

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Výroba a využití transfuzních přípravků v Oblastní nemocnici Trutnov

Bc. Valérie Rosová

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Gabriela Červená, Ph.D.

Konzultant: MUDr. Iva Drobná

HRADEC KRÁLOVÉ, 2021

Poděkování

Chtěla bych poděkovat mé školitelce RNDr. Gabriele Červené, Ph.D. za cenné rady a připomínky. Mé konzultantce MUDr. Ivě Drobné za věcné poznámky k metodické části, i přesto, že všechen pracovní čas trávila na Covidovém oddělení, dále pak i Mgr. Aleně Prokopcové za připomínky a nápady.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 30.4.2021

Rosová Valérie

ABSTRAKT

Název diplomové práce: Výroba a využití transfuzních přípravků v Oblastní nemocnici Trutnov.

Cíl práce: Cílem bylo zhodnotit výrobu transfuzních přípravků (TP) za léta 2014–2019 na Transfuzním a hematologickém oddělení (THO) v Oblastní nemocnici (ON) Trutnov a jejich využití pro hemoterapii jednotlivými medicínskými obory. Dále srovnat výrobu TP v rámci České republiky a ve vybraných státech Evropy. Posledním cílem bylo zmapovat výskyt potransfuzních reakcí a jiných nežádoucích událostí za sledované období.

Materiál a metody: V metodické části jsou popsány standardní postupy předtransfuzního vyšetření pomocí sloupcové aglutinační metody, laboratorní vyšetření dárců krve a krevních složek a přehled TP vyráběných na THO Trutnov.

Závěr: I přes veškerá doporučení a snahu redukovat použití transfuzních přípravků nebyl tento stav prokázán na THO ON Trutnov, v rámci ČR či Evropy. Tato práce doporučuje deleukotizaci TP pro celostátní i celoevropskou část, sjednocení postupů při podávání transfuzí v rámci daného onemocnění, zavedení povinného NAT testování, které přispívá k minimalizaci rizika výskytu krví přenosných infekcí a také ke zkrácení diagnostického okna.

Klíčová slova: transfuzní přípravky, transfuze, erytrocyty, trombocyty, plazma.

ABSTRACT

Title of Diploma Thesis: Production and use of transfusion products in the District Hospital Trutnov.

Aim of the work: The aim was to evaluate the production of transfusion products (TP) in the period 2014–2019 at the Transfusion and Hematology Department (THO) in the District Hospital Trutnov and their use for hemotherapy by individual medical disciplines. Furthermore, to compare the production of TP within the Czech Republic together with selected European countries. The incidence of post-transfusion reactions and other adverse events during the reporting period is also included.

Material and methods: The methodological part describes the standard procedures of pre-transfusion examination using the column agglutination method from the company Grifols, S.A., laboratory examination of donors and transfusion products manufactured at the Transfusion Department Trutnov.

Conclusion: Despite all the recommendations and efforts to reduce the use of transfusion products, this condition has not been proven both in our department, within the Czech Republic and in Europe. This work recommends deleucotization of transfusion products for the national and European part, unification of procedures for transfusion in a given disease, mandatory introduction of NAT testing to minimize the risk of transmission blood-borne infections and thus shorten the diagnostic window.

Key words: transfusion products, transfusion, erythrocytes, platelets, plasma.

OBSAH

ABSTRAKT	5
ABSTRACT	6
Obsah	7
2. ÚVOD	9
3. CÍL PRÁCE	10
4. Transfuzní přípravky	11
4.1 Transfuzní přípravky a indikace	11
4.1.1 Erytrocytové transfuzní přípravky	11
4.1.2 TP trombocytů	12
4.1.3 Plazmové transfuzní přípravky	13
4.2 Kontrola kvality TP	15
4.3 Infekční markery a vyšetření alaninaminotransferázy	16
4.4 Screeningové vyšetření nepravidelných protilátek proti erytrocytům	17
4.5 Test kompatibility	18
4.6 Potransfuzní reakce (PTR)	18
5. METODICKÁ ČÁST	21
5.1 TP vyráběné na THO ON Trutnov	21
5.2 Laboratorní vyšetření dárců na THO ON Trutnov	23
5.3 Screening nepravidelných protilátek metodou nepřímého Coombsova testu	25
5.4 Vyšetření infekčních markerů	29
5.5 Výdej a doprava TP	30
6. VÝSLEDKY	31
6.1 Zhodnocení výroby TP na THO ON Trutnov	31
6.2 Výroba TP v ČR	40
6.3 Výroba TP v Evropě	43
6.4 Potransfuzní reakce a nežádoucí události na THO ON Trutnov	46
7. DISKUSE	49

8. ZÁVĚR	53
9. POUŽITÉ ZKRATKY.....	54
10. SEZNAM OBRÁZKŮ	57
11. SEZNAM TABULEK	57
12. SEZNAM GRAFŮ.....	57
13. POUŽITÁ LITERATURA.....	59

2. ÚVOD

“Správně podaný transfuzní přípravek je ten, který je podaný správnému pacientovi, ve správný čas, na správném místě a ve správné kvalitě.”

V. Fábryová, 2012

Transfuziologie je obor, který využívají skoro všechna odvětví medicíny. Ale málo zdravotnických pracovníků i laiků pozná celý příběh procesu od odběru krve od dobrovolného dárce až po výrobu a podání transfuzního přípravku (TP) pacientovi. Stále se setkáváme s malou informovaností či někdy až zjednodušeným pohledem na transfuziologii, což vede k nesprávné indikaci a zneužívání TP. Nejdůležitějším článkem je právě dárce krve, který chce pomoci pacientům, kteří jsou v mnoha ohledech na podání krve závislí **(1)**. Jakmile je krev od dárce odebrána je veškerá pozornost směřována na bezpečnost krevního produktu **(2)**.

Historie transfuzí zasahuje již do několika předchozích století, ale ani současný pohled na podání TP není jednoznačný **(3)**. Ve světě již dlouhé roky převládá trend omezit podávání TP. Optimalizace klinické účinnosti by měla být základní snahou v péči o pacienta **(4)**. Důležitá je i tzv. účelná hemoterapie, případně pokusit se ponechat úpravu stavu pacienta na regulačních silách jeho organismu. Stále platí pravidlo, že každá neindikovaná transfuze je kontraindikovaná. V posledních letech se vyskytují i informace, že v případě podání TP je určitá spojitost s nárůstem počtu morbidit a mortalit **(5,6)**.

Oblastní nemocnice (ON) Trutnov je spádová nemocnice v Královéhradeckém kraji. Transfuzní a hematologické oddělení této nemocnice zajišťuje laboratorní vyšetření, výrobu, výdej i distribuci TP a také dodání plazmy pro další zpracování zahraničním zpracovatelům. TP se zde podávají většinou dospělým osobám. Cílem bezpečné transfuze je dosažení maximálního léčebného účinku tak, aby byl příjemce co nejméně ohrožen potransfuzní reakcí (PTR) **(1)**. Tato skutečnost vedla k zavedení deleukotizace erytrocytových transfuzních přípravků na tomto oddělení, protože leukocyty mohou být v některých případech pro příjemce transfuzních přípravků škodlivé. V dnešní vyspělé době nelze zabránit vzniku nežádoucí reakce i přesto, že krev dárce je kompatibilní s krví

příjemce. Přes všechna doporučení se stále setkáváme také s problémy v preanalytické fázi vyšetření, kdy je indikována transfuze pacientovi, kterému nebyl správně odebrán vzorek k vyšetření krevního obrazu či případy indikované transfuze pacientům s hodnotou hemoglobinu nad 100 g/l.

3. CÍL PRÁCE

Cílem této práce je zhodnotit výrobu TP na THO ON Trutnov, dále jejich využití v hemoterapii a výdej okolním krevním bankám. Dalším cílem je zjistit počet vyrobených, vydaných TP a s tím související výskyt nežádoucích reakcí a událostí za sledované období. Dále posoudit zavedení in-line deleukotizace u erytrocytových TP, zhodnotit její účinnost v rámci výskytu PTR a znehodnocení těchto přípravků. Posledním cílem je porovnat trendy ve výrobě TP v České republice a ve vybraných státech Evropy.

V teoretické části je stručně popsána výroba, kontrola kvality TP, test kompatibility, indikace k podání TP a nejčastější typy PTR.

V metodické části jsou zpracována data získaná z materiálů THO ON Trutnov za období let 2014 až 2019. Data se týkají spotřeby TP v rámci klinických oddělení, výdeje TP krevním bankám, procentuálního zastoupení TP v poměru k výrobě v ČR a ve vybraných státech Evropy.

4. TRANSFUZNÍ PŘÍPRAVKY

4.1 Transfuzní přípravky a indikace

Za TP se považuje lidská krev a její složky, které jsou zpracované pro podání člověku za účelem léčení. TP se podávají pouze se souhlasem pacienta. Pokud není možné souhlas pacienta získat (závažný zdravotní stav), transfuze je indikována z vitální indikace.

TP je vyroben za dodržení definovaných legislativních postupů a kontrol jakosti. Výroba se řídí zákonem o léčivech 378/2007 Sb., vyhláškou o lidské krvi 143/2008 Sb. a legislativou, která vychází ze směrnic Evropského společenství (zahrnuje standardy jakosti a bezpečnosti, technické požadavky na krev a krevní složky, sledovatelnost a oznamování nežádoucích událostí a reakcí a pokyny pro správnou výrobní praxi).

Činnost všech Zařízení transfuzní služby (ZTS) je dozorována Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL), který vydává povolení k výrobě TP a surovin pro další výrobu. Zpracováním krve od dobrovolných dárců se vyrábí jednotlivé TP (plazma, erytrocyty, trombocyty) a/nebo se plazma odesílá do zahraničí k průmyslovému zpracování (frakcionaci) na výrobu krevních derivátů. Proces výroby TP zahrnuje několik kroků, během kterých se dbá na jednoznačnou identifikaci (pomocí čárového kódu) každého ze získaných přípravků. Každý TP je před propuštěním označen tepelně stabilním štítkem s povinnými údaji (název, výrobce, identifikační číslo, kód ZTS, objem či hmotnost, název, složení a množství použitého protisrážlivého činidla a resuspenzního roztoku, datum odběru a expirace, podmínky skladování, krevní skupina, fenotyp, popřípadě název dalších vyšetřených antigenů) **(1)**. Plazma musí projít tzv. karanténou (6 měsíců), po této době kvalifikovaná osoba zhodnotí výsledky opakovaného vyšetření infekčních markerů dárce krve a v případě vyhovujících výsledků propustí plazmu ke klinickému použití. Kvalifikovaná osoba ZTS také musí kontrolovat lékařské záznamy o dárci, laboratorní výsledky a správný průběh výroby.

4.1.1 Erytrocytové transfuzní přípravky

Léčebnou složku představují erytrocyty. Získávají se odběrem plné krve nebo erythrocytaferézou. Uchovávají se v chladničce při +2 °C do +6 °C po dobu 21-49 dnů ode dne odběru. Expirace tohoto přípravku závisí na použitém antikoagulačním roztoku.

Teplota během skladování musí být monitorována. Na konci doby skladování musí být hemolýza menší než 0,8 %.

Odběr **plné krve** (PK) je objem odebrané krve lišící se hmotností dárce, může dosahovat až 510 ml celkového objemu. Odběr probíhá do sterilních jednorázových vaků s protisrážlivým činidlem jako je citronan sodný (**7**). Součástí soustavy vaků je satelitní sáček, který slouží k odběru kontrolních vzorků a také k odběru první porce krve, čímž se eliminuje možná kontaminace krve patogeny kožní mikroflóry. Vak obsahuje přibližně 12 g/100ml hemoglobinu, 0,35 – 0,45 hematokritu, žádné funkční destičky a žádné koagulační faktory. **Erytrocyty bez buffy coatu resuspendované (EBR)** jsou nejčastěji vyráběné erytrocytové přípravky v ČR společně s erytrocyty deleukotizovanými. Tento přípravek EBR obsahuje nejméně 43 g hemoglobinu a maximálně $1,2 \times 10^9$ leukocytů na jednotku. Po odstranění podílu plazmy a buffy coatu je přidán resuspenzní roztok. **Erytrocyty bez buffy coatu** odpovídají jednotce PK, je zde odstraněn velký podíl plazmy a buffy coatu. U **erytrocytů resuspendovaných** je po odstranění plazmy přidán resuspenzní roztok. **Erytrocyty z aferézy** a **erytrocyty deleukotizované (ERD)** musí splňovat požadavek obsahu leukocytů pod 1×10^6 buněk na transfuzní jednotku (**1**).

Tyto erytrocytové přípravky se indikují zejména při akutních ztrátách krve s hypovolemií a při výměnné transfuzi. ERD mají využití u opakovaných transfuzí u onkologických a hematologických pacientů. U pacientů s počínajícím selháním srdce je transfuze kontraindikována.

4.1.2 TP trombocytů

Účelem tohoto odběru je získání suspenze trombocytů. Získávají se po zpracování PK, trombocytaferézami nebo separačními odběrovými technikami. Tento TP je nutné uchovávat na třepačce v nepřetržitém režimu při teplotě $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $+24\text{ }^{\circ}\text{C}$, nejdéle 7 dnů. Expirace je závislá na použitých antikoagulačních roztocích. Při podání trombocytového TP je nutné dodržet shodu ABO a RhD kompatibility příjemce. Mezi nežádoucí reakce po podání tohoto TP patří febrilní nehemolytické a alergické kopřivkové reakce. Nejsou však výjimečné u pacientů, kteří dostávají mnohonásobné transfuze.

Jednotka TP trombocytů by neměla být pod hranici 2×10^{11} trombocytů, pH na konci skladovací doby nesmí být pod 6,4. Trombocyty z PK musí obsahovat méně než $0,2 \times 10^9$

leukocytů na jednotku. Trombocyty z PK deleukotizované musí mít počet leukocytů menší než 1×10^6 na jednotku. Zpracováním PK na buffy coat lze získat **trombocyty z buffy coatu** s obsahem leukocytů menším než $0,05 \times 10^9$ na jednotku, pro **trombocyty z PK deleukotizované** méně než 1×10^6 leukocytů na jednotku. Separací trombocytů pomocí aferézy lze připravit suspenzi s obsahem trombocytů vyšším než 2×10^{11} na jednotku. Tímto způsobem se vyrábí **trombocyty z aferézy deleukotizované**, pro které platí stejné množství leukocytů jako u trombocytů z PK deleukotizovaných. Jestliže je použit náhradní roztok, pak jsou označovány jako **trombocyty z aferézy deleukotizované v náhradním roztoku (1)**.

Podání trombocytových přípravků je indikováno u trombocytopenií, kde hrozí krvácení. I v případě poruch ztráty funkce destiček. Indikací k podání je pokles trombocytů pod $5 \times 10^9/l$. Kontraindikací je, pokud není známý významný nedostatek destiček před jakýmkoliv výkonem, tzn. nejsou určeny k profylaxi. Neindikují se při hypersplenismu, idiopatické autoimunitní trombocytopenické purpuře, trombotické trombocytopenické purpuře (TTP), neléčené diseminované intravaskulární koagulopatii (DIC), trombocytopenii spojené se septikémií pacienta, kde nebyla zahájena léčba (8).

4.1.3 Plazmové transfuzní přípravky

Při výrobě tohoto typu TP je důležité zachovat funkci labilních koagulačních faktorů a přirozených inhibitorů koagulace. Zachování těchto faktorů se docílí šokovým zmrazením plazmy během jedné hodiny (v jádře vaku na teplotu $-30 \text{ }^\circ\text{C}$). Skladování probíhá při teplotě $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ a nižší, po dobu 3 měsíců. Plazmové TP mohou být získány při odběru PK, trombocytaferéze, erythrocytaferéze a plazmaferéze. Obsah zbytkových buněk u přípravků je dán nejvýše $6 \times 10^9/l$ erytrocytů, $50 \times 10^9/l$ trombocytů a $0,1 \times 10^9/l$ leukocytů. Pro klinické použití lze použít pouze plazmu, která prošla karanténou a je při podání pacientům kompatibilní v ABO systému.

Plazma pro klinické použití (FFP – fresh frozen plasma) je plazma oddělená z jedné dávky plné krve během 6 hod od odběru, která se zmrazí na teplotu $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ nebo nižší. Lze ji získat také pomocí aferézy. Plazma obsahuje normální hladiny koagulačních faktorů, imunoglobulinů a albuminu. V čerstvé plazmě dosahuje hladina F VIII nejméně 70 %. Objem konzervy je 200–300 ml, děti mohou dostat konzervu o menším objemu.

Riziko přenosu infekcí je stejné jako u PK, ale jestliže je ošetřena metylenovou modří/inaktivací ultrafialovým světlem, riziko je velmi nízké. Plazmu lze skladovat při -25 °C až 1 rok. Před použitím je potřeba plazmu rozmrazit v termostatu při teplotě 30 °C až 37 °C. Pokud by byla teplota vyšší, zničí se bílkoviny a faktory srážlivosti. Zcela výjimečně se může objevit anafylaktická reakce ohrožující život. U hypovolémie není podání plazmy indikací k použití. Indikací podání plazmy je nedostatek koagulačních faktorů u onemocnění jater, u pacientů předávkovaných warfarinem a u pacientů, kteří dostávají vysoké objemy transfuzí, DIC, TTP **(1)**.

Kryoprotein se připravuje zpracováním plazmy. Tvoří se během řízeného tavení při +4 °C s následným resuspendováním v 10-20 ml plazmy. Precipitát obsahuje faktor (F) VIII (80-100 IU) a fibrinogen (150-300 mg v konzervě). Dodává se jako konzerva od jednoho dárce nebo smísením 6 či více darovaných jednotek. Skladování těchto TP probíhá při teplotě -25 °C nebo nižší po dobu jednoho roku. Tato varianta koncentráту F VIII se indikuje při léčbě dědičného nedostatku u von Willebrandovy nemoci, hemofilie A nebo F VIII. Tento TP lze použít i jako zdroj fibrinogenu při DIC **(1)**.

Deriváty plazmy se připravují tzv. frakcionací. Lze připravit roztoky lidského albuminu, které slouží jako náhrada objemu, u popálenin, hypoalbuminémie či např. při léčbě diuretický rezistentního edému u hypoproteinémie. Koncentrát F VIII je částečně purifikovaný F VIII připravený z objemných směsí darované plazmy. Dodává se ve formě prášku a před použitím se musí naředit. Deriváty obsahující F IX jsou koncentráty protrombinového komplexu, který obsahuje F II, VII, IX a X. Využití mají při nutnosti rychlé úpravy protrombinového času, tzn. při antikoagulační léčbě kumariny, hypovitaminóze K, vrozených deficitech F II, X, získané koagulopatii u masivního krvácení, DIC. Koncentrát F IX slouží k léčbě hemofilie B. F VIII má využití u hemofilie A a von Willebrandovy choroby **(1)**.

Granulocyty se získávají aferézou nebo odběrem PK. Při aferetickém odběru je nutné dárčům podat rekombinantní faktor stimulující granulocyty (v dávce 5-10 µg/kg hmotnosti) nebo glukokortikoidy. Odběrem se získá 200-300 ml plazmy, kde jsou granulocyty resuspendované. Před podáním granulocytového TP je potřeba provést jeho ozáření a zkoušku kompatibility, protože obsahují příměs erytrocytů. V dnešní době je podání již raritní, protože existuje spousta cílených antibiotik a antimykotik. Indikací

jsou těžké neutropenické stavy (neutropenie pod $0,5 \cdot 10^9/l$) se současným projevem infekce, trvající déle než dva dny, kdy pacient neodpovídá na léčbu antibiotiky **(1)**.

4.2 Kontrola kvality TP

Během procesu výroby je prováděná tzv. kontrola kvality TP s cílem zabezpečit jejich kvalitu, a to pravidelnými kontrolami předepsaných parametrů i výrobních prostor. Četnost kontrol je zvolená na základě statistických metod (SPC, *statistical process control*). Protokoly o provedené kontrole jsou zpracovány a na základě výsledků je určeno % vyhovujících TP **(1)**. V České republice je výroba TP legislativně řízena zákonem o léčivech č. 378/2007 Sb., vyhláškou o lidské krvi č. 143/2008 Sb. a pokyny SÚKLu ke Správné výrobní praxi (SVP). Zde je stanoven systém jakosti včetně kontrol a požadavky na bezpečnost jednotlivých TP **(9,10)**.

Kontrola kvality TP zahrnuje tyto postupy:

Kontrola dokumentace začínající již pečlivým výběrem dárců krve / krevních složek s nízkým rizikem. Zavedení a používání standardních operačních postupů (SOP), tzn. validovaných pracovních metod, které se musí pravidelně kontrolovat a aktualizovat. Povinná školení pracovníků. **Vizuální inspekci** TP, kdy se hodnotí neporušenost vaku, vzhled vyrobeného TP, barva, výskyt sraženin, hemolýza, u trombocytových TP tzv. swirling fenomén a kontrola údajů na štítku. **Při kontrole parametrů jakosti TP** se využívá náhodný výběr, protože každý výrobek představuje novou šarži. Četnost odebraných vzorků musí splnit podmínku na reprezentativnost a současně i objektivitu výběru skupiny ze všech TP. Náhodný výběr musí být zajištěn nezávislou osobou, která se neúčastní procesu odběru a výroby TP. Povinné parametry kontroly kvality vyšetření u všech odebraných jednotek krve / krevních složek zahrnují: imunohematologické parametry (krevní skupina v ABO systému, RhD, screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům) a vyšetření infekčních markerů krví přenosných chorob. U erytrocytových TP se zjišťuje hodnota hemoglobinu, hematokritu, počet zbytkových leukocytů a procento hemolýzy na konci doby skladování. U trombocytových TP se posuzuje počet destiček v terapeutické dávce, pH a počet zbytkových leukocytů. U plazmy se stanovuje celková bílkovina, počet zbytkových erytrocytů, trombocytů, leukocytů před zmrazením a hodnota F VIII po rozmrazení **(1)**.

V rámci **mikrobiologické kontroly** se kontroluje účinnost dezinfekce z místa vpichu před odběrem krve u dárce. Dále je posuzována kontrola sterility odběrového vaku, která se provádí asi u 1 % TP na konci doby použitelnosti. V rámci kontroly čistoty na výrobním úseku musí být provedena kontrola prostor stěrem z pracovních ploch a zařízení. Přípustný je nález nepatogenních organismů, v případě výskytu patogenních organismů se musí okamžitě sjednat nápravná opatření a provést záznam do knihy neshod **(1)**.

Dále musí imuno hematologická laboratoř, která vyšetřuje krevní vzorky od dárců krve, krevních složek či pacientů, splňovat podmínky tzv. **vnitřní a vnější kontroly kvality**.

Cílem tzv. **interní kontroly kvality (IKK)** laboratoře je správné provedení všech vyšetření. Vypracovaný systém kontrol je součástí SOP. Systém musí zahrnovat validaci metod, diagnostik, zařízení, monitorování reprodukovatelnosti výsledků testů, detekci chyb a také pravidelné školení a prověřování kompetence zaměstnanců.

V rámci tzv. **externí kontroly kvality (EKK)** se laboratoř musí účastnit odborného testovacího programu, který je zajišťován externími poskytovateli. Z těchto referenčních laboratoří jsou rozesílány několikrát v roce neznámé krevní vzorky (např. stanovení hodnot krevního obrazu, krevní skupiny, test kompatibility), které laboratoř vyšetří a výsledky odešle. Po úspěšném absolvování cyklu, laboratoř získá certifikát pro danou metodu, kterou může provádět.

4.3 Infekční markery a vyšetření alaninaminotransferázy

Povinností každého ZTS je zabezpečení preventivních opatření vedoucích k minimalizování rizika přenosu infekce krví. Od toho se odvíjí správný postup ve výběru dárce krve a krevních složek, předepsaná laboratorní vyšetření (dle vyhlášky č. 143/2008 Sb.) a povinná karanténa klinické plazmy. Pracoviště, které je zároveň výrobcem TP musí povinně provádět screeningová vyšetření dárců na specifické sérologické markery infekce: protilátky anti-HCV, anti-HIV-1, anti-HIV-2 a HIV antigen p24 (*human immunodeficiency virus*), HBsAg antigen a protilátky proti původci syfilis (*Treponema pallidum*). Vyšetření katalytické aktivity alaninaminotransferázy (ALT) se již povinně vyšetřovat nemusí **(11)**. Negativní výsledky infekčních markerů se interpretují jako iniciálně nereaktivní. Pokud se výsledek nachází v rozmezí tzv. šedé zóny (hraniční), musí

se zopakovat a vyšetřit dvakrát **(12)**. V současné době je snahou zkrátit tzv. diagnostické okno (období, kdy ještě není možné infekční agens detekovat), především pomocí metod molekulární genetiky. V případě reaktivního výsledku screeningového vyšetření se vzorek plazmy či séra odesílá ke konfirmačnímu vyšetření do Národní referenční laboratoře (NRL) v Praze a vyrobené TP se nesmí propustit do expedice. V NRL se testování provádí způsobem a metodami, které zahrnují i testy založené na odlišném principu.

ALT je cytoplazmatický enzym s nejvyšší aktivitou v hepatocytech. Nadměrná fyzická aktivita, alkohol a stres mohou hodnoty tohoto enzymu zvyšovat. Pokud se u dárce zjistí nevyhovující hodnota ALT ($>1,36 \mu\text{kat/l}$), musí se odebraná krev znehodnotit. Zvýšené ALT může svědčit o probíhající akutní hepatitidě, infekční mononukleóze, toxickém poškození jater, chronické hepatitidě či onemocnění myokardu **(13)**.

4.4 Screeningové vyšetření nepravidelných protilátek proti erytrocytům

Vyšetření se provádí v rámci předtransfuzního vyšetření v případě testu kompatibility, ale i u každého dárce krve či krevních složek. V dnešní době zkumavkovou metodu již nahrazují testy sloupcové aglutinace a metody pevné fáze. Používá se panel diagnostických erytrocytů, což jsou tzv. typové krvinky, které na svém povrchu nesou klinicky významné antigeny. V případě pozitivního screeningu protilátek se provádí identifikace pomocí screeningových panelů, které pomáhají určit specifickou protilátku. U identifikované protilátky se posuzuje klinická významnost. Tyto panely musí být specifické (tzn., že reagují pouze s jedním antigenem), účinné (vyjádřeno titrem) a musí dávat jasné reakce bez falešných reaktivit. Erytrocyty i diagnostická séra je nutné správně uchovávat (v lednici při teplotě $+2 - +6 \text{ }^\circ\text{C}$). Všechna diagnostika podléhají také IKK, při které se pravidelně pomocí kontrolních diagnostik vyšetřuje správnost vyšetření. Součástí IKK je pozitivní kontrola k ověření toho, zda nedochází ke ztrátě reaktivity diagnostických sér či kontaminaci diagnostik v laboratoři. U testů prováděných na analyzátorech se kontrolní materiál řídí podle pokynů výrobce **(14,15)**.

CE screeningové panely jsou tzv. panely diagnostických erytrocytů. Pro vyšetřování pacientů se využívají 3 typy diagnostických erytrocytů s určitými požadavky, tzn.

s minimálním zastoupením antigenů (C, C^w, c, D, E, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s, M, N, Le^a), s homozygotním zastoupením antigenů (Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s), s fenotypem DCe/DCe (R₁R₁), DcE/DcE (R₂R₂) a ccee (rr) **(16)**. U dárců krve se používají tzv. poolované diagnostické erythrocyty ve směsi, protože je zde nižší požadavek na citlivost screeningu protilátek.

CE identifikační panely slouží k záchytu klinicky významných protilátek (např. anti-D, anti-E, anti-c, anti-K a dalších). Pokud je ve screeningu detekována protilátka, měla by být určena její specifita a posouzen klinický význam. Klinicky závažné protilátky, které se vyskytují často, mají poskytovat dobře odlišitelné vzorce reaktivity **(17)**.

Panely enzymaticky ošetřených diagnostických erythrocytů slouží k záchytu protilátek, které reagují slabě v nepřímém antiglobulinovém testu a/nebo u směsí protilátek.

4.5 Test kompatibility

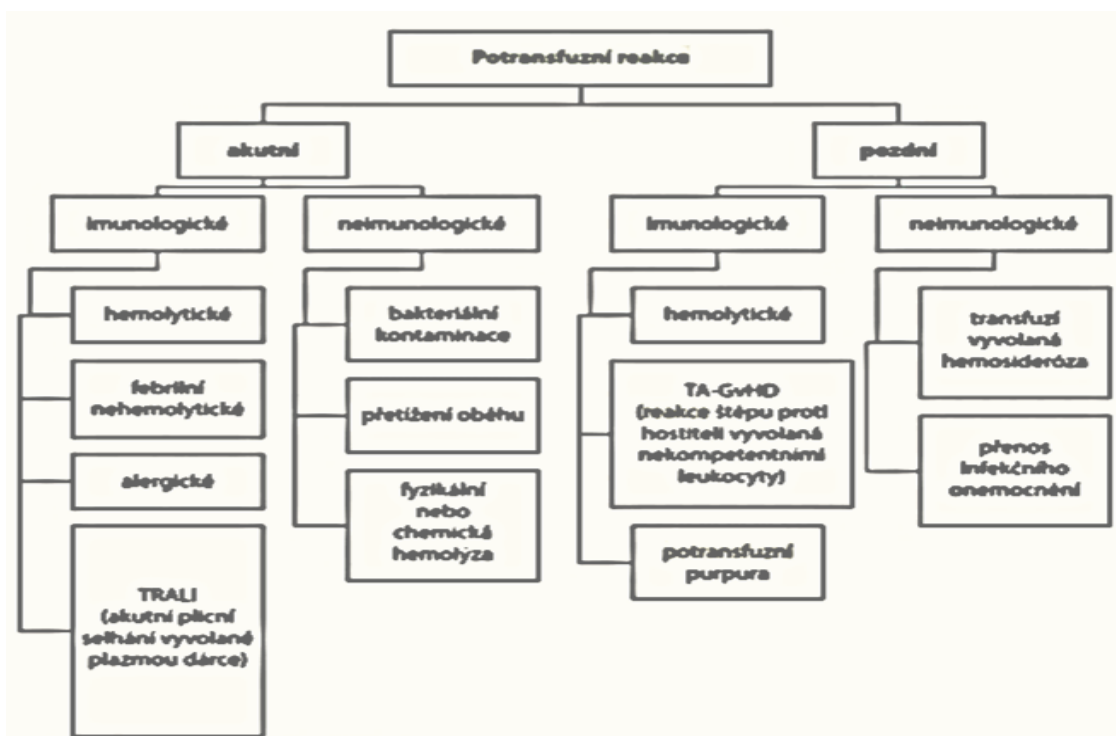
Před podáním transfuzního přípravku se posuzuje slučitelnost (kompatibilita) transfuzního přípravku s krví příjemce transfuzního přípravku. Sérum či plazma příjemce je smíchána s erythrocyty transfuzního přípravku, který bude příjemci podán. Test lze provést ve zkumavce, sloupcovou aglutinací nebo metodou pevné fáze. Pokud je pacient naimunizovaný, např. podanými transfuzemi v minulosti nebo je zvolen nesprávný fenotyp TP vůči fenotypu příjemce, může test kompatibility při laboratorním vyšetření vycházet jako pozitivní **(18,19)**. Tento TP v pozitivním testu kompatibility nelze podat. V tomto případě se musí vycházet ze shodného fenotypu TP a příjemce.

4.6 Potransfuzní reakce (PTR)

V souvislosti s transfuzí mohou nastat komplikace, které jsou vázané na podávaný TP. Může to způsobit buď záměna TP nebo klinický a imunitní stav pacienta. PTR jsou neočekávané nežádoucí účinky související s podáním TP. Tyto reakce se musí evidovat, každý TP, po kterém byla hlášena PTR je znovu zpětně kontrolován. Lehká PTR odezní po jednoduché léčbě. Středně závažná PTR nevyžaduje monitorování životních funkcí a závažná PTR vyžaduje okamžitý zásah s monitorováním životních funkcí **(20)**.

Jako závažná nežádoucí událost je označována nepříznivá skutečnost, která souvisí s odběrem krve či jejich složek, vyšetřením, zpracováním, skladováním a distribucí propuštěného TP nebo suroviny pro další výrobu nebo výdejem TP, která by mohla mít za následek úmrtí, ohrožení vitálních funkcí, trvalé následky nebo prodloužení hospitalizace pacienta (21,22).

PTR se dělí na akutní, které vznikají v průběhu podání TP až do několika hodin po ukončené transfuzi. Pozdní, které se vyskytují obvykle v odstupu několika dnů až týdnů viz obrázek č. 1. Potransfuzní infekce HIV, HBV, HCV se mohou projevit i v delším časovém odstupu.



Obrázek 1: Rozdělení potransfuzních reakcí. Převzato od: P. Bartůněk, 2016

Hlášení PTR:

Každé zdravotnické ZTS musí mít vypracovaný SOP pro výskyt PTR. Závažné nežádoucí reakce a závažné nežádoucí události nebo podezření na ně, se hlásí na SÚKL jednotlivě v průběhu roku. Po ukončení šetření každé jednotlivé PTR se na SÚKL zasílá Zpráva o výsledku šetření.

Nejdůležitější je vyloučení akutní hemolýzy a odlišení případných závažných PTR. Při závažné akutní alergické reakci je třeba okamžitě přerušit podávání transfuze

(i.v. přístup se ponechá) a informovat lékaře. Dále je nutno zahájit léčbu pacienta, změřit vitální funkce (krevní tlak, tělesnou teplotu, puls). Zkontrolovat zdravotní dokumentaci pacienta, tzn. totožnost příjemce, dokumentaci TP (v případě záměny TP okamžitě zastavit podávání všech TP na oddělení a provést jejich kontrolu), vzhled TP a jeho expiraci. Dále zkontrolovat výsledek tzv. *bed-side* testu (krevní skupiny TP a příjemce u lůžka, který se provádí před zahájením každé transfuze erytrocytových přípravků). Provést zápis do zdravotní dokumentace pacienta. V případě PTR je nutné kontaktovat výrobce TP, který je povinen zajistit kontrolní a nápravná opatření **(20,21,22)**.

Mezi nejzávažnější akutní PTR patří intravaskulární hemolytická reakce z imunitních příčin, která je způsobena neslučitelností ABO systému nebo jinou protilátkou, která právě vyvolá akutní intravaskulární hemolýzu. Extravaskulární hemolytická reakce je vyvolána nepravidelnou antierytrocytovou protilátkou. Febrilní nehemolytické PTR zapříčiňují antileukocytové protilátky příjemce. Alergickou reakci způsobují protilátky proti plazmatickým bílkovinám nebo alergenům, které jsou přítomny v TP. TRALI (*Transfusion-related acute lung injury*) je způsobena protilátkami buď proti HLA nebo leukocytům v TP, jako prevence zde slouží deleukotizace TP. Jestliže je TP podán rychle či je aplikováno velké množství objemu, dochází k oběhovému přetížení neboli TACO (*Transfusion-associated circulatory overload*). Mikrobiální kontaminace TP způsobuje septickou reakci, proto je nutné dodržovat zásady SVP při odběru dárce, zpracování i uchování TP **(21,22,23)**.

Odběr vzorků k vyšetření po závažné nežádoucí reakci:

Zahrnuje odběr vzorků k vyšetření krevního obrazu, retikulocytů, přímého antiglobulinového testu; z koagulačních vyšetření protrombinový test, aktivovaný parciální trombinový test, d-dimery a fibrinogen. Nový odběr vzorku na křížovou zkoušku. Z biochemických vyšetření odběr na bilirubin, laktátdehydrogenázu, haptoglobin, případně volný hemoglobin, kreatinin, elektrolyty, krevní plyny, ze vzorku moče se stanovuje volný hemoglobin, urobilinogen a odběr hemokultur.

5. METODICKÁ ČÁST

5.1 TP vyráběné na THO ON Trutnov

V březnu roku 2016 byla na THO zavedena plošná deleukotizace erytrocytových TP. Důvodem byla poptávka deleukotizovaných TP z některých nemocničních oddělení (ARO, onkologie, hematologická ambulance). V tomto roce došlo také k nárůstu počtu vyrobených EBR (erytrocyty bez buffy coatu resuspendované). Deleukotizace TP se nejdříve prováděla až po provedení křížové zkoušky, což bylo časově velmi náročné. Deleukotizace byla podmíněna i tím, že EBR nesměly být starší než 2 týdny, což vedlo k velkému množství proexpirovaných kreví. Pokud byla krev deleukotizována, snížila se doba expirace tohoto TP na pouhých 24 hodin.

Na THO ON Trutnov se vyrábí několik typů TP:

ERD z plné krve:

Jedná se o TP získaný od dárce plné krve odstředěním, odstraněním plazmy, buffy coatu a resuspenzí erytrocytů ve výživném roztoku SAGM, upravený filtrací přes deleukotizační filtr. Jednotlivé vaky označené štítkem čísla odběru jsou vloženy do centrifugy a všechny údaje jsou přenášeny on-line do softwaru HEMO. Pomocí centrifugace dochází k rozvrstvení jednotlivých elementů krevních složek na erytrocyty, buffy coat a plazmu. Jejich oddělení je provedeno automaticky pomocí zevní komprese obalu na separátoru krevních složek.

Vak s erytrocyty a SAGM se po sejmutí z lisu promíchá, zavěsí na háček a nechá se volně gravitačním spádem filtrovat přes deleukotizační filtr do prázdného vaku. U těchto TP se vytváří i tzv. segmenty, které se využijí k provedení křížové zkoušky v rámci předtransfuzního vyšetření pacienta. Po propuštění se TP polepí konečným štítkem s povinnými údaji. Polepené TP jsou vloženy do chladicího boxu, který je nastaven na teplotu 4°C. Expirace ERD je 42 dní od odběru.

SPL (*source plasma*) z přístrojové aferézy:

Plazma je odebrána pomocí filtrační aferézy (v rozsahu 650-830 ml dle hmotnosti dárce, za použití 4 % antikoagulačního roztoku citronanu sodného) a je určena k dalšímu zpracování, tzn. pro výrobu krevních derivátů. Tato plazma neprochází karanténou a její

dodání zpracovateli by nemělo být starší než 4 měsíce. Při odběru vzorků k vyšetření infekčních markerů a krevního obrazu se odebírá i vzorek pro odběratele plazmy. Odběratel plazmy pak pomocí citlivějších metod provádí vyšetření (tzv. *Nucleic Acid Testing*, NAT) infekčních agens, což je výhodné zejména z hlediska zkrácení diagnostického okna. Tato vyšetření se provádí jednotlivě nebo ve směsi a slouží hlavně k detekci HCV či HIV.

Před dokončením odběru je dárci separátorem aplikováno 500 ml fyziologického roztoku. Interval mezi dvěma odběry plazmy minimálně 14 dní. Odebírané množství plazmy se nastavuje na separátoru včetně protisrážlivého roztoku (vztaženo na hmotnost dárce viz tab. č. 1).

Mrazení plazmy by mělo proběhnout bezprostředně po odběru (maximálně do 3. hodin) při -30 °C do 60 minut od počátku mrazení, aby zůstaly zachovány labilní koagulační faktory. Zmrazené plazmy jsou poté přemístěny do označeného boxu (při teplotě -30 °C). Expirace je 3 roky od odběru.

Plazma, která je získaná z běžného odběru dárce se zamrazí a označí jako **FFP z plné krve** (*Fresh frozen plasma*). Odesílá se smluvnímu zpracovateli Takeda a.s., Vídeň. Skladování je stejné jako u SPL.

Tabulka 1: Objem odebrané plazmy (vztaženo na hmotnost dárce)

Hmotnost dárce	55–60 kg	61-65 kg	66-70 kg	71-80 kg	>81 kg
Objem odebrané plazmy	650 ml	690 ml	750 ml	800 ml	830 ml

Pro odběry *source* plazmy k frakcionaci se podle požadavků zpracovatele plazmy musí dodržet zásada tzv. kvalifikovaného dárce. Pokud dárce přijde darovat plazmu po déle než půl roce od posledního odběru, musí nejdříve podstoupit běžný odběr plné krve nebo kontrolní odběr vzorku k vyšetření infekčních markerů. Pokud je ověřena negativita provedených virologických testů, je dárce znovu zařazen k odběrům plazmy.

Plazma z aferézy klinická (PA), plazma klinická (P):

Tento TP se získává z plazmy odebrané dárcům (převážně muži bez transfuze v osobní anamnéze). Odběr se provádí pomocí filtrační aferézy na separátoru v množství 650 ml. Během odběru je plazma kontinuálně rozdělena do 3 vaků o objemu 217 ml za použití

antikoagulačního roztoku citronanu sodného ve směšovacím poměru 6 %. PA je zmrazena na teplotu -30 °C maximálně do 3 hod od odběru. Vlastní zmrazení proběhne na -30 °C do 40 minut od počátku mrazení. Tento proces je řízen softwarem s obsluhou čteček čárových kódů. Po ukončení obsluha tiskne protokol se všemi údaji o procesu výroby. Takto vyrobený TP musí projít karanténou, která trvá 180 dní, poté je potřeba u dárce znovu přešetřit infekční markery. Expirace této plazmy je 3 roky od data odběru.

Trombocyty z aferézy deleukotizované (TAD):

Jedná se o TP získaný trombocytferézou od jednoho dárce pomocí automatického přístroje pro separaci buněk za použití roztoku ACD-A. Před podáním tohoto TP pacientovi je nutné dodržet ABO kompatibilitu. Přípravek je in-line deleukotizován při separaci. Před provedením venepunkce zdravotní sestra nastaví parametry pro odběr (pohlaví, výška, váha, hematokrit a minimální počet trombocytů z předem změřeného krevního obrazu). Na přístroji se zvolí odebíraný objem podle požadovaného množství trombocytů. Odebraný sběrný vak se nechá 1 hodinu ležet. Po promíchání se rozplní do dvou trombocytových vaků. Dále se vytvoří ještě jeden segment, který je označen čárovým kódem a zůstává na oddělení. Po propuštění TP lékařem se umístí do termostatu (+22 °C) s třepačkou, kde probíhá jeho neustálé míchání. Expirace tohoto přípravku je 5 dní od odběru. Z důvodu krátké expirace se TAD do zásoby nevyrábí, pouze je-li požadavek pro konkrétního pacienta na žádost lékaře. V případě nemožnosti výroby a naléhavosti indikace z oddělení, zajišťujeme nákup TAD ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové, případně v jiném ZTS.

5.2 Laboratorní vyšetření dárců na THO ON Trutnov

U dárců se při každém odběru PK hodnotí parametry krevního obrazu, orientačně vyšetření moče (pouze u prvodárců nebo na žádost lékaře), infekční markery (anti-HIV 1/2 protilátky, antigen p24, anti-HCV, HBsAg, protilátky proti původci syfilis), dále se provádí vyšetření krevní skupiny v ABO a Rh systému, screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům. U plazmaferéz k výrobě plazmy pro frakcionaci se screening protilátek kontroluje společně s krevní skupinou a Rh faktorem pouze jednou za rok. Při každém běžném odběru a u trombocytferéz se u dárce vždy vyšetřuje ALT. V případě SPL pouze 1x za čtvrtletí. Vyšetření provádí Oddělení klinické biochemie (OKB)

ON Trutnov. U plazmaferéz se dárčům také jednou za rok vyšetřuje celková bílkovina, IgG a albumin, které rovněž provádí OKB ON Trutnov.

Vyšetření krevní skupiny a Rh:

Vzorek žilní krve dárce je odebrán do K₃EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina) a vyšetření je provedeno v analyzátoru Erytra Eflexis (viz. obr. č. 2). Pro stanovení krevní skupiny se používají gelové karty (Diagnostic Grifols, S. A.). Každá mikrozkušavka obsahuje polymerizovaný dextrans v pufrovaném médiu s přidavkem konzervačních látek, smíšený s různými antiséry.



Obrázek 2: Imunohepatologický analyzátor Erytra Eflexis. Foto: autor.

U dárců krve je vyšetření prováděno na analyzátoru v sériích. Prvodárci jsou zpracováni duplicitně na analyzátoru i manuálně metodou sloupcové aglutinace (gelová karta DG Gel ABO/Rh(2D) a DG Gel Rh Pheno + Kell). Karta (2D) dokáže zachytit slabé a variantní formy antigenu D. První zkumavka krve je odebrána v předodběrové laboratoři a je primárně určena pro kontrolu krevního obrazu dárce, následně je tento vzorek zpracován na analyzátoru Erytra Eflexis. Druhý vzorek je odebrán na odběrovém sále při samotném darování krve a je zpracován manuálně. Pokud je dárce opakovaně vyšetřován, je krevní skupina a D antigen přešetřen na gelové kartě (DG Confirm) z primárního odběru.

V případě zkoušek kompatibility je vyšetření provedeno manuálně na gelové kartě (DG Gel AB0/Rh (2D) + Kell), která nezachytí slabé a variantní formy antigenu D. Ověření skupiny u příjemce se známou KS se provádí manuálně zkuševkovou metodu pomocí diagnostických sér anti-A, anti-B a anti-D.

Pro vyšetření krevní skupiny na gelové kartě (AB0/Rh (2D); AB0/Rh (2D) + Kell) je nutno připravit 5% suspenzi vyšetřovaných erytrocytů v diluentu (DG Sol), který usnadňuje navázání protilátky na červené krvinky (odebere se 50 µl sedimentu nebo koncentrátu erytrocytů a přidá se 1 ml roztoku DG Sol). Do jamek na kartě se pipetuje 10 µl 5% erytrocytů. Do tzv. „zadní řady“ mikrozkušev (N/A₁ a N/B) se pipetuje 50 µl diagnostických erytrocytů a do obou mikrozkušev 50 µl vyšetřovaného séra nebo plazmy a poté proběhne centrifugace.



Obrázek 3: Karta DG Gel AB0/Rh (2D) + DG Gel Confirm. Foto: autor.

DG Gel Confirm P jsou předkapané gelové karty pro confirmaci KS u opakovaných dárců krve. Používá se zde také 5% roztok vyšetřovaných erytrocytů v diluentu.

5.3 Screening nepravidelných protilátek metodou nepřímého Coombsova testu

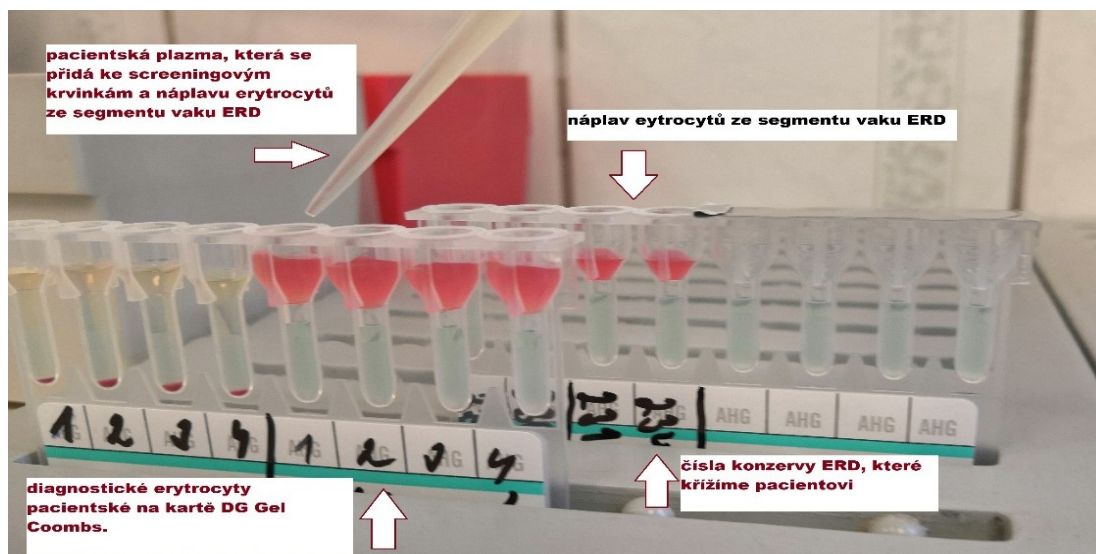
Tento test je založen na principu senzibilace erytrocytů inkompletní protilátkou obsaženou ve vyšetřované plazmě (séru). Senzibilizované erytrocyty se detekují antiglobulinovým sérem, které způsobuje jejich aglutinaci. Vyšetření se provádí pomocí techniky sloupcové aglutinace na gelové kartě (DG Gel Coombs, výrobce Diagnostic Grifols, S.A.), která obsahuje 8 mikrozkušev. Každá mikrozkuševka je tvořena sloupcem a reakční komůrkou. K vyšetření se používají typové erytrocyty, které obsahují klinicky významné antigeny základních systémů krevních skupin. Tyto erytrocyty se

inkubují s vyšetřovanou plazmou. Jestliže se v plazmě nachází inkompletní nepravidelné protilátky, naváží se na erytrocyty. Po přidání antiglobulinového séra dojde k aglutinaci erytrocytů, a tím se reakce zviditelní. Odběr vzorku k tomuto vyšetření se provádí do antikoagulačního roztoku EDTA (Vacurette 6 ml).

U příjemců TP je screening prováděn manuálně pomocí diagnostických krvinek (Serascan Diana 4), protože se většinou jedná o jednotlivé vzorky (viz obr. č. 4).

U dárců TP se vyšetření provádí v sériích na analyzátoru Erytra Eflexis pomocí diagnostických krvinek (Serascan Diana 2, firma Grifols). Diagnostické krvinky obsahují 0,8% pufovanou suspenzi lidských červených krvinek krevní skupiny 0 s přídavkem konzervačních látek.

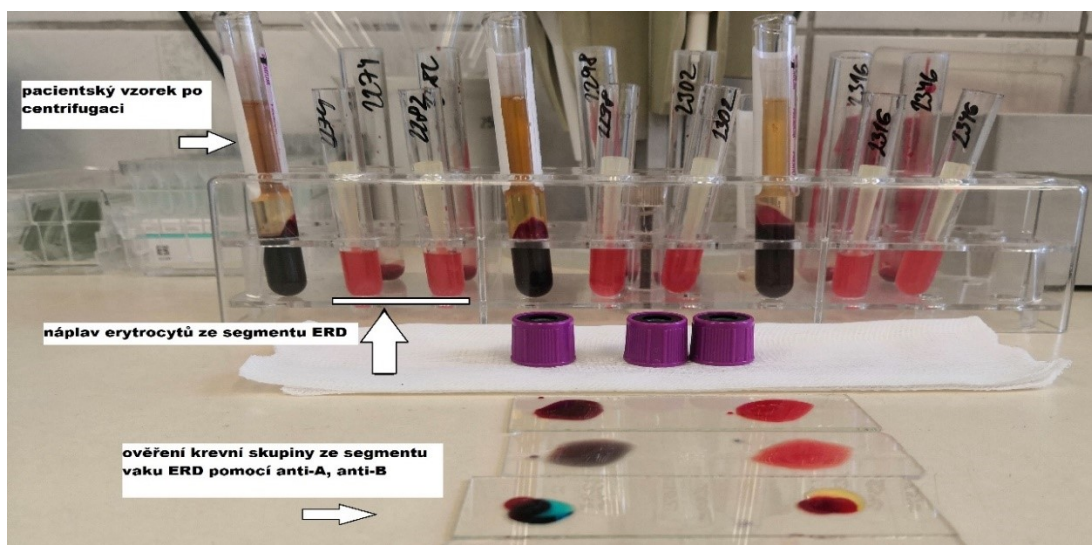
Mikrozkumavky se před manuálním vyšetřením označí číslem. Pipetuje se 50 μ l (1 kapka) diagnostických červených krvinek a k tomu se přidá 25 μ l vyšetřované plazmy. Karta se inkubuje 15 minut při 37 °C, poté se centrifuguje. Odečet případné aglutinace se provádí semikvantitativně. V případě analyzátoru se výsledek validuje (potvrzení v analyzátoru) a pošle exportováním do HEMO (systém určený pro dárce, ale s vazbou na účtování pohybu TP), vytiskne se výsledek z analyzátoru, který se uchovává pro možnost další kontroly. V případě screeningu u pacientů v rámci testu kompatibility nebo imunohematologického vyšetření se provede zápis do LIS (laboratorní informační systém), který slouží pro pacienty.



Obrázek 4: Zkouška kompatibility se screeningem protilátek. Foto: Autor.

Test kompatibility:

Vyšetření se provádí metodou nepřímého antiglobulinového testu, kdy se detekují protilátky v plazmě pacienta, které by mohly reagovat s erytrocyty dárce při podání TP a způsobit nežádoucí imunitní reakce. Vyšetření se provádí gelovou technikou, ale v ojedinělých případech i zkumavkou metodou (např. u onkologických pacientů). Test kompatibility (ZK) se provádí na gelových kartách DG Coombs, kde se do jedné jamky pipetuje 50 μ l připravené 1% suspenze erytrocytů dárce (1 ml DG Sol + 10 μ l dárcovských erytrocytů) a k tomu se přidá 25 μ l vyšetřované plazmy pacienta (tzn. příjemce TP). Inkubuje se 15 minut při 37 °C, poté se karta centrifuguje a semikvantitativně se odečte aglutinace. Čísla konzervy TP se zapíší do knihy k danému příjemci společně s výsledkem ZK. U TP (ze segmentu vaku) musí být před křížovou zkouškou provedeno ověření krevní skupiny TP. Testuje se na sklíčku pomocí diagnostických antisér anti-A, B viz. obr. č. 5:



Obrázek 5: Ověření KS ze segmentu vaků pomocí anti-A, anti-B. Foto: autor.

V mimořádných situacích, tzn. při zajištění vitálních funkcí se může podat během 24 hodin inkompatibilní TP přípravek (tzn. RhD negativní osobě lze podat RhD pozitivní TP). V případě ABO neshody, je třeba na neshodu TP a příjemce, upozornit lékaře. Na neshodu TP dárce a příjemce také upozorní systém HEMO při výdeji TP. Upozornění je nastaveno tak, aby nedocházelo k záměně TP za jinou KS, než má pacient v databázi HEMO. V případě vitální indikace se zjistí, zda má pacient v nemocniční databázi uvedenou KS. Pokud je zároveň doručen i vzorek krve na křížení, ověří se KS zkumavkovou metodou pomocí antisér. Jestliže KS uvedena není, podává se vždy 0 RhD negativní TP k zamezení podání ABO inkompatibilního přípravku, a tím se eliminuje vznik PTR.

THO ON Trutnov umožňuje:

Možné podání, což znamená vyšetření KS a screeningu protilátek. TP se nekříží, platnost této zkoušky je 48 hodin od data a času odběru vzorku pacienta. Pokud je v průběhu těchto 48 hodin požadavek na vykřížení krve, provede se pouze zkouška kompatibility s vybraným TP.

Jestliže je požadavek na zajištění ERD, vyšetřuje se KS, screening protilátek a zkouška kompatibility TP. Platnost pro tuto zkoušku je 72 hodin od odběru vzorku. Pokud se vydá

alespoň jeden TP, platnost ZK se omezí pouze na 24 hodin. Poté si THO vyžádá odběr nového vzorku z důvodu možné aloimunizace pacienta.

5.4 Vyšetření infekční markerů

Vyšetření infekčních markerů se u dárců krve a krevních složek provádí na automatickém analyzátoru Architect ze vzorku séra nebo plazmy. U dárců se odebírá vzorek periferní krve do zkumavky bez přísad s dělicím gelem (Vacuette s červeným uzávěrem).

HIV Ag/Ab: principem metody je dvoukroková imunoanalýza ke stanovení přítomnosti antigenu p24 a protilátek anti-HIV-1 a anti-HIV-2 v lidském séru / plazmě využívající chemiluminiscenční imunoanalýzy na mikročasticích pomocí myších monoklonálních protilátek (anti-HIV p24). Výsledná chemiluminiscenční reakce se měří v relativních světelných jednotkách (RLU). Množství antigenu a protilátky anti-HIV ve vzorku je přímo úměrné jednotkám RLU, které jsou detekovány optickým systémem. Zda je přítomna nebo nepřítomna protilátka nebo antigen určí analyzátor na základě porovnání hodnoty chemiluminiscenčního signálu v reakci vzorku s hodnotou cut-off, která je vypočtena na základě kalibrace metody.

HBsAg: jedná se o chemiluminiscenční imunoanalýzu na mikročasticích ke kvalitativní detekci hepatitidy B v séru či plazmě. Principem je jednokroková analýza využívající potaženou monoklonální protilátku anti-HBs a konjugát (protilátka anti-HBs s akridinem). Antigen se naváže na protilátku, tento komplex se naváže na konjugát, proběhne inkubace. Výsledná chemiluminiscenční reakce se měří optickým systémem v relativních světelných jednotkách RLU. Množství těchto jednotek je přímo úměrné detekovaným jednotkám, přístroj automaticky vypočítá výsledek vyšetření pro každý jednotlivý vzorek jako poměr hodnoty vzorku a ku hodnotě cut-off = S/CO hodnota.

Anti-HCV: jedná se o chemiluminiscenční imunoanalýzu na mikročasticích ke kvalitativní detekci protilátek proti viru hepatitidy C v plazmě či séru. Principem je dvoukroková analýza. Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek anti-HCV ve vzorku se určuje porovnáním hodnoty chemiluminiscenčního signálu v reakci s cut-off, která je vypočtena z předem sestrojené kalibrační křivky. Jestliže je hodnota chemiluminiscenčního signálu vzorku vyšší nebo rovna hodnotě cut-off, považuje se vzorek za reaktivní.

Syfilis: se stanovuje kvalitativní detekcí chemiluminiscenční analýzou na mikročásticích proti *Treponema pallidum* (rekombinantními antigeny) v séru nebo plazmě. Výsledná chemiluminiscenční reakce se měří v jednotkách RLU a je detekovaná optickým systémem. Porovnávají se hodnoty chemiluminiscenčního signálu v reakci vzorku s hodnotou cut-off, která je vypočtena na základě kalibrace metody.

5.5 Výdej a doprava TP

TP jsou vydávány na základě vyplněné žádanky nebo po telefonické objednávce z jiných nemocnic, která následně musí doručit písemnou objednávku na TP. Dle požadavku lékaře se do LIS zadávají příslušné údaje (rodné číslo pacienta, jméno, diagnóza, pojišťovna, oddělení, ordinující lékař a požadovaná vyšetření). Nejdříve se TP vydává z LIS a poté se provede výdej z HEMO. Průvodka TP vytištěná z LIS obsahuje kompletní informace o pacientovi, výsledek laboratorního vyšetření (KS, screening protilátek), typy a čísla jednotlivých ERD, zapsána je i kompatibilita příjemce a TP. Tato průvodka se odesílá společně s ERD na oddělení, kopie je uskladněna v archivu na THO. Průvodka obsahuje jméno a podpis vydávající a následně i přejímající osoby, která za TP odpovídá. Pokud jsou TP posílány mimo nemocnici, výdej TP je omezen pouze na výdej z HEMO. Vydávající laborantka je povinna vyplnit na výdejku TP teplotu při výdeji, jméno řidiče, přepravní společnost a předat řidiči poučení o transportu TP.

6. VÝSLEDKY

Zpracování výsledků je rozděleno na čtyři části. První se zabývá zhodnocením výroby TP na THO ON Trutnov, ve druhé a třetí části je zhodnocena výroba TP v České republice a ve vybraných státech Evropy. Čtvrtá část zahrnuje výskyt potransfuzních reakcí na THO ON Trutnov ve sledovaném období.

6.1 Zhodnocení výroby TP na THO ON Trutnov

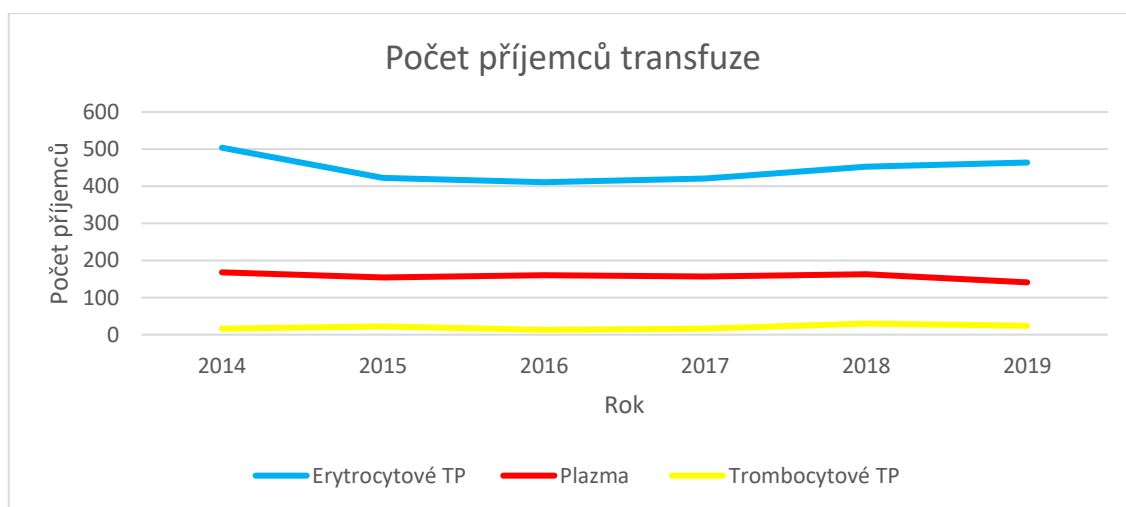
Výsledky zhodnocení výroby jednotlivých TP v letech 2014–2019 jsou zpracovány v tabulkách a grafech. Získaná data zahrnují počty příjemců TP, vyrobených, znehodnocených a vydaných TP podle oddělení.

Celkový počet příjemců erytrocytových TP, plazmy a trombocytových TP je uveden v tab. č. 2 bez ohledu na to, kolik TP pacienti dostali:

Tabulka 2: Počet příjemců transfuze

	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
Erytrocytové TP	504	423	411	421	453	464	2676
Plazma	168	154	160	157	163	141	943
Trombocytové TP	16	22	13	16	30	24	121

Graf 1: Počet příjemců transfuze



Počet příjemců transfuze TP je zhruba shodný v každém roce, liší se pouze v desítkách počtů.

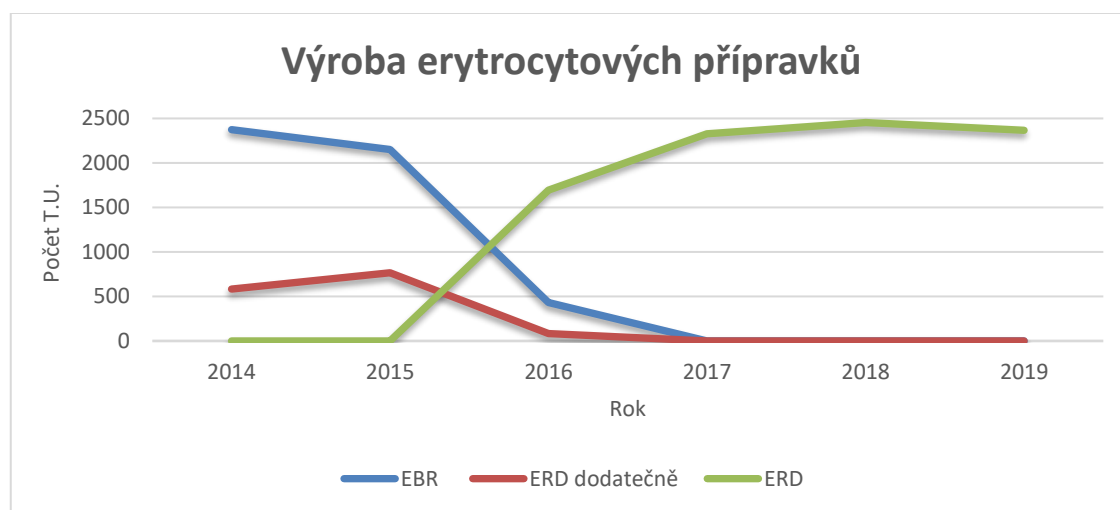
V tabulce č. 3 je zhodnocena výroba EBR a ERD. V letech 2014 a 2015 byly deleukotizované erytrocytové přípravky dodatečně vyrobeny z EBR. V roce 2016 se začaly vyrábět deleukotizované TP již přímo na výrobním úseku.

Tabulka 3: Výroba erytrocytových přípravků

Výroba erytrocytových přípravků							
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
EBR	2 374	2 152	433	0	0	0	4 959
ERD – dodatečně	584	766	84	0	0	0	1 434
ERD	0	0	1 696	2 326	2 454	2 367	8 843

Pozn.: EBR – erytrocyty bez buffy coatu resuspendované, ERD – erytrocyty resuspendované deleukotizované

Graf 2: Výroba erytrocytových přípravků



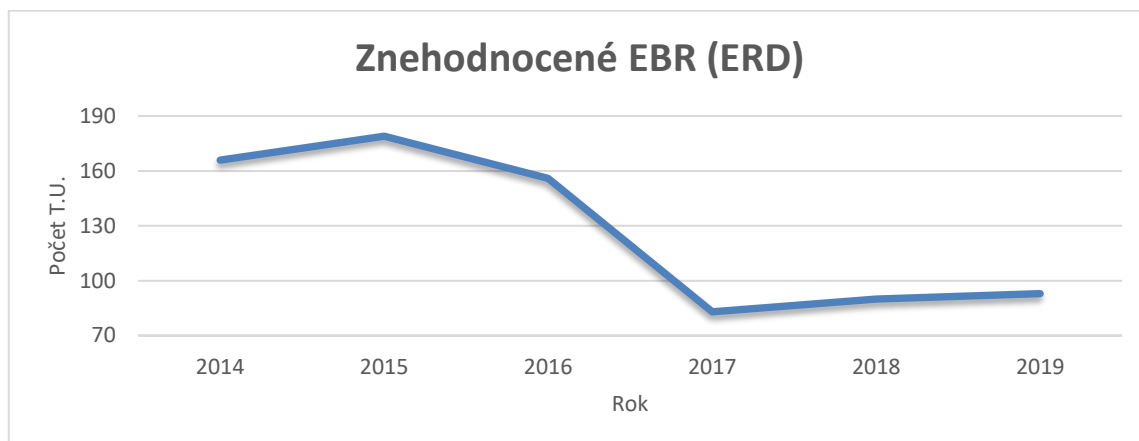
Pozn.: EBR – erytrocyty bez buffy coatu resuspendované, ERD – erytrocyty resuspendované deleukotizované

Tabulka 4: Znehodnocené EBR a ERD

Znehodnocené EBR a ERD							
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
EBR a ERD	166	179	156	83	90	93	767

Pozn.: EBR – erytrocyty bez buffy coatu resuspendované, ERD – erytrocyty resuspendované deleukotizované

Graf 3: Znehodnocené EBR (ERD)



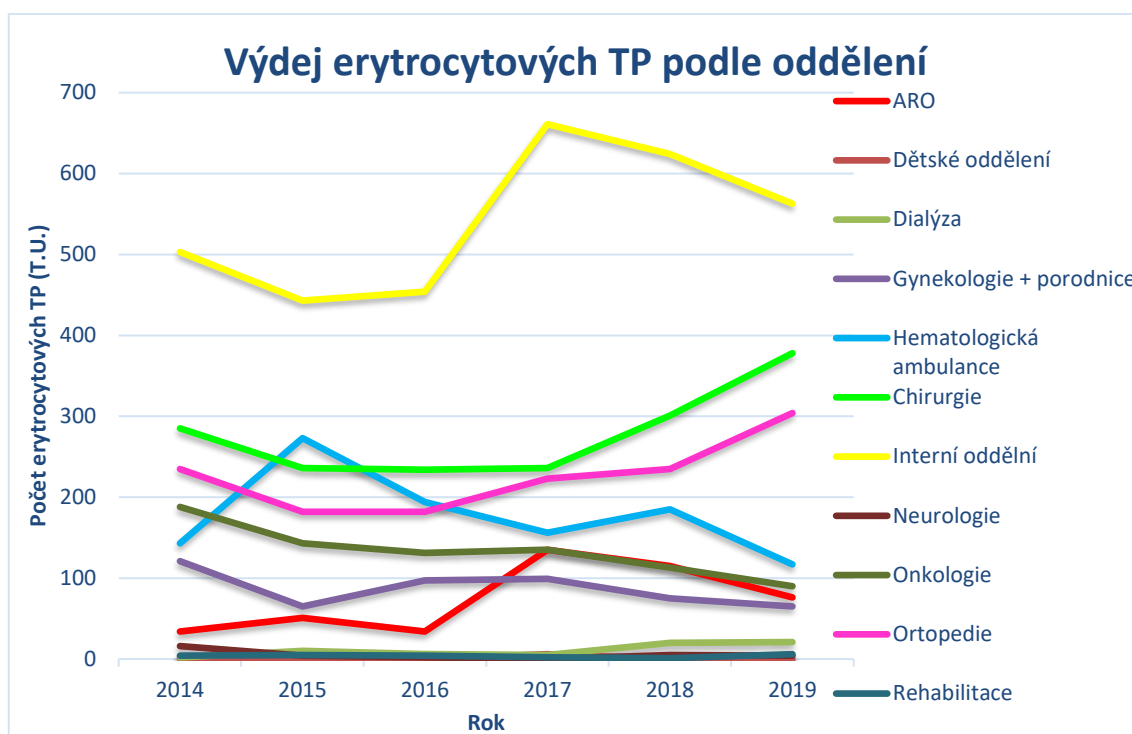
Pozn.: EBR – erytrocyty bez buffy coatu resuspendované, ERD – erytrocyty resuspendované deleukotizované

Zavedení in-line deleukotizace v roce 2016 vedlo k významnému poklesu znehodnocených a proexpirovaných ERD. Zvýšení počtu vyrobených ERD se promítlo i ve výdeji na jednotlivá oddělení, což je uvedeno v tab. č. 5:

Tabulka 5: Přehledy výdeje erytrocytových TP podle oddělení

Výdej EBR a ERD podle oddělení							
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
ARO	34	51	34	135	115	76	445
Dětské oddělení	1	1	0	6	0	0	8
Dialýza	2	10	6	5	20	21	64
Gynekologie + porodnice	121	65	97	99	75	65	522
Hematologická ambulance	143	273	194	156	185	117	1 068
Chirurgie	285	236	234	236	301	378	1 670
Interní oddělení	503	443	454	661	624	563	3 248
Neurologie	16	4	2	0	5	4	31
Onkologie	188	143	131	135	113	90	800
Ortopedie	235	182	182	223	235	304	1 361
Rehabilitace	4	5	4	2	1	6	22
Celkem	1532	1413	1338	1658	1674	1624	

Graf 4: Výdej erytrocytových TP podle oddělení



Největší výdej erytrocytového TP byl na interní oddělení. Z grafu je patrná také náročnost výdeje ERD na oddělení onkologie, hematologické ambulance a ARO.

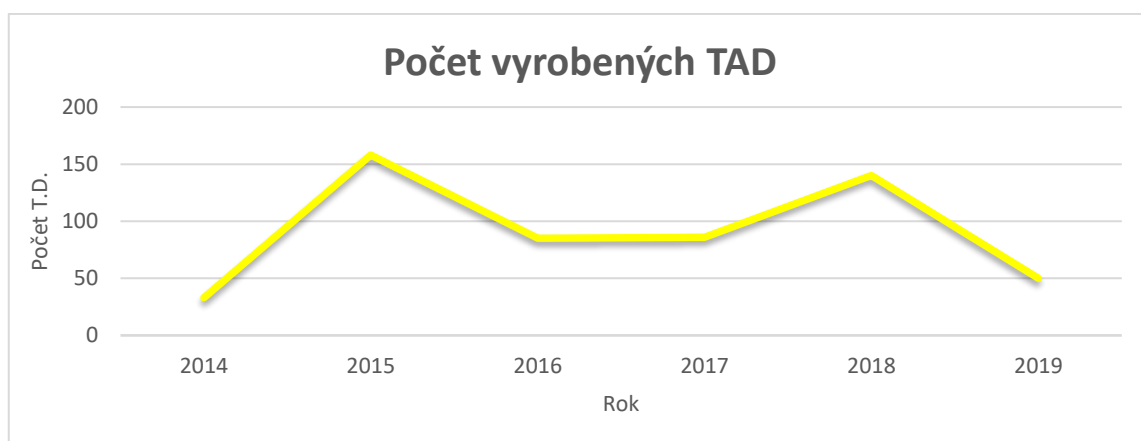
Celková výroba TAD a přehled podaných TAD jsou uvedeny v tab. č. 6 a č. 7. (uvedeno v TD, terapeutická dávka):

Tabulka 6: Počet vyrobených TAD

		Vyrobene TAD (T.D.)						
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem	
TAD	33	158	85	86	140	50	552	

Pozn.: TAD – trombocyty z aferézy de leukotizované

Graf 5: Počet vyrobených TAD

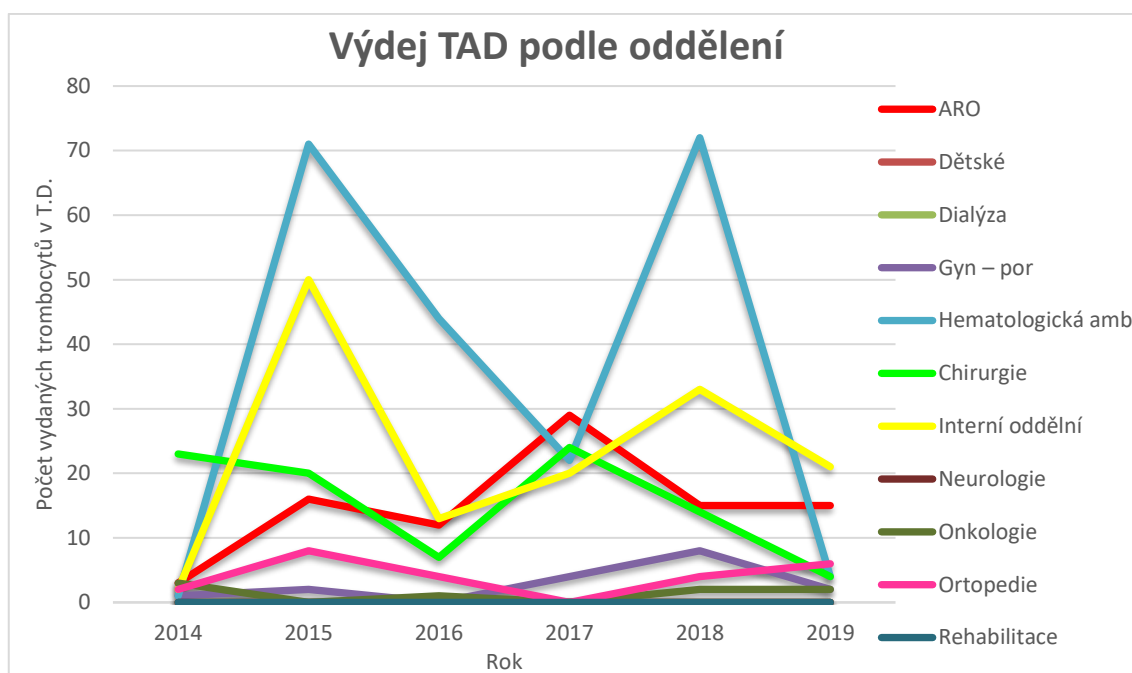


Pozn.: TAD – trombocyty z aferézy de leukotizované

Tabulka 7: Přehled výdeje trombocytových TP podle oddělení

Výdej TAD podle oddělení							
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
ARO	3	16	12	29	15	15	90
Dětské oddělení	0	0	0	0	0	0	0
Dialýza	0	0	0	0	0	0	0
Gynekologie + porodnice	1	2	0	4	8	2	17
Hematologická amb.	1	71	44	22	72	4	214
Chirurgie	23	20	7	24	14	4	92
Interní oddělní	2	50	13	20	33	21	139
Neurologie	0	0	0	0	0	0	0
Onkologie	3	0	1	0	2	2	8
Ortopedie	2	8	4	0	4	6	24
Rehabilitace	0	0	0	0	0	0	0
Celkem	35	167	81	99	148	54	

Graf 6: Výdej TAD podle oddělení



Pozn.: gyn -por – gynekologie a porodnice

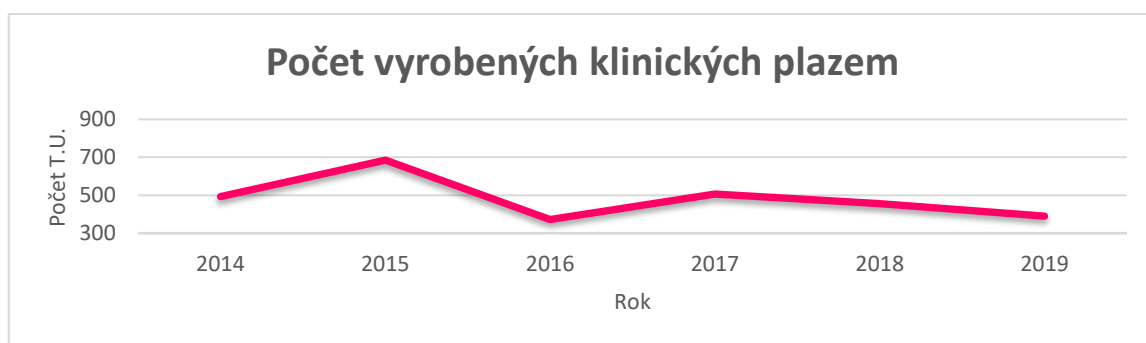
V roce 2018 byl výdej TAD největší, nejvíce se tohoto TP vyrobilo pro hematologickou ambulanci. Rozdíl v počtu vyrobených a vydaných TAD je dán nákupem trombocytových přípravků z FNHK.

Celkový počet vyrobených klinických plazem (PA, P) je uveden v tab. č. 8. (udáno v jednotkách terapeutické dávky):

Tabulka 8: Počet vyrobených klinických plazem (PA, P)

Počet vyrobených klinických plazem (PA, P)							
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
PA, P	493	685	372	507	455	390	2902

Graf 7: Počet vyrobených klinických plazem



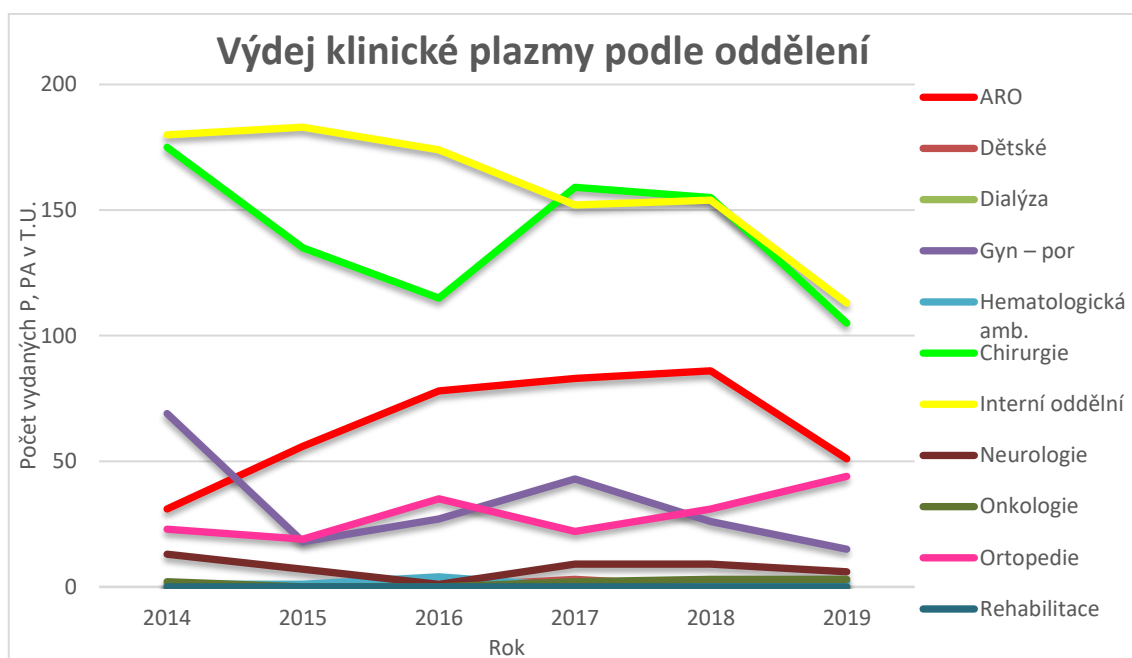
Počet vyrobených plazem má v čase mírně klesající trend.

Spotřeba plazem podle oddělení je znázorněna v tab. č. 9:

Tabulka 9: Výdeje klinické plazmy podle oddělení

Výdej klinické plazmy podle oddělení							
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
ARO	31	56	78	83	86	51	385
Dětské	0	0	0	3	0	0	3
Dialýza	0	0	0	0	0	0	0
Gynekologie + porodnice	69	18	27	43	26	15	198
Hematologická amb.	1	1	4	0	0	2	8
Chirurgie	175	135	115	159	155	105	844
Interní oddělní	180	183	174	152	154	113	956
Neurologie	13	7	1	9	9	6	45
Onkologie	2	0	0	2	3	3	10
Ortopedie	23	19	35	22	31	44	174
Rehabilitace	0	0	0	0	0	0	0
Celkem	494	419	434	473	464	339	

Graf 8: Výdej klinické plazmy podle oddělení



Z tohoto grafu je zřejmé, že nejvíce odběratelů plazmy v rámci ON Trutnov je interní oddělení, chirurgie a ARO. Lze vyčíst také klesající trend v podávání plazem.

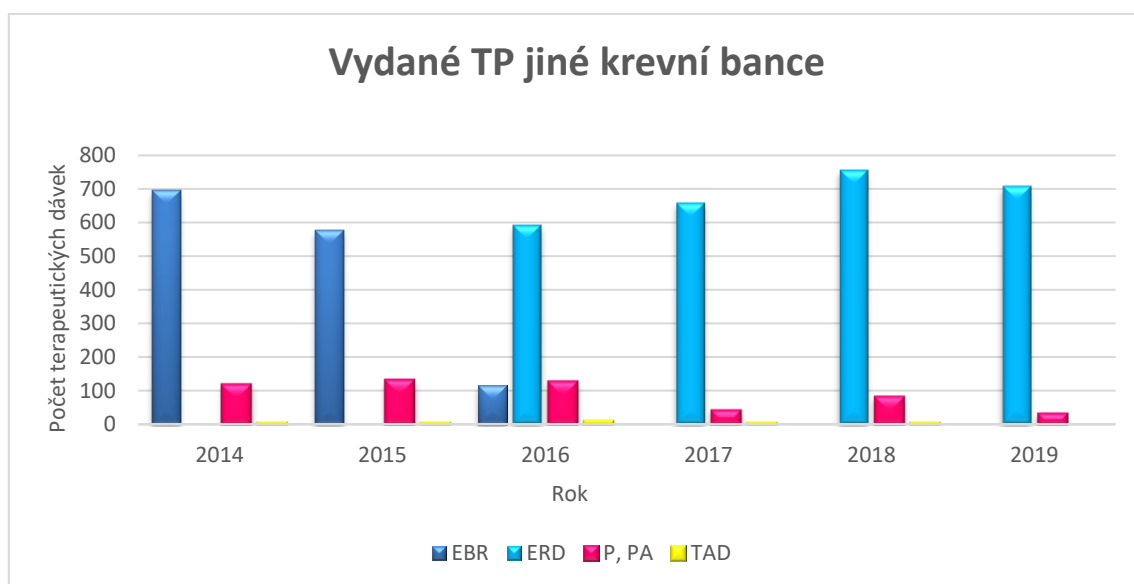
V tab. č. 10 jsou znázorněny společně vydané EBR (ERD), P+PA a TAD jiné krevní bance:

Tabulka 10: Vydané TP jiné krevní bance

	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
EBR	695	577	115	0	0	0	1387
ERD	0	0	592	657	755	707	2711
P, PA	116	130	125	40	80	31	522
TAD	2	2	7	2	2	0	15

Pozn.: EBR – erytrocyty bez buffy coatu resuspendované, ERD – erytrocyty resuspendované deleukotizované, PA, P – plazma klinická, TAD – trombocyty z aferézy deleukotizované

Graf 9: Vydané TP jiné krevní bance



Pozn.: EBR – erytrocyty bez buffy coatu resuspendované, ERD – erytrocyty resuspendované deleukotizované, PA, P – plazma klinická, TAD – trombocyty z aferézy deleukotizované

Zde nelze s určitostí říct, jaké měli TP využití v rámci klinických oddělení.

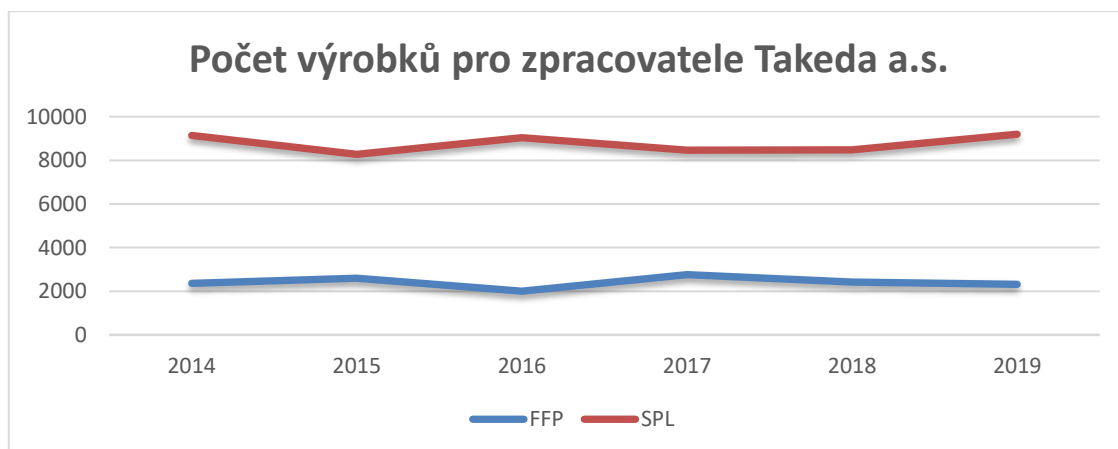
V tab. č. 11 je zobrazen přehled výroby pro zpracovatele plazmy Takeda a.s., Vídeň:

Tabulka 11: Počet výrobků pro zpracovatele Takeda a.s.

	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Celkem
FFP	2 356	2 598	2 001	2 759	2 422	2 316	14 452
SPL	9 134	8 272	9 036	8 456	8 484	9 194	52 576

Pozn.: FFP – fresh frozen plasma, SPL – source plasma

Graf 10: Počet výrobků pro zpracovatele Takeda a.s.



Pozn.: FFP – fresh frozen plasma (vyrobena z plné krve), SPL – source plazma (z přístrojové aferézy)

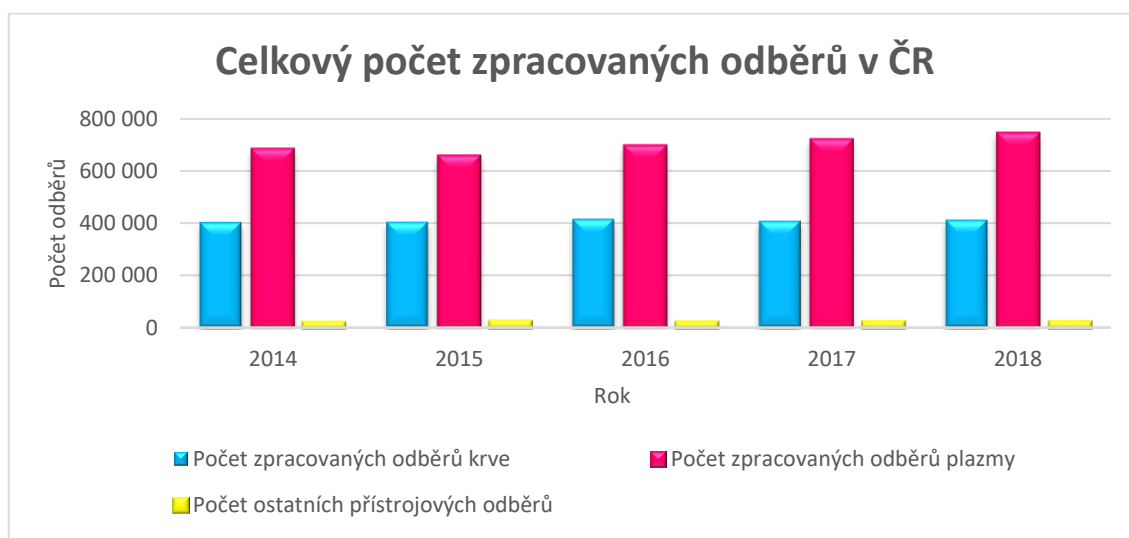
6.2 Výroba TP v ČR

Pro srovnání výroby TP na THO ON Trutnov je zahrnut i celkový počet zpracovaných odběrů plné krve, plazmy a ostatních přístrojových odběrů v České republice (tab. č. 12). Uvedená data jsou čerpána z webových stránek Ministerstva zdravotnictví (24-28). Data z roku 2019 zatím nejsou k dispozici.

Tabulka 12: Celkový počet zpracovaných odběrů v ČR

Celkový počet zpracovaných odběrů v ČR						
	2014	2015	2016	2017	2018	Celkem
Počet zpracovaných odběrů plné krve	402 000	403 000	414 475	407 066	410 414	1 626 541
Počet zpracovaných odběrů plazmy	683 000	657 000	696 561	719 537	743 813	2 756 098
Počet ostatních přístrojových odběrů	18 000	20 800	18 937	19 431	19 489	77 168

Graf 11: Celkový počet zpracovaných odběrů v ČR



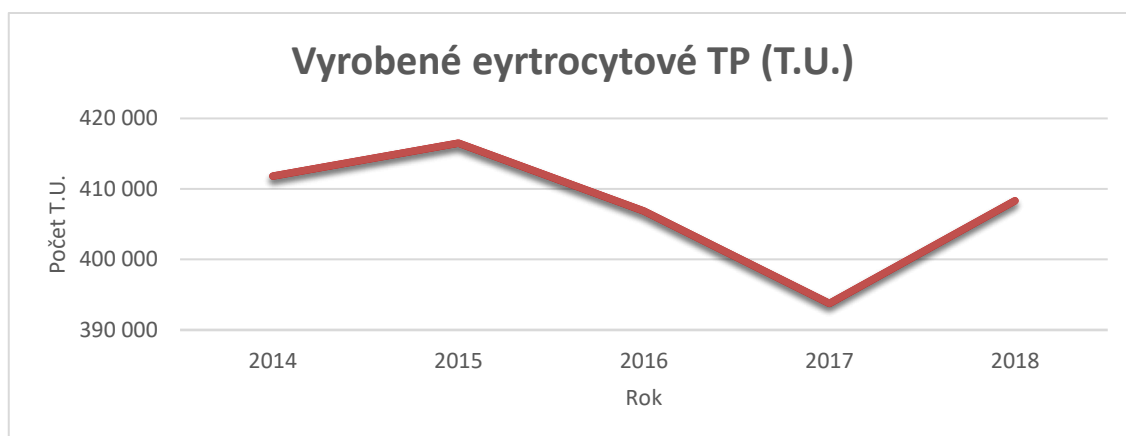
Zpracování odběrů plné krve i ostatních odběrů se pohybuje zhruba na stejné úrovni, zatímco zpracování plazmy pomocí plazmaferéz má v čase stoupající tendenci.

Dále jsou uvedeny tabulky a grafy s celkovým počtem vyrobených erytrocytových, trombocytových TP a plazmatických TP v ČR v procentuálním vztahu k výrobě TP na THO ON Trutnov:

Tabulka 13: Vyrobené erytrocytové TP v ČR

Vyrobené erytrocytové TP (TU) v ČR						
	2014	2015	2016	2017	2018	Celkem
Erytrocytové TP (T.U.)	411 800	416 500	406 875	393 757	408 339	2 008 971

Graf 12: Vyrobené erytrocytové TP v ČR



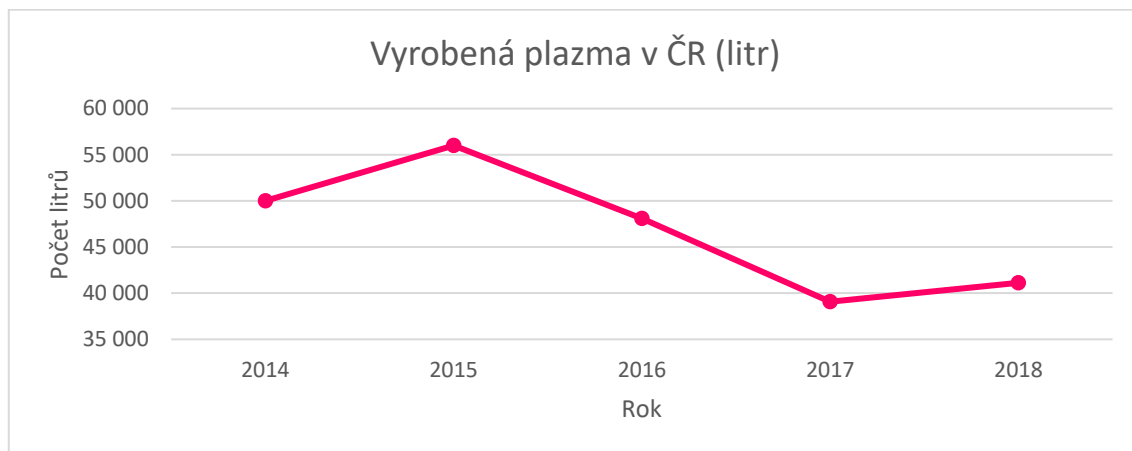
V celostátním měřítku má výroba erytrocytových TP v jednotlivých letech jen mírně klesající trend. Pouze v roce 2017 nastal mírný pokles v řádu tisíc odběrů. Jestliže přepočteme celkový počet erytrocytů na vyrobené ERD na THO ON Trutnov, získáme 0,6 % výroby z celé ČR.

Vyrobená plazma v ČR je uvedena v tab. č. 14:

Tabulka 14: Vyrobená plazma v ČR

Vyrobená plazma v ČR (litr)						
	2014	2015	2016	2017	2018	Celkem
Plazma	50 000	56 000	48 082	39 078	41 119	234 279

Graf 13: Vyrobena plazma v ČR



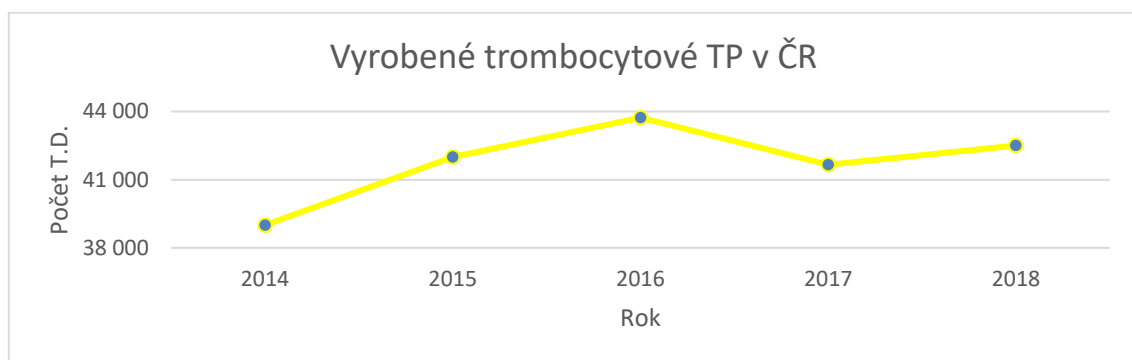
Výroba plazmy má v porovnání s výrobou plazmy na THO ON Trutnov také klesající tendenci. V přepočtu z tohoto celku činí naše výroba zhruba 1,2 %.

Výroba trombocytových TP v ČR je uvedena v tab. č. 16:

Tabulka 15: Vyrobene trombocytové TP (T.D.) v ČR

Vyrobene trombocytové TP v ČR (T.D.)						
	2014	2015	2016	2017	2018	Celkem
Trombocytové TP	39 000	42 000	43 730	41 659	42 507	208 896

Graf 14: Vyrobene trombocytové TP v ČR



Z grafu je zřejmý stoupající trend ve výrobě trombocytových TP, který následně mírně klesá. Podle trendu lze v budoucích letech očekávat opětovné navýšení výroby. V produkci roste podíl TBSD (trombocyty z buffy coatu směsné deleukotizované), které jsou vyrobené z plné krve až v 85 %. Avšak více než 95 % podávaných trombocytů je

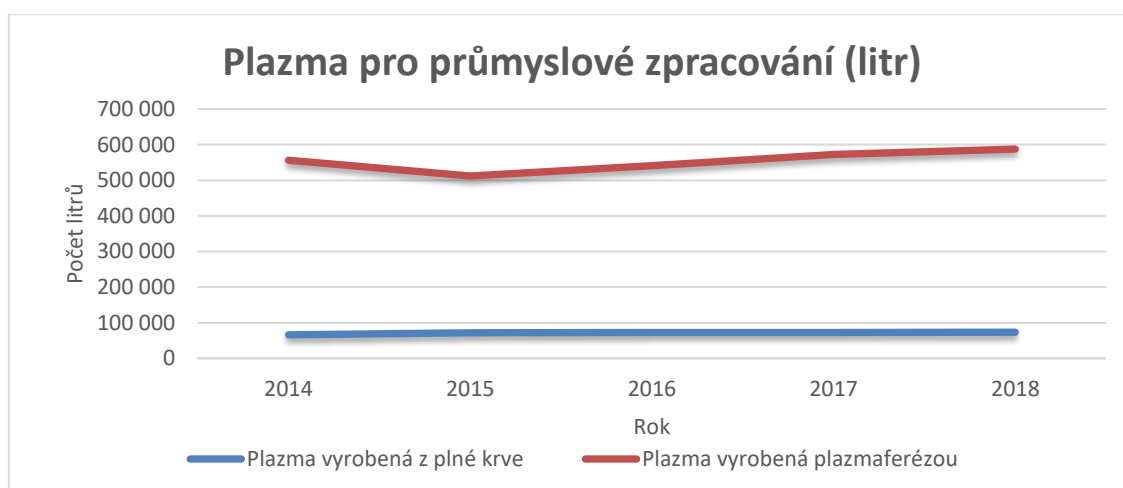
deleukotizováno **(29,30)**. V porovnání s celkovou výrobou v ČR činí výroba trombocytových TP na THO Trutnov 0,3 %.

V tab. č. 16 je uvedena výroba plazmy pro průmyslové zpracování, zahrnuta je její výroba z plné krve a pomocí aferézy:

Tabulka 16: Plazma pro průmyslové zpracování v ČR

Plazma pro průmyslové zpracování v ČR (litr)						
	2014	2015	2016	2017	2018	Celkem
Plazma vyrobená z plné krve	66 000	72 000	72 581	72 368	73 359	356 308
Plazma vyrobená plazmaferézou	556 000	512 000	540 706	572 355	587 652	2 868 713

Graf 15: Plazma pro průmyslové zpracování v ČR



Podle statistik z předchozích let (před rokem 2014), výroba plazmaferéz neustále stoupala (cca o 3 %). V plazmaferetických centrech tvoří noví dárči až 50 %, kdežto v zařízeních transfuzní služby pouze 12,5 %. Podle statistiky z roku 2013 a 2014 byl nárůst objemu plazmy o 9 % **(29,30)**. Výroba na THO ON Trutnov v porovnání s výrobou plazmy pro zpracovatele z plné krve (FFP) činí 3,4 % a plazmaferézou (SPL) 1,5 %.

6.3 Výroba TP v Evropě

V evropském měřítku je ve výrobě plné krve na prvním místě Německo. Z dotazníkového šetření WHO ohledně výroby plné krve, plazmy a ostatních TP, zodpovědělo pouze 57 % z oslovených 26 států, ale v roce 2012 a 2013 zodpovědělo 70 % a 65 %. Průměrný počet

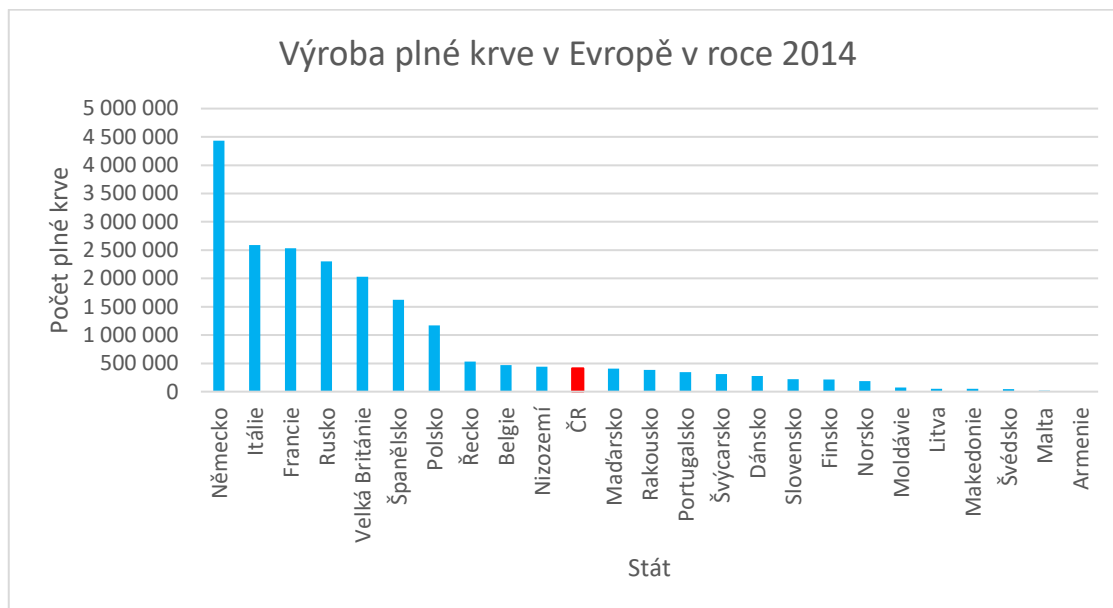
dárců byl 24 na 1000 obyvatel. Jako prvodárců bylo uvedeno 21 %. Průměrné použití erytrocytových přípravků bylo 34 na 1000 obyvatel, 4,4 l plazmaferézy na 1000 obyvatel.

Pro ukázkou jsem zvolila výrobu plné krve v letech 2014 a 2015 **(31,32)**, která je uvedena v tab. č. 17 a 18:

Tabulka 17: Výroba plné krve v Evropě v roce 2014

Výroba plné krve v Evropě v roce 2014	
Německo	4 431 843
Itálie	2 587 869
Francie	2 532 137
Rusko	2 302 468
Velká Británie	2 030 713
Španělsko	1 621 707
Polsko	1 172 361
Řecko	533 224
Belgie	469 208
Nizozemí	441 503
ČR	411 800
Maďarsko	406 952
Rakousko	384 082
Portugalsko	347 147
Švýcarsko	310 836
Dánsko	275 864
Slovensko	218 439
Finsko	216 463
Norsko	188 559
Moldávie	73 241
Litva	52 592
Makedonie	49 931
Švédsko	46 226
Malta	16 924
Armenie	13 365

Graf 16: Výroba plné krve v Evropě v roce 2014



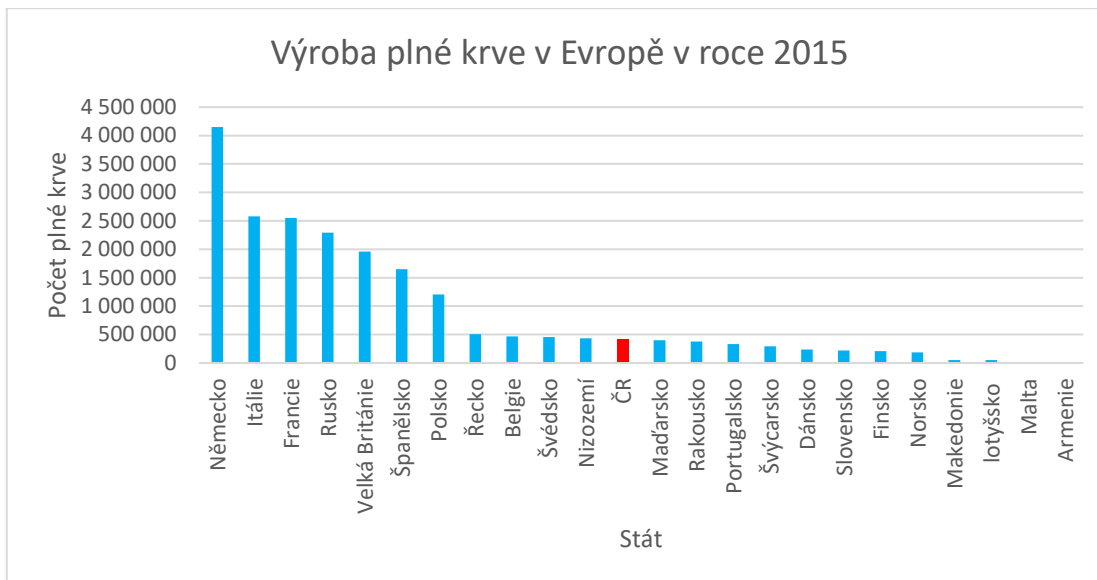
Plné krve nejvíce vyrobilo Německo, Itálie, Francie a Rusko. ČR se umístila na 11. místě.

Tabulka 18: Výroba plné krve v Evropě v roce 2015

Výroba plné krve v Evropě v roce 2015	
Německo	4 148 119
Itálie	2 576 473
Francie	2 552 998
Rusko	2 291 487
Velká Británie	1 962 327
Španělsko	1 651 074
Polsko	1 203 200
Řecko	504 560
Belgie	465 463
Švédsko	456 295
Nizozemí	435 405
ČR	416 500
Maďarsko	401 452
Rakousko	377 204
Portugalsko	331 268
Švýcarsko	292 856
Dánsko	236 635
Slovensko	222 286
Finsko	209 408
Norsko	188 335
Makedonie	52 000
Lotyšsko	51 440

Malta	17 014
Armenie	13 611

Graf 17: Výroba plné krve v Evropě v roce 2015



Nejvíce plné krve se vyrobilo v Německu, Itálii, Francii a Rusku. ČR se umístila na 12. místě.

6.4 Potransfuzní reakce a nežádoucí události na THO ON Trutnov

Výskyt PTR po podaných TP v rámci ON Trutnov za sledované období jsou uvedeny v tab. č. 19:

Tabulka 19: Počet PTR v ON Trutnov

Počet PTR v ON Trutnov						
Rok	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Počet	2	3	1	7	4	1

Pozn.: PTR – potransfuzní reakce

V roce **2014** se na THO ON Trutnov vyskytly dvě PTR, z toho jedna závažného typu.

Kazuistika: žena, nar. 1938

Pacientka byla po opakovaných ortopedických výkonech hospitalizována na ortopedickém oddělení. Hematologem byla několikrát vyšetřena pro normocytární

anémii, z důvodu výraznější perioperační ztráty krve. V roce 2010 byla diagnóza uzavřena jako MDS (myelodysplastický syndrom) ve stadiu RARS s hemolytickou složkou. Dále hematologickou ambulanci již nenavštěvovala. 11. 11. 2014 bylo vyžádáno hematologické konsilium před plánovanou TEP kolenního kloubu. Bylo zjištěno, že pacientka nebyla v meziobdobí 2012–2014 na kontrole krevního obrazu u praktického lékaře. Subjektivně udávala únavu, pokles hmotnosti o 10 kg, bez GIT obtíží. Vyšetřením krevního obrazu byla zjištěna hodnota Hb 75 g/l, MCV 63,6 fl, trombocyty 748, leukocyty 6,9, CRP 101, Fe (železo) 4,5, Fe VK (vazebná kapacita železa) 48,6, transferin 1,93. Bylo doporučeno dovyšetřit ztrátovou anémii a váhový úbytek. Operace byla odložena.

20. 11. 2014 byla provedena TEP pravého kolenního kloubu, před výkonem byla hodnota Hb 96 g/l, celkem byly podány 3 TU typovaných ERD. Druhý den u pacientky nastala nauzea, zimnice, febrilie (po podání léčiva Torecan nastala úleva). Byl zjištěn výrazný ikterus a stav byl vyhodnocen jako pozdní hemolytická PTR. Pacientka byla zajištěna monitorováním životních funkcí, zároveň byly odebrány vzorky krve k laboratornímu vyšetření. Ikterus postupně ustoupil. U pacientky byly při kontrole zachyceny již dříve potvrzené protilátky anti-E a anti-Jk(a), pozitivní PAT. Dařilo se jen obtížně zajistit kompatibilní krve, vzorky před a po reakci byly odeslány také k došetření do Referenční laboratoře pro imunohematologii (ÚHKT Praha). Vzhledem k projevům hemolýzy (kdy nastala elevace LDH a retikulocytosa), byla zahájena kortikoterapie a byl nasazen Sorbifer durules. Na konci listopadu byla pacientka přeložena do FNHK na IV. Interní hematologickou kliniku k dořešení etiologie anémie a také z důvodu nemožnosti zajistit kompatibilní TP. Vyšetření periferní krve pomocí vícebarevné průtokové cytometrie pacientky k vyloučení PNH (paroxysmální noční hemoglobinurie) neprokázalo přítomnost klonu. Vyšetření sternální punkce neprokázalo přítomnost významných abnormalit typu lymfoproliferace, NHL (Non-Hodgkin lymfom), AL (akutní leukémie), high grade MDS (myelodysplastický syndrom) či progresse onemocnění skupiny MPS/MDS.

Závěr: Diagnóza pacientky byla uzavřena jako primární MDS v kombinaci s přechodnou hemolýzou. Vyšetření na ÚHKT prokázalo slabou IgG a stopovou C3d senzibilizaci erytrocytů, v séru byly prokázány aloprotilátky anti-E a anti-Jk(a) a dále silné anti-HLA

protilátky. Jelikož nebyly prokázány další protilátky proti erytrocytům, může tato PTR souviset i s přítomností anti-HLA protilátek.

V roce **2015** se vyskytly 3 lehké PTR se zimnicí, třesavkou a alergickou reakcí.

V roce **2016** vznikla PTR u jednoho pacienta po aplikaci PA, u dalšího pak po aplikaci ERD. Společně s ERD a PA u jedné pacientky, kde byl záchyt anti-HLA protilátek v 6 %.

V roce **2017** došlo k výskytu PTR (celkem 6) po podání ERD. Většinou se jednalo o febrilní a alergické reakce. V jednom případě byla transfuze podaná při teplotě pacienta, který měl 37 °C, v tomto případě měl pacient již stanovenou diagnózu terminálního stadia AML. Ve stejném roce byl zaznamenán přenos HCV ve spojitosti s transfuzí ERD i přes negativní předtransfuzní vyšetření infekčních markerů. Diagnostické okno je pro toto onemocnění 2-6 měsíců. Prvodárce v dotazníku ani při pohovoru s lékařem nevedl žádné relevantní údaje vedoucí k podezření na rizikové chování. Upozornění jsme obdrželi od zpracovatele plazmy Baxalta Vídeň, že vzorek tohoto dárce byl pozitivně testován pomocí NAT. Dalším pátráním se zjistilo, že se tento dárce pokusil darovat krev i v plazmaferetickém centru v Praze, ale zde nebyl přijat z důvodu přiznání konzumace marihuany v předchozích letech, byl vyhodnocen jako rizikový. V NRL bylo potvrzeno, že zřejmě došlo k přenosu infekce prostřednictvím TP pacientce, která tento TP dostala, avšak měsíc od podání TP pacientka umírá na tumor prsu a nasopharyngu. Tento přenos infekce neměl pravděpodobně na úmrtí pacientky vliv.

V roce **2017** bylo vydáno Oznámení o podezření na kontaminaci TP původcem přenosných onemocnění Spongiformní encefalopatie, která byla později diagnostikována u bývalého dárce. U tohoto dárce šlo o sporadickou formu, která se vyskytla až 13 let po posledním odběru krve. Creutzfeldt-Jakobova nemoc (CJD) má velmi vzácný výskyt. Při posledním odběru v roce 2003 dárce krve neudával žádné obtíže, poprvé se u něj objevily až v červnu 2016, což bylo diagnostikováno na neurologickém oddělení. Tím, že tento dárce trpěl pouze sporadickou, nikoliv rizikovou variantní formou onemocnění, nemuselo dojít k ohrožení příjemců transfuze.

V roce **2018** se vyskytly pouze čtyři PTR po transfuzích TP ERD. Z nichž u jedné pacientky byla zjištěna subfebrilie, dušnost a mírná hemoptýza již den před podávanou transfuzí. Většinou se jednalo o febrilní reakce.

V roce **2019** nastal pokles PTR a byla zaznamenána pouze jedna PTR s febrilní reakcí.

7. DISKUSE

Pro efektivní hemoterapii je nutná kvalitní legislativa, fungující síť spojující státní autority a poskytovatele zdravotní péče i standardy postupů. Legislativní normou pro státy Evropské unie je směrnice 2002/98/EC, která stanovuje normy kvality a bezpečnosti pro výrobu TP, klinickou část nezahrnuje. Právě v klinické části chybí zejména celostátní pokyny pro indikaci transfuzních přípravků či vlastní aplikaci transfuze. Transfuzní politika jednotlivých zařízení transfuzní služby se liší, což může souviset s nejednotným řízením transfuzní služby. Problém nastává i v absenci pregraduální a postgraduální výuky transfuziologie **(33)**.

Deleukotizace TP byla zavedena po 90. letech například v Německu či Rakousku. V České republice jako první zavedlo tuto metodu v roce 2011 Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Poté nastal v nemocnicích v ČR pomalý spontánní nárůst deleukotizace až na 90 % TP, zároveň byla odstraněna indikační kritéria pro deleukotizované erytrocyty. Pokud by se zavedla povinná in-line deleukotizace, zvýšila by se úroveň nemocniční péče, došlo by k poklesu potransfuzních reakcí, ale také ke snížení nákladů počtu kontrol TP, snížení expirace TP, zjednodušení vykazování TP a centralizaci transfuzních služeb. V případě výskytu PTR dochází k prodloužení hospitalizace pacientů, a tím vzrůstají náklady na léčbu. Někteří autoři spíše doporučují autologní odběr krve nežli alogenní **(34)**. Zavedením deleukotizace TP na THO Trutnov došlo ke snížení proexpirovaných a znehodnocených TP. Některé studie uvádí snížení výskytu nehemolytických febrilních potransfuzních reakcí při použití deleukotizovaných TP. Tím, že se sníží počet leukocytů v terapeutické dávce, dojde ke snížení uvolňování cytokinů a intracelulárních enzymů, které indukují poškození erytrocytů během skladování **(35)**. Snížení výskytu PTR vlivem deleukotizace TP se na THO Trutnov bohužel nepotvrdilo. Jejich výskyt má ale v čase klesající tendenci. Po zavedení in-line deleukotizace se i přesto v roce 2017 vyskytlo více hlášených potransfuzních reakcí z jednotlivých oddělení. Jak uvádí některé studie navzdory skutečným, mohou koncentráty červených krvinek během odběru, oddělování jednotlivých složek krve a skladování, procházet značnými změnami jako je např. buněčná apoptóza, která vede

k mitochondriálním změnám **(36)**. Ukazatelé kontroly kvality TP se zabývají pouze hemolýzou červených krvinek a změnami tvaru jádra krevních destiček. Rozhodující vliv mají skladovací podmínky a hodnota pH skladovacího roztoku **(37)**.

Hemovigilance se systémy jakosti a audity se stala nedílnou součástí krevní transfuze v rozvinutém světě a významně přispěla k rozvoji tohoto oboru **(38)**. Je známo, že rozvojové země mají krevní banky, které jsou obvykle zřizovány v každé nemocnici a fungují nezávisle na sobě. Ze zhruba 81 milionů jednotek krve darovaných každý rok pochází pouze 39 % z rozvojových zemí, kde žije 16 % světové populace. Bohužel stále v méně rozvojových zemích umírá mnoho žen při masivním krvácení po porodu. V těchto zemích s nízkými příjmy je podáno až 54 % krevních transfuzí dětem do 5 let, kdežto v zemích s vysokými příjmy je nejčastější indikovanou skupinou k hemoterapii populace starší 60 let, což představuje až 75 % podaných transfuzí. WHO se zasloužila o zavedení podpory pro mnohé země, týkající se bezpečného a vhodného použití krve, docílení optimální péče o pacienta, soběstačnosti ve výrobě transfuzních přípravků a dobrovolného dárcovství krevních složek. Jak již některé studie zmiňují, je třeba cílit na bezplatné dárce krve, protože placený odběr mnohdy vede nezodpovědné rizikové obyvatele k dárcovství za předpokladu jednoduchého výdělku. Zhruba 56 % zemí však shromažďuje více než 50 % dávek od placených dárců. 34 zemí v africkém regionu, šest v regionu východního Středomoří a šest regionů v jihovýchodní Asii uvádí, že nashromáždí méně než 10 jednotek TP na 1000 obyvatel. Vzhledem k této situaci by bylo vhodné cílit na tyto rizikové oblasti a pomoci jim s nastavením standardů, přístrojového vybavení, zaškolení pracovníků na úseku výroby a zpracování, metodik se zajištěním operačních postupů pro výrobu jak transfuzních přípravků, tak krevních derivátů. Rizikové je ovšem i náboženství v dané zemi, což může ovlivnit i veškerou snahu přimět obyvatele k dárcovství **(39)**.

Nejvíce nových dárců v Evropě v roce 2014 zaznamenala Arménie, kde tento počet činil 62,3 %, v našem státě to pak bylo 19,3 % nových dárců. Nejvíce jednotek plné krve na 1000 obyvatel bylo použito v Německu, a to 54,6 jednotek. V ČR 39,1 jednotek na 1000 obyvatel. V přepočtu na obyvatele okresu Trutnov bylo použito 19,7 jednotek na 1000 obyvatel co se týče našeho zařízení. Nejvíce plazmy z aferézy bylo vyrobeno v Německu (2 069 309 litrů), nejméně plazmy vyrobila Velká Británie (pouze 46 l). Ve

výrobě plazmy jsme se v rámci ČR v tomto roce umístili hned za Německem. V Dánsku, Finsku, Francii, Maltě, Nizozemí, Slovensku, Švýcarsku a Velké Británii má výroba erytrocytů 100 % podíl na de leukotizaci. Nejméně se TP de leukotizují v Makedonii (pouze ve 2 %).

V roce 2015 drží své prvenství ve výrobě plné krve Německo, Itálie, Francie, Rusko (přes 2 miliony jednotek plné krve). Nejvíce jednotek bylo využito opět v Německu, a to 50,5 jednotek na 1000 obyvatel, v ČR pak 39,4 jednotek na 1000 obyvatel. Překvapující pro tento rok je výroba TP z Lotyšska, kdy v roce 2014 vyrobili pouze 2117 l plazmy z aferézy, ale v roce 2015 nastal rapidní nárůst plazmy pro frakcionaci – 10 255 674 l. Podle dostupných zdrojů byl v Lotyšsku otevřen nový velký závod pro frakcionaci plazmy od společnosti Biotest AG. Na druhém místě se umístilo opět Německo s 2 921 092 l plazmy. Nejvíce trombocytových přípravků vyrobilo za tyto dva roky Německo (přes 170 tisíc TD).

V zemích s nízkými příjmy je i více pravděpodobný přenos infekčních markerů. Jako vhodné se jeví testování NAT, kde je hlavní výhodou časný záchyt nových případů infekcí, zejména u prvdárců. Většina populace v těchto zemích trpí vysokou mírou prevalence těchto chorob. Odhaduje se, že v nízkopříjmových regionech s vysokou prevalencí je více než 3,5 % osob s vysokou zátěží HCV **(40)**. Nejen HCV, ale i HIV a HBsAg jsou velice rizikové. NAT testování podpořila Národní transfuzní komise i Společnost pro transfuzní lékařství v ČR již v roce 2016. Celosvětově jsou infekční markery neustále příčinou řady nových infekcí a přenosu na příjemce TP. V případě mezinárodní pomoci nebo akutní nepříznivé změny epidemiologické situace či nové infekční hrozby, nebude ČR schopna zajistit dodání většího počtu TP **(41)**. Program pro zabezpečení většího výdeje TP by měl být součástí i národní politiky v oblasti screeningu s cílem identifikace a zabránění uvolnění jakéhokoliv transfuzního přípravku pacientovi. NAT testování by představovalo pouze minimální zvýšení nákladů při racionální organizaci, a především minimalizaci přenosu infekce na příjemce **(42)**.

V letech 2004 až 2006 ve Velké Británii byl zaznamenán přenos variantní infekce CJD (Creutzfeld-Jakob disease) na čtyři jedince. Díky tomu Velká Británie zavedla univerzální de leukotizaci i pro frakcionaci plazmy. Značné úsilí ale bylo vynaloženo na vývoj testů z periferní krve a speciálních filtrů pro redukci tohoto onemocnění, ačkoli zatím

nedosáhly rutinní klinické implementace. Přes značné úsilí se žádný screening, který by vynikal svou citlivostí i specifičností, neobjevil **(43)**. Stále zde ale existuje riziko přenosu. V budoucnu by transfuziologie měla směřovat k vyřešení tohoto problému, který se sice vyskytuje ojediněle, ale je závažný. Právě proto je ve statistikách Velká Británie na posledním žebříčku ve výrobě plazmy, která je zapříčiněna výskytem CJD. Dováží plazmu z méně rizikových zemí, kde se CJD vyskytla pouze sporadicky **(44)**.

V zemích s vysokými příjmy se transfuze nejčastěji používá k podpůrné péči především v kardiovaskulární a transplantační chirurgii, traumatech a léčbě hematologických malignit **(39)**. V podání TP ERD a plazmy v ON Trutnov je nejvíce výdejmů na interní a chirurgické oddělení. Operativa zvyšuje počty u chirurgie, ortopedie. V posledních letech se navýšil počet operací u pacientů staršího věku, kteří zde dostávají dřívější termíny k operaci než v okolních nemocnicích. Vyšší výdeje jsou ale zaznamenány i v případě onkologie, ARO a hematologické ambulance. V případě podávání TAD je nejvíce zastoupena hematologická ambulance. Tyto výkony jsou ale ovlivněny zdravotním stavem pacientů, kteří ambulantně dochází na hemoterapii a tento TP se vyrábí pouze konkrétnímu pacientovi na žádost lékaře.

Lékaři a ostatní zdravotnický personál by měli přistupovat k používání krve a krevních produktů vždy racionálně, aby došlo ke snížení počtu zbytečně podaných transfuzí, a především k minimalizaci rizik spojených s transfuzí. Místo toho by měli využít alternativy transfuze, pokud to situace a stav pacienta umožňuje. Dále je důležité dodržovat bezpečné a správné postupy transfuze, včetně správné léčby pacientů. Nezbytné je také edukovat klienta zdravotnického zařízení a podporovat vzdělání zdravotnických pracovníků v oblasti transfuzní služby, zejména v menších okresních nemocnicích.

Péči o pacienta lze zlepšit také méně častým monitorováním odběrů krve **(45)**. Anémie získaná v nemocnici je spojena s horší prognózou, včetně prodloužení doby hospitalizace a zvýšené morbiditě a mortality. Kvůli diagnostickým odběrům se ztrácí někdy více než 50 ml krve denně **(46)**. V dřívějších studiích nemělo 40 % pacientů anémii před přijetím na koronární a plicní péči, v průběhu hospitalizace došlo k poklesu hematokritu o více než 5 % a před propuštěním se stali anemickými **(47)**. Každý odběr

krve by měl být pečlivě zváženo, měla by se zjistit nezbytnost testů, které by mohly ovlivnit průběh léčby a množství odebrané krve (48).

8. ZÁVĚR

I přesto, že je kladen důraz na snižování spotřeby transfuzních přípravků, jejich výroba neustále stoupá či se drží na svém průměru. Je potřeba eliminovat nadměrné plýtvání a laboratorní testování pacientů. Bohužel stále chybí účinné strategie pro správu krve dané pacientům i pro změny v operačních postupech a pouze cílených odběrech na dané onemocnění.

Zavedením povinné deleukotizace nejen v našem státě, ale i ve státech Evropy, by se mohly sjednotit postupy ve výrobě transfuzních přípravků, mohlo by dojít k poklesu znehodnocených transfuzních přípravků a k minimalizaci potransfuzních reakcí. Významná je také spolupráce mezi jednotlivými zařízeními transfuzní služby a klinickými odděleními. Zvýšená poptávka z oddělení na deleukotizované krve vedla naše oddělení k zavedení deleukotizace TP. Výrazně se snížil počet znehodnocených erytrocytových přípravků, ale zároveň se nepotvrdilo snížení PTR. Očekávané snížení výroby TP se nepotvrdilo na našem oddělení ani komplexně v ČR a v Evropě. Ve sledovaném období nenastaly žádné výrazné výkyvy ve výrobě TP na THO ON Trutnov. Pouze v případě výroby trombocytových přípravků, ale výroba těchto TP je dána potřebami pro konkrétního pacienta.

Zavedení povinného NAT testování pro všechny země by mohlo přispět ke snížení rizika přenosu infekcí na příjemce a k včasnému zachytu krví přenosných onemocnění u prvdárců, ale i u pravidelných dárců krve a krevních složek.

Důležité je také pokusit se ponechat úpravu stavu pacienta na regulačních silách a mechanismech jeho organismu. K odběrům je potřeba využívat maloobjemové zkumavky, aby nedocházelo k časté anémii pacientů hospitalizovaných delší dobu.

Přísnější transfuzní postupy by měly být i nadále prováděny v každodenní praxi. V neposlední řadě je také důležité zvýšit informovanost o transfuziologii u zdravotnických pracovníků.

9. POUŽITÉ ZKRATKY

ACD-A – anticoagulant citrate dextrose solution A – konzervační výživný roztok

AGH – serum antiglobulinum humanum – antiglobulinové sérum

AIHA – autoimunitní hemolytická anémie

AL – akutní leukémie

ALT – alaninaminotransferáza

Anti-HCV – protilátky proti hepatitidě C

ARO – anestezió-resuscitační oddělení

CJD – Creutzfeldt-Jakobova choroba

CMV – cytomegalovirus

CRP – C-reaktivní protein

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulopatie

EKK – externí kontrola kvality

EBR – erythrocyty bez bufy-coatu resuspendované

EBV – virus Epsteina-Barrové

ERD – erythrocyty resuspendované de leukotizované

F – faktor krevního srážení

Fe – železo

Fe VK – vazebná kapacita železa

FFP – Fresh frozen plasma – čerstvá zmražená plazma vyrobená z plné krve

FW – sedimentace

Hb – hemoglobin

HBsAg – hepatitis B surface antigen

HCV – virus hepatitidy C

HEMO – laboratorní systém pro dárce

HIV – human immunodeficiency virus – lidský virus imunologické nedostatečnosti

HLA – Human Leukocyte Antigens – hlavní histokompatibilní komplex

IKK – interní kontrola kvality

ITP – autoimunitní trombocytopenická purpura

i.v. – intravenózně – žilní podání

K₃EDTA – ethylendiamintetraoctová kyselina, antikoagulační roztok

KS – krevní skupina

KK – kontrola kvality

LIS – laboratorní informační systém

LISS – Low Ionic Strength Solution

MDS – myelodysplastický syndrom

MCV – střední objem erytrocytu

MHC systém – major histocompatibility komplex

NAT – nucleic acid testing – testování nukleové kyseliny

NHL – Non Hodgkin lymfom

NRL – Národní referenční laboratoř

OKB – Oddělení klinické biochemie

ON – Oblastní nemocnice

P – plazma klinická

PA – plazma z aferézy klinická

PAT – přímý antiglobulinové test

PK – plná krev

PTR – potransfuzní reakce

RLU – relativní světelná jednotka

SAGM – Shelf Life of Red cells in additive solution – konzervační výživný roztok

SEKK – systém externí kontroly kvality

SOP – standardní operační postup

SPC – Statistical process control – statistické řízení procesu

SPL – source plazma z přístrojové aferézy

SÚKL – Státní úřad pro kontrolu léčiv

SVP – Správná výrobní praxe

TAD – trombocyty z aferézy deleukotizované

TBSD – trombocyty bez buffy-coatu směsné deleukotizované

T.D. – terapeutická dávka – standardní terapeutická dávka u dospělého, zejména u trombocytů

THO – Transfuzní a hematologické oddělení

TP – transfuzní přípravek

TACO – Transfusion associated circulatory overload – oběhové přetížení v důsledku podání TP

TRALI – Transfusion related acute lung injury – akutní poškození plic způsobené transfuzí

TTP – trombotická trombocytopenická purpura

T.U. – transfuzní jednotka, pochází z jednoho standardního odběru plné krve – zj. u erytrocytů a plazmy

VKK – vnitřní kontrola kvality

WHO – World Health Organization – Světová zdravotnická organizace

ZK – křížová zkouška neboli test kompatibility

ZTS – zařízení transfuzní služby

10. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Rozdělení potransfuzních reakcí. Převzato od: P. Bartůněk, 2016	19
Obrázek 2: Imunohematologický analyzátor Erytra Eflexis. Foto: autor.	24
Obrázek 3: Karta DG Gel AB0/Rh (2D) + DG Gel Confirm. Foto: autor.	25
Obrázek 4: Zkouška kompatibility se screeningem protilátek. Foto: Autor.....	27
Obrázek 5: Ověření KS ze segmentu vaků pomocí anti-A, anti-B. Foto: autor.	28

11. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Objem odebrané plazmy (vztaženo na hmotnost dárce)	22
Tabulka 2: Počet příjemců transfuze.....	31
Tabulka 3: Výroba erytrocytových přípravků.....	32
Tabulka 4: Znehodnocené EBR a ERD	32
Tabulka 5: Přehledy výdeje erytrocytových TP podle oddělení.....	33
Tabulka 6: Počet vyrobených TAD	34
Tabulka 7: Přehled výdeje trombocytových TP podle oddělení	35
Tabulka 8: Počet vyrobených klinických plazem (PA, P)	36
Tabulka 9: Výdeje klinické plazmy podle oddělení	37
Tabulka 10: Vydané TP jiné krevní bance.....	38
Tabulka 11: Počet výrobků pro zpracovatele Takeda a.s.	39
Tabulka 12: Celkový počet zpracovaných odběrů v ČR.....	40
Tabulka 13: Vyrobené erytrocytové TP v ČR.....	41
Tabulka 14: Vyrobená plazma v ČR.....	41
Tabulka 15: Vyrobené trombocytové TP (T.D.) v ČR.....	42
Tabulka 16: Plazma pro průmyslové zpracování v ČR.....	43
Tabulka 17: Výroba plné krve v Evropě v roce 2014.....	44
Tabulka 18: Výroba plné krve v Evropě v roce 2015.....	45
Tabulka 19: Počet PTR v ON Trutnov	46

12. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Počet příjemců transfuze	31
Graf 2: Výroba erytrocytových přípravků	32
Graf 3: Znehodnocené EBR (ERD)	33
Graf 4: Výdej erytrocytových TP podle oddělení	34
Graf 5: Počet vyrobených TAD	35
Graf 6: Výdej TAD podle oddělení.....	36

Graf 7: Počet vyrobených klinických plazem.....	37
Graf 8: Výdej klinické plazmy podle oddělení.....	38
Graf 9: Vydané TP jiné krevní bance	39
Graf 10: Počet výrobků pro zpracovatele Takeda a.s.	39
Graf 11: Celkový počet zpracovaných odběrů v ČR	40
Graf 12: Vyrobené erytrocytové TP v ČR.....	41
Graf 13: Vyrobená plazma v ČR.....	42
Graf 14: Vyrobené trombocytové TP v ČR	42
Graf 15: Plazma pro průmyslové zpracování v ČR.....	43
Graf 16: Výroba plné krve v Evropě v roce 2014.....	45
Graf 17: Výroba plné krve v Evropě v roce 2015.....	46

13. POUŽITÁ LITERATURA

- 1) PENKA M., TESAŘOVÁ E. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada, 2012. 208 s. ISBN 9788024734606
- 2) www.aabb.org. Dostupné z:
<http://www.aabb.org/tm/Pages/default.aspx> [online].[cit. 2020-08-10].
- 3) PENKA M., PENKA I. a GUMULEC J. *Krvácení*. Praha: Grada, 2014. 336 s. ISBN 978-80-247-0689-4.
- 4) Sibinga C. *Perspectives in Supporting Hemotherapy*. In: Sibinga CTS, Das PC, Greenwalt TJ (eds) *Future Developments in Blood Banking*, sv. 15, 1986. Springer, Boston, MA.
- 5) ŘEHÁČEK V. a MASOPUST J. *Transfuzní lékařství*. Praha: Grada, 2013. 264 s. ISBN 9788024745343.
- 6) Corwin H., Gettinger A, Pearl RG, et al. The CRIT Study. *Anemia and blood transfusion in the critically ill: current clinical practice in the United States*. *Crit Care Med* 2004;32:39–52.
- 7) Mollison P., Engelfriet P. *Blood transfusion*. *Semin Hematol.* 1999 Oct; 36 (4 Suppl 7):48-58. PMID: 10595754.
- 8) ŘEHÁČEK V. a MASOPUST J. *Transfuzní lékařství*. Praha: Grada, 2013. ISBN 9788024745343.
- 9) Zákon č. 378/2007 Sb. (zákon o léčivech) ve znění pozdějších předpisů. Sbíрка zákonů ČR.
- 10) Vyhláška MZ ČR č. 143/2008 Sb. O stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi). Sbíрка zákonů ČR.
- 11) FÁBRYOVÁ V. *Imunohematologie a transfúzna medicína pre prax*. Praha: Grada, 2012. 232 s. ISBN 9788024743912.
- 12) LEDVINA M. et al. *Biochemie pro studující medicíny. II. díl. 1. vydání*. Praha : Karolinum, 2005. ISBN 80-246-0850-2

- 13) RACEK J. *Klinická biochemie*. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén, c2006. ISBN 8072623249
- 14) BARTŮŇKOVÁ J. a PAULÍK M. *Vyšetřovací metody v imunologii*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2011. 172 s. ISBN 9788024735337.
- 15) Transfuzní společnost. *Www.transfuznispolecnost.cz* [online]. [cit. 2020-12-09]. Dostupné z: <https://www.transfuznispolecnost.cz/doporucene-postupy/zakladni-immunohematologicka-laboratorni-vysetreni-cervene-rady-obecne-zasady-a-technicke-postupy-235>.
- 16) Sběrka zákonů České republiky. Vyd. a nakl. MV ČR, 2009, ročník 2009, Vydání 151-156.
- 17) Engelfriet C., Meulenbroek A.: *Imunohematology*. Amsterdam: Sanguin, 2003, 142 s. ISBN ISBN 90-5267-029-3.
- 18) HÁJEK, M. *Chirurgie v extrémních podmínkách: odborný přehled pro lékaře a zdravotníky na zahraničních praxích*. Praha: Grada, 2015. 584 s. ISBN 978-80-247-4587-9.
- 19) Huisman J. *Immunological Principles in Routine Quality Control, Immunocharacteristics and Function Tests*. In: Sibinga C.T.S., Das P.C., The T.H. (eds) *Immunology and Blood Transfusion. Developments in Hematology and Immunology*, vol 28. Springer, 1993. Boston, MA
- 20) BARTŮŇEK, P. et al. *Vybrané kapitoly z intenzivní péče*. Praha: Grada Publishing, 2016. Sestra (Grada). 752 s. ISBN 978-80-247-4343-1.
- 21) ŠÁMALOVÁ L. et al. *Klinické použití krve: příručka*. Praha: Grada, 2002. ISBN 8024702681.
- 22) Transfuzní lékařství ČLS JEP: Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP č. STL2015_12 ze dne 01. 09. 2015 verze 1.
- 23) KELNAROVÁ J., BABÁKOVÁ D., CAHOVÁ M., et al. *Ošetřovatelství pro střední zdravotnické školy - 2. ročník*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2016. Sestra (Grada). 260 s. ISBN 9788024753300.
- 24) MZ ČR: Zpráva o činnosti zařízení transfuzní služby za rok 2014. Dostupné na [www: https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2014/](http://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2014/).

- 25) MZ ČR: Zpráva o činnosti zařízení transfuzní služby za rok 2015. Dostupné na [www:https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2015/](https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2015/).
- 26) MZ ČR: Zpráva o činnosti zařízení transfuzní služby za rok 2016. Dostupné na [www:https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2016/](https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2016/).
- 27) MZ ČR: Zpráva o činnosti zařízení transfuzní služby za rok 2017. Dostupné na [www:https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2017/](https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2017/).
- 28) MZ ČR: Zpráva o činnosti zařízení transfuzní služby za rok 2018. Dostupné na [www:https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2018/](https://www.mzcr.cz/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2018/).
- 29) Turek P., Masopust J. *Činnost transfuzní služby v České republice v období 1989–2013*. *Transfuze Hematol dnes* 2014;20(4):125–135.
- 30) Turek P. *Přehled produkce transfuzní služby ČR za rok 2014*. *Transfuze Hematol dnes* 2015;21(3):158-160.
- 31) Rada Evropy. Dostupné z: <https://www.edqm.eu/en/blood-transfusion-reports-70.html>
- 32) Rada Evropy. Dostupné z: <https://freepub.edqm.eu/publications/PUBSD-90/detail>
- 33) Goodnough L., Bodner M., Martin J. *Blood transfusion and blood conservation: cost and utilization issues*. *Am J Med Qual*. 1994 Winter;9(4):172-83. doi: 10.1177/0885713X9400900408. PMID: 7819825.
- 34) Procházková R. *Hemovigilance*. *Vnitřní lékařství*. 2005;51(7-8):913-917.
- 35) Lin J. et al. *Cytokine release in febrile non-haemolytic red cell transfusion reactions*. *Vox sanguinis* vol. 82,3 (2002): 156-60.
- 36) Solheim B. et al. *Clinical implications of red blood cell and platelet storage lesions: an overview*. *Transfus Apher Sci*. 2004 Dec;31(3):185-189.
- 37) Procházková R., Andrýs C., Krejsek J. *Erythrocyty z aferézy – zhodnocení markerů apoptózy u přípravků ze dvou separátorů*. *Transfuze Hematol. dnes* 2014;14:159-165
- 38) Ayob Y. *Hemovigilance in developing countries*. *Biologicals*, Volume 38, Issue 1, 2010, str. 91-96, ISSN 1045-1056. Dostupné z:

- 39) WHO: Krevní bezpečnost a dostupnost. www.who.int [online]. [cit. 2020-12-29].
Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/blood-safety-and-availability>.
- 40) Easterbrook J. *Who to test and how to test for chronic hepatitis C infection – 2016 WHO testing guidance for low – and middle-income countries*. Journal of Hepatology. Volume 65, Issue 1, Supplement, 2016, str. S46-S66. ISSN 0168-8278.
- 41) Bohoněk M., a kol. *Bude v ČR zaveden povinný screening dárců metodami NAT?* Medical Tribune, 2016.
- 42) Turner M. *Safety of blood, blood derivatives, and plasma-derived products*. Handb Clin Neurol. 2018;153:463-472.
- 43) Seed C., Hewitt P., Dodd RY, et al. *Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion safety*. Vox Sang. 2018 Apr;113(3):220-231.
- 44) Ludlam C., Turner M. *Managing the risk of transmission of variant Creutzfeldt Jakob disease by blood products*. Br J Haematol. 2006 Jan;132(1):13-24.
- 45) Jaben I., Sasso R., Don C. Rockey. *Hemoglobin Monitoring in Acute Gastrointestinal Bleeding: Are We Monitoring Blood Counts Too Frequently?* The American Journal of Medicine, 2020, ISSN 0002-9343. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.09.056>.
- 46) Aryeh S., Howard C. *A Narrative Review on Hospital-Acquired Anemia: Keeping Blood where It Belongs*, Transfusion Medicine Reviews. Volume 34, Issue 3, 2020, Pages 195-199, ISSN 0887-7963. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2020.03.003>.
- 47) Eyster, E., and J. Bernene. *Nosocomial Anemia*. JAMA: The Journal of the American Medical Association, vol. 223, no. 1, 1973, pp. 73-74. SCOPUS, www.scopus.com. Dostupné z: <https://doi:10.1001/jama.1973.03220010059017>.
- 48) Shander A., Javidroozi M., Lobel G. *Patient Blood Management in the Intensive Care Unit*. Transfusion Medicine Reviews, Volume 31, Issue 4, 2017, p. 264-271, ISSN 0887-7963. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2017.07.007>.