

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI  
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

# BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Anežka Voříšková

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

**Anežka Voříšková**

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví B0914P360004

**KREVNĚ SKUPINOVÉ SYSTÉMY- ANTIGENY A  
PROTILÁTKY**

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce: MUDr. Jana Ticháčková

PLZEŇ 2024

Zde se v tištěné verzi nachází zadání BP.

Zde se v tištěné verzi nachází zadání BP.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31. 3. 2024

.....

vlastnoruční podpis

## **Abstrakt**

Příjmení a jméno: Anežka Voříšková

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Krevně skupinové systémy- antigeny a protilátky

Vedoucí práce: MUDr. Jana Ticháčková

Počet stran – číslované: 39

Počet stran – nečíslované: 19

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 6

Klíčová slova: krevně skupinové systémy, antierytrocytární protilátky, imunohematologické vyšetření, transfuze

### **Souhrn:**

Tato bakalářská práce se zabývá především stanovením antierytrocytárních protilátek a krevních skupin u pacientů vyšetřených na Transfuzním oddělení FN Plzeň. Teoretická část obsahuje základní informace o krevních systémech, jejich antigenech a protilátkách. Dalšími velkými kapitolami jsou transfuze a výroba transfuzních přípravků, kde se zaměřuji na fungování transfuzního zařízení a na podmínky dárcovství krve. V praktické části jsou detailně popsány metody pro screening antierytrocytárních protilátek a stanovení krevních skupin. Pomocí těchto metod jsem získala soubor výsledků, které jsem následně graficky zpracovala. Data byla sbírána na krevních skladech Transfuzního oddělení Fakultní nemocnici Plzeň.

## **Abstract**

Surname and name: Anežka Voříšková

Department: Department of Rescue Services, Diagnostics Fields and Public Health

Title of thesis: Blood group systems- antigens and antibodies

Consultant: MUDr. Jana Ticháčková

Number of pages – numbered: 39

Number of pages – unnumbered: 19

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 6

Keywords: blood group systems, anti-erythrocyte antibodies, immunohematological examination, transfusion

### Summary:

This bachelor's thesis mainly deals with the determination of antierythrocyte antibodies and blood groups in patients of the Pilsen University Hospital. The theoretical part contains basic information about blood systems, their antigens and antibodies. Other major chapters are transfusion and the production of transfusion products, where I focus on the functioning of the transfusion equipment and the conditions of blood donation. In the practical part, the methods for antibody screening and determination of blood group are described in detail. Using these methods, I obtained a set of results, which I subsequently processed graphically. Data were collected at the blood banks of the Transfusion Department of the Pilsen University Hospital.

## **Předmluva**

Tato bakalářská práce byla vypracována za účelem informovat okolí o existenci i jiných krevních systémů než jsou AB0 a Rh systémy. Cílem práce je zhodnotit výskyt antierytrocytárních protilátek u pacientů v námi sledovaném souboru. Také vytvořit přehled o expedovaných transfuzních přípravcích a srovnat je s výskytem krevních skupin v populaci.

## **Poděkování**

Děkuji paní MUDr. Janě Ticháčkové za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále bych ráda poděkovala celému Transfuznímu oddělení za velmi přátelskou atmosféru v průběhu mého působení na oddělení.



# OBSAH

SEZNAM GRAFŮ .....	12
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	13
SEZNAM TABULEK .....	14
SEZNAM ZKRATEK .....	15
ÚVOD.....	17
TEORETICKÁ ČÁST .....	18
1 ERYTROCITY .....	18
1.1 Charakteristika a funkce erytrocytů .....	18
1.2 Hematopoéza a vývojová stádia erytrocytů .....	18
1.2.1 Vývojová stádia erytrocytů.....	18
1.2.2 Ovlivnění erytropoézy .....	19
2 ANTIGENY.....	20
2.1 Složení antigenů.....	20
2.2 Terminologie antigenů.....	20
2.2.1 Endogenní a exogenní antigeny.....	20
2.2.2 HTLA .....	20
2.2.3 Antigenní determinanta .....	21
3 PROTILÁTKY .....	22
3.1 Typy protilátek.....	22
4 KREVNĚ SKUPINOVÉ SYSTÉMY .....	24
4.1 Terminologie krevních skupin .....	24
4.2 AB0 systém.....	24
4.3 H systém .....	25
4.4 MNS systém.....	25
4.5 P1P <sup>k</sup> systém .....	26
4.6 Rh systém.....	26
4.7 Kell a Kx systémy.....	27
4.8 Lewis systém.....	27
4.9 Duffy systém.....	28
4.10 Kidd systém.....	28
4.11 Lutheran systém .....	28
4.12 Diego systém .....	29
5 TRANSFUZE .....	30
5.1 Dárci krve .....	30
5.1.1 Posouzení způsobilosti dárce.....	30

5.2	Odběr vzorku .....	30
5.2.1	Odběr plné krve .....	31
5.2.2	Odběr aferéz .....	31
5.2.3	Odběrové komplikace.....	32
5.3	Imunohematologické vyšetření pacientů .....	32
5.3.1	Aglutinační technika.....	32
5.3.2	Antiglobulinové testy .....	32
5.3.3	Screening nepravidelných protilátek .....	33
6	TRANSFUZNÍ PŘÍPRAVEK .....	34
6.1	Žádanka o transfuzní přípravek .....	34
6.2	Výroba transfuzního přípravku .....	35
6.2.1	Výroba z plné krve .....	35
6.2.2	Příprava aferéz.....	35
6.3	Bezpečí transfuzního přípravku .....	35
6.4	Druhy transfuzních přípravků .....	36
6.4.1	Plná krev .....	36
6.4.2	Erytrocyty .....	36
6.4.3	Trombocyty .....	37
6.4.4	Plazma .....	37
6.4.5	Granulocyty .....	37
	PRAKTICKÁ ČÁST .....	39
7	CÍL A ÚKOLY PRÁCE .....	39
7.1	Hlavní cíl.....	39
7.2	Dílčí cíle.....	39
8	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY .....	40
9	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU .....	41
10	METODIKA PRÁCE .....	42
10.1	Stanovení krevních skupin .....	42
10.1.1	Metoda sklíčková.....	42
10.1.2	Metoda zkumavková.....	43
10.1.3	Vyšetření aglutininů .....	43
10.1.4	Metoda sloupcové aglutinace .....	43
10.2	Screening a identifikace protilátek v NAT.....	44
10.3	Screening a identifikace protilátek pomocí enzymového testu.....	45
11	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ .....	47
	DISKUZE.....	53
	ZÁVĚR.....	55

SEZNAM LITERATURY .....	56
SEZNAM PŘÍLOH .....	57
PŘÍLOHY .....	58

## SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 ERD vydané v roce 2023 .....	47
Graf 2 Porovnání zastoupení KS v ČR a vydaných TP z TO FN Plzeň za rok 2023 .....	48
Graf 3 Zastoupení RhD negativních ERD a RhD pozitivních ERD + vydaných za rok 2023 .....	48
Graf 4 Porovnání pozitivních a negativních screeningů protilátek .....	49
Graf 5 Celkově diagnostikované protilátky .....	50
Graf 6 Pacienti se stanovenou protilátkou podle pohlaví-ženy 65% versus muži 35% .....	51
Graf 7 Kombinace protilátek .....	51
Graf 8 Zastoupení kombinace protilátek u pohlaví .....	52

## **SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 Typy protilátek.....	23
Obrázek 2 Podložní sklíčko připravené k vyšetření KS.....	42
Obrázek 3 Podložní sklíčko po vyšetření KS (skupina AB+).....	43
Obrázek 4 ID-karta po vyšetření KS a aglutininů (skupina A-).....	44

## **SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1AB0 systém .....	25
Tabulka 2Seznam stanovených protilátek a jejich četnost .....	49

## SEZNAM ZKRATEK

ADP .....	Adenosindifosfát
AGH .....	Antiglobulinové lidské sérum
BC.....	Buffy-coat
CSF.....	kolony stimulující faktory
EDTA .....	Kyselina ethylendiamintetraoctová
EA.....	Erytrocyty získané aferézou
EB .....	Erytrocyty bez buffy-coatu
ED.....	Deleukotizované erytrocyty
ERD .....	Resuspendované a deleukotizované erytrocyty
FN.....	Fakultní nemocnice
G-CSF.....	Faktory stimulující kolonie granulocytů
HIV .....	Virus lidské imunitní nedostatečnosti
HON .....	Hemolytické onemocnění novorozence
HTLA .....	Protilátky s vysokým titrem a nízkou aviditou
Ig .....	Imunoglobulin
IL .....	Interleukin
ISBT .....	Mezinárodní společnosti pro krevní transfuzi
KS.....	Krevní skupina
NAT .....	Nepřímý antiglobulinový test
PAT.....	Přímý antiglobulinový test
rcf .....	relativní centrifugační síla

PRP ..... Plazma bohatá a destičky

RNA..... Ribonukleová kyselina

SDA ..... Sérologický obtížně detekovatelné protilátky

SVP..... Správná výrobní praxe

TO..... Transfuzní oddělení

TRALI ..... Plicní selhání vázané na transfuzi

ZTS ..... Zařízení transfuzní služby

μl ..... mikrolitr

μm..... mikrometr



## ÚVOD

Téma Krevně skupinové systémy- antigeny a protilátky jsem si vybrala hlavně z důvodu mé obliby oboru transfuzního lékařství a hematologie obecně. Vedlejším záměrem bylo získat nové vědomosti o tématu, o kterém jsem si myslela, že už mám dostatek znalostí.

V teoretické části mé bakalářské práce se zaměřím hlavně na základní informace o krevních systémech, jaké krevní systémy známe, jejich historii a popis. Dále bych ráda probrala antigeny a protilátky krevních systémů, jaké protilátky a antigeny známe, jak je rozdělujeme atd. V závěru teoretické části se budu věnovat průběhu transfuze, předtransfuzním vyšetřením, imunohematologickým vyšetřením, screeningu protilátek a samotné výrobě transfuzních přípravků.

V praktické části bych se ráda zaměřila hlavně na screening nepravidelných protilátek proti červeným krvinkám a stanovení krevních skupin u pacientů vyšetřených na Transfuzním oddělení FN Plzeň v roce 2023. Tato vyšetřená jsou velmi důležitou součástí předtransfuzního vyšetření, jsou nezbytná pro bezpečnost podání transfuzních přípravků. Dále budu posuzovat expedici erytrocytárních transfuzních přípravků dle jejich krevních skupin v AB0 a RhD systému. Získané soubory výsledků následně graficky zpracuji a vyhodnotím.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 ERYTROCITY

### 1.1 Charakteristika a funkce erytrocytů

Poprvé popsal erytrocyty ve vzorcích lidské krve nizozemský vědec Lee Van Hock v roce 1674. O sto let později Howson zjistil, že tyto buňky jsou spíše ploché disky než kuličky popsané Van Hockem. V 19. století Hope Seyler identifikoval hemoglobin a jeho klíčovou roli při dodávce kyslíku do různých tkání. (1)

### 1.2 Hematopoéza a vývojová stádia erytrocytů

Centrum hematopoézy je v období embryonálního vývoje umístěno v oblasti žloutkového vaku. S postupným vývojem přechází tento úkol na játra a slezinu až konečně pak na kostní dřev. V kostní dřevě se nachází zásoba multipotentních kmenových buněk, ze kterých se dále vyvíjejí myeloidní společná řada pro trombocyty, erytrocyty a leukocyty) a lymfoidní řada krevních buněk. Kmenové buňky jsou vystaveny asymetrickému dělení, kdy vznikají z jedné mateřské buňky dvě dceřiné, jedna totožná, identická, buňce mateřské a druhá, která se dále diferencuje. Každá řada krevních buněk vychází z vlastní kmenové buňky specifickou pro svou linii. V kostní dřevě se udržuje stálý počet multipotentních kmenových buněk, které dávají vzniknout committed cells (zralejší kmenové buňky). (2)

Proces hematopoézy je velmi náročný a musí, při něm dojít k souhře mnoha faktorů. Zástupci těchto faktorů jsou například interleukiny (IL) nebo kolony stimulující faktory (CSF), jejich hlavní funkcí je kontrola hematopoézy. (2)

#### 1.2.1 Vývojová stádia erytrocytů

Erytropoéza vzniká ze společné kmenové buňky s megakaryopoézou, která se následně rozděluje, a erytrocyty se nadále vyvíjejí sami. (2)

První fází maturace erytrocytu je proerytroblast. Proerytroblast, co se týče velikosti je největší, má 14-20  $\mu\text{m}$  v průměru a jeho jádro zaujímá téměř celou buňku, uvádí se více než 80% buňky. Jaderný chromatin proerytroblastu je hrubší a jádro může obsahovat až 4 jadérka. Cytoplazma je sytě bazofilní, v oblasti Golgiho komplexu pozorujeme projasnění. (2)

Bazofilní erytroblast je další vývojové stádium erytrocytu. Je již o něco menší, 12-17  $\mu\text{m}$ . Jádru se zakulacuje a zmenšuje, postupuje do středu buňky. I jaderný chromatin se stává hrubším a kondenzovanějším. Jadérka se již v této fázi vývoje nevyskytují. Cytoplazma je stále sytě bazofilní. (2)

Polychromatofilní erytroblast je poslední vývojové stádium schopné dělení. Rozdíl ve velikosti polychromatofilního a bazofilního erytroblastu není velký, udává se, že velikost se pohybuje mezi 12 a 15  $\mu\text{m}$ . Jádru se uvnitř buňky stále více zmenšuje a jaderný chromatin kondenzuje. Cytoplazma přechází ze sytě bazofilní na špinavě šedou. (2)

Poslední ze zástupců erytroblastů je ortochromní, oxyfilní, erytroblast. Oproti předchozím erytroblastům je menší, jeho velikost se blíží velikosti zralého erytrocytu, 8-12  $\mu\text{m}$ . Jádru tohoto erytroblastu je malé a centrálně uložené. Jaderný chromatin hutný a cytoplazma velmi světlá. (2)

Z ortochromních erytroblastů se dále vyvíjejí retikulocyty. Retikulocyty nemají pravidelný tvar a jsou o něco větší než normocyty, 7-8  $\mu\text{m}$ . Neobsahují jádro, ale v cytoplazmě nacházejí zbytkovou RNA. (2)

Normocyty neboli normální erytrocyty. Normocyty jsou bezjaderné buňky se specifickým bikonkávním tvarem. Díky tomuto tvaru mají větší povrch, což je velkou výhodou pro transport kyslíku do tkání. Jejich velikost se pohybuje okolo 7  $\mu\text{m}$ . Cytoplazmu mají červenou s centrálním projasněním. (2)

### **1.2.2 Ovlivnění erythropoézy**

Jak jsem již výše uváděla, aby erythropoéza probíhala správně, je zapotřebí, aby byl tento proces hlídán interleukiny a kolony stimulujícími faktory (CSF). U erythropoézy jsou ale důležité ještě další látky. Aminokyseliny, železo, kyselina listová a vitamíny B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub> a B<sub>6</sub>. Všechny tyto látky se podílejí na stavbě erytrocytu. (2) Další a snad nejdůležitější látkou pro progenitory v kostní dřeni je erythropoetin. Erythropoetin je glykoproteinový hormon, který je produkován hlavně ledvinami, ale může vznikat i v játrech. Jeho produkce je snížena při těžkých acidózách a zánětlivých stavech. Při deficitu dochází k anémii. (3)

## 2 ANTIGENY

Antigeny jsou struktury nacházející se na membráně krevních buněk. Tyto struktury jsou definovány protilátkami, které produkuje imunizovaná osoba, které na dané membráně chybí. K roku 2021 bylo objeveno 378 antigenů na povrchu erytrocytů. Tyto antigeny jsou tříděny: 345 z nich v 43 systémech, 14 v 5 kolekcích, 16 v sérii LFA a 3 v sérii HFA. Díky novějším a citlivějším metodám jsou objevovány další a další antigeny. Nově objevené antigeny či systémy jsou inaugurovány na jednáních WP on Red Cell Immunogenetics and Terminology, které se koná při kongresu International Society of Blood Transfusion. (4)

### 2.1 Složení antigenů

Antigeny obsahují proteinovou a sacharidovou složku. Proteinová či glykoproteinová složka se skládá ze specifické aminokyselinové sekvence. (4)

### 2.2 Terminologie antigenů

Krevní skupiny jsou, jak jsem již výše zmiňovala, řazeny do sérií, kolekcí a systémů. Systémem nazýváme soubor fenotypů se společnými vlastnostmi. V systému může být jeden, ale i desítky antigenů. Do kolekcí řadíme soubor dvou a více antigenů se stejnou sérologickou, biochemickou a genetickou příbuzností. Do sérií spadají antigeny, které zatím neodpovídají kritériím pro systémy a kolekce. (5)

#### 2.2.1 Endogenní a exogenní antigeny

U endogenních antigenů probíhá syntéza v erytrocytech. Tyto antigeny jsou přichyceny na membránu buňky. Do skupiny endogenních antigenů spadá většina krevních skupin. (4)

Antigeny exogenní, jejich syntéza neprobíhá v erytrocytech, ale v jiných buňkách. Jsou pouze zadržované na povrchu erytrocytu. Do této skupiny řadíme systémy Lewis a Chido/Rodgers. (4)

#### 2.2.2 HTLA

Název HTLA, v sobě uschovává popis serologického chování skupiny protilátek, které byli kvůli svým jedinečným obtížím, při práci s nimi, sloučeny do jednoho celku. Jejich společné znaky jsou vysoký titer a nízká avidita. Tyto protilátky nejsou obvyklé, ale krevní banky musí být schopny je rozpoznat a umět s nimi pracovat. Samotný termín

HTLA je nejednoznačný a zavádějící, protože ne všechny HTLA protilátky mají vysoký titr nebo nízkou aviditu. Například jakákoli protilátka proti krevní skupině, která se právě začíná vytvářet, může mít slabou aviditu. Mnoho odborníků proto navrhuje tento název modifikovat na SDA neboli „sérologicky obtížně detekovatelné protilátky“. Pro většinu laboratoří je nemožné je jednoznačně identifikovat. Z tohoto důvodu mnohdy neexistuje shoda mezi referenčními laboratořemi ohledně specifčnosti určitého séra nebo typizace krvinek. Tyto laboratoře se proto rozhodli zaměřit své úsilí na jiné aspekty pacientova problému, než aby se snažily určit přesnou specifitu HTLA protilátek. (4)

### **2.2.3 Antigenní determinanta**

Antigenní determinanta neboli epitop je oblast na antigenu, která reaguje s protilátkou. Jedná se o množství aminokyselin, které odpovídá vazebnému místu na protilátce. (4)

### 3 PROTILÁTKY

Antierytrocytové protilátky neboli protilátky proti antigenům krevních skupin. Jedná se o imunoglobuliny tetramerního uspořádání, složené ze dvou totožných lehkých (light chain) a dvou totožných těžkých (heavy chain) řetězců. Z lehkých řetězců známe řetězec kappa ( $\kappa$ ), a řetězec lambda ( $\lambda$ ). Z těžkých řetězců známe tyto: alfa ( $\alpha$ ), gama ( $\gamma$ ), delta ( $\delta$ ), epsilon ( $\epsilon$ ), mí ( $\mu$ ). Pomocí těžkých řetězců rozdělujeme imunoglobuliny do pěti tříd (IgA, IgG, IgE, IgD a IgM). Řetězce jsou tvořeny aminokyseliny, těžké a lehké se od sebe liší počtem aminokyselin. Spojení mezi řetězci zajišťují disulfidické můstky. Celý imunoglobulin má tvar písmena Y. Oba dva druhy řetězců obsahují svou konstantní a variabilní oblast, označené C a V. Variabilní oblast se u jednotlivých imunoglobulinů liší a její hlavní funkcí je vazba s antigenem. Konstantní oblast imunoglobuliny je neměnná. Kromě těchto dvou oblastí, známe i oblast patovou, ta se vyskytuje pouze na těžkých řetězcích a rozděluje protilátku na fragmenty. Fragmenty Fab jsou dva, obsahují tu část imunoglobulinu, na kterou se váže antigen. Fragment Fc obsahuje tu část imunoglobulinu, které zajišťuje vazbu s buňkou. Pokud mluvíme o dimerech a pentamerech imunoglobulinů, musí také znát řetězec J. (5)

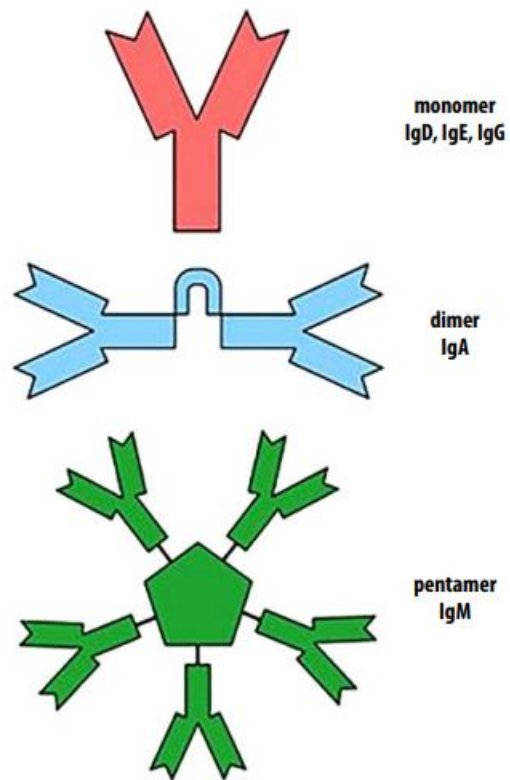
#### 3.1 Typy protilátek

Protilátky dělíme do tříd a podtříd. Existuje 5 základních tříd: IgM, IgG, IgA, IgE a IgD. Podtřídy mají pouze protilátky IgG (IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4) a IgA (IgA1 a IgA2). (4)

Protilátky můžeme také dělit podle teploty na tepelné, chladové a bifazické. Tepelné protilátky nejlépe reagují při teplotách kolem 37°C, většinou to jsou protilátky třídy IgG, které způsobují rozpad erytrocytu při tělesné teplotě. Chladové protilátky reagují při teplotách pod 20°C. Nejčastěji to jsou protilátky třídy IgM, navazují se na erytrocyty v místech, která jsou vystavená chladu. Bifazické protilátky se vážou na antigeny jak při nízké tak při vysoké teplotě. (4)

Dále protilátky dělíme na kompletní a inkompletní. Kompletní protilátka je taková, která dokáže překlenout prostor mezi dvěma erytrocyty, tudíž způsobí aglutinaci. Takovouto protilátkou je například protilátka IgM. Inkompletní protilátky nemůžou způsobit přímou aglutinaci, potřebují pomocný faktor, jako například AGH nebo snížit povrchové napětí na erytrocytu. Jako příklad uvedu protilátky IgG. (4)

Obrázek 1 Typy protilátek



Zdroj: Praktická imunohematologie- erythrocyty (4)

## 4 KREVNĚ SKUPINOVÉ SYSTÉMY

Krevními skupinami nazýváme antigeny nacházející se na krevních elementech. Záměrně neuvádím na červené řadě, protože ne všechny tyto antigeny se vyskytují pouze na erytrocytech. Například antigeny systému Lewis a Chido/Rodgers jsou absorbovány na membránu erytrocytů z plazmy. (6)

Krevní skupiny byly objeveny panem Landsteinerem na začátku 20. století, když si všiml, že plazma některých jedinců aglutinuje erytrocyty jiných jedinců. Postupem času se objevovali nové a nové skupiny. Dnes známe 339 ověřených antigenů, které spadají mezi 33 známých systémů. (6)

### 4.1 Terminologie krevních skupin

Od objevení krevní skupiny AB0 započal dlouhodobý a neustále pokračující proces terminologie krevních skupin. Během let byli, používány k označení krevních skupin velká písmena, malá písmena, jejich kombinace či zkratky atd. Takto to pokračovalo až do roku 1980, kdy na výzvu ISBT bylo zavedena alfabetská-numericke terminologie. Každý systém má svou alfabetskou a numericke značku. (5)

### 4.2 AB0 systém

Pro transfuzi se jedná o nejdůležitější systém ze všech, z důvodu jeho silného hemolytického potenciálu. Pokud pacientovi podáme inkompatibilní transfuzi, dojde k fatální hemolytické reakci. Tento systém byl objeven v roce 1900 panem Landsteinerem. Původně byly skupiny pojmenovány A, B a C. Až později bylo C nahrazeno označením 0. Skupina AB byla objevena až dva roky později pány von Decatellem a Sturliem. (5)

Antigeny systému AB0 nazýváme aglutinogeny. Známe 4 základní aglutinogeny systému AB0 a to A, B, AB a A<sub>1</sub>. Pro lehčí pochopení se ale používají pouze aglutinogen A a aglutinogen B. Tyto antigeny se nachází na membráně všech erytrocytů. Lze je ale nelézt i na jiných buňkách v těle např. na endotelových buňkách, epitelových buňkách, v plazmě atd. Aglutinogeny jsou nepřímó produkovány 3 alelami AB0 genu, kdy A a B jsou kodominantní a 0 je recesivní. Tento gen se nachází na 9. chromosomu. Alely kódují glykosyltransferázu, která syntetizuje antigeny A a B. Pokud syntéza neproběhne, vzniká tak fenotyp 0. Na vzniku antigenů AB0 systému se také podílejí geny kódující fukosyltransferázy, které mají za úkol výstavbu prekurzorů H řeteců. (5)



Protilátky AB0 systému jsou přirozené a nazýváme je aglutininy. Známe aglutinin anti-A a aglutinin anti-B. Tyto protilátky vznikají v těle během prvních pár let života. Jedinci si vytvoří protilátky proti cizím antigenům. Pro lepší pochopení, v těle máme protilátky opačné k našim antigenům. Tyto protilátky jsou tříd IgM, IgG i IgA. I protilátky AB0 systému mohou způsobit fetální hemolytickou reakci při transfuzi inkompatibilní krve. (5)

Fenotypy AB0 systému jsou A, B, AB a 0. Nachází se ve všech populacích. Na jejich frekvenci se pak podílí geografický a etnický původ. U nás v ČR je nejvíce frekvenční skupina A (40%). Co se týče ostatních skupin, 0 se nachází u 34%, B u 8% a AB u 18% lidí. U fenotypy A a B ještě rozlišujeme podskupiny, které se liší kvalitativním i kvalitativním zastoupením. Nejvýznamnějšími podskupinami jsou A<sub>1</sub> a A<sub>2</sub>. (5)

*Tabulka LAB0 systém*

skupina AB0	antigeny	protilátky
0	žádné	anti-A, anti-B, anti-A,B
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	A, B	žádné

*Zdroj: vlastní*

### 4.3 H systém

Je ve velmi úzkém vztahu se systémem AB0. Vyskytuje na hematopoetických progenitorových buňkách, erytrocytech a megakaryocytech. H systém obsahuje pouze jeden antigen a to antigen H. Nachází se u všech jedinců na jejich erytrocytech, výjimkou je fenotyp Bombay (0<sub>h</sub>), ten antigen H nemá. (4)

Gen pro H systém je lokalizován na 19. chromosomu a byl pojmenován FUT1. Jak už bylo výše zmíněno, tento systém je úzce spojený se systémem AB0. Antigen H vzniká navázáním terminální L-frukózy na prekurzorový H řetězec, který se systémem AB0 stejný. (4)

### 4.4 MNS systém

MNS systém byl objeven, jako druhý krevní systém, v roce 1927 panem Karlem Landsteinerem. Landsteiner a Levine se snažili objevit další krevní systémy a tak při pokusu imunizovat králíky lidskými erytrocyty objevili nové dvě protilátky M a N. O 20 let později pánové Walsh a Montgomery objevili protilátku S. Až po pár letech bylo prokázáno, že tyto protilátky mají mezi sebou těsné vazby. (6)

Kromě antigenů M, N, S, s a U, který se vyskytuje pouze u Černochoů, existuje ještě okolo 46 dalších antigenů systému MNS, ty jsou ale pro transfuzi nepodstatné. (6)

Molekulární základ tohoto krevního systému je dán těsnou vazbou genů GYPA, GYPB a GYPE, přičemž GYPE je nestabilní a proto při vzniku antigenů převažují GYPA a GYPB. (5)

M a N antigeny se nachází na N- konci molekul GPA. V kavkazské populaci se nejčastěji objevuje fenotyp M+N+ (50%) dále M+N- (28%) a M-N+ (22%). Protilátky anti-M se co se týče výskytu častější, anti-N je vzácná. Obě tyto protilátky jsou chladového charakteru, detekce je snazší za nižších teplot. (5)

S a s antigeny se nachází na pozici 29 v molekulách GPB. V kavkazské populaci se nejčastěji objevuje fenotyp S-s+ (45%) dále fenotyp S+s+ (44%) a v menšině fenotyp S+s- (11%). U Černochoů chybí GPB a proto je pro ně typický fenotyp S-s-. Anti-S, anti-s a anti-U jsou protilátky třídy IgG. (5)

#### **4.5 P1P<sup>k</sup> systém**

Objevitelem P1P<sup>k</sup> systému je také pan Karl Landsteiner. Stejně jako u systému MNS byl tento systém objeven při imunizaci králíků lidskými krvinkami. (5)

Protilátky MNS systému jsou chladového charakteru třídy IgM a pro transfuzi jsou spíše nedůležité. V roce 2012 byli do tohoto systému zařazeni tři antigeny: P1, P<sup>k</sup> a P1PK4. Dříve pod tuto skupinu spadali i antigeny P a LKE, ale pro jejich biochemickou a genetickou odlišnost byli ze systému vyřazeni. Antigeny P1 a P<sup>k</sup> vznikají a-galaktosylací různých prekurzorů. Antigen P pak vzniká z antigenu P<sup>k</sup>, který na sebe naváže acetylgalaktosamin. Antigen LKE pak vzniká z antigenu P, který na sebe naváže galaktosylacín a sialylacín. V kavkazské populaci se nejčastěji vyskytuje antigen P1 (80%). (5)

#### **4.6 Rh systém**

Tento krevní systém byl objeven Stetsonem a Levinem v roce 1939, při zkoumání hemolytické reakce u ženy, která předčasně porodila dítě. Po porodu přijala transfuzi od svého muže, která ji způsobil potransfuzní reakci. Tato přijatá krev byla AB0 kompatibilní. Prokázalo se tak, že tento nový antigen není závislý na systémech AB0, MN ani na systému P. Rok po objevu vytvořili Landsteiner a Wiener protilátku, aplikací červených krvinek

opice Maccaca Rhesus do těla králíka. Tuto protilátku nazvali anti-Rh. Lidé s pozitivní reakcí na tuto protilátku označili Rh pozitivní a lidi s negativní reakcí pak Rh negativní. (6)

Jedná se o nejpolymorfnější systém. Protilátky Rh systému jsou nejčastěji třídy IgG a způsobují těžké HON. V průběhu let se objevovali další a další antigeny tohoto systému. Dnes jich známe 53. Pro transfuzi jsou nejdůležitější antigeny D, C, c, E a e. (5)

Antigen D je soubor epitopů na RhD proteinu. Jeho silná imunogenicitu je způsobena tím, že jedinci RhD- nemají celý RhD protein (mají pouze RhCcEe), proto jedinci RhD- po kontaktu s RhD+ vytvářejí protilátky anti-D. RhD- vzniká delecí genu RHD. (5)

Protilátky Rh systému jsou klinicky velmi významné, mají velký hemolytický potenciál. Převážně se jedná o protilátky třídy IgG. (5)

#### **4.7 Kell a Kx systémy**

Spojitosť mezi těmito systémy je dán disulfidickou vazbou mezi glykoproteinem CD238, který nese Kell antigeny a proteinem Kx. Gen pro Kell systém se nachází na chromosomu 7 (q32-q36). Tento krevní systém byl jako jeden z prvních objeven pomocí antiglobulinového testu. V Kell systému se nachází okolo 33 antigenů, ty jsou rozděleny do párů, které jsou spolu alelicky spojeny: K a k, Kp<sup>a</sup> s Kp<sup>b</sup> a Kp<sup>c</sup>, Js<sup>a</sup> s Js<sup>b</sup>, K11 a K17, K14 s K24. Antigeny s vysokou frekvencí výskytu jsou: K12, K13, K18, K19, TOU a RAZ. Mezi antigeny s nízkou frekvencí výskytu patří: UI<sup>a</sup>, K23 a VLAN. Pro nás jsou nejdůležitější antigen K (Kell) a k (Cellano). (5) (6)

Antigen K se v kavkazské populaci vyskytuje u 9% lidí. Je velmi imunogenicitní. To je způsobeno tím, že imunitní systém pozná chybění glykosylačního řetězce u K. (5)

Protilátky systému Kell se vytvářejí nejčastěji po imunizaci, mají silný hemolytický potenciál. (5)

#### **4.8 Lewis systém**

Antigeny Lewis systému se nachází na všech krevních buňkách, s výjimkou granulocytů a monocytů. Dále se vyskytují na epitelových buňkách, v plazmě a tělních tekutinách. Byl objeven v roce 1946. Specifita antigenů tohoto systému je, že na erytrocyty jsou absorbovány z plazmy. (4) (6)

Je známo 6 antigenů:  $Le^a$ ,  $Le^b$ ,  $Le^{ab}$ ,  $Le^{bH}$ ,  $ALe^b$ , a  $BLe^b$ . Pro nás jsou hlavní antigeny  $Le^a$  a  $Le^b$ , kteří ač se můžou zdát, nejsou aleliční. Jsou produktem Lewis genu, ale na jejich syntéze se podílejí i další systémy. (5) (6)

Klinicky je tento systém nedůležitý, jeho protilátky nejsou hemolyticky nebezpečné. (5)

#### 4.9 Duffy systém

Systém Duffy byl poprvé popsán u polytransfundovaného hemofilika pana Duffy v roce 1950. (5)

Antigeny Duffy systému se nachází na všech krevních buňkách, výjimkou trombocytů a leukocytů. Dále je nalézáme na endotelových buňkách, v plicích, slezině, tlustém střevě atd. Rozlišujeme 5 antigenů Duffy systému:  $Fy^a$ ,  $Fy^b$ ,  $Fy3$ ,  $Fy5$  a  $Fy6$ . Pro nás stěžejní jsou antigeny  $Fy^a$  a  $Fy^b$ . Pomocí antigenů rozlišujeme čtyři fenotypy. Fenotyp  $Fy(a+b-)$ ,  $Fy(a+b+)$ ,  $Fy(a-b+)$  a takzvaný  $Fy_{null}$ ,  $Fy(a-b-)$ . Fenotyp  $Fy_{null}$  vzniká různými mutacemi GATA1 a lidé tohoto fenotypu jsou rezistentní vůči malárii.  $Fy_{null}$  se tak nejčastěji vyskytuje u černochů žijící v malarické oblasti Afriky. (4) (6)

Protilátky Duffy systému mohou způsobovat hemolytické reakce. (5)

#### 4.10 Kidd systém

Systém Kidd byl objeven v roce 1951 u ženy, které se narodilo dítě s HON. Gen pro Kidd systém je umístěný na chromosomu 18 (q11-q12). Antigeny tohoto systému se nacházejí na glykoproteinu Kidd, jeho hlavní funkcí je transport urey. Jsou známy dva antigeny:  $Jk^a$  a  $Jk^b$ . kombinací těchto antigenů vznikají čtyři fenotypy:  $Jk(a+b+)$ ,  $Jk(a+b-)$ ,  $Jk(a-b+)$  a  $Jk(a-b-)$ . Fenotyp  $Jk(a-b-)$ , také Kidd null, je velmi vzácný a jejich nosiči mohou produkovat protilátky anti- $Jk3$ . (5) (6)

Protilátky tohoto krevního systému jsou velmi nebezpečné. Stěží se detekují a v případě špatné transfuze mají silnou hemolytickou reakci. (6)

#### 4.11 Lutheran systém

Systém Lutheran poprvé popsán v roce 1945 díky detekci protilátky anti- $Lu^a$  až o deset let později byla popsána protilátka anti- $Lu^b$ . Lutheran systém se skládá z 19 antigenů, které se nachází na dvou glykoproteinech CD239. Gen pro tento systém se nachází na

chromozomu 19 (q13-q32). Pro transfuzi jsou stěžejní hlavně antigeny  $Lu^a$  a  $Lu^b$ , které dávají vznik čtyřem lidským fenotypům:  $Lu(a+b+)$ ,  $Lu(a+b-)$ ,  $Lu(a-b+)$  a  $Lu(a-b-)$ . (5) (6)

#### **4.12 Diego systém**

Diego antigeny nacházíme na všech krevních buňkách, výjimkou leukocytů. Známe celkem 23 různých antigenů Diego systému. Pro nás nejdůležitější jsou antigeny Dia a Dib, kteří jsou aleliční. Gen pro Diego systém je lokalizován na 17. chromosomu. Tento gen je pojmenován SLC4A1. (4) (5) (6)

Protilátky Diego systému jsou nejčastěji třídy IgG a mají hemolytický potenciál. (5)

## 5 TRANSFUZE

Také známá jako transplantace krevních buněk nebo hemoterapie. Je proces podání transfuzního přípravku do krevního oběhu pacienta. Před samotnou transfuzí musí dojít k vyšetření kompatibility transfuzního přípravku s krví příjemce. (5)

### 5.1 Dárci krve

Krev pro výrobu transfuzního přípravku nebo krevních derivátů by měla být získána od dobrovolného bezplatného dárce. (5)

#### 5.1.1 Posouzení způsobilosti dárce

V České republice se dárce může stát svéprávná osoba od 18 do 65 let, která má v České republice sjednané zdravotní pojištění a zdržuje se dlouhodobě či trvale na jejím území. Odběr u osob starších 65 let je možný pouze se souhlasem lékaře. Odběr u dárce s postižením, neslyšící, nevidomí, němí, je možný pouze za dodržení speciálních podmínek. Pokud dárceva hmotnost nedosahuje 50 kg, odběr neprovádíme. Tato omezení nejsou platná pro autotransfuzi. (5)

Před samotným odběrem musíme dárce informovat o smyslu dárcovství, využití odebraných složek, komplikacích a rizicích spojených s odběrem. Dárce také vyplňuje „Dotazník pro dárce krve“ ze kterého transfuzní zařízení získá informace o anamnéze dárce. Součástí tohoto dotazníku je i prohlášení o poučení a srozumění s riziky provedení odběru. (5)

Pokud v anamnéze jedinec uvede chorobu či faktory, které zvyšují riziko přenosu infekčního onemocnění, může dojít k trvalému či dočasnému vyloučení z dárcovství. Mezi dočasně vyloučení osoby spadají jedinci, kteří prodělali např. mononukleózu, boreliózu, toxoplazmózu či malárii. Dočasně vyloučení mohou být i osoby užívající běžné léky, jako jsou analgetika či antipyretik, tyto léky ovlivňují funkci krevních destiček. Mezi trvale vyloučené osoby spadají jedinci např. s hepatitidou C, HIV či jedinci, kteří pobývali déle než 6 měsíců na území Velké Británie v letech 1980-1996. (5)

### 5.2 Odběr vzorku

Odběry mohou provádět pouze ZTS (zařízení transfuzní služby). Před samotným odběrem je nutno ověřit totožnost dárce a posoudit jeho způsobilost k provedení odběru. (5)

### 5.2.1 Odběr plné krve

Plná krev se odebírá do odběrových vaků, tyto vaky jsou jednorázové. Uvnitř vaku se nachází antikoagulační činidlo, nejčastěji citrát sodný, který vyváže vápenaté ionty a tím zabrání srážení krve. Citrát bývá obohacen o látky, které vyživují odebrané buňky např. glukóza, ADP či manitol. Součástí odběrového vaku je i satelitní váček, do kterého putuje první porce krve (cca 25ml), tím se zamezíme bakteriální kontaminaci přípravku. Současně také odebíráme vzorek pro laboratorní vyšetření. Před samotným odběrem musíme místo plánovaného vpichu důkladně vydezinfikovat. Následně provedeme vpich. Okamžitě po zahájení odběru se musí krev začít mísit s antikoagulačním činidlem, to zajišťují automatické odběrové váhy. Jako standart se uvádí odběr 450ml během 10 minut. Pokud je odběr delší, hrozí vyplavení koagulačních faktorů. Po ukončení odběru se konec hadičky sterilně uzavře a jehla se vytáhne z žíly dárce. Dárce by měl po odběru zůstat v klidu až do oběhové stability. (5)

Interval mezi jednotlivými odběry se u mužů a žen se liší. Ženy mohou darovat plnou krev obvykle 3krát ročně s intervalem mezi odběry 4 měsíce. Muži mohou darovat plnou krev 4krát ročně s intervalem mezi odběry 3 měsíce. (5)

### 5.2.2 Odběr aferéz

Odběry jednotlivých krevních složek, tzv. aferézy, se provádějí pomocí separátorů krevních složek. Pomocí těchto přístrojů lze v mimotělním oběhu odebíranou krev rozdělovat na jednotlivé složky a nepotřebné složky následně vracet zpět do oběhu dárce. Máme dva druhy těchto přístrojů. Kontinuální, krev se průběžně odebírá, rozděluje a vrací dárce, nebo intervalové, kde se krev odebere do rezervoáru, rozdělí se a následně vrátí dárce. Při kontinuálním odběru je za potřebí dvojí žilní přístup. Samotná separace je často založena na centrifugaci či na membránové filtraci. (5)

Zařízení transfuzní služby provádí tyto druhy aferéz:

- plazmaferéza
- trombocytaferéza
- erythrocytaferéza

Dárce může darovat i více krevních složek. U aferéz se liší intervaly mezi odběry. U plazmaferézy je interval mezi odběry 14 dní a roční maximum 25litrů, trombocytaferéza se může odebírat již po 48hodinách, ale maximálně 24krát za rok. (5)

### **5.2.3 Odběrové komplikace**

Nejčastějšími komplikacemi spojenými s odběrem krve jsou modřiny v místě vpichu, kolaps, brnění prstů či trnutí jazyka. Tyto všechny komplikace nejsou vážné a dá se jim buď předejít, nebo na ně jednoduše reagovat. (5)

## **5.3 Imunohematologické vyšetření pacientů**

Imunohematologické vyšetření slouží k předtransfuzním vyšetření darované krve. Při imunohematologického vyšetření vždy provádím vyšetření AB0 a Rh systému. Prvotní dárce se tyto skupiny vyšetřují dvakrát za sebou. U opakovaných dárců se vyšetřují již zjednodušeně a posuzují se a kontrolují s předešlou dokumentací. Dárcům, kteří darují opakovaně, se doporučuje provádět vyšetření Rh fenotypu, Kell systému či jiných antigenických systémů. (5)

### **5.3.1 Aglutinační technika**

Aglutinace neboli shlukování krvinek. Erythrocyty mají na svém povrchu za normálních podmínek, negativní náboj. Proto se krvinky sami o sobě nemůžou shlukovat. Aglutinační metody jsou založené na vazbě antigen-protilátka. Aby došlo k aglutinaci, musí po vazbě antigen-protilátka na povrchu krvinky dojít k propojení s druhou krvinkou pomocí protilátkové vazby. Toto překlenutí dokážou pouze dvě protilátky. IgG neboli incompletní protilátka je monomer, dokáže se pouze navázat na krvinku, ale sama o sobě nedokáže překlenout prostor mezi dvěma krvinkami a aglutinovat. IgM je kompletní protilátka, aglutinuje přímo. Dohromady má 10 Fab zakončení, dokáže jednoduše překlenout prostor mezi dvěma krvinkami a vyvolat přímou aglutinaci. Tato technika se využívá pro stanovení AB0 či RhD systému. (5)

### **5.3.2 Antiglobulinové testy**

Také někdy známé jako Coombsovy testy slouží k detekci IgG protilátek. Známe přímý a nepřímý antiglobulinový test. Přímý antiglobulinový test (PAT) se používá k detekci IgG protilátek či složek komplementu, které jsou navázané na povrch erythrocytu in vivo. Nepřímý antiglobulinový test (NAT) slouží k detekci vazby erythrocyt-protilátka in vitro. Slouží k detekci jak protilátek, tak antigenů. (5)

Antiglobulinové testy se primárně provádějí zkumavkovou technikou. U tohoto testu se nejprve provede promytí vyšetřovaného séra fyziologickým roztokem. Promytí provedeme 3x po sobě, tím získáme pouze protilátky navázané na erythrocyty. Následně necháme obsah zkumavky inkubovat s AGH sérem. Inkubace probíhá při 37°C. Při pozitiv-



ním výsledku dojde k aglutinaci. Při NAT testu je potřeba před promývací fází ještě inkubace vzorku se známými krvinkami. Zkumavkové testy jsou kvůli prodlouženému času, způsobené promývací fází, nahrazovány modernějšími testy. (5)

Jedním z nich je test sloupcové aglutinace. Výhodou tohoto testu je vypuštění promývací fáze. Sloupcová aglutinace probíhá ve speciálních mikrozkušnicích, které na svém dně obsahují speciální gelovou matrix, která v sobě obsahuje sekundární anti-IgG protilátku. Postup je v podstatě obnovený jako u zkumavkového testu. Inkubace probíhá v horní části zkumavky. Vlivem následné centrifugace se do kontaktu s protilátkou v gelu dostanou erythrocyty dříve než volné protilátky ze vzorku a tím dojde k aglutinaci. (5)

Druhým z modernějších testů je test v systému pevné fáze. Tento test se provádí v mikrotitračních destičkách, které mají na svých dnech jamky navázané membrány erythrocytů. Do jamek se následně napipetuje vyšetřovaný vzorek a nechá se inkubovat při 37°C, tím dojde k navázání protilátek ke dnu jamky. Při následném promytí se zbavíme přebytečných Ig. Poté jsou do destičky přidány indikátorové erythrocyty, které na sobě nesou sekundární protilátku anti-IgG. Tento test je v podstatě založen na sendvičové technice. Při pozitivním výsledku může pozorovat homogenní zbarvení jamky. Naopak při negativní reakci vidíme pouze terčik na dně jamky. (5)

### **5.3.3 Screening nepravidelných protilátek**

Screening nepravidelných protilátek se provádí u všech předtransfúzních vyšetření. Vyšetřujeme pomocí NAT test, sloupcově aglutinační technikou, který je doplněn testem enzymovým. Využíváme screeningový panel diagnostických erythrocytů, nejčastěji jsou vybrány 3 typy, které mají největší klinický význam. (5)

Po screeningu se provádí identifikace protilátek, která probíhá stejně jako screening s rozdílem použití identifikačního panelu. Využíváme 10 a více typů diagnostických erythrocytů. (5)

## 6 TRANSFUZNÍ PŘÍPRAVEK

Je léčivý přípravek, který je vyroben z lidské krve nebo její složky. Tento přípravek je vyroben zařízeními transfuzní služby. Jedná se často o jednoduché separační postupy jako je centrifugace či filtrace. Transfuzní přípravek se vyrábí s krve dárce pro nitrožilní podání příjemců. V České republice je výroba transfuzního přípravku považována za výrobu léčiv, a proto jsou její podmínky upraveny zákonem o léčivech. Tento zákon je harmonizován s legislativou Evropské unie. Zařízení transfuzní služby musí splnit předepsané postupy. Důležité také je dodržet systém jakosti a zásady správné výrobní praxe neboli SVP. Z těchto důvodů podléhá i zařízení transfuzní služby pravidelné kontrole léčiv Státním ústavem pro kontrolu léčiv. (5)

### 6.1 Žádanka o transfuzní přípravek

Pro objednání transfuzního přípravku je nutno vystavit žádanku. Tuto žádanku předepisuje lékař, chová se v podstatě jako recept. Žádanka musí obsahovat:

- název poskytovatele, název oddělení a identifikační číslo pojišťovny
- informace o pacientovi-příjemci: jméno, příjmení, datum narození, identifikační číslo, možnost pohlaví či věku
- diagnóza či důvod podání transfuzního přípravku
- krevní skupina (AB0 a RhD), či uvést i jiné protilátky, pokud byli dříve vyšetřeny
- imunohematologická či transfuzní anamnéza
- druh transfuzního přípravku, počet kusů, terapeutická dávka atd.
- naléhavost požadavku
- další požadavky, např. další úprava transfuzního přípravku (ozáření, de leukotizace atd.)
- identifikační údaje poskytovatele
- datum vystavení
- jméno, příjmení a podpis lékaře, který vystavil žádanku

## 6.2 Výroba transfuzního přípravku

### 6.2.1 Výroba z plné krve

Po odběru by se měla nechat krev stát. Po cca 1 hodině stání krev centrifugujeme. Centrifugací dokážeme z plné krve separovat mnoho krevních složek. Při centrifugaci dochází k rozdělení krevních složek podle jejich hmotnosti. Při centrifuze s vysokými otáčkami dokážeme vyseparovat tři vrstvy, a to plazmu, buffy coat a erytrocyty. Při použití nízkých otáček se krev rozdělí na erytrocyty a plazmu bohatou na trombocyty. (5)

Jednotlivé složky krve se dále ještě upravují podle potřeb. U erytrocytů nejčastěji provádíme deleukotizaci a podání resuspendujících roztoků. Resuspendivní roztoky zaručí delší životnost erytrocytů a deleukotizace zabrání vzniku nehemolytickým potransfuzním reakcím. Plazmu po oddělení rychle zmrazíme. Mrazení musí být rychlé, aby nedošlo k denuraci a inaktivaci koagulačních faktorů. Plazma se mrazí na  $-30^{\circ}\text{C}$ . Trombocyty vyrábíme z buffy coatu mírnou centrifugací. Na spodu zůstane zbytek erytrocytů a destičky jsou obsažené v supernatanu. (5)

### 6.2.2 Příprava aferéz

Aferézy se obvykle po odběru dále neupravují. Ve výjimečných případech lze dále aferézy resuspendovat. Resuspendazi provádíme například při výrobě trombocytů. Další úpravou aferéz je například deleukotizace. (5)

## 6.3 Bezpečí transfuzního přípravku

Transfuzní zařízení provádí speciální postupy, které zvyšují bezpečnost transfuzního přípravku, tak aby nedošlo k posttransfuzní reakci u příjemce. Jedním z takových postupů je karanténa plazmy. Karanténa trvá minimálně 6 měsíců. Plazma je uvolněna k použití až poté, co její dárce je znovu odebrán a jsou mu opět vyšetřené infekční makrery. Výsledky musí být negativní a odpovídat předešlým výsledkům. (5)

TRALI neboli plicní selhání vázané na transfuzi je jedním z posttransfuzní reakce. Tato reakce je vyvolána protilátkami anti HLA, které se nachází v plazmě. Předejít této reakci můžeme správným výběrem klinické plazmy, deleukotizací apod. (5)

Další posttransfuzní reakce je například, je to reakce štetu proti hostiteli. Tohoto rizika se zbavíme jednoduchým ozářením přípravku gama zářením v dávce 25-50 Gy. (5)

Mezi další bezpečnostní postupy transfuzního přípravku patří jeho protiinfekční ošetření. U trombocytů provádíme screening bakteriální kontaminace, ta hrozí při skladování trombocytu při 20-25°C. Při použití riboflavinu či psoralenu s UV zářením lze zabránit růstu infekčních agens. (5)

## **6.4 Druhy transfuzních přípravků**

### **6.4.1 Plná krev**

Jak bylo již zmíněno, hlavní využití plné krve je při výrobě jejích jednotlivých složek. Pokud je plná krev použita při transfuzi, je podána bez předešlého zpracování, pouze bývá deleukotizovaná. (5)

### **6.4.2 Erytrocyty**

Erytrocytový přípravek vyrábíme dvěma způsoby, buď z plné krve, nebo z erythrocytaferézy. U výroby z plné krve používáme postup: odstranění buffy-coatu a následném přidáním resuspenzního přípravku. Díky této více stupňové metodě lze vyrobit erythrocytový přípravek různých druhů. Důležité je skladovat erythrocyty při 2-6°C. (5)

Erythrocyty bez buffy-coatu (EB) se také připravují z plné krve. Po oddělení erythrocytů se k nim vrací malá část plazmy tak abychom dosáhli hematokritu 0,65-0,75. Při odstranění buffy-coatu přijdeme o 10-30ml erythrocytů, proto přípravek již nebude obsahovat 45g hemoglobinu, ale pouze minimálně 43g. Díky odstranění buffy-coatu dojde ke snížení leukocytů a trombocytů v přípravku. (5)

Deleukotizované erythrocyty (ED) vytváříme z erythrocytů, erythrocytů bez buffy-coatu nebo odstraněním plazmy z deleukotizované plné krve. Hematokrit je v tomto přípravku opět o něco snížen na 0,50-0,70 (40g hemoglobinu). (5)

Resuspendované a deleukotizované erythrocyty (ERD) vyrábíme je deleukotizací resuspendovaných erythrocytů (ER) či odstraněním plazmy po centrifugaci deleukotizované plné krve a následné přidání resuspenzního roztoku. Hodnota hematokritu a hemoglobinu je stejná jako u deleukotizovaných erythrocytů. (5)

Erythrocyty lze získat i pomocí aferéz (EA). Erythrocytaferézy získáváme pomocí speciálních separátorů. Takto získaný přípravek obsahuje nejméně 40g hemoglobinu. Hodnota hematokritu se liší podle použitého resuspenzního roztoku. (5)

### 6.4.3 Trombocyty

Trombocyty stejně jako erytrocyty lze vyrobit buď z plné krve, nebo z trombocytaferézy. Při výrobě z plné krve můžeme využít kombinaci nejrůznějších postupů. Díky těmto postupům lze připravit mnoho typů trombocytových přípravků. Trombocyty se skladují při 20-24°C za stálého promíchávání. Doba expirace se pohybuje od 5 do 7 dní, záleží na zamezení bakteriální kontaminace. (5)

Výroba trombocytů z plné krve začíná jejím uskladněním po dobu 24hodin při 20-24°C a následnou centrifugací. Podle způsobu centrifugace používáme k výrobě přípravku buď plazmu bohatou na destičky nebo (PRP) nebo buffy-coat (BC). Pro vytvoření resuspendovaných trombocytů musíme tyto složky znovu centrifugovat. (5)

Trombocyty z plné krve směsné nebo trombocyty z plné krve směsné de leukotizované vyrábíme smíšením více buffy-coatů a jejich centrifugací či smíšením více jednotek trombocytů. Pro snížení leukocytů v přípravku použijeme de leukotizační filtr. (5)

Trombocyty vyrobené z aferéz, neboli trombocytaferéz odebíráme pomocí speciálních separátorů. Tyto trombocyty můžeme dále de leukotizovat pomocí de leukotizačního filtru. (5)

### 6.4.4 Plazma

Plazmu lze také odebírat dvěma výše zmíněnými způsoby. Z plné krve vyrábíme plazmu pro klinické použití. Plazmu lze vyrobit centrifugací plazmy bohaté na destičky. Při odběru plazmaferézy dáváme přednost automatickým separátorům. Po odběru je nutné plazmu šokově zamrazit (během 60minut na -30°C), díky zamražení nám zůstanou zachované koagulační faktory. Plazmu dále skladujeme při teplotě -25°C. Takto uskladněná plazma vydrží až 36 měsíců. Pro použití je nutné plazmu rozmrazit při teplotě 37°C. (5)

Pro získání faktoru VIII, von Willebrandova faktoru, fibrinogenu a faktoru XIII využíváme výrobu kryoproteinu. Kryoprotein se vyrábí z rozmražené plazmy, kterou centrifugujeme. Díky tomu se nám od sebe oddělí kryoprotein a supernatan. Takto získaný přípravek skladujeme při teplotě -25°C. (5)

### 6.4.5 Granulocyty

Pro výrobu granulocytů využíváme aferézy. Při granulocytaferéze je potřeba dárce stimulovat kortikosteroidy či G-CSF. Odebíráme kostní dřeň. Takto vyrobený přípravek je

připraven k okamžitému použití. V případě krátkodobého skladování je doporučeno 20-24°C. (5)

# PRAKTICKÁ ČÁST

## 7 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

### 7.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem mé bakalářské práce je vyhodnocení zastoupení krevních skupin (AB0 + RhD) expedovaných erytrocytárních transfuzních přípravků a sledování četnosti výskytu antierytrocytárních protilátek u pacientů vyšetřených na krevních skladech Transfuzního oddělení FN Plzeň v roce 2023.

### 7.2 Dílčí cíle

1. Popsat imunohematologické metody, které jsou rutinně používány na Transfuzním oddělení FN Plzeň k vyšetření screeningu protilátek proti erytrocytům a pro vyšetření krevních skupin.
2. Sledování expedice erytrocytárních transfuzních přípravků na obou krevních skladech TO FN Plzeň a statistické zpracování zastoupení krevních skupin u těchto přípravků.
3. Posouzení výskytu specifických protilátek proti erytrocytárním antigenům a jejich kombinace u pacientů v našem sledovaném souboru.

## **8 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY**

Odpovídalo zastoupení krevních skupin expedovaných přípravků (ERD) výskytu krevních skupin v populaci v ČR?

Jaké specifity antierytrocytárních protilátek se vyskytovaly u pacientů v námi sledovaném souboru?

Byl rozdíl ve výskytu protilátek proti erytrocytům u mužů a žen?

S jakou četností se vyskytovaly kombinace těchto protilátek?



## **9 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU**

Naším prvním sledovaným souborem byli všichni pacienti, kterým byl vyšetřen screening protilátek na krevních skladech Transfuzního oddělení FN Plzeň v roce 2023. Druhým sledovaným souborem byly všechny expedované erytrocytární přípravky za rok 2023. Data jsme sbírali z laboratorního informačního systému i papírové dokumentace jak z Krevního skladu TO FN Plzeň Bory, tak z Krevního skladu TO FN Plzeň Lochotín. Jedná se o systémy Amadeus a Orpheus firmy Steiner, ke sběru dat jsme využily statistiky těchto systémů. Výsledky jsme získala s vědomím lékařů a pracovníků TO.

## 10 METODIKA PRÁCE

### 10.1 Stanovení krevních skupin

Při prvním vyšetření krevní skupiny pacienta můžeme zvolit dva druhy stanovení.

1. **Manuální-** u manuálního stanovení je nutné nejprve provést vyšetření skupiny metodou sklíčkovou a následně musí být vždy vyšetřena metodou zkumavkovou či metodou sloupcové aglutinace, která probíhá na ID kartě, a ručně ji provádí laborant.
2. **V analyzátoru-** analyzátor provede metodou sloupcové aglutinace na ID kartě, vždy je však nutné provést manuální ověření krevní skupiny metodou sklíčkovou.

#### 10.1.1 Metoda sklíčková

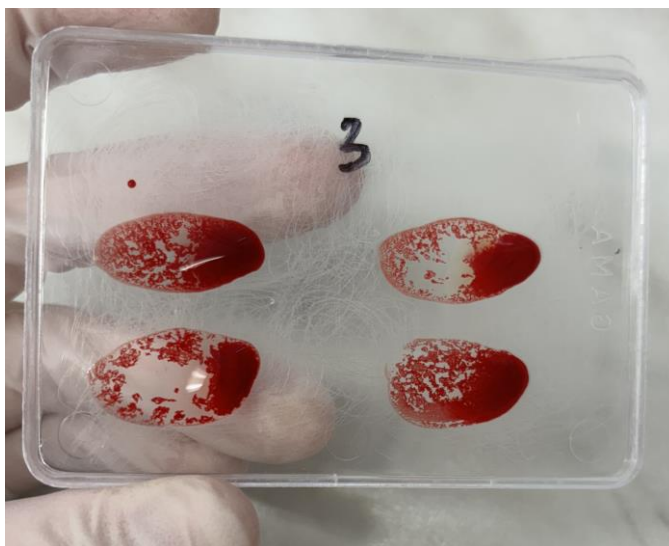
Na podložní sklíčko si předem označíme místa, ke kterým následně nakapeme diagnostická séra (anti-A, anti-B, anti-AB a anti-D). Vedle těchto diagnostických sér kápneme po jedné kapce plnou krev pacienta. Jednotlivé kapky spolu důkladně promícháme a necháme cca 2 minuty v klidu při pokojové teplotě. Po uplynutí 2 minut se sklíčkem kývavě hýbeme a pozorujeme tvorbu aglutinace. Hodnotíme, zda aglutinace vznikla či ne.

*Obrázek 2 Podložní sklíčko připravené k vyšetření KS*



*Zdroj: vlastní*

Obrázek 3 Podložní sklíčko po vyšetření KS (skupina AB+)



*Zdroj: vlastní*

#### **10.1.2 Metoda zkumavková**

Do stojánku si připravíme 4 zkumavky, které si označíme číslem pacienta a písmenkem (A, B, AB nebo D) podle toho, jaké diagnostické sérum do něj kapeme. Do každé zkumavky kápneme po 2 kapkách diagnostických sér (anti-A, anti-B, anti- AB a anti-D). Do všech zkumavek přidáme po dvou kapkách 3-5% suspenze vyšetřovaných krvinek ve fyziologickém roztoku. Zkumavky necháme centrifugovat 20 sekund při 1000 rcf. Na dně zkumavky se nám vytvoří sediment. Pokud se nám sediment povede rozklepat, označíme reakci za negativní. V případě, že sediment zůstane nerozklepán, je výsledek pozitivní a určujeme sílu reakce + až ++++.

#### **10.1.3 Vyšetření aglutininů**

Toto vyšetření se provádí spolu s vyšetřením krevní skupiny metodou zkumavkovou. Pro vyšetření aglutininů používáme předem známé krvinky o výrobce, ze kterých si připravíme 2-4% suspenzi. Do 4 předem označených zkumavek (0, A1, A2 a B) přidáme po 2 kapkách plazmy pacienta a k ní přidáme jednotlivé známé krvinky, tak aby v každé zkumavce byly jedny. Zkumavky zcentrifugujeme 20 sekund při 1000 rcf. Po centrifugaci jemně poklepeme prstem na dno zkumavky. Aglutininy hodnotíme stejně jako zkumavkový test krevních skupin, tudíž na +.

#### **10.1.4 Metoda sloupcové aglutinace**

Jedná se v podstatě o metodu zkumavkovou přenesenou do ID karet. Využívá k ní ID kartu pro AB0/D. Kartu si předem označíme. Jako první si z pacientovy krve připraví-

me 5% suspenzi červených krvinek v diulentu. Poté 10 $\mu$ l této suspenze napipetujeme do mikrozkušavek, které jsou označeny A, B, DVI-, DVI-. Do zbylých dvou mikrozkušavek (A<sub>1</sub> a B), které využíváme pro stanovení aglutininů, napipetujeme 50 $\mu$ l diagnostických krvinek (A<sub>1</sub> a B). Do obou těchto mikrozkušavek pak přidáme po 50 $\mu$ l pacientovo séra. Kartu vložíme do centrifugy a necháme ji točit 10 minut při 910 otáčkách. Pozitivní reakci poznáme vytvořením shluku krvinek v horní části mikrozkušavky. Pokud nám krvinky propadly na dno mikrozkušavky, hodnotíme tuto reakci za negativní. Pozitivní reakce ještě rozdělujeme stejně jako u zkumavkové metody, hodnotíme shluky na +.

*Obrázek 4ID-karta po vyšetření KS a aglutininů (skupina A-)*



*Zdroj: vlastní*

## 10.2 Screening a identifikace protilátek v NAT

Ve FN Plzeň se pro screening protilátek, jejich identifikaci a testy kompatibility využívá NAT testu. Používají se k tomu speciální ID karty, které v sobě obsahují po 6 mikrozkušavkách. Mikrozkušavky obsahují polyspecifické AGH, které má za úkol detekovat přítomnost IgG. Pro tento test je za potřebí vzorek čerstvě odebrané krve ve zkumavce s EDTA nebo citrátem.

Postup screeningu:

- 1) ID kartu označíme jménem či číslem pacienta.
- 2) Do mikrozkušavek 1, 2 a 3 napipetujeme 50 $\mu$ l jednotlivých diagnostických erytrocytů.
- 3) Do každé mikrozkušavky přidáme 25 $\mu$ l séra pacienta.

- 4) ID kartu inkubujeme 15 minut při 37°C.
- 5) Po inkubaci ID kartu přesuneme do centrifugy a necháme točit 10 minut.
- 6) Po centrifuze odečítáme a zaznamenáváme výsledky.

Postup identifikace:

- 1) Na identifikaci protilátek je nutné připravit dvě ID karty
- 2) Označíme je jménem či číslem pacienta
- 3) Do mikroskopavek 1-11 napipetujeme 50µl jednotlivých diagnostických erytrocytů, jejich antigenní složení známe z ID Panelu
- 4) Do 12 mikroskopavky napipetujeme 50µl suspenze vlastních erytrocytů, slouží jako autokontrola
- 5) Do všech 12 mikroskopavek přidáme 25µl séra pacienta
- 6) Karty inkubujeme 15 minut při 37°C
- 7) Po inkubaci karty přeneseme do centrifugy a necháme točit 10 minut
- 8) Odečítáme a zaznamenáváme výsledky

### **10.3 Screening a identifikace protilátek pomocí enzymového testu**

Enzymový test se používá u protilátek, které vyžadují vyšší citlivost metody např. u systému Rh, Kell a Kidd. Pokud se rozhodneme využít enzymový test, musíme k němu vždy provést i test NAT. I zde využíváme ID karty s mikroskopavkami, které ale obsahují pouze neutrální gel bez AGH.

Postup screeningu:

- 1) ID kartu označíme jménem či číslem pacienta.
- 2) Do mikroskopavek 1, 2 a 3 napipetujeme 50µl jednotlivých diagnostických erytrocytů, které jsou papinizované.
- 3) Do všech 3 mikroskopavek přidáme 25µl séra pacienta.
- 4) Kartu inkubujeme 15 minut při 37°C.

- 5) Po inkubaci kartu přeneseme do centrifugy a necháme točit 10 minut.
- 6) Odečítáme a zaznamenáváme výsledky

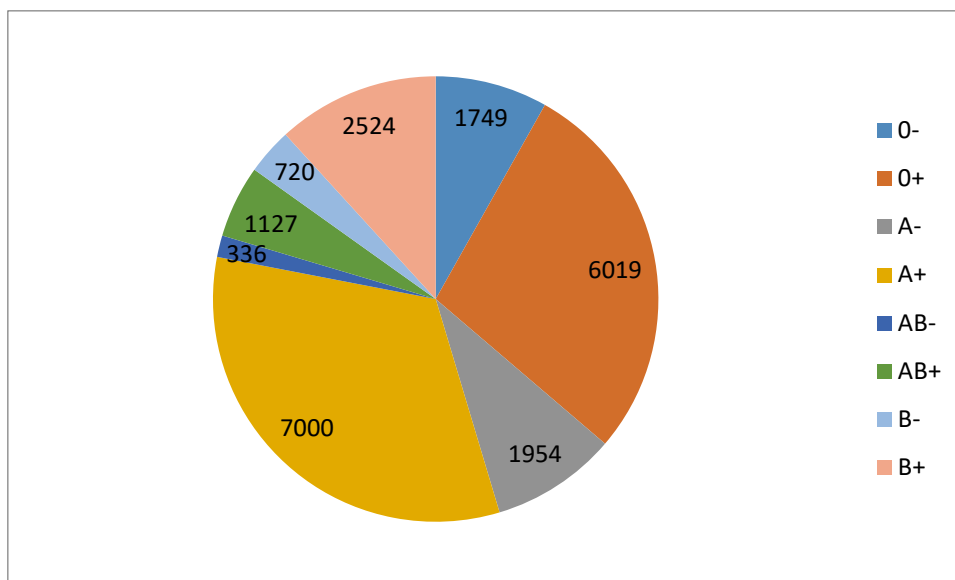
Postup identifikace:

- 1) Na identifikaci protilátek jsou za potřebu dvě ID karty
- 2) Označíme je jménem či číslem pacienta
- 3) Do mikroskopických 1-11 napipetujeme 50 $\mu$ l jednotlivých diagnostických erytrocytů, které jsou papainizované a jejich antigenní složení známe z ID Panelu
- 4) Do 12 mikroskopické napipetujeme 50 $\mu$ l suspenze erytrocytů pacienta, slouží jako autokontrola
- 5) Do všech mikroskopických přidáme 25 $\mu$ l séra pacienta
- 6) Do mikroskopické 12 přidáme ještě 25 $\mu$ l ID- Papainu
- 7) Karty inkubujeme 15 minut při 37°C
- 8) Po inkubaci karty přeneseme do centrifugy a necháme točit 10 minut
- 9) Odečítáme a zaznamenáváme výsledky

## 11 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Celkově bylo za rok 2023 vydáno 21 429 erytrocytárních transfuzních přípravků (ERD). Z grafu lze vyčíst, že nejvíce bylo podáno ERD skupiny A+ a ERD skupiny 0+ což koresponduje s jejich nejvyšším zastoupením v populaci.

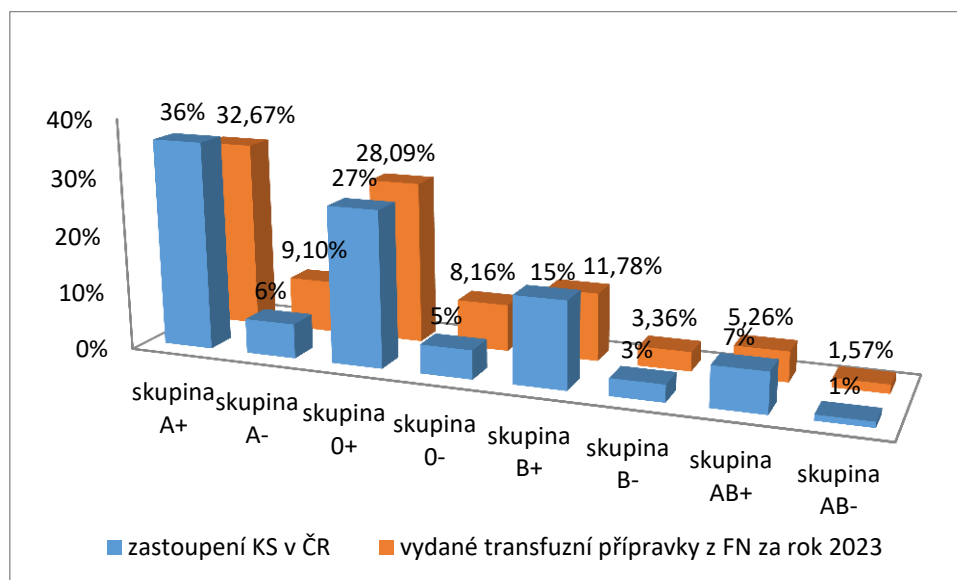
*Graf 1 ERD vydané v roce 2023*



*Zdroj: vlastní*

Porovnali jsme procentuální zastoupení jednotlivých krevních skupin v AB0 a RhD systému v populaci KS v České republice s vydanými transfuzními přípravky z krevních skladů z TO FN Plzeň.

Graf 2 Porovnání zastoupení KS v ČR a vydaných TP z TO FN Plzeň za rok 2023

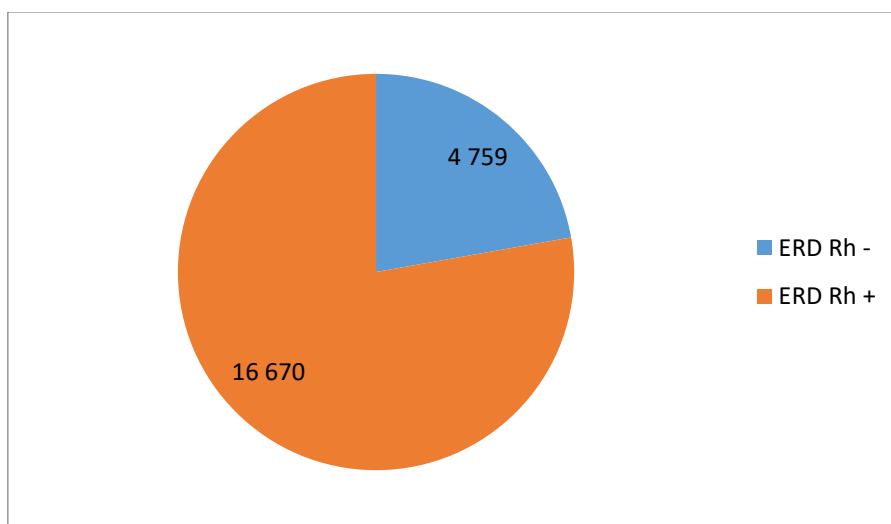


Zdroj: vlastní

Z grafu je evidentní, že krevní skupiny 0- a A- jsou více zastoupeny ve vydaných ERD než je jejich četnost výskytu v populaci, naopak méně bylo vydáno přípravků skupiny AB+ a B+.

Dále jsme porovnali expedované ERD dle RhD antigenu (RhD pozitivní x negativní)

Graf 3 Zastoupení RhD negativních ERD a RhD pozitivních ERD + vydaných za rok 2023



Zdroj: vlastní

RhD pozitivních ERD tvořily 78%, RhD negativní 22% expedovaných erytrocytárních přípravků. Toto zastoupení se liší od frekvence výskytu v kavkazské populaci, kde sle



dostupných zdrojů se uvádí frekvence antigenu RhD pozitivní 82-88% a RhD negativní 12-18%.

Naším dalším sledovaným souborem byli pacienti vyšetření v rámci předstransfuzního vyšetření na krevních skladech TO. Celkem jsme provedli screening protilátek u 16 796 pacientů. Specifické protilátky byly identifikovány u 265 pacientů, což představuje 1,58%.

*Graf 4 Porovnání pozitivních a negativních screeningů protilátek*



*Zdroj: vlastní*

Celkem bylo identifikováno 312 specifických protilátek proti erytrocytárním antigenům, které se vyskytovaly převážně samostatně, méně často v kombinaci více protilátek u jednoho pacienta.

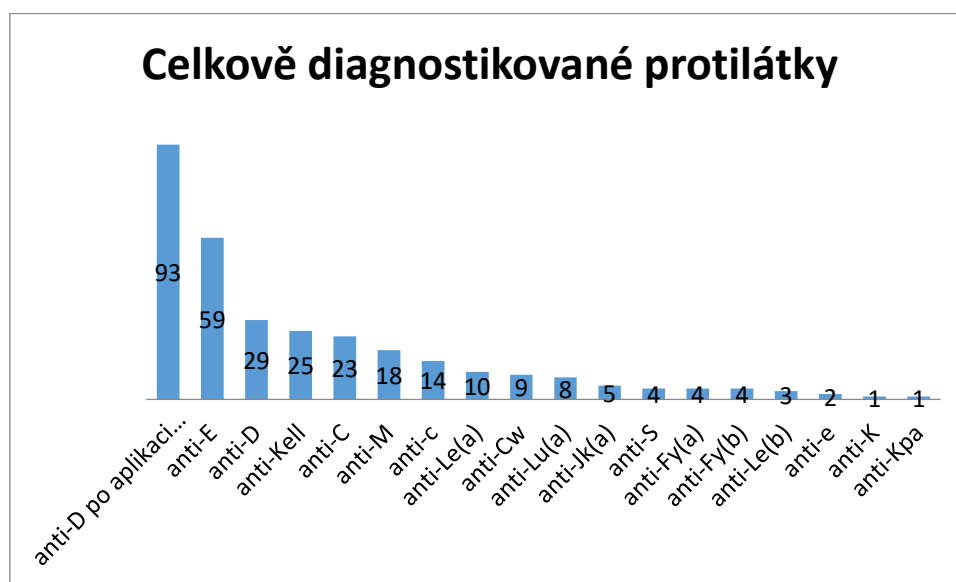
*Tabulka 2 Seznam stanovených protilátek a jejich četnost*

anti-D po aplikaci profylaxe	93
anti-E	59
anti-D	29
anti-Kell	25
anti-C	23
anti-M	18
anti-c	14
anti-Le(a)	10
anti-Cw	9
anti-Lu(a)	8

anti-Jk(a)	5
anti-S	4
anti-Fy(a)	4
anti-Fy(b)	4
anti-Le(b)	3
anti-e	2
anti-k	1
anti-Kpa	1
Celkově stanovené imunní protilátky	312

*Zdroj: vlastní*

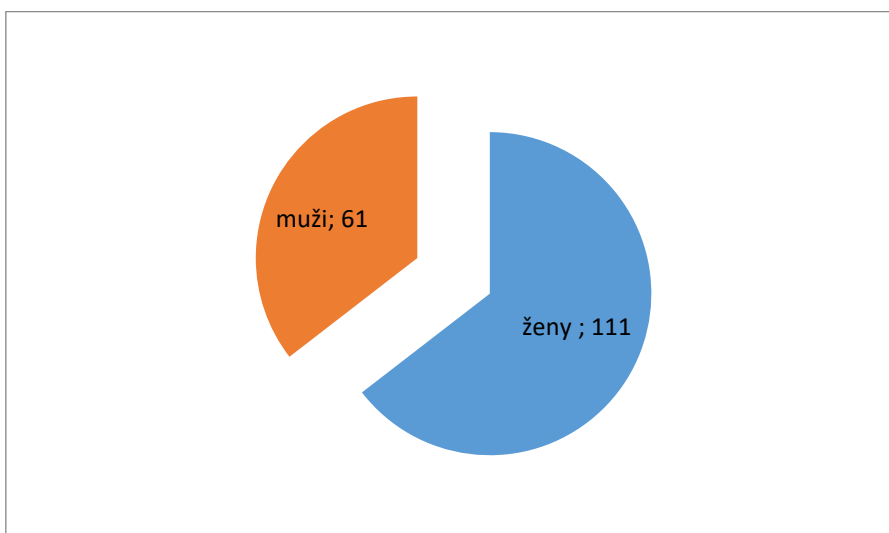
*Graf 5 Celkově diagnostikované protilátky*



*Zdroj: vlastní*

Z grafu lze vyčíst, že nejčastěji stanovenou protilátkou u pacientů vyšetřených na krevních skladech je protilátka anti-D. Důvod proč je četnost této protilátky tak vysoká je z důvodu profylaxe u těhotných žen. Jednalo se o ženy vyšetřované před porodem či krátce po porodu, u kterých byla zachycena profylakticky podaná protilátka anti-D. Nejčetněji zastoupenou protilátkou byly protilátky v Rh systému (anti-D, anti-E) a anti-Kell.

*Graf 6 Pacienti se stanovenou protilátkou podle pohlaví-ženy 65% versus muži 35%*

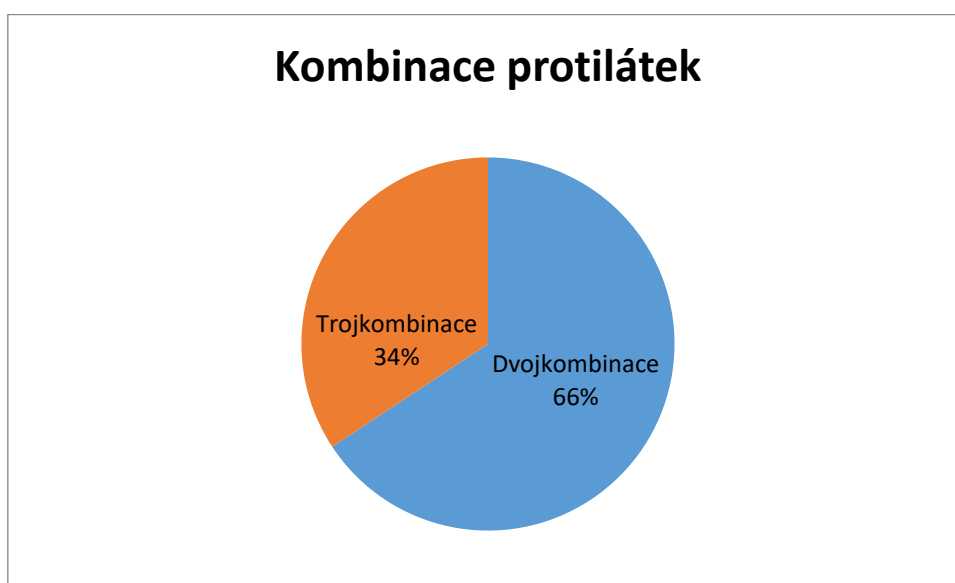


*Zdroj: vlastní*

Na grafu je vyobrazeno pohlavní zastoupení našich pacientů dle pohlaví. Z celkových 265 pacientů bylo 204 žen a 61 mužů. Od počtu žen jsme odečetli 93, protože tyto ženy byly vyšetřeny po aplikaci profylaxe, nejednalo se tedy o imunní protilátku. Přes- to ženy tvořily 65%.

Dále nás zajímalo, jaký podíl tvoří pacienti s kombinací protilátek.

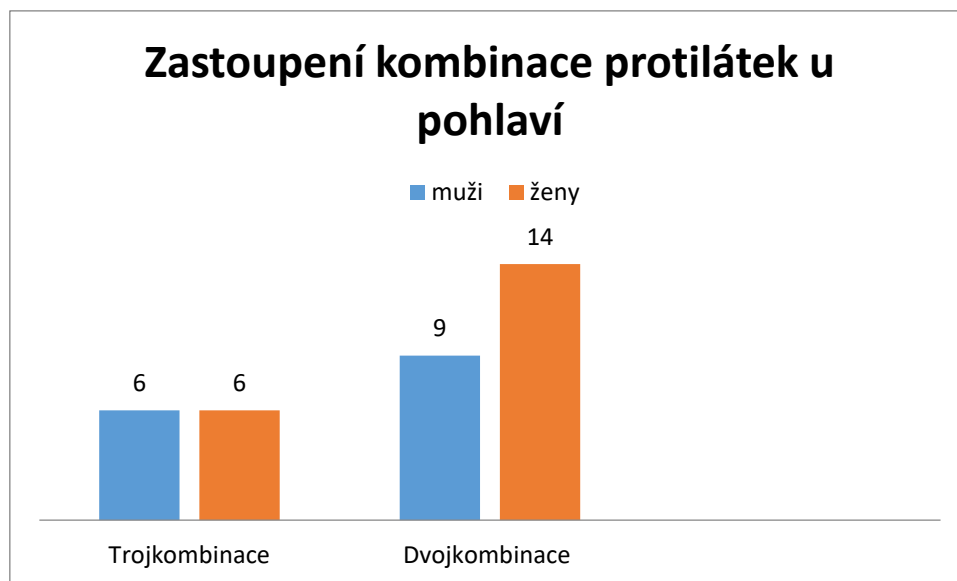
*Graf 7 Kombinace protilátek*



*Zdroj: vlastní*

Tento graf ukazuje poměr pacientů s troj a dvojkombinací protilátek. U 35 pacientů byla identifikovaná více jak jedna protilátka. Konkrétně u 23 pacientů byla stanovena dvojkombinace protilátek. U 12 pacientů byla určena trojkombinace protilátek.

*Graf 8 Zastoupení kombinace protilátek u pohlaví*



*Zdroj: vlastní*

Z grafu lze vyčíst, že pohlaví nemělo vliv na výskyt trojkombinací protilátek, dvě různé specifity protilátek byly více přítomny u žen.

## DISKUZE

Jedním s hlavních cílů mé bakalářské práce bylo sledovat zastoupení krevních skupin v systému AB0 a RhD u erytrocytárních transfuzních přípravků expedovaných na krevních skladech Transfuzního oddělení Fakultní nemocnice Plzeň za rok 2023 a posoudit, zda toto zastoupení kopíruje frekvenci skupin v populaci.

Z dat, která jsem získala z TO FN Plzeň, jsem zjistila, že nejvíce vydaných ERD bylo skupiny A+ (33%) a 0+ (28%), což odpovídá také nejčetnějšímu zastoupení těchto krevních skupin v naší populaci. Odlišné výsledky však byly u ERD skupiny 0-, což je univerzální krevní skupina z hlediska podání erytrocytů, vydává se při akutních případech, kdy ještě nebyla z časových důvodů přesně určena krevní skupina pacienta. Z dat krevních skladů je evidentní, že vydané erytrocytární přípravky skupiny 0- byly zastoupeny ve vyšším procentu (8%) než je její zastoupení v populaci (5%). Také transfuzní přípravky A- byly expandovány ve vyšším procentu (9%) než je četnost skupiny A- v populaci (6%). Dárci těchto krevních skupin tedy museli být vyzváni častěji k odběrům než dárce ostatních skupin. Aby bylo možné zajistit dostatek erytrocytů 0- a A-, bylo často nutné přistoupit i ke zkrácení intervalů mezi odběry u těchto dárců.

Naopak nejméně bylo vydáno ERD skupiny AB- a B-, což kopíruje jejich zastoupení v populaci.

Druhým cílem mé bakalářské práce bylo posoudit četnost výskytu specifických protilátek proti erytrocytárním antigenům a jejich kombinace.

Z údajů krevních skladů TO FN Plzeň jsem zjistila, že screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům byl proveden v roce 2023 u 16 796 pacientů. U 265 pacientů nám výsledek screeningu vyšel pozitivní a byla identifikována specifická antierytrocytární protilátka. V procentech se pohybujeme okolo 1,5% pozitivních vzorků ze všech vyšetřených, což přibližně odpovídá výskytu těchto protilátek v populaci.

Za rok 2023 bylo stanoveno 18 druhů protilátek. Tyto protilátky byly vytvořeny po předchozí imunizaci pacienta podáním alogenních erytrocytů nebo v těhotenství. Nejčastěji byly stanovené imunní protilátky systému Rh (anti-D a anti-E), dále byly také velmi často identifikovány protilátky anti-Kell a anti-M. Protilátky systému Rh a Kell jsou v populaci zastoupeny nejčastěji z důvodu, že se jedná o velmi imunogenní systém. Jedná se o klinic-

ky významné protilátky, které mohou vyvolat potransfuzní reakci nebo HON. Protilátka anti-e byla naopak stanovena jen u dvou pacientů, protože antigen e se vyskytuje v populaci cca v 98%.

Z celkového souboru 16 796 pacientů mělo 265 pacientů pozitivní screening protilátek. Z tohoto počtu bylo 205 žen a 61 mužů. Od počtu žen jsme odečetli 93, protože tyto ženy byly vyšetřeny po aplikaci anti-D profylaxe. Přesto počet žen s pozitivními imunními protilátkami proti erytrocytům výrazně převyšoval počet mužů (ženy 65% x muži 35%), což je zřejmě způsobeno imunizací v těhotenství.

U 35 pacientů byla prokázána kombinace protilátek. Z tohoto počtu bylo 23 dvojkombinací a 12 trojkombinací.

Dále mě zajímalo, zda má pohlaví vliv na kombinaci protilátek. Z výše uvedeného grafu je prokazatelné, že pohlaví na kombinaci nemělo příliš velký vliv. Zatímco dvojkombinace protilátek byly více zastoupeny u žen, výskyt trojkombinace protilátek u mužů a žen vyšel totožný.

## ZÁVĚR

Ve své bakalářské práci jsem se zabývala problematikou imunohematologického vyšetření, dárcovstvím krve a expedici transfuzních přípravků.

V teoretické části jsem přehledně popsala krevně skupinové systém, odběry krve, výrobu transfuzních přípravků a předtransfuzní vyšetření.

V praktické části jsem se věnovala imunohematologickým metodám, které jsou rutinně používány v rámci předtransfuzního vyšetření na krevních skladech TO FN Plzeň. Zaměřila jsem se na výskyt antierytrocytárních protilátek, jejich kombinaci a vliv pohlaví na jejich výskyt.

Dále jsem analyzovala zastoupení krevních skupin u expedovaných ERD a porovnávala s četností výskytu krevních skupin v populaci.

Domnívám se, že této práci zodpověděla všechny položené otázky a splnila hlavní i dílčí cíle.

## SEZNAM LITERATURY

1. **Hamidi, Mehrdad a Tajerzadeh, Hosnieh.** Drug Delivery. *Carrier Erythrocytes: An Overview*. [Online] 29. 09 2008. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/713840329.1071-7544>.
2. **Penka, Miroslav a Tesařová, Eva.** *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha : Grada Publishing, 2011. 978-80-247-7192-2.
3. **Merkunová, Alena a Orel, Miroslav.** *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory*. Praha : Grada Publishing, 2008. 978-80-247-1521-6.
4. **Masopust , Jiří a Písačka, Martin.** *Praktická imunohematologie- erytrocyty*. Praha : Grada Publishing, 2022. 978-80-271-3377-2.
5. **Řeháček , Vít a Masopust , Jiří.** *Transfuzní lékařství* : Praha : Grada Publishing, 2013. 978-80-247-4534-3.
6. **Daniels , Geoff.** *Human blood groups*. Chichester : Wiley-Blackwell, 2013. 978-1-4443-3324-4.



## **SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha 1 Povolení sběru informací ve FN Plzeň .....	58
--	----

# PŘÍLOHY



Vážená paní  
Anežka Vofříšková  
Studentka oboru *Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví*  
Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví  
Západočeská univerzita v Plzni

## **Povolení sběru informací ve FN Plzeň**

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF Fakultní nemocnice Plzeň **uděluji souhlas** se získáváním / zpracováním informací o laboratorních metodách / analýzách / výsledcích, používaných na pracovišti *Transfúzního oddělení (TO) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „*Krevně skupinové systémy- antigeny a protilátky*“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka TO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, *ochrany dat pacientů* a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.**, o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být zcela anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe na TO a **pod přímým vedením** oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je ***paní Ticháčková Jana, MUDr., vedoucí lékařka TO FN Plzeň.***

Po zpracování Vámi zjištěných údajů **poskytnete** zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

**Mgr. Bc. Světluše Chabrová**  
Manažerka pro vzdělávání nelékařů  
Útvar náměstkyně pro vnější vztahy a spolupráci s LF

Fakultní nemocnice Plzeň  
Edvarda Beneše 1128/13, 301 00 Plzeň  
Tel: 377 401 663  
E-mail: [chabrovas@fnplzen.cz](mailto:chabrovas@fnplzen.cz)

1. 11. 2023

*Příloha 1 Povolení sběru informací ve FN Plzeň*