan	100,0	125,5
	Raspon	167,0	328,0
	Ispod donje granice	14	25
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	82,4	69,4
Leukociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	4,0	4,1
	Standardna devijacija	1,6	2,2
	Medijan	3,2	3,7
	Raspon	5,2	9,2
	Ispod donje granice	9	16
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	52,9	47,2
Neutrofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	38,0	49,2
	Standardna devijacija	14,9	14,4
	Medijan	36,7	49,3
	Raspon	57,7	54,1
	Ispod donje granice	10	13
	Iznad gornje granice	0	3
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	58,8	44,4
Limfociti (rel %)	Aritmetička sredina	38,0	33,3
	Standardna devijacija	7,1	9,8
	Medijan	38,3	33,6
	Raspon	25,2	41,6
	Ispod donje granice	0	4
	Iznad gornje granice	2	3
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	11,8	19,4
Monociti (rel %)	Aritmetička sredina	20,7	15,8
	Standardna devijacija	7,6	8,2
	Medijan	21,2	12,4
	Raspon	25,0	36,4
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	13	19
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	76,5	52,8
Eozinofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	1,5	1,1
	Standardna devijacija	1,2	1,0
	Medijan	1,1	0,8
	Raspon	3,9	3,5
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	0,0
Bazofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	0,6	0,6
	Standardna devijacija	0,3	0,4
	Medijan	0,7	0,6
	Raspon	0,9	1,7
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	1	5
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	5,9	13,9

Tablica 7. Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema dobi i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti

		Dobna skupina	
		24 - 43	44 – 64
Broj krvnih slika u analizi		31	22
Trombociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	136,8	136,1
	Standardna devijacija	66,1	74,6
	Medijan	122,0	122,0
	Raspon	317,0	315,0
	Ispod donje granice	23	16
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	74,2	72,7
Leukociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	3,7	4,6
	Standardna devijacija	1,8	2,2
	Medijan	3,1	4,6
	Raspon	6,7	9,0
	Ispod donje granice	17	8
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	54,8	40,9
Neutrofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	45,3	46,1
	Standardna devijacija	14,0	17,4
	Medijan	42,1	49,2
	Raspon	54,1	70,7
	Ispod donje granice	16	7
	Iznad gornje granice	2	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	58,1	36,4
Limfociti (rel %)	Aritmetička sredina	35,8	33,4
	Standardna devijacija	9,8	8,5
	Medijan	38,3	32,2
	Raspon	41,6	33,1
	Ispod donje granice	2	2
	Iznad gornje granice	3	2
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	16,1	18,2
Monociti (rel %)	Aritmetička sredina	17,1	17,7
	Standardna devijacija	7,4	9,5
	Medijan	17,3	13,6
	Raspon	30,7	32,8
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	20	12
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	64,5	54,5
Eozinofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	1,3	1,3
	Standardna devijacija	1,2	0,9
	Medijan	0,8	1,1
	Raspon	4,1	3,3
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	0,0
Bazofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	0,6	0,7
	Standardna devijacija	0,4	0,3
	Medijan	0,5	0,7
	Raspon	1,7	1,2
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	4	2
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	12,9	9,1

Tablica 8. Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti za peti dan bolesti

Dan bolesti: 5.		Spol	
		Muškarci	Žene
Broj krvnih slika u analizi		2	4
Trombociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	106,5	149,8
	Standardna devijacija	34,6	23,2
	Medijan	106,5	159,0
	Raspon	49,0	49,0
	Ispod donje granice	2	2
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	50,0
Leukociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	2,4	2,5
	Standardna devijacija	0,9	1,1
	Medijan	2,4	2,2
	Raspon	1,3	2,5
	Ispod donje granice	2	3
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	75,0
Neutrofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	46,9	47,7
	Standardna devijacija	14,4	18,0
	Medijan	46,9	43,6
	Raspon	20,3	42,3
	Ispod donje granice	1	2
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	50,0	75,0
Limfociti (rel %)	Aritmetička sredina	34,1	38,2
	Standardna devijacija	5,9	13,5
	Medijan	34,1	43,3
	Raspon	8,4	29,7
	Ispod donje granice	0	1
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	50,0
Monociti (rel %)	Aritmetička sredina	17,7	12,9
	Standardna devijacija	8,8	7,4
	Medijan	17,7	9,9
	Raspon	12,4	16,0
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	2	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	25,0
Eozinofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	0,8	0,5
	Standardna devijacija	0,1	0,6
	Medijan	0,8	0,3
	Raspon	0,2	1,3
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	0,0
Bazofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	0,6	0,8
	Standardna devijacija	0,5	0,6
	Medijan	0,6	0,7
	Raspon	0,7	1,4
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	25,0

Tablica 9. Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti za šesti dan bolesti

Dan bolesti: 6.		Spol	
		Muškarci	Žene
Broj krvnih slika u analizi		2	4
Trombociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	88,0	103,3
	Standardna devijacija	33,9	32,2
	Medijan	88,0	106,5
	Raspon	48,0	70,0
	Ispod donje granice	2	4
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	100,0
Leukociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	2,4	2,3
	Standardna devijacija	0,8	1,0
	Medijan	2,4	1,9
	Raspon	1,1	2,0
	Ispod donje granice	2	3
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	75,0
Neutrofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	40,8	48,9
	Standardna devijacija	9,5	11,8
	Medijan	40,8	53,4
	Raspon	13,4	25,2
	Ispod donje granice	1	1
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	50,0	25,0
Limfociti (rel %)	Aritmetička sredina	35,5	33,3
	Standardna devijacija	5,0	4,3
	Medijan	35,5	31,4
	Raspon	7,1	9,1
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	0,0
Monociti (rel %)	Aritmetička sredina	22,0	16,2
	Standardna devijacija	4,2	7,5
	Medijan	22,0	14,3
	Raspon	5,9	16,6
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	2	2
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	50,0
Eozinofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	1,0	0,8
	Standardna devijacija	0,4	0,9
	Medijan	1,0	0,4
	Raspon	0,5	1,9
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	0,0
Bazofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	0,9	0,8
	Standardna devijacija	0,1	0,6
	Medijan	0,9	0,6
	Raspon	0,1	1,4
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	25,0

Tablica 10. Prikaz rezultata učinjenih laboratorijskih pretraga prema spolu i udio njihovog odstupanja od referentnih vrijednosti za sedmi dan bolesti

Dan bolesti: 7.		Spol	
		Muškarci	Žene
Broj krvnih slika u analizi		3	6
Trombociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	87,3	102,7
	Standardna devijacija	20,2	36,3
	Medijan	98,0	114,5
	Raspon	36,0	93,0
	Ispod donje granice	3	6
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	100,0
Leukociti (x 10⁹/L)	Aritmetička sredina	3,8	4,7
	Standardna devijacija	1,8	3,1
	Medijan	3,1	3,6
	Raspon	3,3	8,2
	Ispod donje granice	2	3
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	66,7	66,7
Neutrofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	26,6	40,3
	Standardna devijacija	9,3	14,0
	Medijan	29,4	40,1
	Raspon	17,9	36,3
	Ispod donje granice	3	4
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	66,7
Limfociti (rel %)	Aritmetička sredina	45,8	37,9
	Standardna devijacija	3,8	7,6
	Medijan	44,1	36,5
	Raspon	6,9	19,4
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	1	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	33,3	16,7
Monociti (rel %)	Aritmetička sredina	24,8	20,0
	Standardna devijacija	5,0	12,7
	Medijan	22,8	17,7
	Raspon	9,3	32,8
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	3	4
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	100,0	66,7
Eozinofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	2,0	1,2
	Standardna devijacija	1,3	0,7
	Medijan	2,5	1,4
	Raspon	2,5	2,1
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	0
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	0,0
Bazofilni granulociti (rel %)	Aritmetička sredina	0,7	0,7
	Standardna devijacija	0,2	0,2
	Medijan	0,7	0,7
	Raspon	0,3	0,6
	Ispod donje granice	0	0
	Iznad gornje granice	0	1
	Udio izvan referentnih vrijednosti (%)	0,0	16,7

6. RASPRAVA

Plazmacitoza u perifernoj krvi najčešće se povezuje s leukemijom plazma stanica ili multiplim mijelomom starijeg stadija, a rjeđe s virusnim infekcijama. Nemaligna periferna krvna plazmacitoza uočena je kod *dengue* virusne infekcije (4).

Provedeno presječno istraživanje iz povijesnih podataka obuhvatilo je 16 odraslih bolesnika s dijagnozom *dengue*, liječenih u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu, u četverogodišnjem razdoblju od ožujka 2016. godine do veljače 2020. godine. Podaci o bolesnicima prikupljeni su iz njihovih povijesti bolesti s ciljem analiziranja kliničkih simptoma i laboratorijskih nalaza te utvrđivanja pojavnosti plazmacitoze u diferencijalnoj krvnoj slici.

Dengue infekcija bolest je od koje obolijevaju podjednako pripadnici oba spola, kao i sve više djece. Između ispitanika obuhvaćenih istraživanjem provedenim u Nizozemskoj (4) nije bilo značajne razlike u raspodjeli spolova. Naše provedeno istraživanje pokazalo je razliku u obolijevanju od *dengue* virusa u odnosu na spol u korist žena.

Aritmetička sredina dobi naših ispitanika je 42,7 godine, tako da je prosječna dob muškaraca 49 godina, a žena 38,9 godina, dakle vidljivo je da su muškarci oboljeli od *dengue* groznice stariji od žena. Za razliku od istraživanja Guilarde i sur. (26) u kojem je srednja dob bolesnika bila neznatno viša u žena nego u muškaraca.

Žene su se na prvi pregled u Kliniku u prosjeku javljale nešto raniji dan bolesti (4,9) u odnosu na muškarce (5,2). Također, kod žena je u prosjeku uočen veći broj simptoma (4,5) prilikom prvog pregleda nego kod muškaraca (3,3).

Najčešće bolest počinje blago simptomatski i završava s dijagnozom klasične *dengue* groznice. No međutim, može se razviti i u teže oblike kao što je *dengue* hemoragijska groznica i *dengue* šok sindrom. Zbog općih infektoloških simptoma, u početku bolest se može zamijeniti s nekom drugom infektivnom bolešću. Kod klasične *dengue* groznice javljaju se glavobolja, vrućica, bolovi u mišićima i zglobovima, mučnina, povraćanje, osip. Sve ove simptome potvrđuju i prikazi slučaja iz 2003. godine autora Gawoski i sur. (1) i iz 2013. godine autora Ewalt i sur. (2). Analiziranjem povijesti bolesti naših bolesnika, uočili

smo sličnost s istima, s razlikom što su kod nas bili prisutni i znojenje, zimica, tresavica, kašalj i u dva slučaja oticanje zglobova. U naših ispitanika aritmetička sredina broja simptoma bila je četiri. Kao najučestaliji simptom istaknuli smo febrilitet, s aritmetičkom sredinom od 38,8 °C, koji je bio prisutan kod sedam osmina bolesnika, dok je jedan bolesnik bio subfebrilan. Sljedeći simptom po pojavnosti je osip u 13 slučajeva, zatim glavobolja koja je bila prisutna kod svakog drugog bolesnika. Čak 12 od 13 bolesnika sa simptomom osipa imalo ga je na ekstremitetima, dok ih je četvero imalo osip na trupu. Najčešći oblik osipa je makulozni.

U istraživanju provedenom u središnjem Brazilu 2005. godine (26) gotovo polovica bolesnika, s potvrđenim slučajem *dengue*, zadržana je na bolničkom liječenju, dok je druga polovica liječena ambulantno. Također, u našem je slučaju podjednaka raspodjela, točnije 7 od 16 bolesnika je hospitalizirano, a preostalih 9 liječeno je ambulantno.

Zbog malog broja bolesnika, podijelili smo ih u dvije dobne skupine i u svakoj se nalazi po njih osam. U prvoj dobnoj skupini (od 24 – 43 godine) aritmetička sredina broja simptoma je četiri i u njoj se nalazi jedan muškarac i sedam žena, a u drugoj dobnoj skupini (od 44 – 64 godine) 4,13 simptoma i čine ju pet muškaraca i tri žene. Prema tome možemo reći da je, u našoj ispitivanoj skupini, bolest pogađala više mlađe žene i starije muškarce. Slikovnim prikazom broja simptoma bolesnika prema danu bolesti kod prvog pregleda, možemo vidjeti da se u prosjeku najveći broj simptoma kod naših bolesnika javljao petog i šestog dan bolesti.

Područja na koja su naši ispitivani bolesnici putovali su Brazil, Filipini, Indonezija, Kenija, Maldivi, Meksiko, Nepal, Šri Lanka i Tajland, iz čega možemo zaključiti da je infekcija importirana. Budući da se većina navedenih zemalja nalazi u ekvatorskom području, potvrđuje se činjenica da su tropska i subtropska područja najčešći izvor zaraze. Također, čak 13 od promatranih 16 bolesnika zaraženo je u jugoistočnom dijelu Azije. Troje naših ispitivanih bolesnika strani su državljani od kojih dvoje dolazi iz zemalja koje su po geografskoj distribuciji rizične za dobivanje *dengue* (Šri Lanka i Tajland). Treći bolesnik je kanadski državljani koji je prije dolaska u Hrvatsku proputovao Tajland, Dubai, Peru, Novi Zeland te Australiju.

Najveći broj bolesnika, njih 4 od 16 ispitivanih, zarazio se u mjesecu lipnju. Drugi najčešći mjesec zaražavanja bio je srpanj (3 bolesnika), zatim slijede siječanj, veljača i kolovoz s po

dvoje zaraženih bolesnika, dok je po jedan zaraženi bolesnik zabilježen u svibnju, rujnu i listopadu.

Od ukupno 16 bolesnika s dokazanom *dengue* groznicom u našem istraživanju u 2016. godini bilo ih je dvoje, u 2017. godini jedan bolesnik, u 2018. godini troje, u 2019. godini sedmero i u prva dva mjeseca 2020. godine troje bolesnika.

Plazmacitoza kod *dengue* infekcije najizraženija je u akutnoj fazi tijekom prvog tjedna bolesti i potpuno nestaje u roku 14 dana od pojave simptoma. To potvrđuju izvještaji o pet uzastopnih slučajeva infekcije *dengue* virusom, s cirkulirajućim plazma stanicama, 2012. godine. Trima ženama i dvojici muškaraca u dobi od 26 do 75 godina, zabilježeni su simptomi u prosjeku 2,5 dana nakon povratka s putovanja iz Francuske Zapadne Indije. Dokazana im je privremena plazmacitoza promijenjenog intenziteta s maksimalnom razinom između četvrtog i sedmog dana nakon pojave simptoma, a dodatno bila je povezana u četiri bolesnika i s aktiviranim limfocitima (3). Iz naše studije vidljivo je da je plazmacitoza najviše prisutna između sedmog i osmog dana bolesti, moguće je da u nekih bolesnika ista nije bila prisutna četvrti ili peti dan bolesti kada je rađena krvna slika, te da se možda povukla do dvanaestog dana bolesti. Najveća prosječna vrijednost broja plazma stanica u diferencijalnoj mikroskopskoj krvnoj slici u naših ispitanika iznosi 9,5 % i to u sedmom danu bolesti, dok je najviša pojedinačna vrijednost broja plazma stanica u mikroskopskoj diferencijalnoj krvnoj slici utvrđena kod pacijentice koja je imala težu kliničku sliku i iznosi 13 % plazma stanica zabilježenih također sedmog dana bolesti.

Izdvojili smo tri slučaja bolesnika kojima su rađene po dvije diferencijalne mikroskopske krvne slike. Kod prvog bolesnika sedmog dana bolesti dokazano je 6 % plazma stanica, koje su do dvanaestog dana bolesti u potpunosti nestale. Drugi izdvojeni bolesnik osmog dana bolesti imao je također 6 % plazma stanica, već idućeg dana smanjile su se na 3 %. Konačno, zadnjem bolesniku kojem su rađene dvije uzastopne diferencijalne mikroskopske krvne slike petog dana bolesti nisu dokazane plazma stanice, ali je zato osmog dana imao 6 % prisutnih plazma stanica.

Populacije važnih posrednika imunološkog sustava, poput leukocita, trombocita i limfocita značajno se disreguliraju tijekom infekcije *dengue* virusom. Te stanice potječu iz koštane srži koja za vrijeme infekcije doživljava značajnu supresiju (7). Trombocitopenija dokazana je u

34 od 185 bolesnika koji su bili obuhvaćeni istraživanjem u Brazilu (26). Iako naše istraživanje ne uključuje bolesnike mlađe od 18 godina, istraživanje provedeno u Kambodži na pedijatrijskim bolesnicima (6) dokazalo je prosječnu trombocitopeniju od $102,4 \times 10^9/L$ kod 81 ispitivanog bolesnika.

U našu analizu uključene su 53 krvne slike napravljene u 16 bolesnika. Najmanja aritmetička sredina broja trombocita bila je u krvnoj slici rađenoj sedmi dan bolesti, a najveća četrnaesti dan bolesti. Aritmetička sredina broja trombocita u krvnim slikama bila je $136,5 \times 10^9/L$ što je ispod donje granice referentnog intervala, te možemo zaključiti da je u većine bolesnika bila prisutna trombocitopenija. Uzevši u obzir aritmetičku sredinu broja trombocita svakog promatranog dana bolesti, vidljivo je da je trombocitopenija prisutna od trećeg do devetog dana bolesti. Broj trombocita s obzirom na dan bolesti ima tendenciju rasta, a u prosjeku je najmanji osmog dana bolesti. Čak 39 od 53 krvne slike prikazuju trombocitopeniju.

Najmanja aritmetička sredina broja leukocita prisutna u krvnim slikama kod naših ispitanika bila je petog dana bolesti, a najveća sedmog dana bolesti. Aritmetička sredina broja leukocita u krvnim slikama bila je $4,1 \times 10^9/L$ što je u referentnom intervalu. Uzevši u obzir aritmetičku sredinu broja leukocita svakog promatranog dana bolesti, vidljivo je da je leukocitopenija prisutna od trećeg do šestog dana bolesti. Broj leukocita s obzirom na dan bolesti ima tendenciju rasta, a u prosjeku je najmanji šestog dana bolesti. Leukocitopeniju prikazuje 25 od 53 krvne slike, a jedna prikazuje leukocitozu.

Najmanja aritmetička sredina broja limfocita javila se u krvnoj slici rađenoj drugi dan bolesti, a najveća sedmog dana bolesti. Aritmetička sredina broja limfocita u krvnim slikama ispitivanih bolesnika bila je 34 % što je vrijednost koja je unutar referentnog intervala. Uzevši u obzir aritmetičku sredinu broja limfocita svakog promatranog dana bolesti, vidljivo je da je limfocitopenija prisutna drugi dana bolesti. Broj limfocita s obzirom na dan bolesti ima tendenciju rasta, a u prosjeku je najmanji drugi dan bolesti. Četiri od 53 krvne slike prikazuju limfocitopeniju, a njih 5 limfocitozu.

Samo jedna krvna slika (trećeg dana bolesti) prikazuje istovremenu trombocitopeniju, leukocitopeniju i limfocitopeniju. Tek od devetog dana bolesti postoje krvne slike gdje je broj trombocita, leukocita i limfocita unutar referentnih intervala.

Prikazali smo i jedan izdvojeni slučaj bolesnice s teškom kliničkom slikom. Bolesnica je prvotno liječena ambulantno, ali je nakon kontrolnog pregleda zaprimljena na odjel zbog izrazite trombocitopenije i leukocitopenije. Bolesnica ima 9 napravljenih krvnih slika i to od trećeg do dvadeset i trećeg dana bolesti. Najniža vrijednost trombocita bila je 7. dan bolesti i iznosila je $50 \times 10^9/L$, a najniža vrijednost leukocita bila je šestog dana i iznosila je $1,7 \times 10^9/L$. Može se primijetiti da se i promatrani izolirani slučaj uklapa u podatke svih analiziranih bolesnika, s time što je promatrana bolesnica imala snižene leukocite i sedmi dan, a limfocite je tijekom cijelog promatranog razdoblja imala unutar referentnog intervala.

Prema provedenoj analizi može se zaključiti da vrijednosti praćenih laboratorijskih pretraga više odstupaju od referentnih intervala u muškaraca nego u žena. U žena je jedino veće odstupanje od referentnih intervala za limfocite i bazofilne granulocite.

Također, možemo zaključiti i da vrijednosti praćenih laboratorijskih pretraga više odstupaju od referentnih intervala kod bolesnika u dobnoj skupini od 24 do 43 godine. U dobnoj skupini od 44 do 64 godine do jedinog većeg odstupanja od referentnih intervala dolazi kod vrijednosti limfocita.

Ako usporedimo dobivene podatke za vrijednosti laboratorijskih pretraga prema spolu za krvne slike rađene peti, šesti i sedmi dan bolesti, možemo zaključiti da peti dan bolesti vrijednosti podjednako odstupaju od referentnih u oba spola, dok su eozinofilni granulociti unutar referentnih intervala za oba spola. Šestog i sedmog dana bolesti vrijednosti više odstupaju od referentnih intervala u muškaraca nego u žena kod kojih su jedino veća odstupanja kod bazofilnih granulocita, ali nismo utvrdili statistički značajne razlike.

Obzirom da je plazmacitoza u perifernoj krvi bolesnika zaraženih virusom *dengue* još uvijek nedovoljno opisana, ali i podcijenjena jer je prolazna, ovim istraživanjem želimo ukazati na važnost njenog prepoznavanja kao pokazatelja zaraze dengom, a samim time i na važnu ulogu koju ima laboratorijska dijagnostika, a posebice mikroskopski pregled razmaza krvi bolesnika s dengom.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Klinički simptomi su prisutni u većem broju u žena nego u muškaraca i najčešće se javljaju između petog i šestog dana bolesti.
- Među ispitanicima nalazimo više žena od muškaraca, te su žene u prosjeku mlađe dobi od muškaraca.
- Trombocitopenija je prisutna u krvnoj slici od trećeg do devetog dana bolesti, a najniža prosječna vrijednost broja trombocita zabilježena je osmog dana bolesti. Leukocitopenija je prisutna od trećeg do šestog dana bolesti, a najmanja je u prosjeku šestog dana. Limfocitopeniju nalazimo tijekom drugog dana bolesti kada bilježimo i najniži prosječni broj limfocita.
- Prema danima bolesti najviša prosječna vrijednost plazma stanica kod ispitivanih bolesnika utvrđena je sedmog dana bolesti (9,5 %), a najviša pojedinačna vrijednost plazma stanica također je utvrđena istog dana bolesti i iznosila je 13 %.
- Plazmacitozu je moguće dokazati jedino mikroskopskim pregledom razmaza periferne krvi, te je od iznimne važnosti pratiti njezinu pojavnost kod potvrđivanja dijagnoze *dengue*.

8. SAŽETAK

Plazmacitoza, karakterizirana prolaznom prisutnošću poliklonskih plazma stanica u cirkulaciji, čest je, ali nedovoljno istražen, hematološki nalaz kod *dengue* infekcije. Najizraženija je u akutnoj fazi tijekom prvog tjedna bolesti i potpuno nestaje u roku 14 dana od pojave simptoma.

Cilj istraživanja: Usporediti kliničke simptome i vrijednosti broja trombocita, leukocita i limfocita u bolesnika s dengom prema spolu, dobi i danima bolesti, ispitati pojavnost plazmacitoze i utvrditi najvišu vrijednosti u diferencijalnoj krvnoj slici prema danima bolesti.

Nacrt studije: Presječna studija.

Ispitanici i metode: U istraživanje su uključeni odrasli bolesnici oba spola, s potvrđenom dengom, liječeni u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu, u četverogodišnjem razdoblju od ožujka 2016. godine do veljače 2020. godine te su analizirane povijesti bolesti uz odobrenje Etičkog povjerenstva Klinike. Kao programska potpora u provedbi istraživanja korišten je programski paket Microsoft Excel 2019 MSO (16.0.10364.20059).

Rezultati: Prikupljeni su i analizirani podatci za 16 bolesnika (10 žena, 6 muškaraca), od 24 do 64 godine. U žena prosječno nalazimo veći broj simptoma (4,5) za razliku od muškaraca (3,3) koji su u prosjeku stariji od žena. Najveći broj simptoma se najčešće javlja između petog i šestog dana bolesti. Dokazana je plazmacitoza koja je najviše prisutna sedmog dana bolesti s prosječnom vrijednosti 13 %, trombocitopenija koja je prisutna od trećeg do devetog dana bolesti, leukocitopenija prisutna od trećeg do šestog dana i limfocitopenija prisutna drugog dana bolesti.

Zaključak: Provedenim istraživanjem utvrđeno je da je uz trombocitopeniju, leukocitopeniju i limfocitopeniju, plazmacitoza jedan od ključnih pokazatelja *dengue* infekcije uz ostale kliničke simptome.

Ključne riječi: plazmacitoza; plazma stanice; virus *dengue*; trombociti; leukociti; limfociti

9. SUMMARY

Plasmacytosis in the Peripheral Blood of Patients Infected with *Dengue* Virus

Plasmacytosis, characterized by the transient presence of polyclonal plasma cells in the circulatory system, is a common, but insufficiently investigated, hematological finding in cases of *dengue* infections. It is most pronounced in the acute phase during the first week of the disease and disappears completely within 14 days of the onset of symptoms.

Research Objective: To compare clinical symptoms and platelet, leukocyte, and lymphocyte counts in *dengue* patients with regard to sex, age, and disease development days, to examine the incidence of plasmacytosis, and to determine the highest values in the differential blood count according to disease development days.

Study Draft: Cross-sectional Study.

Subjects and Methods: The study included adult patients of both sexes, with confirmed *dengue* infection, treated at the University Hospital for Infectious Diseases “Dr. Fran Mihaljevic” in Zagreb, in the four-year period from March 2016 to February 2020, and their medical histories were analyzed with the approval of the Hospital's Ethics Committee. The software package Microsoft Excel 2019 MSO (16.0.10364.20059) was used as software support in the implementation of the research.

Results: The data of 16 patients (10 women, 6 men), aged 24 to 64 years, was collected and analyzed. On average, women have a higher number of symptoms (4.5) than men (3.3) who are older, and the highest number of symptoms most often occurs between the Days 5 and 6 of disease development. There was evidence of plasmacytosis, which is most present on Day 7 of the disease with an average value of 13 %, thrombocytopenia present on Days 3 to 9 of the disease, leukopenia present on Days 3 to 6, and lymphocytopenia present on Day 2 of the disease.

Conclusion: The study found that, in addition to thrombocytopenia, leukopenia and lymphocytopenia, plasmacytosis is one of the key indicators of *dengue* virus infection, along with other clinical symptoms.

Keywords: plasmacytosis; plasma cells; *dengue* virus; platelets; leukocytes; lymphocytes

10. LITERATURA

1. Gawoski JM, Ooi WW. Dengue Fever Mimicking Plasma Cell Leukemia. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:1026–1027.
2. Edwalt MD, Abeynayake J, Waggoner JJ, Pinsky BA, Ohgami RS. Profound plasmacytosis in a patient with dengue. *Int J Hematol.* 2013;98:518–519.
3. Gérôme P, Foucher B, Otto MP, Crevon L, Rabar D, Pasquet F i sur. Plasmacytosis and dengue fever: an underestimated abnormality?. *Rev Med Interne.* 2012;33(6):343-345.
4. Thai KTD, Wismeijer JA, Zumpolle C, de Jong MD, Kersten MJ, de Vries PJ. High incidence of peripheral blood plasmacytosis in patients with dengue virus infection. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:1823-1828.
5. Barišić B, Markotić A, Kurolt IC, Begovac J, Lukić Lj. Flavivirusi (Krpeljni meningoencefalitis, Virus Zapadnog Nila, *Dengue*, Žuta groznica, Zika). U: Begovac J, gl. urednik. *Klinička infektologija.* Zagreb: Medicinska naklada; 2019. str. 552-557.
6. Upasani V, Vo HTM, Ung S, Heng S, Laurent D, Choeung R i sur. Impaired Antibody-Independent Immune Response of B Cells in Patients With Acute Dengue Infection. *Front Immunol.* 2019;10:2500.
7. Vogt MB, Lahon A, Ravi P, Arya RP, Spencer Clinton JL, Rico-Hesse R. Dengue viruses infect human megakaryocytes, with probable clinical consequences. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(11):e0007837.
8. Antony A, Ambroise M, Kiran C, Sudhagar M, Ramdas A. Mott Cells in the Peripheral Blood of a Patient with Dengue Fever. *Turk J Haematol.* 2015;32(4):376-377.
9. World Health Organization/Department of control of neglected tropical diseases and TDR. *Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control.* 1. izd. Switzerland: World Health Organization; 2009.
10. Sampath A, Padmanabhan R. Molecular targets for flavivirus drug discovery. *Antiviral Res.* 2009;81(1):6–15.
11. Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. *Lancet.* 2008;371:500–509.
12. Regis L, Souza WV, Furtado AF, Fonseca CD, Silveira Jr. JC, Ribeiro Jr. PJ, i sur. An entomological surveillance system based on open spatial information for participative dengue control. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 2009;81(4):655-662.

13. Center for Disease Control and Prevention. Yellow Book. Chapter 4 Travel-Related Infectious Diseases. Dengue. 2010.
14. Markotić A, Betica Radić Lj, Maretić T. Virusni turizam: virus dengue. *Infektološki glasnik*. 2007;27(4):181-184.
15. Wilder-Smith A, Chen LH, Massad E, Wilson ME. Threat of Dengue to Blood Safety in Dengue-Endemic Countries. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(1):8-11.
16. Wiwanitkit V. Unusual mode of transmission of dengue. *J Infect Dev Ctries*. 2009; 4:51-54.
17. World Health Organization. Dengue and severe dengue. Dostupno na adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> Datum pristupa: 30.07.2020.
18. Martina BE, Koraka P, Osterhaus AD. Dengue virus pathogenesis: an integrated view. *Clin. Microbiol. Rev*. 2009;22(4):564–581.
19. World Health Organization. Dengue and severe dengue. Dostupno na adresi: https://www.who.int/health-topics/dengue-and-severe-dengue#tab=tab_1 Datum pristupa:31.07.2020.
20. Vilibić-Čavlek T, Ljubin-Sternak S, Babić-Erceg A, Sviben M, Mlinarić-Galinović G. Virološka dijagnostika reemergentnih infekcija: virus dengue. *Liječ Vjesn*. 2012;134:164–167.
21. Whitehorn J, Farrar J. Dengue. *British Medical Bulletin*. 2010;95:161–173.
22. World Health Organization. Neglected tropical diseases. Dostupno na adresi: https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/. Datum pristupa: 03.08.2020.
23. Vaughn DW, Whitehead SS, Durbin AP. Dengue. U: Barrett ADT i Stanberry LR, urednici. *Vaccines for biodefense and emerging and neglected diseases*. Oxford: Academic Press; 2009. str. 287–324.
24. Alejandria MM. Dengue haemorrhagic fever or dengue shock syndrome in children. *BMJ Clin Evid*. 2015;2015:0917.
25. Moncayo AC, Fernandez Z, Ortiz D, Diallo M, Sall A, Hartman S, i sur. Dengue Emergence and Adaptation to Peridomestic Mosquitoes. *Center for Disease Control and Prevention*. 2004;10(10):1790-1796.
26. Guilarde AO, Turchi MD, Siqueira JB Jr i sur. Dengue and dengue hemorrhagic fever among adults: clinical outcomes related to viremia, serotypes, and antibody response. *J Infect Dis*. 2008;197(6):817-824.

27. Bhat VG, Chavan P, Ojha S, Nair PK. Challenges in the Laboratory Diagnosis and Management of Dengue Infections. *Open Microbiol J.* 2015;9:33-37.
28. Marušić M. Uvod u znanstveni rad u medicini. 4. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2008.
29. Adewoyin AS, Nwogoh B. Peripheral blood film - a review. *Ann Ib Postgrad Med.* 2014;12(2):71-79.
30. Čvorišćec D, Flegar-Meštrić Z, Juretić D. Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije. Zagreb: Hrvatska komora medicinskih biokemičara; 2004. Dostupno na adresi: <http://www.hkmb.hr/> 2005. Datum pristupa: 24.08.2020.

11. ŽIVOTOPIS

OPĆI PODACI:

Ime i prezime: Tena Grujić

Adresa: Ljudevita Gaja 45a, 34543, Poljana

Adresa elektroničke pošte: tena.grujic@gmail.com

ŠKOLOVANJE:

2018. – trenutno: Diplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku.

2014. – 2017. Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike, Zdravstveno veleučilište Zagreb.

2010. – 2014. Srednja škola, smjer farmaceutski tehničar, Zdravstveno učilište, Zagreb.