

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Nastavení optimálního režimu vyšetřování markerů
sledovaných klinicky významných infekcí
u dobrovolných dárců krve

MUDr. Daniela Dušková
Praha, 2014

Doktorský studijní program v biomedicině
Univerzita Karlova v Praze a 1.lékařská fakulta

Obor: Biochemie a patobiochemie

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Stanislav Štípek, DrSc.

Školící pracoviště: Klinika nefrologie Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Fakultní transfuzní oddělení Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc, MBA, FASN

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

1	Úvod	4
2	Hypotézy a cíle práce	6
2.1	Úvod do problému	6
2.2	Cíl a hypotézy práce	6
3	Stručná historie krevní transfuze	8
3.1	Nejstarší zmínky o krvi	8
3.2	Historie transfuze krve ve světě	9
3.3	Historie transfuze krve v naší zemi	13
4	Vyšetřovací postupy v transfuzním lékařství	15
4.1	Vyšetřovací postupy v transfuzním lékařství-úvod do problematiky	15
4.2	Výběr dárce krve	15
4.3	Předodběrová vyšetření	17
4.4	Poodběrová vyšetření (laboratorní vyšetření odebrané krve)	22
4.4.1	<i>Vyšetření krevní skupiny a vyšetření screeningu nepravidelných antierytrocytárních protilátek</i>	23
4.4.2	<i>Vyšetřování markerů infekcí přenosných krví-transfuzí u dárců krve</i>	24
5	Infekce přenosné transfuzí	26
5.1	Přenos infekčních agens	26
5.1.1	<i>Asymptomatické infekce</i>	26
5.1.2	<i>Přítomnost patogenu v krevním řečišti</i>	27
5.1.3	<i>Parenterální přenos patogenu</i>	28
5.1.4	<i>Přežívání patogenů po dobu skladování krve a jejích složek</i>	28
5.2	Infekční agens přenášená transfuzí	28
5.2.1	<i>Viry hepatitid</i>	31
5.2.2	<i>Retroviry</i>	39
5.2.3	<i>Herpes viry</i>	41

5.2.4	<i>Parvoviry</i>	44
5.2.5	<i>Flaviviry</i>	45
5.2.6	<i>Původci endogenní bakteriální kontaminace</i>	46
5.2.7	<i>Původci exogenní bakteriální kontaminace</i>	51
5.2.8	<i>Rickettsie</i>	52
5.2.9	<i>Protozoa</i>	53
5.2.10	<i>Priony</i>	57
6	Screening infekčních markerů u dárců krve	59
6.1	Laboratorní diagnostika infekčních nemocí u dárců krve-úvod do problematiky	59
6.2	Vyšetření krevního obrazu	60
6.3	Přímé vyšetřovací metody využívané pro screening infekčních markerů u dárců krve	60
6.3.1	<i>Polymerázová řetězová reakce (PCR)</i>	60
6.3.2	<i>Multiplexová polymerázová řetězová reakce (multiplex PCR)</i>	63
6.3.3	<i>Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), polymerázová řetězová reakce s využitím reverzní transkripce</i>	64
6.3.4	<i>Taqman</i>	64
6.3.5	<i>Přímý průkaz patogenů v krevních elementech</i>	64
6.4	Nepřímé vyšetřovací metody využívané pro screening infekčních markerů u dárců krve	65
6.4.1	<i>Screeningové vyšetřovací metody s neoznačeným antigenem a/nebo protilátkou</i>	65
6.4.2	<i>Screeningové vyšetřovací metody s označeným antigenem a/nebo protilátkou</i>	66
6.4.3	<i>Enzymová imunoanalýza-ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)</i>	67
6.4.4	<i>Kožní testy</i>	67
7	Metody používané k vyšetřování (screeningu) dárců krve ve světě	68

7.1	Screening infekčních markerů u dárců krve v Evropské unii	68
7.2	Screening infekčních markerů u dárců krve v USA	70
7.3	Screening infekčních markerů u dárců krve v České republice	70
7.4	Další státy	71
8	Rozšíření standardního režimu vyšetřování virových markerů u dárců krve ve FTO VFN o NAT	73
8.1	Popis vyšetřovaného souboru	74
8.1.1	<i>Preanalytická fáze</i>	78
8.2	Standardní vyšetřovací metody - popis, postup práce	82
8.2.1	<i>Popis použitých metod</i>	82
8.2.2	<i>Vyšetřování imunoanalytickými metodami - postup práce</i>	92
8.3	Testování molekulárně-biologickými metodami (NAT) - popis, postup práce	94
8.3.1	<i>Popis použité metody</i>	94
8.4	Přehled a interpretace naměřených dat	109
8.4.1	<i>Výsledky testování první skupiny vzorků (č.1)</i>	109
8.4.2	<i>Výsledky testování druhé skupiny vzorků (č.2)</i>	120
8.5	Diskuse	129
8.5.1	<i>Epidemiologická situace v České republice ve vztahu k transfuzní službě</i>	130
8.5.2	<i>Záchyt infekcí u dárců krve v České republice</i>	131
8.5.3	<i>Riziko přenosu infekce transfuzí v České republice</i>	133
8.5.4	<i>Souhrn výsledků testování infekčních markerů u dárců krve ve FTO VFN</i>	134
8.5.5	<i>Náklady na léčbu pacienta s hepatitidou B, hepatitidou C a s infekcí virem HIV</i>	136

8.5.6	<i>Odhad nákladů na testování infekčních markerů (HBV,HCV,HIV) u dárců krve metodou NAT v České republice</i>	136
8.6	Závěr	138
	Seznam použité literatury a pramenů	142
	Seznam použitých zkratek	149
	Seznam tabulek	151
	Seznam obrázků	153
	Seznam grafů	154
	Přílohy	155

Abstrakt

Disertační práce si klade za cíl přispět k diskuzi o rozšíření rutinního screeningového vyšetřování dárců krve v ZTS v ČR zavedením přímého vyšetřování vybraných infekčních agens molekulárně biologickými metodami.

V teoretické části práce je popsán vývoj a přelomové události v transfuzní medicíně, dále jsou zmíněny vybrané patogeny, které lze přenést transfuzí a je uveden souhrn vyšetřovacích postupů, užívaných k testování dárců krve jak v ČR a EU, tak i ve vybraných státech mimo EU. V praktické části je detailně popsána prováděná studie - rozšíření vyšetřování infekčních markerů ve FTO VFN (rutinně prováděné metodou Abbott CMIA) o NAT testování (Roche RT-Real Time PCR), včetně souhrnu všech naměřených dat, výsledků, nestandardních situací a jejich rozboru. V závěru jsou hodnoceny výstupy praktické části a následuje popis možných variant screeningového vyšetřování infekčních markerů u dárců krve v České republice.

Klíčová slova: transfuze krve, vyšetřování infekčních markerů u dárců krve, HBV, HCV, HIV, přenos infekce transfuzí, potransfuzní reakce, dárcé krve, CMIA, RT-Real Time PCR.

Abstract

The aim of this project is to contribute to the discussion about introducing the methods of molecular biology into the routine blood donor testing in the transfusions departments in the Czech Republic. The theoretical part includes a brief history and some turning points in transfusion medicine. The theoretical part describes also representative pathogens, which can cause the Transfusion Transmitted Infections and the list of processes of examination in blood donors performed in the Czech Republic, the European Union and other countries. The practical part describes this study, ie. the routine screening test of blood donors using the CMIA method (a routine method) and using RT-Real Time PCR method (a molecular biology method) for detecting infectious markers (HCV, HBV, HIV). The practical part includes also the data recorded during the examinations together with the results and non-standard situations are presented and discussed as well. The final section summarises the outcomes, suggestions and possibilities for markers' examination of clinically important infections in blood donors in the Czech Republic.

Key words: blood transfusion, infectious markers testing of blood donors, HBV, HCV, HIV, transfusion transmitted infection, adverse transfusion reaction, blood donor, CMIA, RT-Real Time PCR.

Kapitoly autoreferátu:

1. Úvod
2. Hypotézy a cíle práce
3. Materiál a metodika
4. Výsledky
5. Diskuse
6. Závěr
7. Použitá literatura

1. Úvod

Transfuzní medicína je na prahu 21. století moderním komplementárním oborem, bez kterého by mnohé současné léčebné metody a postupy nebyly tím, čím jsou. Ale i přes současné znalosti biologie, patofyziologie a technologií přináší dnes léčba krví (transfuzními přípravky) stále mnohá rizika. Na jednom z předních míst pomyslného žebříčku rizik spojených s podáním transfuze je riziko přenosu infekce transfuzí. Toto riziko se ZTS¹ stále snaží snižovat už výběrem vhodného dárce krve a krevních složek, dále takovým způsobem vlastní výroby transfuzních přípravků, aby v průběhu výroby nedocházelo k bakteriální kontaminaci transfuzních přípravků a v neposlední řadě i vyšetřením infekčních markerů klinicky významných infekcí u dárců krve.

Ani ve světě, dokonce ani v Evropě však nepanuje shoda ve výběru infekčních markerů povinně testovaných u dárců krve. Jednotný není ani výběr vyšetřovacích metod. Celosvětová shoda tak existuje pouze ve výběru tří klinicky významných infekcí, které jsou u dárců krve testovány.

¹ Zařízení transfuzní služby

Jsou to markery HIV 1 a 2², HBV³ a HCV⁴, které jsou v některých zemích eventuelně doplňovány dle epidemiologické situace o markery dalších infekcí (např. o vyšetření malárie nebo WNV⁵).

Minimální požadavek pro vyšetřování infekčních markerů u dárců krve v Evropské unii stanovený Radou Evropy je vyšetřovat protilátky proti HIV-1 a proti HIV-2 včetně jejich subtypů, dále protilátky proti HCV a konečně vyšetřovat HBsAg⁶. Každý stát tak má nastaven jiný režim povinných vyšetření, přičemž testování metodou NAT je běžné spíše ve státech na západ od našich hranic (viz tabulka č.7 disertace).

V ČR je na základě Vyhlášky o lidské krvi v platném znění stanoveno vyšetřovat známky infekce virem HIV 1 a 2 (metodou stanovení protilátky anti-HIV 1, 2 a antigenu p24), virem hepatitidy B (metodou stanovení povrchového antigenu). Dále virem hepatitidy C (metodou stanovení protilátky) a syfilis (metodou stanovení protilátky).

² Virus lidské imunitní nedostatečnosti 1 a 2

³ Virus hepatitidy B

⁴ Virus hepatitidy C

⁵ West Nile Virus

⁶ Povrchový antigen viru HBV

V teoretické části této práce je kromě stručné historie a vývoje transfuzní medicíny uveden také přehled infekčních agens, u kterých byl potvrzen přenos transfuzí, dále přehled způsobů vyšetřování infekčních markerů u dárců krve v České republice, EU i ve vybraných zemích mimo EU.

Obsahem praktické části práce je pak popis vyšetřovaného souboru, shrnutí výsledků a závěrů plynoucích z této studie, ve které jsme u reprezentativního počtu dárců FTO VFN7 (5074 vzorků od 3096 dárců) rozšířili standardní testování imunoanalytickými metodami (Abbott CMIA⁸) o NAT (Roche RT-Real Time PCR⁹). Vzhledem k nízkému očekávanému záchytu sledovaných infekcí, resp. záchytu dárců v diagnostickém okně (window periodě) byl základní vyšetřovaný soubor doplněn o testování dalšího souboru vzorků dárců, u kterých byl předpoklad záchytu infekcí v diagnostickém okně řádově vyšší.

⁷ Fakultní transfuzní oddělení Všeobecné fakultní nemocnice

⁸ Chemiluminiscenční imunoanalýza na paramagnetických mikročásticích

⁹ Polymerázová řetězová reakce v reálném čase s reverzní transkripcí

2. Hypotézy a cíle práce

Primárním cílem práce je analýza možnosti snížení rizika přenosu infekce HIV, HBV a HCV transfuzí doplněním stávající vyšetřovací metody používané v rámci screeningu infekčních markerů (enzymoimunoanalytická metoda CMIA, systém Abbott Architect i2000) o metodu molekulárně biologickou (Roche RT-Real Time PCR, systém cobas s201). Tento nový vyšetřovací algoritmus je testován na reprezentativním vzorku populace dárců FTO VFN. Analýza vychází z předpokladu, že doplnění screeningu o molekulárně biologické testování povede k významnému zkrácení diagnostického okna stávajících testů.

Za potvrzení tohoto předpokladu budeme považovat situaci, kdy dárci ve window periodě, který nejeví známky infekce a výsledky testování stávajícími metodami (Abbott CMIA) ve FTO VFN jsou negativní, bude při vyšetřování metodou Roche RT-Real Time PCR označen jako reaktivní.

3. Materiál a metodika

Vzorky byly vyšetřovány ve dvou skupinách.

První skupina vzorků

Vzorky první skupiny byly vybrány tak, aby testovaný soubor co nejméně kopíroval charakter dárcovské populace ve FTO VFN. 5 074 vzorků od 3096 dárců bylo získáno během čtyřměsíčního období v první polovině roku 2008 od dárců plné krve nebo plasmy odebrané formou aferézy ve FTO VFN nebo dárců plné krve z odběrových center Jihlava, Kadaň a Chrudim. Přehled vyšetřovaného souboru je uveden v tabulkách 8 a 9 vlastní disertace.

Druhá skupina vzorků

Vzhledem k nízké prevalenci infekce virem HBV a HCV v běžné populaci, tedy i v populaci dobrovolných dárců krve a počtu testovaných vzorků první skupiny, byla pravděpodobnost záchytu infekce metodou NAT u dárce, u něhož byly výsledky testování sledovaných infekčních markerů standardně používanou metodou Abbott CMIA negativní, velmi nízká. Tento předpoklad vedl k rozhodnutí otestovat pomocí NAT testu cobas TaqScreen MPX další, cíleně vybranou skupinu dárců.

Do této druhé skupiny byly zařazeny pouze archivní vzorky tj. vzorky z předchozího odběru od *opakovaných* dárců krve a krevních složek, které byly při vyšetření imunoanalytickou metodou Abbott CMIA na systému Architect i2000 hodnoceny jako negativní. Následný odběr dárce byl však hodnocen jako reaktivní a poté potvrzen v Národní referenční laboratoři se závěrem pozitivní. Pravděpodobnost, že se dárce při předchozím odběru nacházel v diagnostickém okně (window periodě) pro metodu CMIA, je tedy u dárců v této druhé skupině řádově vyšší.

Vzorky byly vybírány z období od dubna roku 2004 (od tohoto data jsou archivní vzorky k dispozici) do února 2010 (ukončení této studie) a celkem bylo vybráno **8 vzorků**, přičemž interval mezi odběry dárce (Abbott CMIA negativním a následným reaktivním odběrem, pozitivně potvrzeným v NRL), se pohybuje mezi 3 – 8 měsíci, dárce tedy daroval krev v průměru jedenkrát za 4,4 měsíce. Přehled pozitivně potvrzených dárců (opakovaných dárců i prvodárců) pro všechny sledované infekce ve FTO VFN a v ZTS ČR je uveden v tabulkách 24 a 25 vlastní disertace.

Metody použité k testování

Abbott CMIA

- standardní metoda používaná pro screening infekčních markerů ve FTO VFN (imunoanalytická metoda

- s chemiluminiscenční detekcí, produkty reakce jsou od reakční směsi separovány vazbou na paramagnetické částice
- kvalitativní stanovení sledovaných infekčních markerů
 - systém Abbot Architect i2000, detekce anti-HCV, HBsAg, anti-HIV-1 (skupiny M a O), anti-HIV-2, p24 Ag HIV

Multiplex RT-Real Time PCR (Roche Cobas TaqScreen MPX Test v1)

- metoda doplnila standardně používanou imunoanalytickou metodu Abbott CMIA, molekulárně biologická metoda s fluorescenční detekcí v reálném čase s využitím reverzní transkripce,
- kvalitativní detekce v multiplexním uspořádání bez rozlišení konkrétního typu viru, detekce HCV RNA, HBV DNA, HIV 1 RNA (skupiny M a O), HIV 2 RNA.
- možnost testování jak poolovaných vzorků (pool ze šesti vzorků) tak i jednotlivých vzorků

Další použité metody

Vzhledem k tomu, že část vzorků z druhé skupiny již nebylo možno otestovat na systému cobas s201, probíhalo další testování v roce 2010 v sérologických laboratořích Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (ÚKBLD VFN) pomocí následujících NAT metod:

- RT-PCR s hybridizací (kvalitativní metoda s kolorimetrickou detekcí pro stanovení HCV RNA, systém cobas Amplicor)
- Real Time qRT-PCR (kvantitativní metoda pro detekci HBV DNA s užitím fluorescence, systém cobas AmpliPrep/TaqMan)

Některé archivní vzorky dárců obou skupin byly také testovány v NRL pro virové hepatitidy a v NRL pro AIDS. A to jak sérologickými, tak molekulárně biologickými metodami.

Odběr vzorků pro testování

Testovaným materiálem byla plazma. Vzorky pro testování standardně používanými imunoanalytickými metodami byly odebírány vždy při vlastním odběru plné krve nebo odběru krevní složky aferézou do zkumavky s vakuovým systémem BD Vacutainer o objemu 6 ml s antikoagulačním činidlem K₂EDTA (10,8 mg).

Vzorky pro testování metodou NAT byly odebírány vždy po vlastním odběru a zpracování plné krve nebo po odběru plazmy aferézou do zkumavky BD Vacutainer EST Z (cca 3 ml), jednorázové sterilní plastové zkumavky bez antikoagulačního roztoku a testovány většinou v poolech.

4. Výsledky

Výsledky testování jsou rozděleny, obdobně jako vyšetřované vzorky, do dvou skupin.

Výsledky testování první skupiny vzorků

Testování všech vzorků první skupiny pomocí testu cobas TaqScreen MPX bylo uzavřeno s výsledkem **negativní**.

Výsledky testování druhé skupiny vzorků

Na systému cobas s201 byly z původní skupiny vzorků testovány pouze tři, u dvou pro nedostatek materiálu nebo neexistenci vzorku v archivu nebylo testování možné. Další tři vzorky, které jsme získali během zpracování dat, byly testovány na ÚKBLD VFN.

Jeden vzorek dárce z výběru byl označen jako HCV RNA reaktivní (testování na ÚKBLD VFN), dárce (M.J.) byl tedy prokazatelně **odebrán v diagnostickém okně standardně používané imunoanalytické metody**.

Dodatek k testování

Během období testování druhé skupiny vzorků a zpracovávání dat byl zpracovatelem plazmy (Baxter) nahlášen pozitivní výsledek testování HCV-RNA NAT u **prvodárce** (Abbott CMIA negativní). Výsledek byl potvrzen při nezávislém testování (ÚKBLD VFN), dárce (K.S) byl tedy také odebrán **v diagnostickém okně standardně používané imunoanalytické metody.**

I přesto, že ke klinickému použití byly uvolněny transfuzní přípravky dárců, kteří se v době odběru prokazatelně nacházeli v diagnostickém okně standardně používaných serologických metod, šťastnou shodou okolností k přenosu infekce nedošlo. Transfuzní přípravky dárce M.J. (opakovaný dárce plazmy formou aferézy) byly zlikvidovány během procesu look-back (zpětné dohledání transfuzních přípravků u potvrzených dárců). Plazma dárce K.S. byla zadržena zpracovatelem plazmy a erytrocyty z tohoto odběru byly likvidovány na základě zvýšených hodnot ALT (vyšetření ALT bylo v roce 2009 prováděno standardně u každého odběru).

5. Diskuse

Každoročně je na světě testováno více než 53 milionů odběrů pomocí NAT technologie (nejčastěji HCV NAT), počet netestovaných odběrů však stále zůstává vysoký (40% z 92 milionů odběrů). Je také zřejmé, že implementace a následné rozšíření NAT technologie do standardního režimu vyšetřování infekčních markerů v transfuzní službě historicky kopíruje ekonomickou vyspělost jednotlivých regionů – v USA (implementace druhá polovina 90 let) je v současnosti vyšetřováno 100% odběrů (HIV-1, HCV, WNV a HBV), v Evropě je testování NAT (první implementace v Německu 1997) rozšířeno především v zemích západní Evropy. V regionu střední Evropy (Rumunsko, Bulharsko, Polsko, Kypr, Česká republika, Slovenská republika, Slovinsko a Maďarsko) je NAT technologie implementována pro testování infekčních markerů u dárců krve pouze ve Slovinsku a Polsku.

Nejčastěji jsou pro NAT testování využívány systémy Roche, dále systémy Novartis/Chiron a v neposlední řadě systémy vlastní produkce („in house“) využívající komerčně dodávaná diagnostika⁽⁶⁹⁾, režim vyšetřování je pak postaven většinou na vyšetřování vzorků v poolech („mini-pool NAT“, MP-NAT) a jeho nastavení vychází z požadavků legislativy a epidemiologické situace v dané zemi.

Epidemiologická situace v České republice ve vztahu k transfuzní službě

HIV

V období od roku 2004 do roku 2010 stoupla incidence HIV v České republice z 0,7 (72 případů, 2004) na 1,7 (180 případů, 2010). Pro porovnání - země s nejvyšší incidencí HIV v roce 2010 je Estonsko (27,8), naopak nejnižší incidencí se může pochlubit Slovensko (0,5)^(64,65,66,67).

HCV

V roce 2010 byla incidence HCV v zemích EU/EEA 6,93 (nejsou ale známy údaje z Belgie, Francie, Lichtenštejnska a ze Španělska). Pro Českou republiku je uváděna v uvedeném období incidence 6,75^(64,65,66,67).

HBV

Dle údajů Státního zdravotního ústavu incidence akutní infekce HBV v České republice od 80. let trvale klesá. V roce 2010 se v zemích EU/EEA pohybovala incidence HBV v rozmezí od 0,13 ve Francii do 2,32 v České republice. Avšak údaje týkající se chronické hepatitidy B se značně liší. Zpráva uvádí incidenci v rozmezí od 1,71 pro Slovensko až po 15,19 v Norsku.^(64,65,66,67)

Záchyt infekcí u dárců krve v České republice

V tabulkách 29 - 31 disertace je uveden počet pozitivně potvrzených dárců v České republice od roku 2004 do roku 2010 – průměrně je ročně v ČR potvrzeno (včetně prvodárců) 42 dárců jako HBV pozitivních, 90 dárců jako HCV pozitivních a 4 dárce jako HIV pozitivní, přičemž počet potvrzení od roku 2008 (zahájení činnosti nových ZTS, které platí dárcům za odběr aferetické plazmy) roste. K největšímu nárůstu pozitivně potvrzených infekcí došlo obecně u prvodárců, nejčastěji byla potvrzena pozitivita HCV.

Riziko přenosu infekce transfuzí v České republice

V České republice je průměrně ročně podáno 400 000 T.U. koncentrátů erytrocytů, 34 000 terapeutických dávek koncentrátů trombocytů a 190 000 T.U. plazmy.⁽⁴²⁾

Pravděpodobnost rizika přenosu infekce transfuzí lze odhadovat pro HBV nebo HCV na 1:250 až 300 000 podaných transfuzí a pro HIV 1 až 2:5 milionů podaných transfuzí⁽¹³⁾.

Za předpokladu, že z jednoho dárcovského odběru jsou vyrobeny 1-2 transfuzní přípravky (plná krev = erytrocyty a plazma), pohybuje se odhadované riziko přenosu infekce transfuzí v České republice takto (počítáno na 1 milion odběrů): 7 přenosů HCV, 6 přenosů HBV a mezi 0,4 – 0,7 přenosy HIV na milion odběrů. V porovnání s ostatními státy před a po NAT implementaci je Česká republika zemí s nízkým rizikem přenosu HIV infekce transfuzí (nejnižší odhadované riziko přenosu HIV po NAT implementaci je 0,18 v Německu, nejvyšší je 1,1 v Itálii), stále však zůstáváme evropskou zemí s vysokým rizikem přenosu infekce HCV transfuzí (nejvyšší odhadované riziko přenosu HCV před NAT implementací mělo s 3,94 přenosy na milion odběrů Španělsko)⁽⁷⁰⁾

Na základě výše uvedených údajů jsou tedy v České republice vystaveni odhadovanému riziku podání transfuzního přípravku kontaminovaného virem hepatitidy B nebo C dva příjemci ročně. Pravděpodobnost podání transfuzního přípravku kontaminovaného virem HIV je asi dvacetinásobně nižší.

Souhrn výsledků testování infekčních markerů u dárců krve ve FTO VFN

Testování vzorků v první skupině (cobas TaqScreen MPX) bylo uzavřeno s výsledkem negativní, ve druhé skupině byl zjištěn **jeden dárcce, který byl prokazatelně odebrán v diagnostickém okně (HCV pozitivní) a jeden prvodárce** odebraný v diagnostickém okně byl hlášen zpracovatelem plazmy.

Zaměříme-li se z dlouhodobého hlediska na počet confirmovaných dárců a prvodárců, zjistíme, že ve FTO VFN připadá na každých cca 430 odběrů prvodárců jeden pozitivně confirmovaný prvodárce na některou ze sledovaných infekcí, u opakovaných dárců je to jeden confirmovaný dárců na cca 28 000 odběrů (viz tabulky 32 a 33 disertace). Dárci jsou stejně jako v celé ČR nejčastěji confirmováni jako HCV pozitivní. Je třeba zmínit také fakt, že 38% prvodárců daruje svou krev pouze jednou a ZTS nemají možnost zjistit jakékoli další údaje v souvislosti s testováním sledovaných infekcí, jde tedy o velmi rizikovou skupinu dárců.

Riziko odběru opakovaného dárců v diagnostickém okně použitých serologických metod zjištěné v této práci (1 dárců na cca 220 tisíc odběrů) odpovídá řádově odhadovanému riziku podání kontaminovaného transfuzního přípravku v České republice.

Z výše uvedeného je zřejmé, že nositelem jednoznačně nejvyššího rizika přenou infekce transfuzí je HCV pozitivní prvodárce odebraný v diagnostickém okně.

Výsledky testování také potvrzují předpoklad, že zavedení NAT pro testování infekčních markerů u dárců krve a krevních složek vede ke zkrácení diagnostického okna u sledovaných infekcí a tedy snižuje riziko přenosu sledovaných infekcí transfuzí.

6. Závěr

1. Vyšetřování infekčních markerů (HBV, HCV, HIV) u dárců krve a krevních složek metodou CMIA doplněnou o NAT snižuje riziko přenosu infekce transfuzí. Nadále však přetrvává riziko přenosu okultní infekce virem hepatitidy B u HBV DNA negativních dárců krve a krevních složek. Rozšířením screeningu o vyšetření protilátek anti-HBc je možné toto riziko snížit.
2. Prvodárci jsou nositeli vyššího rizika přenosu infekce transfuzí než opakovaní dárci.
3. V České republice jsou příjemci transfuzí nejvíce ohroženi infekcí virem hepatitidy C. Implementace vyšetřování HCV RNA v rámci screeningu dárců krve a krevních složek může zkrátit odhadované serologické diagnostické okno téměř čtyřikrát.
4. Rozhodování o mandatorním zavedení testování virových markerů u dárců krve v České republice metodou NAT by mělo vycházet z aktuální prevalence sledovaných virových infekcí u dárců krve a z údajů o počtu dárců odebraných v diagnostickém okně, protože cost&benefit testování dárců krve metodou NAT je takový, jaká je epidemiologická situace v zemi a jaké je reálné riziko přenosu infekce

transfuzí. Počet dárců odebraných v diagnostickém okně je významným ukazatelem rizika přenosu infekce transfuzí.

5. Pro získání přesných údajů o počtu dárců odebraných v diagnostickém okně je nutná dohoda mezi ZTS¹⁰ v České republice a NRL pro virové hepatitidy a NRL pro AIDS o povinném zasílání archivních vzorků z předchozích odběrů u pozitivně potvrzených opakovaných dárců ke konfirmačním vyšetřením do NRL pro virové hepatitidy a NRL pro AIDS. Pro další získání validní informace k rozhodování o zavedení NAT testování virových markerů u dárců krve lze tuto dohodu rozšířit i o zasílání vzorků prvodárců, kteří byli v rámci testování screeningovými metodami stanovenými Vyhláškou o lidské krvi v platném znění negativní.
6. Pokud by bylo rozhodnutí o testování infekčních markerů u dárců krve metodou NAT kladné, bylo by vhodné vzhledem ke značným očekávaným nákladům pro ZTS v ČR¹¹ vyšetření centralizovat do několika velkých ZTS a zvážit nastavení režimu vyšetřování (testované markery, testované skupiny dárců)
7. Alternativní cestou vedoucí ke snížení rizika přenosu infekce transfuzí by mohla být výroba patogen-inaktivovaných transfuzních přípravků. Její zásadní nevýhodou je však

¹⁰ Zařízení transfuzní služby

¹¹ Česká republika

skutečnost, že v současné době lze inaktivovat patogeny pouze v plazmě nebo v koncentrátech trombocytů. Dále je zde i cesta využívání tzv. autologních transfuzí, ačkoli podání autologních transfuzí má svá omezení a ne každý pacient, který potřebuje transfuzi, je vhodným kandidátem k autolognímu odběru. Riziko přenosu infekce způsobené tzv. intracelulárními viry (např. CMV) významně snižuje také hemoterapie de leukotizovanými transfuzními přípravky.

8. Všechny závažné nežádoucí reakce a komplikace, tedy i podezření na přenos infekce transfuzí nebo prokázaný přenos infekce transfuzí, by měly být hlášeny krevní bance a ve spolupráci s krevní bankou i do SÚKL¹². Řádně hlášené nežádoucí reakce a komplikace mohou významným způsobem ovlivnit rozhodování o spektru vyráběných transfuzních přípravků, způsobu jejich výroby a v neposlední řadě i o algoritmu vyšetření infekčních markerů sledovaných infekcí.
9. Hovoříme-li o bezpečnosti transfuze z hlediska přenosu infekce, je zavedení NAT testování infekčních markerů u dárců krve nepochybným přínosem, očekávané zvýšené náklady na testování však přesouvají konečné rozhodnutí o jeho zavedení spíše do oblasti rozhodnutí politických než do oblasti rozhodnutí odborných lékařských společností

¹² Státní ústav pro kontrolu léčiv

7. Použitá literatura

1. KILDUFEE, R. A., DEBAKEY, M. *History*. In: *The Blood Bank and the Technique and Therapeutics of Transfusion*. St. Louis C. V. Mosby Company, 1942, p. 17-39.
2. WISE, W. M., O'LEARY, J. P. *The Origins of Blood Transfusion: Early History*. *The American Surgeon*, January 2002, Vol. 58, p.98-100.
3. DeGOWIN, E. L. *The A-B-0 Blood Groups*. In: DeGOWIN, E. L. , HARDIN, R. C. , ALSEVER, J. B. In: *Blood Transfusion*, W. B. Saunders Company, Philadelphia London 1949, p. 52-64.
4. DUINOVÁ, N., SUTCLIFFOVÁ, J. *Landsteiner a krevní skupiny*. In: *Historie medicíny*, Slovart, 1997, s. 92-93.
5. GIANGRANDE, P. L. F. *The history of blood transfusion*. *British Journal of Haematology*, 2000, 110, p. 758-767.
6. CODNER, P. , CINAT, M. *Massive Transfusion for Trauma is Appropriate*. *Trauma Care*, Summer 2005, vol. 15, no.3, p. 148-152.
7. DOBRÝ, E. *Historie krevní transfúze*. In: HRUBIŠKO, M., DOBRÝ E. *Základy hemoterapie*. Vydavatelství Osveta, 1974, s. 9-17.
8. JEDLIČKOVÁ, J. *K dějinám transfuzní služby v Brně* - přednáška, 2005.
9. GALUSZKOVÁ, D. *Klinické aspekty aplikace vybraných krevních přípravků v podmínkách Fakultní nemocnice Olomouc*. Dizertační práce, Lékařská fakulta Univerzity Palackého Olomouc, 2008. 134s. Vedoucí práce: prof. MUDr. Ivo Krč, Dr.Sc., s.18-29.
10. *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components 14*. Edom (European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care), 2008.

11. Vyhláška 351/2010 ze dne 2.12.2010, kterou se mění vyhláška č. 143/2008 Sb., o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi).
12. SPOLEČNOST PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ,
Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP č. STL2007_03 verze 4 ze dne 1. 3. 2011 (2011_03) [online]. c2005, 1.3.2011 [cit. 15.3.2011]. Dostupné z <http://www.transfuznispolecnost.cz/doc/postupy/Dop_STL2007_03_Zpusobilost_darce_V4_2011_03_01.doc>
13. TUREK, P. *Vyšetřování infekčních markerů v transfuzní službě*. Transfuze a hematologie dnes, září 2009, s.17-19.
14. McCULLOUGH, J. *Transfusion Medicine*. Elsevier, 2005, p.163-439.
15. KITCHEN, A. D., BARBARA, J. A. J. Transfusion – transmitted infections. In: MURPHY, M. F., PAMPHILON, D. H. *Practical Transfusion Medicine*. Blackwell Science, 2001, p. 192-210.
16. BSE INFO – vCJD TRANSMISSION, *vCJD Transmission* [online]. c2012, [cit. 10.3.2011]. Dostupné z <<http://www.bseinfo.org/vcjdtransmission.aspx>>
17. HUSA, P. *Virové hepatitidy*. Galén, 2005, s. 19-74.
18. BENEŠ, J. *C1-Virové infekce*. In: BENEŠ, J., et al. *Infekční lékařství*. Galén, 2009, s.122-191.
19. FRAŇKOVÁ, V., *Virologie*. In: BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie*, Marvil, 1996, s. 367-482.
20. *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components 15*. Edom (European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care), 2009.
21. BENEŠ, J. *C2-Bakteriální infekce*. In: BENEŠ, J., et al. *Infekční lékařství*. Galén, 2009, s. 197-309.

22. JOHN, C., SOUČEK, A., SCHINDLER, J. *Gramnegativní aerobní tyčky*. In: BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie*, Marvil, 1996, s. 246-260.
23. JOHN, C., SOUČEK, A. *Gramnegativní fakultativně anaerobní tyčky*. In: BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie*, Marvil, 1996, s. 261-283.
24. SOUČKOVÁ, A. *Spirochety*. In: BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie*, Marvil, 1996, s. 185-192.
25. STEJSKAL, F., VANIŠTA, J., *C4-Parazitární infekce*. In: BENEŠ, J., et al. *Infekční lékařství*. Galén, 2009, s. 320-371. :-)
26. NOHÝNKOVÁ, E., VÁVRA, J. *Protozoa*. In: BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie*, Marvil, 1996, s. 488-502.
27. CHALUPA, P., *C5-Prionové choroby*. In: BENEŠ, J., et al. *Infekční lékařství*. Galén, 2009, s. 371-376.
28. LOBOVSKÁ, A., HOLUB, M. *Laboratorní diagnostika infekčních nemocí*. In: ZIMA, T., et al. *Laboratorní diagnostika*, Galén, 2007, s. 639-649.
29. BEDNÁŘ, M., SOUČEK, A., VÁVRA, J., et al. *Lékařská a speciální mikrobiologie a parazitologie*. Marvil, 1994.
30. HAVLÍK, J., et al. *Infekční nemoci*. Galén, 1998.
31. KLENER, P., et al. *Vnitřní lékařství*. Galén-Univerzita Karlova, 2001.
32. LOBOVSKÁ, A. *Infekční nemoci*. Univerzita Karlova, 2001.
33. ŠERÝ, V., BÁLINT, O., et al. *Tropická a cestovní medicína*. Medon, 1998.

34. PRŮŠA, R., MACEK ml., M. *Molekulární diagnostika*. In: ZIMA, T., et al. *Laboratorní diagnostika*, Galén, 2007, s.681-699.
35. BOHONĚK, M. *Přehled testů a technologie sérologického vyšetřování infekčních markerů u dárců krve v ČR*. Přednáška.4. Střešovický transfuzní den, 4.11.2010, Praha.
36. KÁŠ, J., KODÍČEK, M., VALENTOVÁ, O. *Laboratorní techniky biochemie*. VŠCHT Praha, 2006, s.38-47.
37. PUB MED.GOV, *Hepatitis B virus nucleic acid testing in Chinese blood donors with normal and elevated alanine aminotransferase* [online].c2011, [cit.20.4.2011]. Dostupné z <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21682731>>
38. WILEY ONLINE LIBRARY, *Hepatitis B virus nucleic acid testing in Chinese blood donors with normal and elevated alanine aminotransferase* [online].c1999-2012. Dostupné z <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-995.2011.03215.x/abstract>>
39. JAPANESE RED CROSS SOCIETY, *Blood Programme, Safety Measures Concerning Blood* [online].c2008, [cit. 20.4.2011].Dostupné z <<http://www.jrc.or.jp/english/activity/blood.html>>
40. AUSTRALIAN RED CROSS BLOOD SERVICE, [online].c2010, [cit.20.4.2011].Dostupné z <<http://www.donateblood.com./all-about-blood/safety-and-testing>>
42. sp.zn.sukls143610/2010, *Revize podmínek úhrad 2009, Podskupina 12 a 15 – individuálně vyráběné léčivé přípravky*.
43. OBČANSKÉ SDRUŽENÍ PREVENT, *7 důvodů, proč podpořit Prevent*, [online], [cit.12.5.2011]. Dostupné z <<http://www.os-prevent.cz/7-zajimavych-duvodu-proc-podporit-prevent>>

44. ZDRAVOTNICKÉ NOVINY, *Pegasys-optimální léčba chronické hepatitidy B*. [online]. c2007-2012, [cit. 22.5.2011]. Dostupné z <<http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/pegasys-optimalni-lecba-chronicke-hepatitidy-b-172382>>
45. OBČANSKÉ SDRUŽENÍ PREVENT, *Prevent bojuje proti šíření HIV a jiných infekčních nemocí*, [online]. c2010, [cit. 22.5.2011]. Dostupné z <<http://www.os-prevent.cz/aktuality/preventbojujeprotisirenihivajinychinfekc-nichnemoci>>
46. TESAŘOVÁ, E. *Limity deleukotizace*. XI. Pracovní dny Společnosti pro transfuzní lékařství, Brno 25.-27.9. 2005.
47. ZUPANSKA, B., UHRYNOVSKA, M., MICHUR, H., MASLANKA, K., ZAJKO, M. *Transfusion-related acute lung injury and leucocyte-reacting antibodies*. *Vox Sanguinis* (2007) 93:70-77.
48. *Zákon č. 378/2007Sb. o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů*.
49. *Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Annual Report 2005*. Dostupné z <<http://www.shotuk.org/wp-content/uploads/2010/03/SHOT-report-2005.pdf>>
50. KUBISH, P. a kol. *Hematológia a transfuziologie, učebnica*. Grada Publishing, 2006.
51. BIHL, F., CASTELLI, D., MARINCOLA, F., DODD, R., BRANDER, CH. *Transfusion – transmitted infection*. *Journal of Translational Medicine* 2007;5, 25:1-11.
52. SACHAIS, B. S. *Bacterial Contamination of Blood Products*. In: HILLYER, C. D., HILLYER, K. L., STROBL, F. J., JEFFERIES, L. C., SILBERSTEIN, L. E. *Handbook of Transfusion Medicine*. Academic Press, 2001, p.307-310.
53. ZDRAVOTNICKÉ NOVINY, *Léčba chronických virových hepatitid B a C*, [online]. c2007-2012, [cit. 22.5.2011].

- Dostupné z <[http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/lecba-chronickyh-virovych-hepatitid-b-a-c->](http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/lecba-chronickyh-virovych-hepatitid-b-a-c-)
54. EPIDEMIOLOGIE AIDS-WIKISKRIPTA, *Epidemiologie AIDS*, [online]., [cit.28.5.2011]. Dostupné z <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Epidemiologie_AIDS>
 55. ROČNÍ ZPRÁVY O VÝSKYTU A ŠÍŘENÍ HIV/AIDS V ČR, SZÚ, *Roční zprávy o výskytu a šíření HIV/AIDS v ČR*, [online].cStátní zdravotní ústav, [cit.28.5.2011]. Dostupné z <<http://www.szu.cz/tema/prevence/rocni-zpravy-o-vyskytu-a-sireni-hiv-aids-v-cr>>
 56. COMANOR, L., HOLLAND, P. *Hepatitis B virus blood screening: unfinished agendas*. Vox Sanguinis 2006; 91, p. 1-12.
 57. STRAMER, S., L. *Pooled HBV DNA testing by nucleic acid amplification: implementation or not*. Transfusion 2005; 42, p. 1242-6.
 58. KLEINMAN, S., H., STRONG, D., M., TEGTMEIER, G., G., HOLLAND, P., V., GORLIN, J., B., COUSINS, C., R., CHIACHERRINI, R., P., PIETRELLI, L., A. *Hepatitis B virus (HBV) DNA screening of blood donations in minipools with the COBAS AmpliScreen HBV test*. Transfusion 2005;45, p. 1247-57.
 59. KLEINMAN, S., BUSH, M. *Assessing the impact of HBV NAT on window period reduction and residual risk*. Journal of Clinical Virology 2006; 36, p. 23-29.
 60. RESIDUAL RISK ESTIMATES FOR TRANSFUSION-TRANSMITTED INFECTIONS (AUSTRALIAN RED CROSS BLOOD SERVICE), *Residual Risk estimates for Transfusion-transmitted infections*, [online].c2011, [cit.30.5.2011]. Dostupné z <<http://www.transfusion.com.au/node/115>>

61. RUDMAN V. SALLY, *Textbook of blood banking and transfusion medicine, Second Edition*, Elsevier Saunders, 2005
62. INFORMACE-STATISTIKY, Informace-statistiky HIV/AIDS, [online]. c2007-2011, [cit.30.5.2011]. Dostupné z <http://www.aids-pomoc.cz/info_statistiky.htm>
63. NĚMEČEK, V., MALÝ, M., BENEŠ, Č. Trendy ve výskytu infekcí HIV, HCV a HBV v ČR. *Transfuze a hematologie dnes*, říjen 2011; s.24-25.
64. ANNUAL EPIDEMIOLOGICAL REPORT REPORTING ON 2009 SURVEILLANCE DATA AND 2010 EPIDEMIC INTELLIGENCE DATA (report) - *European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe*, ISBN: 978-92-9193-321-1, [online]. c2012, [cit. 10.8.2012], available from <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/11_11_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe.pdf>
65. ANNUAL EPIDEMIOLOGICAL REPORT REPORTING ON 2010 SURVEILLANCE DATA AND 2011 EPIDEMIC INTELLIGENCE DATA (report) - *European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe*, [online]. c2005-2013, [cit. 10.11.2013], available from <<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Annual-Epidemiological-Report-2012.pdf>>
66. HEPATITIS B AND C IN THE EU NEIGHBOURHOOD: PREVALENCE, BURDEN OF DISEASE AND SCREENING POLICIES (report) - *European centre for disease prevention and control/WHO Regional Office for Europe*, ISBN: 978-92-9193-213-9, [online]. c2012, [cit. 10.8.2012], available from <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/TER_100914_Hep_B_C%20_EU_neighbourhood.pdf>

67. HIV/AIDS surveillance in Europe 2010 (report) - European centre for disease prevention and control/WHO Regional Office for Europe, ISBN: 978-92-9193-324-2, [online]. c2012, [cit. 10.9.2012], available from <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/11129_SUR_Annual_HIV_Report.pdf>
68. STROBL, F.; NAT in blood screening around the world; Medical Laboratory Observer; April 2011; [online] c; NP Communications, LLC; cit. 11.11.2013; available from <<http://www.mlo-online.com/articles/201104/nat-in-blood-screening-around-the-world.php>>
69. ROTH, W. K. 1; BUSCH, M. P. 1; SCHULLER, et al. 1 International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009, International Forum; Vox Sanguinis. 102(1):82-90, January 2012.
70. LAPERCHE, S. Blood safety and nucleic acid testing in Europe, Eurosurveillance, Vol.10, Issues 1-3, Jan-Mar 2005.
71. ZOU, S., FANG, C.,T., DOSS, Ry., A method for estimating incidence rate of infectious diseases among first-time blood donors, Transfusion, 2008, Sep;48(9):1827-32. Epub 2008 May 14.

8. Seznam publikací

1. Publikace, které jsou podkladem disertace

a) s IF

2014: DUŠKOVÁ, D., DAREBNÍČEK, L. *Nucleic acid testing of Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus and Human Immunodeficiency Virus 1,2 in blood donors in the General University Hospital, Prague.* Acta Virologica, 2014, **IF 0,85**

b) bez IF

2010: DUŠKOVÁ, D. *Vývoj vyšetřovacích postupů v transfuzním lékařství (ve vztahu k potransfuzním hepatitidám).* Přednáška na odborném semináři České hepatologické společnosti ČLS JEP „Hepatitida B v roce 2010“, Praha, Česká republika.

2010: DUŠKOVÁ, D., DAREBNÍČEK, L., BŘEZINOVÁ, H. *Optimalization of the regime of markers' examination for clinically important infections in blood donors at the General University Hospital in Prague.* Prezentace na kongresu ISBT (International Society of Blood Transfusion), Berlín, Německo.

2010: DUŠKOVÁ, D., DAREBNÍČEK, L., BŘEZINOVÁ, H. *Rozšíření standardního režimu vyšetřování virových markerů ve FTO VFN o NAT – naše zkušenost.* Přednáška na odborném semináři Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP „4. Střešovický transfuzní den“, Praha, Česká republika.

2011: DUŠKOVÁ, D., DAREBNÍČEK, L., BŘEZINOVÁ, H. *Optimalizace vyšetřování markerů HIV, HBV a HCV u dárců krve s cílem snížit riziko přenosu infekce transfuzí.* Přednáška na 13. pracovních dnech v transfuzním lékařství – celostátní konferenci s mezinárodní účastí spojenou se 4. Česko-německým transfuzním

dnem, 5. Střešovickým transfuzním dnem a Postgraduálním kurzem v terapeutických aferézách, Praha, Česká republika.

2011: DUŠKOVÁ, D., DAREBNÍČEK, L., BŘEZINOVÁ, H. *Optimalizace vyšetřování markerů HIV, HBV a HCV u dárců krve s cílem snížit riziko přenosu infekce transfuzí*. Transfuze a hematologie dnes, říjen 2011, s.12.

2. publikace bez vztahu k tématu disertace

a) s IF

DUŠKOVÁ, D., VESELÝ, V., ČERNOHORSKÁ, D., KOTULÁK, T. *The adverse transfusion reaction, deep hypotension associated with platelet transfusion*. Vox Sanguinis, 2001, **IF 1,57**.

DUŠKOVÁ, D., VESELÝ, V. *Jumbo plasma as a general fresh frozen plasma source*. Vox Sanguinis, Volume 83, 2002, **IF 1,57**

HROMADNÍKOVÁ I., VESELÁ, K., BENEŠOVÁ, B., NEKOVÁŘOVÁ, K., DUŠKOVÁ, D., VLK, R., ŠPÁLOVÁ, I., GERYCHOVÁ, R., HAKENOVÁ, A., ROSENBAUMOVÁ, Z., VLAŠÍN, P., VLACHOVÁ, A., PALÁSEK, V., ROŽŇÁKOVÁ, E., CALDA, P. *Non-invasive fetal RHD and RHCE genotyping from maternal plasma in alloimmunized pregnancies*. Prenatal Diagnosis, 2005; 25, p.1079-1083, **IF 2,152**

b) bez IF

DUŠKOVÁ, D. *Krevní přípravky v perinatologii*. Transfuze dnes, č. 2-3/99.

DUŠKOVÁ, D., VESELÝ, V., ČERNOHORSKÁ, D., KOTULÁK, T. *The adverse transfusion reaction, deep hypotension associated with platelet transfusion*. Prezentace na kongresu ISBT 2001 (International Society of Blood Transfusion), Paris, France.

DUŠKOVÁ, D. *Účelná hemoterapie v gynekologii a porodnictví*. In: PAŘÍZEK a kol.: *Kapitoly z klinické anestezie a analgesie*, Grada 2001.

DUŠKOVÁ, D., FUČÍKOVÁ, Z., PETERKA, T. *Účelná hemoterapie v porodnictví*. In: PAŘÍZEK, A. et. al. *Porodnická analgezie a anestezie*, Grada Publishing, 2002.

DUŠKOVÁ, D. *Poznámky k dárcovským a léčebným aferézám*. *Transfuze a hematologie dnes*, č. 4/02.

DUŠKOVÁ, D., VESELÝ, V. *Jumbo plasma as a general fresh frozen plasma source*. Prezentace na 27.kongresu ISBT 2001 (International Society of Blood Transfusion), Vancouver, British Columbia, Canada.

DUŠKOVÁ, D. *Cryo-Seal FS System - novinka na Fakultním transfuzním oddělení VFN v Praze*. Prezentace na XI. pracovních dnech Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS-JEP, Brno, Česká republika, 2006.

DUŠKOVÁ, D., HANZÍKOVÁ, V. *Intrauterinní transfuze z pohledu transfuziologa*. Prezentace na Pracovním dnu Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS-JEP na téma Hemolytické onemocnění plodu a novorozence, Praha, Česká republika, 2008.

KVASNÍČKA, J., HÁJKOVÁ, J., BOBČÍKOVÁ, P., KRÍŽOVÁ, P., DUŠKOVÁ, D., POLETÍNOVÁ, Š., KIEFEROVÁ, V. *Polymorfismy krevních destiček a možnosti monitorace účinku protideštičkové léčby*. *Intervenční a akutní kardiologie*, 2008; 7(6): 215-218.

MASOPUST, J., DUŠKOVÁ, D., KUBÁNKOVÁ, H., PEJCHALOVÁ, A., PÍSAČKA, M. *Imunohematologická vyšetření v těhotenství a po porodu*. *Transfuze a hematologie dnes*; 2008.

KVASNÍČKA, J., HÁJKOVÁ, J., BOBČÍKOVÁ, P., DUŠKOVÁ, D., POLETÍNOVÁ, Š., KIEFEROVÁ, V., ZENÁHLÍKOVÁ, Z.,

PECEN, L. *Polymorfismy genů destiček spojované s aterotrombogenezí a jejich výskyt ve zdravé české populaci středního věku*. Cor et Vasa, 2009; 51 (3).

DUŠKOVÁ, D., HANZÍKOVÁ, V., BŘEZINOVÁ, H., CALDA, P. *Naše zkušenosti s přípravou transfuzí určených pro prenatální a neonatální podání*. Prezentace na XII. pracovních dnech Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS-JEP s mezinárodní účastí, Olomouc, Česká republika, 2009.

HROMADNÍKOVÁ I., BENEŠOVÁ, B., NEKOVÁŘOVÁ, K., DUŠKOVÁ, D., VLK, R., ŠPÁLOVÁ, I., GERYCHOVÁ, R., HAKENOVÁ, A., JANOUŠKOVÁ, M., ROSENBAUMOVÁ, Z., VLACHOVÁ, A., SMEJKAL, P., PALÁSEK, V., LANGROVÁ, E., ROŽŇÁKOVÁ, E., CALDA, P. *První zkušenosti s neinvazivní RH genotypizací plodu z periferní krve u aloimunizovaných těhotenství*. Transfuze a hematologie dnes, 1/2005.

DUŠKOVÁ, D., HANZÍKOVÁ, V., BŘEZINOVÁ, H., CALDA, P. *Naše zkušenosti s přípravou transfuzí určených pro prenatální a neonatální podání*. Transfuze a hematologie dnes; září 2009.

DUŠKOVÁ, D., ŽATECKÁ, J., RABASOVÁ, E. *Analýza potransfuzních reakcí ve FTO VFN v Praze v období 2006-2009*. Prezentace na XII. pracovních dnech Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS-JEP s mezinárodní účastí, Olomouc, Česká republika, 2009.

DUŠKOVÁ, D., ŽATECKÁ, J., RABASOVÁ, E. *Analýza potransfuzních reakcí ve FTO VFN v Praze v období 2006-2009*. Transfuze a hematologie dnes; září 2009.

DUŠKOVÁ, D., ČERNÁ, O. *Hemoterapie v neonatální a pediatrické péči z pohledu pediatra a transfuziologa*. Prezentace na XIII. pracovních dnech Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS-JEP – celostátní konferenci s mezinárodní účastí spojené se 4. Česko-německým transfuzním dnem, 5. Střešovickým transfuzním dnem a

Postgraduálním kurzem v terapeutických aferézách, Praha, Česká republika, 2011.

DUŠKOVÁ, D., ČERNÁ, O. *Hemoterapie v neonatální a pediatrické péči z pohledu pediatra a transfuziologa*. Transfuze a hematologie dnes; říjen 2011, s.48-50.

BAUMRUKOVÁ, L., PÍSAČKA, M., DUŠKOVÁ, D., KRÁLOVÁ, M. *Kazuistika: Protilátka proti erytrocytárnímu antigenu s nízkou frekvencí výskytu jako příčina těžkého hemolytického onemocnění plodu*. Prezentace na XIII. pracovních dnech Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS-JEP – celostátní konferenci s mezinárodní účastí spojené se 4. Česko-německým transfuzním dnem, 5. Střešovickým transfuzním dnem a Postgraduálním kurzem v terapeutických aferézách, Praha, Česká republika, 2011.

BAUMRUKOVÁ, L., PÍSAČKA, M., DUŠKOVÁ, D., KRÁLOVÁ, M. *Kazuistika: Protilátka proti erytrocytárnímu antigenu s nízkou frekvencí výskytu jako příčina těžkého hemolytického onemocnění plodu*. Transfuze a hematologie dnes; říjen 2011, s. 65-66.

KVASNIČKA, J., HÁJKOVÁ, J., BOBČÍKOVÁ, P., KVASNIČKA, T., DUŠKOVÁ, D., POLETÍNOVÁ, Š., KIEFEROVÁ, V. *Prevalence trombofilních mutací FV Leiden, protrombinu G20210A a PAI-1 4G/5G a jejich vzájemných kombinací v souboru 1450 zdravých osob středního věku v regionu Praha a střední Čechy (výsledky real-time PCR analýzy FRET)*. Časopis lékařů českých, 2012.

HABER, J., FORSTEROVÁ, K., KLENER, P.jr., KVASNIČKA, J., DUŠKOVÁ, D., DAREBNÍČEK, L. *Laboratorní diagnostika v hematologii*. In ZIMA, T. *Laboratorní diagnostika*. Galén, 2013.