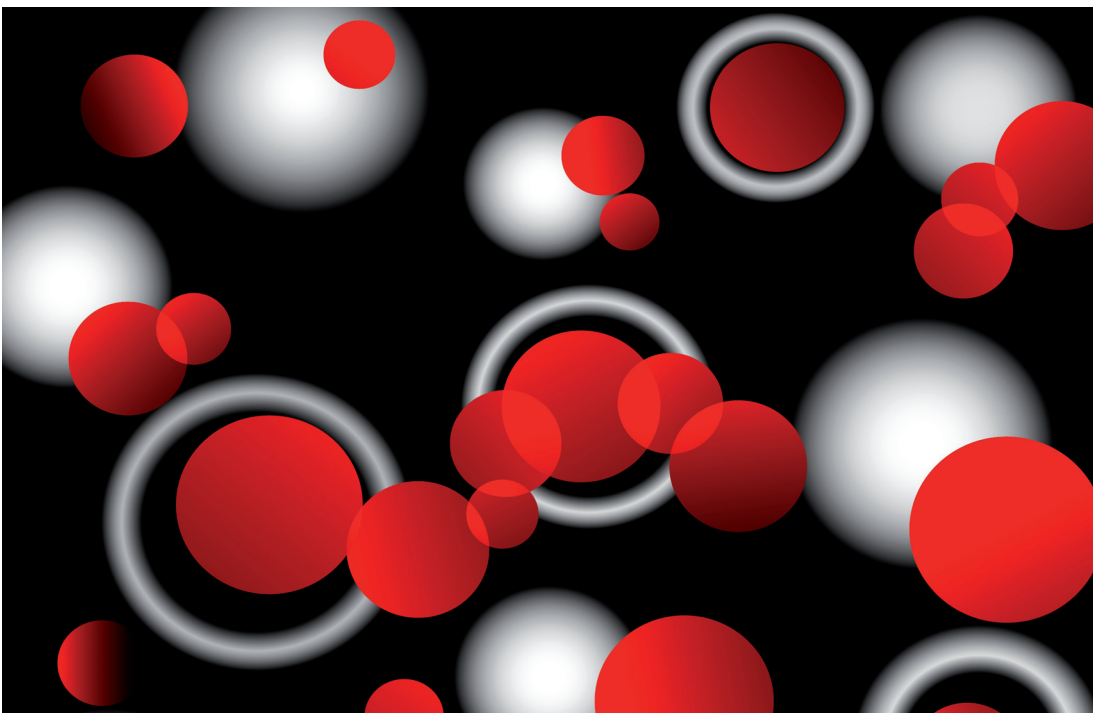


Viera Fábryová a kolektív

Imunohematológia a transfúzna medicína pre prax



Doc. MUDr. Viera Fábryová, CSc.

Docentka v oblasti laboratórnych vyšetrovacích metód v hematológii, prednáša na Slovenskej zdravotníckej univerzite a Vysokej škole sv. Alžbety, pracuje ako odborná redaktorka časopisu Lekársky obzor a ako klinický hematológ v Nemocnici sv. Michala v Bratislave. Centrom jej záujmu sú choroby červenej krvnej zložky a transfúzna medicína. Je autorkou dvoch monografií, autorkou a spoluautorkou ďalších vedeckých publikácií, prednáša doma i v zahraničí. V minulosti vydala aj zbierky poézie.



Viera Fábryová, Daniela Cupaníková, Ľudmila Grmanová,
Mikuláš Hrubíško, Matúš Paulíny, Soňa Sládečeková,
Danica Staneková, Zuzana Lalahová Striežencová, Klára Svitekova

Imunohematológia a transfúzna medicína pre prax

Upozornenie pre čitateľov a používateľov tejto knihy

Všetky práva vyhradené. Žiadna časť tejto tlačenej či elektronickej knihy nesmie byť re-produkovaná a šírená v papierovej, elektronickej či inej podobe bez predchádzajúceho písomného súhlasu nakladateľa. Neoprávnené použitie tejto knihy bude **trestne stíhané**.

Doc. MUDr. Viera Fábryová, CSc., a kolektív

IMUNOHEMATOLÓGIA A TRANSFÚZNA MEDICÍNA PRE PRAX

Spoluautori:

MUDr. Daniela Cupaníková, RNDr. Ľudmila Grmanová, PhD.,
prof. MUDr. Mikuláš Hrubíško, CSc., MUDr. Matúš Paulíny, Soňa Sládečeková, doc.
MUDr. Danica Staneková, PhD., MUDr. Zuzana Lалуňová Striežencová, MPH, MUDr.
Klára Svitekovej

Recenzenti:

doc. MUDr. Libuša Ceizelová, DrSc., prof. MUDr. Adriana Sakalová, DrSc.

Vydanie odbornej knihy schválila Vedecká redakcia nakladateľstva Grada Publishing, a.s.

TIRÁŽ TIŠTĚNÉ PUBLIKACE:

© Grada Publishing, a.s., 2012

Cover Photo © allphoto, 2012

Vydala Grada Slovakia s.r.o.

Moskovská 29, Bratislava

ISBN 978-80-8090-002-1

ako svoju 4935. publikáciu

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

ISBN 978-80-247-4391-2

Zodpovedná redaktorka Mgr. Miroslava Kováčiková

Sadzba a zalomenie Jana Řeháková, DiS.

Ilustrácie MUDr. Miroslav Žigrai, PhD.

Schémy podľa predlôh autorov prekreslila Jana Řeháková, DiS.

Počet strán 224 + 8 strán farebnej prílohy

1. vydanie, Bratislava, Praha 2012

**Autori a nakladateľstvo ďakujú spoločnostiam Becton Dickinson Czechia s.r.o.,
Sysmex Slovakia s.r.o., Grifols International, S.A., EUREX MEDICA, spol. s.r.o.,
Slovenský Červený kríž, Johnson & Johnson, s.r.o., divízia Janssen-Cilag,
Pro.Med.CS Praha a.s., p. Zuzana Mertusová za podporu, ktorá umožnila
vydanie publikácie.**



sysmex

GRIFOLS

Vytlačila Tiskárna PROTISK, s.r.o., České Budějovice

Názvy produktov, firiem a pod., použité v tejto knihe, môžu byť ochrannými známkami alebo registrovanými ochrannými známkami príslušných vlastníkov, čo však nie je zvláštnym spôsobom vyznačené.

Postupy a príklady v knihe, rovnako aj informácie o liekoch, ich formách, dávkovaní a aplikácii sú zostavené s najlepším vedomím autorov. Z ich praktického uplatnenia nevyplývajú pre autorov ani pre nakladateľstvo žiadne právne dôsledky.

ELEKTRONICKÉ PUBLIKACE:

ISBN 978-80-247-8247-8 (pro formát PDF)

ISBN 978-80-247-8248-5 (pro formát EPUB)

Obsah

Zoznam autorov	10
Zoznam skratiek	11
Úvod	15
1 História, súčasnosť a perspektívy imunohematológie a transfúziológie v Slovenskej republike	17
2 Imunohematológia	21
2.1 Základné pojmy	21
2.2 Antigény erytrocytov	24
2.2.1 Genetika	25
2.2.2 Expresivita antigénov	28
2.2.3 Biochémia antigénov	29
2.2.4 Účinok enzýmov a iných chemikálií na erytrocytové antigény	31
2.3 Antierytrocytové protilátky	31
2.4 Krvné skupiny	35
2.4.1 AB0 systém	36
2.4.2 Rh systém	38
2.4.3 Ďalšie krvné skupiny erytrocytov	39
2.5 Antigény leukocytov a trombocytov	45
2.5.1 Význam HLA systému pre transfúziu	46
2.5.2 Ďalšie antigény leukocytov a trombocytov	47
2.6 Biologická funkcia antigénov krvných skupín	48
2.6.1 Receptory pre mikroorganizmy	50
2.6.2 Adhezívne molekuly	51
2.6.3 Membránové transportéry a kanály	52
2.7 Imunohematologické vyšetrenia	53
2.7.1 Štandardné pracovné laboratórne postupy	53
2.7.2 Špeciálne pracovné laboratórne postupy	54
3 Autoimunitne podmienené anémie a trombocytopénie	68
3.1 Autoimunitná hemolytická anémia s tepelnými protilátkami ...	69
3.2 Autoimunitná hemolytická anémia s chladovými protilátkami	71

3.3	Imunitné hemolytické anémie vyvolané liekmi	72
3.4	Paroxysmálna nočná hemoglobinúria (PNH)	73
3.5	Primárna imunitná trombocytopenia	74
4	Hemolytická choroba plodu a novorodenca	76
4.1	Etiopatogenéza	76
4.1.1	Inkompatibilita v Rh systéme	76
4.1.2	Inkompatibilita v AB0 systéme	78
4.1.3	Inkompatibilita v ostatných krvnoskupinových systémoch	78
4.2	Klinický obraz	78
4.3	Laboratórne vyšetrenia	79
4.4	Liečba	80
4.5	Profylaxia Rh imunizácie	82
4.6	Imunohematologická starostlivosť o gravidnú ženu	82
4.7	Fetálna aloimunitná trombocytopenia	83
4.8	Fetálna aloimunitná granulocytopenia	83
5	Darcovstvo krvi	85
5.1	Zákon 362/2011 Z. z. SR, čiastka 117, štvrtý oddiel, § 13 o osobitných podmienkach na prípravu transfúzných liekov	85
5.2	Etický kódex darcovstva krvi a krvných buniek	86
5.3	Nábor a ocenenie darcov krvi	88
5.4	Výber darcov krvi a darovanie krvi	91
5.4.1	Príprava a vyšetrenie darcu krvi pred odberom	92
5.4.2	Vyradovanie darcov krvi	93
5.4.3	Frekvencia darovania krvi	95
5.4.4	Odber krvi	95
5.4.5	Komplikácie odberu krvi	96
5.5	Autotransfúzie (autológy odber krvi)	97
5.5.1	Prístrojové autotransfúzie	99
5.6	Aferézy	100
5.6.1	Produktívna plazmaferéza	101
5.6.2	Produktívna cytaferéza	101
5.7	Vývoj darcovstva krvi v SR	102
6	Príprava transfúzných liekov	105
6.1	Metabolizmus erytrocytov	105
6.2	Metabolické zmeny v erytrocytoch počas skladovania	108
6.3	Konzervačné roztoky	108

6.4	Spracovanie krvi	109
6.5	Transfúzne lieky	111
6.5.1	Celá krv	111
6.5.2	Erytrocytové koncentráty	111
6.5.3	Čerstvá zmrazená plazma	113
6.5.4	Kryoprecipitát	114
6.5.5	Krvné deriváty (frakcionovaná plazma)	115
6.5.6	Trombocytové koncentráty	115
6.5.7	Koncentrát autológnych (alogénnych) kmeňových buniek	116
6.5.8	Granulocytový koncentrát z aferézy	116
6.5.9	Prípravky pre špecializovanú pediatrickú a neonatologickú starostlivosť	117
6.6	Ceny niektorých vybraných transfúzných liekov (NTS SR roku 2011)	117
7	Výšetrenie transfúzných liekov	118
7.1	Infektologické minimum	118
7.1.1	Helminty	118
7.1.2	Protozôa	119
7.1.3	Baktérie	121
7.1.4	Vírusy	123
7.1.5	Prióny	128
7.2	Infektologické výšetrenia a výšetrenie alanínaminotransferázy (ALT)	129
7.2.1	Protilátky anti-HCV	130
7.2.2	HBsAg	130
7.2.3	Protilátky anti-HBc	130
7.2.4	Výšetrenie na syfilis	131
7.2.5	Protilátky anti-HIV	132
7.2.6	Výšetrenie alanínaminotransferázy (ALT)	132
7.2.7	Protilátky anti-CMV	132
7.2.8	Konfirmačné výšetrenia	133
7.3	Imunohematologické výšetrenia	135
7.4	Prepúšťanie, uskladnenie a preprava transfúzných prípravkov	136
7.4.1	Prepustenie transfúzneho prípravku	136
7.4.2	Systém spätnej kontroly (look-back)	138
7.4.3	Skladovanie a preprava transfúzných prípravkov	138
7.4.4	Dokumentácia	139

8 Krvné banky	140
9 Hemoterapia	143
9.1 Transfúzie erytrocytových prípravkov	143
9.2 Liečba anémie	144
9.3 Transfúzie trombocytových koncentrátov	146
9.4 Liečba trombocytopénie	148
9.5 Transfúzie plazmy	149
9.6 Liečba čerstvou zmrazenou plazmou a plazmatickými prípravkami	149
9.7 Liečebné aferézy	151
9.8 Spotreba transfúzných liekov v SR	152
9.9 Postup pri podávaní transfúzie	153
10 Liečba masívneho krvácania	156
10.1 Fyziológia krvných strát	156
10.2 Úloha krvnej banky a imunohematologického laboratória ...	158
10.3 Liečebný postup	161
11 Transfúzne reakcie	166
11.1 Hemolytické transfúzne reakcie	166
11.1.1 Akútna intravaskulárna hemolytická reakcia	167
11.1.2 Neskorá hemolytická reakcia	169
11.1.3 Syndróm TRALI	170
11.2 Nehemolytické transfúzne reakcie	171
11.3 Transfúzne reakcie po podaní trombocytových koncentrátov	173
11.4 Hlásenie a riešenie transfúzných reakcií	173
12 Výchova k racionálnej hemoterapii a hospodáreniu s transfúznymi liekmi	175
12.1 Racionálna hemoterapia v Európskej únii a v Slovenskej republike	175
12.2 Pacient a transfúzia krvi (náboženské výhrady k transfúzii krvi)	179
12.3 Odporúčania pre racionálnu hemoterapiu a hospodárenie s transfúznymi liekmi	180
13 Hemovigilancia	181

14 Náhrady krvi a kyslíkové lieky	185
14.1 Prípravky na báze hemoglobínu	185
14.2 Perfluorochemické emulzie	186
14.3 Modulácie erytrocytov	187
15 Spracovanie, kryokonzervácia a kontrola kvality	
krvotvorných buniek	188
15.1 Spracovanie a kryokonzervácia krvotvorných buniek	188
15.1.1 Periférne krvotvorné bunky (PKB)	188
15.1.2 Spracovanie buniek kostnej drene (KD)	192
15.1.3 Spracovanie buniek z odberu placentárnej krvi (CBU) ...	194
15.2 Kontrola kvality krvotvorných buniek	194
Príloha 1 (so súhlasom NTS SR)	196
Príloha 2 (so súhlasom NTS SR)	199
Príloha 3	208
Príloha 4	209
Príloha 5	209
Príloha 6 (so súhlasom NTS SR)	210
Literatúra	214
Internetové adresy	216
Legislatíva Európskej únie	217
Legislatíva SR	217
Register	219
Súhrn	223
Summary	224

Zoznam autorov

MUDr. Daniela Cupaníková – *Národná transfúzna služba SR, Bratislava*

doc. MUDr. Viera Fábryová, CSc. – *Nemocnica sv. Michala, Bratislava*

RNDr. Ľudmila Grmanová, PhD. – *Národná transfúzna služba SR, Nitra*

Prof. MUDr. Mikuláš Hrubisko, CSc. – *Katedra hematológie a transfúziológie Slovenskej zdravotníckej univerzity, Bratislava*

MUDr. Matúš Paulíny – *Klinika anesteziológie a intenzívnej medicíny Univerzitnej nemocnice, Bratislava*

Soňa Sládečeková – *Slovenský Červený kríž, Bratislava*

Doc. MUDr. Danica Staneková, PhD. – *Národné referenčné centrum pre prevenciu HIV/AIDS, Bratislava*

MUDr. Zuzana Lalahová Striežencová, MPH – *Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Bratislava*

MUDr. Klára Svitekova – *Národná transfúzna služba SR, Bratislava*

Zoznam skratiek

ACD	– natrium citricum, acidum citricum, glucosum, (antikoagulačno-výživný roztok)
ADAMTS 13	– proteáza štiepiaca multiméry von Willebrandtovho faktora
ADP	– adenosindifosfát
ADSOL	– resuspenzný roztok
AGH	– ľudské antiglobulínové sérum
AIDS	– získaný imunodeficientný syndróm
ALT	– alanínaminotransferáza
AMP	– adenosínmonofosfát
Anti-HBc	– protilátka proti dreňovému (core) antigénu vírusu hepatitídy B
Anti-HCV	– protilátka proti vírusu hepatitídy C
ARDS	– Acute Respiratory Distress Syndrome
ATP	– adenosíntrifosfát
Aua, Aub	– antigény systému Auberger
B-CAM	– adhezívna molekula bazálnej membrány
BDK	– bezpríspevkový darca krvi
C1q	– úvodná zložka komplementu
CBU	– jednotka placentárnej krvi z pupočníka, Cord Blood Unit
CFU-GM	– jednotka tvoriaca kolónie granulocytov a makrofágov
CJD	– Creutzfeldova-Jakobova choroba
CMIA	– chemoluminiscenčná imunoanalýza na mikročasticich
CMV	– cytomegalovírus
CNS	– centrálny nervový systém
Coa, Cob	– antigény systému Colton
CPD	– natrium citricum, acidum citricum, natrium phosphoricum, glucosum (antikoagulačno-výživný roztok)
CPDA	– natrium citricum, acidum citricum, natrium phosphoricum, glucosum, adenín (antikoagulačno-výživný roztok)
ČZP	– čerstvá zmrazená plazma
DAF	– faktor urýchľujúci rozpad (Decay Accelerating Factor)
DARC	– chemokínový receptor, Duffy antigén
DDAVP	– desmopressin
Dia, Dib	– antigény systému Diego
DMSO	– dimetylsulfoxid

DNA	– dezoxyribonukleová kyselina
Doa, Dob	– antigény systému Dombrock
Dva,tri-DPG	
(2,3-DPG)	– dva-tridifosfoglycerát
EBMT	– Európska skupina pre transplantáciu kostnej drene
ELISA	– enzýmová imunoanalýza (Enzyme-Linked Immuno-sorbent Assay)
En	– antigén skupinového systému MNSs
ER	– erytrocyty resuspendované
ERB	– erytrocyty resuspendované bez buffy coatu
ERD, ED	– erytrocyty deleukotizované
FISH	– fluorescenčná <i>in situ</i> hybridizácia
fl	– femtoliter
Fya, Fyb, Fyx,	
Fy	– antigény systému Duffy
GA	– granulocytový koncentrát z aferézy
G-CSF	– granulocyty stimulujúci faktor
Ge _{1,2,3}	– antigény systému Gerbich
GM- CSF	– granulocyty a makrofágy stimulujúci faktor
GPI	– glykozylfosfatidylinozitol
GvHD	– reakcia štepu proti hostiteľovi (Graft-versus Host Reaction)
GvL	– reakcia štepu proti leukémii
Gy	– gray, jednotka žiarenia
Hb	– hemoglobín
HBcAg	– dreňový (core) antigén vírusu hepatitídy B
HBeAg	– e-antigén vírusu hepatitídy B
HBsAg	– povrchový (surface) antigén vírusu hepatitídy B
HDFN	– hemolytická choroba plodu a novorodenca
HELLP	– hemolýza, zvýšené pečeňové testy, trombocytopenia
HEŠ	– hydroxyetylškrob
HIV	– vírus ľudskej imunodeficiencie
HLA	– ľudské leukocytové antigény (Human Leucocyte Antigen)
HL-X	– gén lymfocytov
HNA	– antigénny systém neutrofilov
HPA	– antigénny systém trombocytov
Ht	– hematokrit
HTLV I.	– ľudský vírus T-bunkovej leukémie typu I
HTLV II.	– ľudský vírus T-bunkovej leukémie typu II
ICAM-4	– intercelulárna adhezívna molekula

IFBDO	– Medzinárodná federácia organizácií darcovstva krvi
IFRC	– Medzinárodná federácia Červeného kríža a Červeného polmesiaca
Ii	– antigény systému Ii
IL	– interleukín
IMP	– inozínmonofosfát
INR	– iniciálne nereaktívny
IR	– iniciálne reaktívny
ISBT	– Medzinárodná spoločnosť pre krvnú transfúziu
ITP	– primárna imunitná trombocytopenia
JACIE	– Medzinárodné akreditačné komisie
Jedna,tri-DPG	
(1,3-DPG)	– jedna,tri-difosfoglycerát
Jk, Jka, Jkb	– antigény systému Kidd
Jsa, Jsb	– gény skupinového systému Kell
Kk (Celano),	
Kpa, Kpb	– gény skupinového systému Kell
KKB	– koncentrát kmeňových buniek
Lan	– antigén Laangreis
LDH	– laktátdehydrogenáza
Lele	– gény skupinového systému Lewis
Lua Lub	– gény skupinového systému Lutheran
LyD1, Ly-Co	– antigény lymfocytov
MEIA	– enzýmová imunoanalýza na mikročasticiach
MFS	– mononukleofagocytárny systém
MHC	– veľký histokompatibilný komplex
MNSs, Mg, Mc,	
Mv, Mk	– antigény systému MNSs
MRD	– minimálne reziduálne ochorenie
MZ SR	– Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky
NAD/NADH	– nikotínamidnukleotid (oxidovaná, redukovaná forma)
NADP/	
NADPH	– nikotínamidnukleotidfosfát (oxidovaná, redukovaná forma)
NTS SR	– Národná transfúzna služba Slovenskej republiky
P ₁ , P ₂ (P),	
p, pk	– antigény skupinového systému P
PCR	– polymerázová reťazová reakcia
PEG	– polyetylén glykol

PPSB	– koncentrát koagulačných faktorov (FII, FVII, FIX, FX)
RBC	– erytrocyt (Red Blood Cell)
RHBG	– gén Rh systému
RHCG	– gén Rh systému
RNA	– ribonukleová kyselina
RR	– opakovane reaktívny
RRR	– rýchla reagínová reakcia
SAG-M	– resuspenzný roztok
SARS	– ťažký akútne respiračný syndróm
SČK	– Slovenský Červený kríž
Sese	– skupinový systém, gény vylučovateľstva
Sta	– antigén skupinového systému MNSs
T	– trombocyty z jednej jednotky celej krvi
TA	– trombocyty z aferézy
TAD	– trombocyty z aferézy deleukotizované
Tja	– antigén skupinového systému P
TK – pool	– trombocyty z celej krvi poolované
TKBD	– trombocytový koncentrát deleukotizovaný z poolu buffy coatov
Tn Tn	– kryptantigény
TNF	– tumor nekrotizujúci faktor
TPHA	– test na vyšetrenie luesu (Treponema pallidum particle agglutination assay)
Tr	– trombocyty
TRALI	– transfúziou vyvolané akútne poškodenie pľúc (Transfusion-Related Acute Lung Injury)
TU	– transfúzna jednotka
U	– antigén skupinového systému MNSs
UV	– ultrafialové svetlo
VDRL	– test na vyšetrenie luesu (Venereal Disease Research Laboratory)
VEL	– antigén VEL
WHO	– Svetová zdravotnícka organizácia
WMDA	– Svetová asociácia darcov kostnej drene
WNV	– západonílsky vírus
Xga	– antigén systému Xg
Yta, Ytb	– antigény systému Cartwright

Úvod

K napísaniu predloženej publikácie ma viedli dva dôvody.

Prvým bola skutočnosť, že hoci transfuziológia je odbor, ktorý využívajú skoro všetky odvetvia medicíny, málo zdravotníckych pracovníkov pozná **celý priebeh procesu od odberu krvi darcovi až po výrobu krvných konzerv a ich prípravu na podanie pacientovi**. Lekárska verejnosť je tiež málo informovaná o hodnote transfúzných liekov. V mnohých prípadoch dochádza preto k zjednodušenému pohľadu na transfuziológiu, čo vedie k nesprávnej indikácii až zneužívaniu krvných prípravkov. Druhým dôvodom bolo, že na Slovensku už dlhé roky nevyšla samostatná publikácia venovaná imunohematológii a transfuziológii, čo sťažuje **štúdium** poslucháčom lekárskeho fakúlt a ostatných vysokých škôl so zdravotníckym zameraním.

Darcovstvo krvi a výroba transfúzných prípravkov je **tímová práca**. Žiadny iný medicínsky odbor nezávisí od spolupráce so spoločnosťou tak ako transfuziológia. Jej centrálnym a prvým článkom v reťazi je dobrovoľný darca krvi. Pokiaľ vo všetkých ostatných odboroch medicíny je to pacient, ktorý prichádza k lekárovi s prosbou o pomoc, v tomto jedinom prípade je to dobrovoľný darca krvi, zdravý jedinec, ktorý ponúka pomoc zdravotníkom. Cez svoje humanitné a hlboko ľudské cítenie daruje cestou transfúznej služby krv, z nej sa vyrobí transfúzny liek, ktorý sa často nedá ničím iným nahradiť.

Odbor je špecifický aj tým, že zahŕňa úsilie mnohých odborníkov, nielen lekárov či zdravotných sestier. Nábor a organizáciu darcov krvi zariaďujú náboroví pracovníci, najmä zo Slovenského Červeného kríža, v odbore sa uplatňujú prírodovedci, inžinieri, technici, manažéri, marketingoví pracovníci, mikrobiológovia, hygienici, biochemici a ďalší špecialisti. Všetci sa zúčastňujú na odbere, spracovaní a testovaní krvných konzerv, na správnej distribúcii a predpisovaní prípravkov, ako aj dodržiavaní bezpečnosti transfúzie.

Napokon, vo finálnom štádiu, je ďalším špecifikom odboru spolupráca s **farmaceutickým priemyslom**. Pokiaľ ostatné odbory nakupujú lieky a zdravotnícke produkty od firiem na liečbu pacientov, v tomto prípade farmaceutické firmy spracovávajúce krvnú plazmu na špeciálne prípravky závisia od produkcie krvi a spolupráce s transfúznymi centrami.

Odbor sa neustále rozširuje a vyvíja, pribúdajú ďalšie problémy, ktoré treba riešiť. Hlavné výzvy ležia v oblasti masívnych chirurgických

a popôrodných krvácaní, hemolytických anémií, imunologických problémov, hemovigilancie, pomalých vírusov, kmeňových materských buniek a alternatívnych náhrad nosičov kyslíka. Tým transfuziológia zasahuje nielen do iných medicínskych odborov, ale aj ďaleko za hranice medicíny.

Predložená publikácia je zameraná na **dennú zdravotnícku prax**. Snaží sa priblížiť čitateľovi problematiku transfuziológie, oboznámiť ho so súčasným stavom v darcovstve krvi, v jej spracovaní a použití v hemoterapii, ako aj vyzdvihnúť aktuálne trendy a niektoré problémy v odbore.

Dnes, v ére mimoriadnej špecializácie je problém, aby celistvý, ale pritom zrozumiteľný obraz o celom procese od odberu krvi darcovi až po podanie transfúzie pacientovi podal len jeden človek. Vzhľadom na to autorka publikácie prizvala k jej vytvoreniu významných **odborníkov** z príslušných oblastí, aby aj formou rozhovorov oboznámila čitateľov s najnovšími trendmi v problematike. Sama spracováva svoje skúsenosti z pracovísk v Bratislave, z pracoviska Červeného kríža v Berne a vo Viedni. Počas svojho dlhoročného pedagogického pôsobenia vo výchove bakalárov a magistrov v oblasti laboratórnych vyšetrovacích metód v hematológii a transfuziológii mala možnosť získať široký obraz o problematike na Slovensku. Niektoré záverečné práce jej **študentov**, väčšinou ľudí z praxe, dosiahli vysokú odbornú úroveň a priniesli cenné poznatky. Bola by škoda, keby sa uvedené výsledky po obhájení práce nedostali na verejnosť. Preto prizvala na spoluprácu aj týchto kolegov. Napokon, v publikácii sú uverejnené aj niektoré oficiálne dokumenty (zákony, predpisy), ktorými sa imunohematológia a transfuziológia riadi.

Chcem sa poďakovať všetkým kolegom a kolegyniam, ktorí sa zúčastnili práce na uvedenej publikácii, najmä mojim recenzentkám, ktoré svojimi vzácnymi pripomienkami pomohli ku skvalitneniu práce. Chcem poďakovať aj MUDr. Miroslavovi Žigraiovi, PhD., za pomoc pri vytvorení obrázkovej dokumentácie. Vďaka patrí aj vydavateľstvu Grada, ktoré sa ochotne ujalo publikovania knižky, ako aj všetkým firmám a sponzorom, bez pomoci ktorých by ju nebolo možné vydať.

Veríme, že publikácia si nájde svojich čitateľov z radov študentov, ako aj v radoch odbornej verejnosti, aby im priblížila túto vysoko humánnu, dôležitú a stále aktuálnu problematiku.

Viera Fábryová

1 História, súčasnosť a perspektívy imunohematológie a transfuziológie v Slovenskej republike

Hlavným krédom transfuziológie je bezpečnosť transfúzií a ich podanie len vtedy, keď benefit prevažuje nad rizikom.

Už v dávnej minulosti si ľudia všimli, že s krvou unikajúcou z tela odchádza aj život. Preto pripisovali krvi životodarné účinky a nadprirodzenú moc. Primitívne národy pili krv nepriateľov, aby získali ich silu. Z krvi sa pripravovali zázračné nápoje. Napokon krv sa spájala s omladzovacími účinkami, na čo máme práve v našej histórii príklad neslávne známej grófký Báthory.

Zásadný objav v modernej transfuziológii sa spája s objavením krvného obehu (W. Harvey, 1616). Nasledovali prvé pokusy transfundovať krv medzi zvieratami, keď R. Lower roku 1665 spojil krčné tepny dvoch psov. Prvá úspešná transfúzia krvi u človeka sa vykonala roku 1667, keď lekár francúzskeho kráľa Ľudovíta XIV. J. B. Denis použil krv jahňata. Nasledujúce pokusy s používaním zvieracej krvi boli neúspešné, preto boli transfúzie na dlhú dobu zakázané. Až v roku 1819 ako prvý úspešne použil ľudskú krv J. Blundell, ktorý zostrojil prístroj uľahčujúci transfúziu krvi. Tento pôrodník sa snažil o záchranu vykrvácaných rodičiek po pôrode. Zachytával krv z vaginálneho popôrodného krvácania za pomoci hubky, zachytené krvinky rozriedil vo fyziologickom roztoku a vrátil späť do žily pacientke. Aj keď metóda bola spojená až so 75% mortalitou, znamenala prvý pokus v používaní autológnej transfúzie krvi. Podobne roku 1886 J. Duncan použil autotransfúziu pri amputácii nohy, kedy zachytenú krv vrátil pacientovi do femorálnej žily. Tieto postupy sa využívali so striedavým úspechom.

Konečne najväčším krokom vpred v histórii transfuziológie bol objav fenoménu aglutinácie, ktorého autorom bol viedenský lekár K. Landsteiner roku 1901. Vo svojej práci *Über Agglutinationserscheinungen normaler menschlicher Blute* popísal rozdielne zhlukovanie erytrocytov troch krvných skupín. Až v roku 1907 český psychiater J. Jansky objavil existenciu štyroch základných krvných skupín, ktoré sa neskôr označili ako A, B, AB, 0. V roku 1910 k podobnému výsledku dospel aj W. L. Moss

v Amerike. V roku 1924 J. Bernstein objavil dedičnosť krvných skupín v ABO systéme, čím sa stal zakladateľom imunogenetiky. Ďalším veľkým objavom bol poznatok, že citrónan sodný zabezpečí nezrážanlivosť krvi (A. Hustin, L. Agote, R. Lewinston), ďalej, že schladená krv sa dá uchovávať niekoľko dní (R. Weil) a pridanie citrátovo-glukózového roztoku umožní jej dlhšie prežívanie a skladovanie (F. Peyton Rous, J. R. Turner).

V dvadsiatych rokoch minulého storočia bol založený prvý register darcov krvi (P. L. Oliver) a v tridsiatych rokoch sa začal používať pojem „krvná banka“ pre skladovanú krv. V roku 1936 bola založená ako prvá krvno-skupinová služba v Barcelone.

Druhá svetová vojna spôsobila, že vojnové zranenia a boj o záchranu životov viedli k ďalšiemu rozširovaniu a zdokonaľovaniu transfúznej služby, vrátane transfuziologickej techniky.

Podobne nasledoval mohutný rozvoj v imunohematológii, najmä objav ďalšieho významného krvnoskupinového systému Rh (K. Landesteiner a A. S. Wiener, 1941).

Prvú úspešnú transfúziu krvi u nás podal v roku 1936 košický chirurg prof. J. Kňazovický.

Po druhej svetovej vojne v roku 1948 vo vtedajšom Československu vznikol jednotný odbor hematológie a transfuziológie. Na Slovensku ho založil prof. M. Hrubisko, ktorý vychoval celý rad špecialistov v odbore a bol autorom mnohých prioritných objavov v imunohematológii. So svojimi spolupracovníkmi M. Bušovou, L. Ceizelovou, K. Hrubiskovou, E. Danihelovou, E. Kubánovou, A. Sakalovou a mnohými ďalšími vybudoval prvé transfuziologické pracovisko na Klinike hematológie a transfuziológie v Bratislave, po ktorom nasledovalo založenie ďalších pracovísk, najmä vo väčších mestách.

V bývalom Československu vplyvom socialistického myslenia, kolektivizácie a rôznych odborárskych aktivít, dosiahlo bezpríspevkové darcovstvo svoj „zlatý vek“. Na Slovensku bolo viac ako päťdesiat odberových miest a získavalo sa dvestotisíc odberov ročne. Posledným technickým revolučným krokom bolo tiež zavedenie uzavretého odberového systému, plastových vakov, ktoré nahradili sklenené fľaše a umožnili zefektívniť organizáciu transfúznej služby. Problémom však bola nerovnomerná a nepružná distribúcia krvných prípravkov – pokým veľké chirurgické centrá trpeli stálym nedostatkom krvi, v malých centrách odmietali darcov krvi. Ďalším problémom bola cena krvných prípravkov. Hoci mali svoju nákladovú cenu, nemocnice za ňu neplatili.

Tento stav viedol k nevyhnutnej zmene riadenia a organizácie transfúznej služby na Slovensku, aby čo najefektívnejšie plnila úlohy súvisiace s produkciou krvných prípravkov a zabezpečila ich dostupnosť pre pacientov v jednotlivých nemocniciach. Nový vývoj v Európe po roku 1989 viedol tiež k nutnosti zaviesť náročné normy na výrobu transfúzných produktov platné v transfúznej službe v Európe.

Ministerstvo zdravotníctva SR preto podľa ustanovenia zákona Národnej rady SR č. 277/1994 Z. z. o zdravotnej starostlivosti v znení neskorších predpisov a podľa ustanovenia § 21 ods. 4 písm. b/ zákona Národnej rady SR č. 303/1995 Z. z. o rozpočtových pravidlách v znení neskorších predpisov ako zriaďovateľ štátnych zdravotníckych zariadení zriadilo s účinnosťou od 1. 1. 2004 **Národnú transfúznú službu SR (NTS SR)**, štátnu príspevkovú organizáciu s právnou subjektivitou so sídlom v Bratislave. Za základný účel zriadenia NTS SR sa vyhlásilo plnenie úloh súvisiacich s komplexnou produkciou transfúzných prípravkov v podmienkach maximálnej efektívnosti, zabezpečením hemoterapie najvyššej možnej kvality a bezpečnosti v požadovanom objeme s cieľom dosiahnutia národnej sebestačnosti v jej produkcii. Účelom zriadenia organizácie bolo aj doriešenie odporúčaní, aby krv a jej zložky vykazovali v rámci krvného transfúzneho reťazca vo všetkých regiónoch SR porovnateľnú kvalitu a bezpečnosť, pričom prioritou pri odbere, spracovaní, distribúcii a využití krvi a jej zložiek je ochrana zdravia verejnosti a účinná prevencia prenosu infekcií. Na tvorbe projektu sa zúčastnila ďalšia generácia imunohematológov a transfuziológov ako napríklad D. Cupaníková, E. Fehervízyová, D. Holomáňová, D. Pavlíková, M. Peprný, J. Rosochová, K. Sviteková a ďalší.

Náplň transfuziológie dnes realizuje NTS SR, jej spracovateľské a spolupracujúce (odberové) centrá. V súčasnosti má samotná NTS SR jedenásť pracovísk, pričom všetky okrem krvných odberov vo vlastnom centre vykonávajú aj mobilné výjazdy do miest, ktoré spadajú do ich pôsobnosti. Na Slovensku okrem toho pracuje aj tridsaťdva ďalších certifikovaných hematologicko-transfuziologických centier pri nemocniciach.

Činnosť NTS SR koordinuje a kontroluje MZ SR prostredníctvom **hlavného odborníka** v spolupráci s výborom Slovenskej hematologickej a transfuziologickej spoločnosti Slovenskej lekárskej spoločnosti a s **Národnou transfúznou komisiou**, ktorá je poradným orgánom MZ SR.

V blízkej budúcnosti je plánovaná realizácia projektu s názvom **Dobudovanie infraštruktúry Národnej transfúznej služby v SR** so založením troch spracovateľských centier v Bratislave, v Banskej Bystrici

a v Košiciach. Cieľom je centralizácia spracovávanía transfúzných liekov, ekonomizácia ľudského a materiálneho potenciálu a zabezpečenie čo najkvalitnejšej hemoterapie pre pacienta.

Trendy NTS SR pre najbližších 10–15 rokov:

- centralizácia kľúčových činností v transfúznej službe na pracoviskách NTS SR, unifikácia a prepojenie jednotným informačným systémom pracovísk NTS SR,
- zavedenie nových výrobných a diagnostických technológií,
- kontinuálne zvyšovanie kvality a bezpečnosti transfúzných liekov v zmysle zvyšovania podielu deleukotizovaných transfúzných liekov a využitia produktívnych hemaferéz,
- zavedenie trombocytovej a leukocytovej imunológie s cieľom komplexnej diagnostiky transfúzných komplikácií a ich prevencie ako aj diagnostiky niektorých ochorení,
- kontinuálne a komplexné zlepšovanie a rozširovanie systémov kvality s priamou nadväznosťou na certifikáciu a akreditáciu,
- kontrola realizácie zásad správnej výrobnéj praxe prípravy transfúzných liekov a správnej výrobnéj praxe vo všetkých oblastiach činnosti,
- využívanie progresívnych techník na detekciu transfúziami prenosných infekcií,
- spolupráca pri tvorbe katalógov výkonov a následne pri zozname výkonov.

2 Imunohematológia

2.1 Základné pojmy

Krv je vysoko špecializovaná tekutina, ktorá zabezpečuje v tele rôzne životné funkcie. Skladá sa z krviniek a z tekutej časti, plazmy. Prúdi v cievach a do celého organizmu roznáša kyslík a výživné látky, odoberá oxid uhličitý a odpadové látky. Okrem toho spĺňa regulačnú, imunitnú, očisťujúcu a termoregulačnú funkciu. V ľudskom tele pripadá na každý kilogram hmotnosti asi 70–75 ml krvi, z celkovej hmotnosti je to asi sedem až osem percent. Dospelý človek má približne päť litrov krvi.

Krvná plazma obsahuje rôzne organické a anorganické látky, z ktorých až 80 % tvorí voda. Z organických látok sú to rôzne bielkovinové a nebielkovinové dusíkaté látky, lipidy, sacharidy a mnohé ďalšie. Z anorganických sú to vápnik, horčík, sodík, draslík a z hematologického hľadiska dôležité železo, meď a kobalt. Tekutosť krvi zabezpečuje zložitý systém špeciálnych bielkovín, faktory krvného zrážania.

V krvi rozoznávame tri druhy buniek: **erytrocyty** (červené krvinčky), **leukocyty** (biele krvinky) a **trombocyty** (krvné doštičky).

Erytrocyty sa tvoria v kostnej dreni a do krvného obehu sa dostávajú cez drobné otvory medzi endotelovými bunkami ciev. Mladé bunky, ktoré obsahujú ešte zvyšky RNA, sa nazývajú retikulocyty. Erytrocyty patria k najšpecializovanejším bunkám, hoci dospelé erytrocyty nemajú jadro, ani iné organely. Majú v priemere asi 7,5 μm a objem 80–100 femtolitrov. Pri pohľade v mikroskope sú to okrúhle útvary s prejasnením v strede, z boku majú tvar piškóty. Membránu erytrocytov tvorí fosfolipidová dvojvrstva, v ktorej sú zakotvené rôzne molekuly glykolipidov a glykoproteínov. Pod membránou na vnútornej strane sa nachádza sieť proteínov a glykoproteínov, cytoskelet, ktorý udržiava pevnosť a zároveň aj elasticnosť membrány. Vo vnútri erytrocytu sa nachádza hemoglobín, krvné farbivo, ktoré sa skladá zo štyroch feroprotoporfyrínových komplexov, tzv. hémov. V strede feroprotoporfyrínového komplexu sa nachádza atóm železa. Hém je naviazaný na globínový reťazec. Zo štyroch globínových reťazcov v molekule hemoglobínu dva sú vždy tzv. alfa reťazce a dva non-alfa reťazce. Dospelý hemoglobín A má tak alfa₂ beta₂ reťazce, druhý najčastejší dospelý hemoglobín A₂ (tvorí asi 3,5 %) má alfa₂ delta₂ reťazce a fetálny hemoglobín F má alfa₂ gama₂ reťazce. Energiu získava zrelý

erytrocyt z cyklu anaeróbnej glykolýzy, len asi 10 % aeróbnou cestou z tzv. hexózonofosfátového shuntu.

Leukocyty v zrelom štádiu sa delia na granulocyty (majú granuly v cytoplazme) alebo polynukleáry (majú polymorfne jadro) a na mononukleáry, bunky s kompaktným jadrom, kam patria lymfocyty a monocyty. Granulocyty sa ďalej delia na neutrofilné, eozinofilné a bazofilné podľa farbitelnosti ich granúl.

Základnou úlohou leukocytov je obrana proti cudzorodým látkam a mikroorganizmom, ktoré sa dostávajú do organizmu. Zúčastňujú sa aj na zneškodňovaní abnormálnych buniek a škodlivých látok vznikajúcich v samotnom organizme. Imunitný proces je nesmierne komplikovaný a vyžaduje si dôkladnú reguláciu všetkých zúčastnených zložiek. Pokým neutrofilné granulocyty zodpovedajú za nešpecifickú imunitu, lymfocyty sú nositeľmi špecifickej imunity. Lymfocyty sú už od vnútro-maternicového života naprogramované tak, že nereagujú imunitnou odpoveďou na vlastné tkanivá (autotolerancia). Naopak, po stretnutí s cudzorodou látkou si zachovávajú dlhodobé informácie (pamäťové bunky), takže po opätovnom stretnutí s rovnakým antigénom reagujú rýchlo a intenzívne. Granulocyty zneškodňujú cudzie mikroorganizmy pomocou fagocytózy (pohltenia) a vnútri bunky ich rozkladajú svojimi granulami s obsahom rôznych enzýmov. Lymfocyty zabezpečujú obranyschopnosť buď cytotoxickým účinkom (bunková imunita), ktorú vykonáva skupina T-lymfocytov alebo humorálnou imunitou (tvorbou protilátok), ktorú zabezpečujú B-lymfocyty. Monocyty vycestujú do tkanív, kde sa menia na makrofágy a zúčastňujú sa na ďalších imunitných procesoch.

Trombocyty, krvné doštičky, sú najmenšie samostatné bunky krvi. Tvoria sa v kostnej dreni odštiepovaním periférnej cytoplazmy z materských buniek – megakaryocytov. Ich priemer je asi 2,5 µm a objem 6–9 fl, v mikroskope sú viditeľné ako malé bezjadrové oválne alebo okrúhle telieska. Napriek tomu je štruktúra trombocytu zložitá. Membrána je tvorená dvojvrstvou fosfolipidov s viacerými kanálikovými systémami, cytoskeletom, kontraktilným aparátom a doštičkovými organelami. Granuly v cytoplazme obsahujú koagulačné faktory, enzýmy a makroergické fosfáty. Doštičky sú tak usposobené na svoju významnú funkciu v primárnej hemostáze, ako aj v celom koagulačnom procese.

Odbor hematológie a transfuziológie sa zaoberá problematikou krvi a jej zložky z dvoch rôznych hľadísk. **Hematológia** sa venuje etiológii, patogenéze, klinickým prejavom krvných chorôb a ich liečbe.

Transfuziológia sa zameriava na prípravu kvalitných krvných prípravkov a na bezpečnú hemoterapiu. Jej súčasťou je **imunohematológia**, vedný odbor, ktorý študuje vlastnosti krvi a krvných elementov z hľadiska zákonitostí imunitných reakcií prebiehajúcich v zdravom a chorom organizme. Základnými imunohematologickými pojmami je antigén a protilátka.

Antigén je zložitá organická molekula, ktorá sa nachádza väčšinou na bunkovej membráne. Môže vyvolať imunitnú odpoveď u jedinca, ktorého vlastný imunitný systém s ním bežne neprichádza do kontaktu. Odpoveďou je tvorba protilátky a jej väzba na uvedený antigén. Antigén môže mať viac *epitopov alebo antigénnych determinantov*, z ktorých každý je schopný vyvolať tvorbu protilátky. Nekompletný antigén, *haptén*, je schopný špecificky reagovať s už vytvorenými protilátkami, ale nie je schopný indukovať ich tvorbu.

Schopnosť antigénu vyvolať imunitnú odpoveď sa nazýva *imunogenicita*, schopnosť reagovať s protilátkou sa nazýva *antigenicita*. Tieto vlastnosti závisia od veľkosti antigénu, jeho tvaru a umiestnenia determinantov na povrchu erytrocytu. Pritom imunogenicita nezávisí len od počtu určitého antigénu na povrchu membrány. Krvná skupina zastúpená menším počtom antigénnych miest môže vyvolať silnejšiu imunitnú odpoveď ako krvná skupina s viacerými antigénnymi miestami.

Protilátky, imunoglobulíny, sú súčasťou gamaglobulínovej frakcie ľudského séra. Rozoznávame protilátky *prirodzené*, ktoré vznikli ako reakcia na antigény membrán rôznych baktérií, rastlín a iných organizmov, ktoré obklopovali človeka počas jeho fylogenetického vývoja a *imúnne*, ktoré vznikajú v procese imunizácie po prekonaní chorôb, v gravidite alebo po umelom kontakte s antigénom. Vtedy hovoríme o *aloimunitných* protilátkach. Protilátky, ktoré vznikajú proti bunkám vlastného organizmu, sa nazývajú *autoprotilátky*. Protilátky sa delia aj na *pravidelné*, ktoré sa vždy vyskytujú u jedinca, ostatné sú *nepravidelné*. Z iného hľadiska rozoznávame *kompletné* IgM a *inkompletné* IgG protilátky, keďže k laboratórnemu dôkazu potrebujú účasť fyzikálneho (centrifugácia) alebo chemického procesu (opracovanie krviniek enzýmom, antiglobulínové sérum).

V rade hemolytických reakcií hrá dôležitú úlohu **komplement**. V systéme sa zúčastňuje viac ako dvadsaťpäť sérových a membránových proteínov syntetizovaných v pečeni, v mononukleofagocytárnom systéme a v epiteliálnych bunkách. Jednotlivé zložky komplementu sa označujú písmenom C a arabskými číslami 1–9. Po styku antigénu s protilátkou