



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

**Imunohematologické vyšetření dárců na  
Hematologicko – transfúzním oddělení  
Nemocnice Písek a.s.**

## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Studijní program: **LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA**

**Autor:** Markéta Stašková

**Vedoucí práce:** Mgr. Pavla Moudrá

České Budějovice 2023

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Imunohematologické vyšetření dárců na Hematologicko – transfúzním oddělení Nemocnice Písek a.s.*“ jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2.5. 2023

Podpis

### **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat vedoucí práce Mgr. Pavle Moudré za odborné vedení, pomoc, cenné rady, ochotu a trpělivost. Také bych ráda poděkovala Mgr. Olze Dvořáčkové, Ph.D. za rady se statistickým zpracováním výsledků. A dále bych chtěla poděkovat vrchní laborantce Bc. Olze Sládkové z Nemocnice Písek a.s. z Oddělení klinické hematologie a transfúzní služby za pomoc, ochotu a trpělivost.

## **Imunohematologické vyšetření dárců krve na Hematologicko – transfúzním oddělení Nemocnice Písek a.s.**

### **Abstrakt**

Bakalářská práce na téma „Imunohematologické vyšetření dárců krve na Hematologicko – transfúzním oddělení v Nemocnici Písek a.s.“ se zaměřuje na problematiku imunohematologického vyšetření dárců plné krve, které zahrnuje vyšetření krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0 a RhD. Jak v minulosti, tak v dnešní době je darování krve nezbytné a dobrovolné. Existují organizace, které organizují náборы nových dárců. I když je darování krve v České republice zcela bezplatné, jsou dárcům poskytovány určité výhody – např. slevy na daních, volno v den odběru, atd. Darovaná krev je potřebná při různých operačních zákrocích, dále jako léčebný přípravek atd. Hlavním cílem bakalářské práce bylo zhodnotit počet dárců docházejících na odběrové místo HTO (Hematologicko – transfúzním oddělení) Nemocnice Písek a.s. v období 6 let a dále porovnat zastoupení jednotlivých krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a RhD se zastoupením krevních skupin v populaci. Ve výzkumné části bakalářské práce byl získán v rámci laboratorních vyšetření soubor dárců za roky 2017 – 2022, u kterých byla vyšetřena krevní skupina v krevně skupinovém systému AB0 (tedy A, B, AB a 0) a v systému RhD (RhD pozitivní a RhD negativní). Četnosti krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a RhD byly statisticky zhodnoceny například pomocí kontingenčních tabulek a chí kvadrát testu. Z výsledku výzkumu vyplývá, že na HTO v Nemocnici Písek a.s. není stejné zastoupení v krevně skupinovém systému AB0 a RhD jako v populaci. Výsledky výzkumu bakalářské práce mohou sloužit jako informační zdroj a mohou být využity k dalším výzkumům.

### **Klíčová slova**

Imunohematologie; Imunohematologická vyšetření; Krevní skupina; Krev; Imunitní systém; Dárci; Krevně skupinový systém AB0



# **Imunohaematological examination of donors for haematological - transfusion department of Hospital Písek a.s.**

## **Abstract**

The bachelor's thesis on "Immunohaematological Examination of blood donors at the Hematology and Transfusion Department of the Hospital Písek a.s." focuses on the issue of immunohaematological examination of whole blood donors, which includes blood group examination in the AB0 and RhD blood group system. Both in the past and nowadays, blood donation is necessary and voluntary. Some organisations organise the recruitment of new donors. Although blood donation in the Czech Republic is entirely free, donors are provided with certain benefits, e.g., tax discounts, time off on donation day, etc. Donated blood is needed for various surgical procedures, as a medical treatment, etc. The main aim of the bachelor's thesis was to evaluate the number of donors coming to the blood collection point of the HTO (Haematology and transfusion department) of the Hospital Písek a.s. in the period of 6 years and to compare the representation of individual blood groups in the AB0 and RhD blood group systems with the representation of blood groups in the population. In the research part of the bachelor's thesis, a set of donors for the years 2017–2022 whose blood group was in the AB0 blood grouping system (i.e., A, B, AB, and 0) and in the RhD system (RhD positive and RhD negative) was obtained in the laboratory examinations. The frequencies of blood groups in the AB0 and RhD blood grouping systems were statistically evaluated, for example, using contingency tables and the chi-square test. The research results show that the HTO at the Hospital Písek a.s. does not have the exact same representation in the blood group system (AB0 and RhD) as the population. The research results of the bachelor's thesis can serve as an information source and can be used for further research.

## **Key words**

Immunohaematology; Immunohaematological examinations; Blood group; Blood; Immune system; Donors; Blood group system AB0

## Obsah:

1	Úvod.....	8
2	Úvod do imunohematologie .....	9
2.1	Krev.....	9
2.1.1	Erytrocyty .....	10
2.1.2	Leukocyty .....	11
2.1.3	Trombocyty.....	12
2.2	Imunita.....	13
2.2.1	Antigen .....	14
2.2.2	Protilátka.....	15
2.2.3	Reakce antigen – protilátka .....	17
3	Dárcovství.....	18
3.1	Způsobilost dárce krve .....	18
3.2	Kritéria pro výběr dárce krve.....	19
3.3	Vyloučení dárce krve.....	19
3.3.1	Dočasné vyloučení dárce krve .....	19
3.3.2	Trvalé vyloučení dárce krve .....	20
3.4	Dárcovství v ČR.....	20
4	Krevně skupinové systémy .....	22
4.1	AB0 systém.....	22
4.2	Rh systém .....	23
5	Imunohematologické testy.....	24
5.1	Aglutinace.....	24
5.2	Antiglobulinové testy .....	25
5.3	Enzymové testy .....	26
6	Imunohematologická vyšetření dárce krve.....	27
6.1	Imunohem. vyšetření prvodárce v krevně skupinovém systému AB0 a RhD ..	27
6.2	Imunohem. vyšetření dárce v krevně skupinovém systému AB0 a RhD .....	28
7	Cíle práce a hypotézy .....	29
7.1	Cíle .....	29
7.2	Hypotézy.....	29
8	Metodika.....	30
8.1	Imunohematologické vyšetření .....	30
8.2	Podběrové imunohem. vyšetření v poloautomatizovaném provozu .....	31

8.3	Manuální imunohematologické vyšetření .....	31
8.3.1	Vyšetření aglutinogenů a RhD ve zkumavce.....	32
8.3.2	Vyšetření aglutininů ve zkumavce .....	33
8.3.3	Vyšetření krevních podskupin .....	33
8.3.4	Vyšetření D <sup>w/v</sup> varianty sloupcovou aglutinací.....	34
9	Výsledky .....	35
9.1	Kontingenční tabulky četností .....	35
9.2	Zastoupení počtů odběrů dárců na HTO .....	35
9.3	Zastoupení počtů odběrů dárců v krevně skupinovém systému RhD .....	36
9.4	Rozložení krevních skupin v ABO a RhD systému na HTO .....	37
9.5	Chí kvadrát test .....	39
9.5.1	Chí kvadrát test pro zastoupení počtů odběrů dárců v ABO systému .....	39
9.5.2	Chí kvadrát test pro zastoupení počtů odběrů dárců v krevně skupinovém systému Rh.....	41
10	Diskuze .....	42
11	Závěr .....	45
12	Seznam literatury.....	47
13	Seznam příloh a obrázků.....	51
13.1	Seznam obrázků .....	51
13.2	Seznam příloh .....	52
14	Přílohy.....	53
14.1	Příloha č. 1 – Přístroje pro poloautomatizované imunohem. vyšetření .....	53
14.2	Příloha č. 2 – ID karty k poloautomatizovanému imunohem. vyšetření.....	54
14.3	Příloha č. 3 – Vyšetření zkumavkovou metodou .....	57
15	Seznam zkratk.....	60

# 1 Úvod

Imunohematologické vyšetření v imunohematologické laboratoři je velice důležité. Pomocí imunohematologických vyšetření se v laboratoři vyšetřuje krevní skupina, ať už u dárce krve, příjemce transfúzního přípravku, matky před porodem, nebo novorozence, dále pak vyšetření HON (hemolytické onemocnění novorozence), test kompatibility transfúzního přípravku, screening nepravidelných protilátek, vyšetření chladových protilátek nebo přímý antiglobulinový test.

Bakalářská práce na téma „Imunohematologické vyšetření dárců na Hematologicko – transfúzním oddělení Nemocnice Písek a.s.“ hodnotí počty odběrů dárců plné krve v období 6 let, dále pak zastoupení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a RhD ve zmíněném období. Dalším účelem bakalářské práce bylo se seznámit s pracovními postupy, průběhem práce a poté samostatně zpracovat vzorky v imunohematologické laboratoři na hematologicko – transfúzním oddělení v nemocnici v Písku.

Cílem teoretické části práce je se seznámit s problematikou, která souvisí s tématem imunohematologické vyšetření dárců. Pro výzkum a provedení jednotlivých vyšetření je nutné se orientovat v základních pojmech, jako jsou: krev, imunitní systém, dárcovství, krevně skupinové systémy a imunohematologická vyšetření.

V praktické části byly stanovovány krevní skupiny u dárců, kteří docházejí na odběrové místo v nemocnici v Písku, v krevně skupinovém systému AB0 (krevní skupina A, B, AB, 0) a RhD (RhD pozitivní nebo RhD negativní). A následně sesbírat data z laboratorního informačního systému (LIS) z období 6 let, kdy dárce docházejí na odběrové místo.

Budou sbírána data v období 6 let a budou porovnávána zastoupení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a RhD se zastoupením v populaci. Výsledné hodnoty, výpočty a grafy budou statisticky zhodnoceny a v bakalářské práci je nalezneme v kapitole Výsledky.

## 2 Úvod do imunohematologie

Imunohematologie je medicínský obor, který se zabývá studiem vlastností krve a vlastností krevních elementů z pohledu imunitních reakcí, které probíhají v organismu (Fábryová et al. 2012).

Další definice oboru imunohematologie může být podle Ajmani (2020): obor imunohematologie je odvětví imunologie, které se zabývá studiem imunologických vlastností krve v organismu. Jedná se tedy o studium reakce antigenu s protilátkou a o studium analogových (podobných) jevů, které mohou mít souvislost s klinickými projevy onemocnění krve (Ajmani, 2020).

Tento obor je poměrně mladý, ale velice významný. Teprve na začátku 20. století došlo k objevení jeho principů. S pomocí těchto imunohematologických poznatků mohlo dojít k rozvoji transfúzního lékařství. Následně poté byl možný i rozvoj ostatních oborů, ve kterých hraje hlavní roli krev a krevní elementy (Písačka et al. 2012).

### 2.1 Krev

Vědní obor, který se zabývá studiem fyziologických stavů (tzn. normálních, kdy je organismus bez patologie) a patologických stavů (tzn. nefyziologické stavy, které nejsou v organismu obvyklé např. při onemocnění) krve a krevních elementů se nazývá hematologie (Hillard a Alvin, 2019).

Krev je červená neprůhledná tekutina. Má větší hustotu než voda. Tato tekutina zajišťuje transport živin a kyslíku do buněk. I když je krev tekutina, je považovaná za tkáň. Krev je nazývaná tkáň proto, že je to soubor podobných specializovaných buněk, které plní určitou funkci. Tyto specializované buňky jsou nahromaděny v kapalině (plazmě), která zajišťuje, že je krev tekutá (Ajmani, 2020).

Krev je složena z buněk (krevních elementů) a tekutiny (tato tekutina se odborně nazývá plazma) (Hillard a Alvin, 2019; Ajmani, 2020).

Ajmani, (2020) říká, že plazma obsahuje 90 % vody, podle dalšího zdroje Fábryová et al. (2012) plazma obsahuje až 80 % vody (Fábryová et al. 2012; Ajmani, 2020). Zbýlá procenta krve tvoří aminokyseliny, proteiny, sacharidy, lipidy, makromolekulární látky a nízkomolekulární látky (Hillard a Alvin, 2019).

V krvi rozlišujeme 3 druhy buněk (krevních elementů): erytrocyty (červené krvinky, RBC – z anglického Red Blood Cells), leukocyty (bílé krvinky, WBC – z anglického White Blood Cells) a trombocyty (krevní destičky, PLT – z anglického Platelets) (Fábryová et al. 2012).

### **2.1.1 Erytrocyty**

Erytropoéza je proces tvorby a vývoje červených krvinek v erytroidní vývojové řadě. Tento proces trvá 4 dny. Vývoj a dozrávání erytrocytů reguluje hematopoetický růstový faktor EPO (erythropoetin), který je produkován v ledvinách (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019).

Červené krvinky jsou bezjaderné buňky, které mají bikonkávní tvar (nebo může být uvedeno, že RBC mají tvar piškotový) (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019; Keohane et al., 2020).

Popis velikosti erytrocytu se podle jednotlivých zdrojů nepatrně liší. Podle Penky et al. (2011) je velikost erytrocytu okolo 7  $\mu\text{m}$ , Fábryová et al. (2012) uvádí podobnou velikost jako Penka a to 7,5  $\mu\text{m}$ . O pár let později Hillard a Alvin (2019) tvrdí, že velikost erytrocytu je v průměru 8–10  $\mu\text{m}$  a Keohane et al. (2020) 7–8  $\mu\text{m}$  (Penka et al., 2011; Fábryová et al. 2012; Hillard a Alvin, 2019; Keohane et al., 2020).

Erytrocyty obsahují hemoglobin, který tvoří více jako 90 % erytrocytu. Hemoglobin, je protein a dělí se na dvě části, a to na hem a globin. Struktura hemoglobinu se nám během života mění. Mění se zejména během embryonálního, fetálního a postnatálního života. Funkce hemoglobinu je zajistit přenos kyslíku a oxidu uhličitého. Kyslík přenáší z plic do tkání a oxid uhličitý transportuje z tkání zpátky do plic (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019).

Membrána erytrocytů je lipidová dvouvrstva se zabudovanými nebo periferními bílkovinami, kde bílkoviny tvoří asi polovinu váhy membrány. Mezi nejdůležitější bílkoviny patří: spektrin, ankyrin, aktin a další. (Kittnar et al., 2020)

Referenční hodnoty erytrocytů u mužů jsou 4 – 5,8 x 10<sup>12</sup>/l a u žen 3,8 – 5,2 x 10<sup>12</sup>/l (Referenční meze ..., 2020). Životnost erytrocytů je 120 dní. Po uplynutí této doby staré RBC ztrácejí svoji schopnost transportu kyslíku a oxidu uhličitého, a jsou vychytávány slezinou, kde jsou odstraněny makrofágy a zanikají (Hillard a Alvin, 2019).

### 2.1.2 Leukocyty

Leukocyty neboli bíle krvinky, dále je můžeme znát pod zkratkou WBC (Fábryová et al. 2012). Referenční hodnoty leukocytů u dospělých se pohybují v rozmezí  $4 - 10 \times 10^9/l$  (Referenční meze ..., 2020). Bílé krvinky můžeme rozdělit na dvě skupiny: granulocyty a agranulocyty. Granulocyty jsou skupina bílých krvinek, které mají ve své cytoplazmě granula. Granulocyty (polymorfonukleáry) můžeme rozdělit na neutrofilní, eosinofilní a bazofily. Agranulocyty nebo také mononukleáry se dělí na monocyty a lymfocyty (Keohane et al., 2020; Kittnar et al., 2020).

Neutrofilny vznikají v kostní dřeni 12 – 13 dní, v periferní krvi přežívají 12 hodin a ve tkáních mohou žít až několik dní (Hillard a Alvin, 2019). Zastoupení neutrofilů z celkového počtu bílých krvinek v diferenciálním rozpočtu je u dospělého 45 – 70 % (Referenční meze ..., 2020). Neutrofil má členěné jádro na tři až čtyři části (segmenty). Funkce neutrofilů je fagocytóza, fagocytují a tráví bakterie, odumřelou tkáň a buněčné zbytky. Neutrofilny jsou společně s monocyty součástí přirozené imunity (Hillard a Alvin, 2019).

Neutrofilny se mohou vyskytovat v periferní krvi jako segmenty nebo tyče. Rozdíl mezi těmito formami se uvádí jako rozdíl poměrů tloušťky mezi nejtenčím a nejširším místem jádra. Za normálních okolností se v periferní krvi vyskytují pouze zralé segmenty nebo tyče (Penka et al., 2011).

Eozinofily (eozinofilní granulocyty) jsou bíle krvinky, které patří do skupiny granulocytů. Jejich charakteristickým znakem jsou oranžovo – červená granula v cytoplazmě. Eozinofil má dvoulaločné jádro (Hillard a Alvin, 2019). Normální zastoupení eozinofilů v diferenciální rozpočtu bílých krvinek tvoří 0 – 5 % (Referenční meze ..., 2020). Tato hladina se může i zvyšovat např. u parazitárních infekcí (Hillard a Alvin, 2019).

Bazofily (bazofilní granulocyty) jsou další skupina, která patří mezi granulocyty. (Penka et al., 2011). Zastoupení těchto buněk v diferenciálním rozpočtu je 0 – 2 % (Referenční meze ..., 2020). Bazofily obsahují tmavě modrá až fialová granula, která překrývají celé jádro. Granula v cytoplazmě obsahují několik důležitých látek: heparin, histamin a kyselinu hyaluronovou. (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019).

Monocyty patří do skupiny mononukleárních buněk. Zralé monocyty mají nepravidelné jádro, které má nejčastěji ledvinovitý tvar, kouřově šedou cytoplazmu, která obsahuje

jemná azurofilní granula. Monocyty najdeme v periferní krvi, kde přežívají 8 – 72 hodin, poté co vstoupí do tkáně, se z nich stávají makrofágy. Makrofágy mohou ve tkáních přežít delší dobu a to až 80 dní. Funkce makrofágů je fagocytovat patogeny, mrtvou tkáň, a buněčné zbytky (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019). Množství monocytů v krvi se pohybuje mezi  $0,08 - 1,2 \times 10^9/l$  (Referenční meze ..., 2020).

Makrofágy můžeme najít skoro ve všech tkáních a orgánech. V některých tkáních nebo orgánech mohou makrofágy plnit i specifické funkce např. Kupfferovy buňky v játrech, mikroglie v mozku nebo osteoklasty v kostní tkáni (Penka et al., 2011).

Lymfocyty stejně jako monocyty patří do skupiny mononukleárních buněk. Lymfocyty mají kulaté jádro a úzký lem světle modré cytoplazmy. Důležité pro vývoj lymfocytů jsou lymfatické orgány a to primární a sekundární. Mezi primární lymfatické orgány patří kostní dřeň a thymus. Mezi sekundární patří slezina a lymfatické uzliny. Lymfocyty se rozdělují na B lymfocyty a T lymfocyty (Penka et al., 2011). Referenční hodnoty lymfocytů se pohybují okolo  $0,8 - 4 \times 10^9/l$  (Referenční meze ..., 2020).

Všechny lymfocyty vznikají v kostní dřeni, po vzniku putují do místa zranění. T lymfocyty dozrávají v thymu (brzlíku) a B lymfocyty v lymfatických uzlinách, slezině nebo v dalších lymfatických orgánech (Hillard a Alvin, 2019).

Poté co se T a B lymfocyty se setkají s cílovým antigenem, se z lymfocytů stávají efektorové lymfocyty nebo memory cells (přeloženo jako „paměťové buňky“) (Penka et al., 2011).

T lymfocyty mají na svém povrchu typické znaky, které můžeme určit pomocí serologických reakcí. T lymfocyty podporují a řídí tvorbu protilátek, ale samy je tvořit nemohou. B lymfocyty se odlišují od T lymfocytů tak, že na svém buněčném povrchu mají imunoglobulinové molekuly. Tyto molekuly na povrchu B lymfocytů jsou jednoho typu (jsou monoklonální). B lymfocyty dokáží jako jediné syntetizovat protilátky (Hamplová et al., 2019).

### **2.1.3 Trombocyty**

Trombocyty neboli krevní destičky, dále je můžeme znát pod zkratkou PLT. Trombocyty jsou nejmenší krevní elementy, kdybychom je přirovnaly k erytrocytům, mají přibližně



třetinovou velikost. Jsou bezjaderné a hrají velmi důležitou úlohu v krevním srážení (hemostáze). (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019; Kittnar et al., 2020)

Trombocyty vznikají, když dochází k odštěpování cytoplazmy u zralých megakaryocytů. Megakaryocyty se v kostní dřeni rozpoznávají dobře díky své velikosti, kdy mají v průměru 40 – 60  $\mu\text{m}$ . Trombocyty žijí 7 – 10 dní a z toho první 1 – 2 dny tráví ve slezině. Asi jednu třetinu z celkového počtu trombocytů najdeme ve slezině. Množství trombocytů v periferní krvi reguluje hemopoetický růstový faktor trombopoetin (TPO) (Penka et al., 2011; Hillard a Alvin, 2019). Množství trombocytů se pohybuje okolo 150 – 400  $\times 10^9/\text{l}$  (Referenční meze ..., 2020).

Staré a poškozené trombocyty nebo trombocyty s navázanými autoprotilátkami vychytává slezina. Staré trombocyty likvidují také játra a kostní dřev (Penka et al., 2011).

## **2.2 Imunita**

Imunologie je vědní obor, který se zabývá imunitním systémem a zkoumá ho. Imunologie se vyvíjela a dále se vyvíjí společně s oborem mikrobiologie. Poznatky, které získáme z oboru imunologie, se nám promítají do skoro všech medicínských oborů, a to platí jak pro oblast diagnostiky, tak i terapie (Jílek, 2019).

Další definice oboru imunologie podle Hamplová et al (2019) říká, že imunologie se zabývá studiem organizace, strukturou, významem a funkcí imunitního systému. Nyní se imunologie rozvětvila na mnoho oblastí jako je klinická imunologie, imunogenetika, alergologie, imunofarmakologie, transplantační imunologie a mnoho dalších (Hamplová et al., 2019).

Imunita neboli imunitní systém patří k základním homeostatickým mechanismům organismu (tj. schopnost organismu udržet konstantní vnitřní prostředí, když se vnější prostředí mění). Mezi základní funkce imunitního systému patří obranyschopnost, autotolerance a imunitní dohled (Penka et al., 2012; Hořejší et al., 2017).

Obranyschopnost je funkce imunitního systému, kdy dochází k rozeznání vnějších škodlivin a k ochraně organismu před patogenními mikroorganismy. Autotolerance je schopnost, kdy imunitní systém rozpozná vlastní tkáň organismu a udržuje toleranci vůči nim. Imunitní dohled je rozpoznávání vnitřních škodlivin v organismu,

tj. že imunitní systém průběžně odstraňuje staré, poškozené a změněné buňky (Hořejší et al., 2017).

Imunitu můžeme rozdělit na dva druhy, a to na přirozenou a získanou. Dále lze také imunita rozdělit dalším způsobem a to na nespecifickou a specifickou imunitu (Penka et al., 2012; Drnková, 2019).

Nespecifická imunita působí proti všem antigenům, ne proti jednomu specifickému antigenu. K mechanismu obranyschopnosti nespecifické imunity se řadí fyziologické bariéry (kůže, sliznice), fagocyty (buňky, které jsou schopné fagocytózy), komplement a CRP (C – reaktivní protein) (Drnková, 2019).

Jiná definice podle Hamplová et al (2019) říká že, nespecifická imunita je vrozená. Do vrozené imunity patří obranné mechanismy, které jsou součástí normálních fyziologických funkcí organismu. Vrozená imunita je tvořena fyzikální bariérou, když tuto bariéru prolomí infekční agens, dojde k uplatnění dalších složek vrozené imunity jako je fagocytóza, proteiny akutní fáze a komplementový systém (Hamplová et al., 2019).

Specifická imunita působí proti konkrétním antigenům, které rozpoznává IS (imunitní systém). Specifická imunita má dvě složky, a to imunitu buněčnou (ta je zprostředkovaná pomocí T – lymfocytů) a imunitu protilátkovou neboli humorální (kterou zajišťují B – lymfocyty). Tato imunita má schopnost imunologické paměti (Drnková, 2019).

Podrobnější popis specifické imunity podle Hamplová et al (2019) uvádí, že imunita získaná je imunita specifická. Když dojde k infekci a vrozený imunitní systém selže v obraně, nastupuje proti infekci imunita získaná. Získaná imunita se od té vrozené liší tím, že je specifická a dokáže si vytvořit imunologickou paměť. Když infekční agens neboli imunogen pronikne do organismu, získaná imunita reaguje tak, že dojde k aktivaci lymfocytů a tvorbě protilátek, které jsou zaměřené proti tomuto imunogenu. Tato vytvořená imunita je tedy jen proti jednomu imunogenu, se kterým se IS již potkal, nikoli proti jinému či příbuznému antigenu (Hamplová et al., 2019).

### **2.2.1 Antigen**

Antigen nebo jiným slovem imunogen je látka, která je schopna vyvolat imunitní reakci (odpověď) (Drnková, 2019). Pod pojmem antigen si v imunologii představíme nějakou

cizorodou látku, která je nejčastěji proteinové, polysacharidové nebo glykolipidové povahy (Hamplová et al., 2019).

Antigeny můžeme rozlišit na dva druhy: exoantigeny a autoantigeny. Za exoantigeny se považují cizorodé látky z vnějšího prostředí, jedná se většinou o infekční mikroorganismy a jejich produkty. Autoantigeny se nazývají ty antigeny, které pochází z organismu samotného (nejsou pro něj cizí) (Hořejší et al., 2017).

Na antigenu se je jeden či více epitopů či antigenních determinant (vazebných míst), kde může dojít k navázání protilátky a ke vzniku specifické imunitní odpovědi. Hapten (nekompletní antigen) je malá molekula, která vyvolá tvorbu protilátek pouze tehdy, když je připojena na imunogenní nosič (Fábryová et al. 2012).

Imunogenicita je schopnost antigenu navodit imunitní odpověď. Antigenicita je schopnost antigenu, kdy antigen specificky naváže protilátky nebo receptory T lymfocytů (Penka et al., 2012).

### **2.2.2 Protilátka**

K prvním prakticky využitým poznatkům, na počátku 20. století, patří vznik protilátek po imunizaci a jejich následný ochranný efekt před infekcí. V 50. letech badatelé R. R. Porter a G. M. Edelman popsali detailní strukturu protilátek. Později byl nalezen způsob, jak připravit tzv. monoklonální protilátky (protilátky pocházející z jednoho klonu buněk, jsou stejné struktury a mají vysokou specifitu pro epitop na antigenu) (Jílek, 2019).

Protilátky (obecně označované jako imunoglobuliny) jsou látky bílkovinné povahy. V organismu je nalezneme v plazmě nebo v séru. Vznikají jako odpověď na imunogen, který se dostane do organismu, a reagují se specifickým antigenem. K vazbě antigenu a protilátky dochází na základě pravidla komplementarity (toto pravidlo se někdy také označuje jako „zámek a klíč“). Místo vazby antigenu a protilátky se nazývá variabilní doména. Člověk je schopen si tvořit (produkovat) protilátky proti miliardám různých struktur, protože protilátky jsou schopné rozeznat obrovskou škálu molekulárních struktur. (Penka et al., 2012; Delves et al., 2017; Hamplová et al., 2019).

V imunitním systému protilátky plní dvě hlavní funkce. První funkce je rozeznání cizího antigenu (imunogenu) a následná vazba na něj. Tato jednoduchá funkce navázání protilátek může být dostatečná k inaktivaci patogenu nebo k zneškodnění toxinů.

Jako druhá funkce imunoglobulinů je eliminace cizího patogenu (látky) (Delves et al., 2017).

Základní struktura imunoglobulinu je tvořena ze dvou lehkých a dvou těžkých řetězců. Lehké a těžké řetězce jsou spojeny pomocí disulfidických (cystinových) vazeb. Těžké řetězce se také označují jako H řetězce a lehké řetězce jako L řetězec (Penka et al., 2012; Hořejší et al., 2017; Hamplová et al., 2019; Jílek, 2019).

Řetězce obsahují části variabilní (Fab – z anglického fragment antigen binding, v českém jazyce antigen navazující fragment) a části konstantní (Fc – z anglického fragment crystallizable), která se podílí na navázání s efektorovými buňkami (Penka et al., 2012; Delves et al., 2017).

Imunoglobuliny můžeme rozdělit do 5 tříd podle aminokyselin, které jsou v těžkých řetězcích. Do těchto pěti tříd patří izotopy: IgG, IgM, IgD, IgE, IgA. Všechny tyto třídy imunoglobulinů mají stejnou strukturu, ale liší se ve svých těžkých řetězcích, nejvýraznější rozdíly nalezneme v Fc oblasti (Delves et al., 2017).

V imunohematologii se nejčastěji vyskytují a uplatňují protilátky IgM a IgG. Protilátky třídy IgG se v plazmě vyskytují jako monomery. Jako jediné mohou transplacentárním přenosem proniknout přes placentu a dostat se do krevního oběhu plodu. IgG protilátky pronikají do krevního oběhu plodu až v posledních týdnech těhotenství a zajišťují novorozenci imunitu, než si sám vytvoří protilátky. Protilátky třídy IgM se vyskytují v podobě pentameru (tzn., že je molekula imunoglobulinu složena z pěti částí). Tvoří se jako první, když do organismu pronikne imunogen. Dokáží velmi dobře vázat komplement a mají vysokou lytickou schopnost (zejména v AB0 systému při podání inkompatibilní transfúze) (Penka et al., 2012; Drnková, 2019).

Protilátky v imunohematologii můžeme rozdělit podle příčiny vzniku na protilátky přirozené a imunní. Přirozené protilátky se tvoří po antigenní stimulaci při běžném kontaktu s antigeny z okolního prostředí. Imunní protilátky se tvoří za předpokladu, že došlo k imunizaci pomocí erytrocytárních antigenů při transfúzi nebo během těhotenství (Penka et al., 2012).

Dále v imunohematologii můžeme rozdělit protilátky podle teploty, při které na sebe protilátky váží antigen, na tepelné, chladové a bifázické. Tepelné protilátky jsou většinou třídy IgG, reagují při optimální teplotě 37° C (při teplotě lidského těla) a způsobují rozpad

(hemolýzu) erytrocytů. Chladové protilátky jsou většinou třídy IgM, reagují při teplotách pod 20 °C (nebo při pokojové teplotě) a na erytrocyty se navazují tam, kde je tělo vystaveno nižším teplotám (např. konečky prstů v zimě). Bifázické protilátky jsou protilátky, které se váží na antigen při nízkých teplotách a při vyšších teplotách (okolo 37 °C) dojde k hemolýze (rozpadu) erytrocytů (Penka et al., 2012; Masopust, Písačka, 2022).

### **2.2.3 Reakce antigen – protilátka**

Protilátky a antigeny se k sobě spojují nekovalentními vazbami (nekovalentní vazby tzn. slabé vazby, tyto vazby fungují na malou vzdálenost a jsou reverzibilní, tedy vratné). Mezi nekovalentní vazby patří vodíkové můstky, elektrostatické síly, van der Waalsovy síly, hydrofobní vazby. Při reakci antigenu a protilátky dojde ke vzniku komplexu, který se nazývá imunokomplex (Penka et al., 2012; Hořejší et al., 2017).

Reakce mezi antigenem a protilátkou je chemická reakce. Tato reakce probíhá mezi variabilní částí protilátky s epitopem (vazebným místem) na povrchu membrány erytrocytu. Tuto reakci mohou ovlivňovat mnohé faktory: teplota, iontová síla prostředí, pH, kvalitativní a kvantitativní vlastnosti antigenů a protilátek (Penka et al., 2012; Řeháček et al., 2013; Masopust, Písačka, 2022).

U reakce antigenu a protilátky je důležitá specifická reakce, což je schopnost protilátky reagovat jen s jedním epitopem (vazebným místem). Mezi hlavní faktory, jak již bylo zmíněno, patří teplota, která ovlivňuje protilátky. Klinicky významné protilátky nejlépe reagují s antigeny většinou při teplotě 37 °C. Výjimku tvoří protilátky AB0 systému, které se při vyšší teplotě mohou uvolnit z vazby na antigen (Penka et al., 2012).

### 3 Dárcovství

Dárcovství krve je v souladu s Etickým kodexem pro darování krve a léčby krevní transfúze (Penka et al., 2012).

V Etickém kodexu pro darování krve nalezneme doporučení a zásady, které by měly být dodržovány všemi odběrovými středisky a transfúzními stanicemi, které nalezneme ve zdravotnických zařízeních. Dále zde pak najdeme zapsané zásady, které by se měly dodržovat při náboru nových dárců, při darování krve, a zásady zacházení a využívání transfúzních přípravků (Etický kodex ..., 1997).

Darování krve je zcela dobrovolné a bezplatné, ale také ovšem velice nezbytné (Penka et al., 2012, Poučení dárce krve, 2019).

Každý člověk se může svobodně rozhodnout, zda bude krev darovat či nikoli. Dárce může kdykoli změnit své rozhodnutí o darování krve a odstoupit tak od odběru krve. Dále je rozhodnutí na dárci, kde si nechá odběr provést (Poučení dárce krve, 2019).

Je, ale doporučeno krev darovat v jednom zdravotnickém zařízení. Důvodem je zajištění kompletní zdravotnické dokumentace, a tak získání celkového přehledu o zdravotním stavu dárce. Dárce ovšem může změnit odběrové místo, ale v tomto případě musí být poskytnuta dárcova dokumentace jinému zdravotnímu zařízení či středisku (Poučení dárce krve, 2019).

Na prvním místě pro dárce krve je bezpečnost a zdraví. Proto by měli být dárci a zejména prvodárci ze všeho nejdříve plně informováni o všech možných rizicích, která jsou spojena s darováním. Další prioritou je ochrana a zdraví příjemců krve. A proto darovat krev nesmí osoby s rizikovým chováním, jako je např. prostituce či užívání drog (Poučení dárce krve, 2019).

#### 3.1 *Způsobilost dárce krve*

Při posuzování zdravotní způsobilosti dárce hraje důležitou roli zdravotní stav, výsledky vyšetření a anamnéza dárce. Cílem posuzování dárců je zamezit poškození zdraví dárce během odběru, nebo zamezit poškození zdraví příjemce transfúze nebo léčivého přípravku vyrobeného z krevních složek dárce (Posuzování způsobilosti ..., 2022).

### **3.2 Kritéria pro výběr dárce krve**

Kritéria pro přijetí dárců krve a jejich složek jsou věk, tělesná hmotnost, hodnoty hemoglobinu a hematokritu v krvi, krevní tlak, puls, vzhled dárce, zásoba železa (Posuzování způsobilosti ..., 2022).

Dárci mohou krev darovat ve věku od 18 let do 65 let. Prvodárcem může být člověk do 60 let. Dárcovství ve věku nad 65 let je pouze výjimečně se souhlasem lékaře daného transfúzního oddělení (TO). Hmotnost dárce by neměla být do 50 kg. Další důležitým parametrem jsou hodnoty hemoglobinu a hematokritu. Hladina hodnot se poté liší v závislosti na pohlaví dárce (Řeháček et al., 2013; Posuzování způsobilosti ..., 2022).

U žen se hodnoty hemoglobinu mají pohybovat od 125 g/l a vyšší, hematokrit minimálně 0,38 a vyšší. U mužů se hodnoty hemoglobinu mají pohybovat od 135 g/l a vyšší, hematokrit minimálně 0,40 a vyšší (Posuzování způsobilosti ..., 2022).

Mezi další důležitá kritéria patří krevní tlak, který by se měl pohybovat pod hodnotou 180 mmHg u systolického tlaku, u diastolického nižší než 100 mmHg (Penka et al., 2012; Posuzování způsobilosti ..., 2022).

### **3.3 Vyloučení dárce krve**

Pokud dárce nesplňuje všechny potřebné podmínky pro přijetí k odběru, je z dárcovství krve dočasně nebo trvale vyloučen (Penka et al., 2012).

#### **3.3.1 Dočasné vyloučení dárce krve**

Dárce krve může být dočasně vyloučen z registru dárců na dobu několik dní až měsíců. Dočasné vyřazení dárce se liší podle závažnosti onemocnění nebo dalších kritérií (Penka et al., 2012; Posuzování způsobilosti ..., 2022).

Mezi kritéria pro dočasné vyřazení mohou patřit různá onemocnění např. brucelóza, tuberkulóza, horečka Q, syfilis, toxoplazmóza, mononukleóza, borelióza. U těchto onemocnění dárce může darovat krev až po úplném uzdravení, které se pohybuje u některých výše uvedených onemocnění v řádu 6 měsíců až 2 let (Penka et al., 2012; Řeháček et al., 2013).

Další rizikové faktory, které vedou k dočasnému vyloučení, mohou být např. endoskopie, transplantace, tetování, podání transfúze, chirurgické výkony velkého rozsahu, poranění

infekční jehlou. Tyto faktory vystavují dárce riziku infekce. Pokud byl dárce před odběrem vystaven jednomu z faktorů, je dočasně vyloučen z registru dárců na dobu 6 měsíců (Penka et al., 2012).

Dočasně také nesmí darovat ženy během menstruace a v těhotenství. Ženy po porodu mohou začít nejdříve darovat po 6 měsících a v období laktace se darování krve a jejich složek nedoporučuje (Penka et al., 2012).

### **3.3.2 Trvalé vyloučení dárce krve**

Dárce je trvale vyloučen ze seznamu dárců v případě onemocnění závažnými chronickými nemocemi, mezi které mohou patřit např. dlouhodobá onemocnění srdce, gastrointestinálního traktu (GIT), centrální nervové soustavy (CNS), imunitní soustavy (IS), plic nebo onemocnění vylučovací soustavy. Dále jsou vyloučeni dárce s metabolickým nebo hematologickým onemocněním. Kromě chronických onemocnění nesmí darovat lidé, kteří v minulosti prodělali infekční onemocnění jako je hepatitida typu B a C, Chagasova nemoc (Penka et al., 2012; Posuzování způsobilosti ..., 2022).

Jako další nesmí darovat krev lidé, jejichž sexuální chování je vystavuje zvýšenému riziku získání infekčního onemocnění, které se přenáší krví. Mezi rizikové osoby patří osoby, které provozují prostituci, nebo osoby, které mají pohlavní styk s rizikovým partnerem, nebo muži, kteří mají pohlavní styk s muži. Mezi infekční onemocnění patří přenos viru HIV, syfilis a hepatitida typu B a C (Penka et al., 2012; Řeháček et al., 2013).

Trvalé vyloučení z dárcovství platí i pro osoby, které mají cukrovku a jsou léčeni inzulínem. Dále osoby, které trpí epilepsií, hemofilií, mají zhoubný novotvar nebo rakovinu (Posuzování způsobilosti ..., 2022).

Mezi další omezení, pro které je dárce trvale vyloučen, je pobyt ve Velké Británii nebo Francii v letech 1980 – 1996 po dobu delší než půl roku (Penka et al., 2012; Řeháček et al., 2013).

### **3.4 Dárcovství v ČR**

V České republice není centralizovaný nábor dárců. Propagaci na celospolečenské úrovni zajišťuje organizace Český červený kříž (ČČK), dále občanská sdružení a podílejí se i orgány státní správy. Jelikož je darování krve bezplatné, jsou v ČR poskytovány



dárcům určité výhody – volno v den odběru, uplatnění slevy na daních, ocenění ČČK (Řeháček et al., 2013).

ČČK uděluje dárcům bronzové, stříbrné a zlaté medaile prof. MUDr. Jana Janského za 10, 20 a 40 odběrů plné krve nebo jen jejích složek. Dále pak ČČK uděluje Zlaté kříže III., II. a I. Třídy, které jsou za 80, 120 a 160 odběrů plné krve, nebo jejích složek (Penka et al., 2012).

## 4 Krevně skupinové systémy

V současné době rozlišujeme okolo třiatřiceti různých krevně skupinových systémů (Moulds et al., 2011; Řeháček et al., 2013).

Krevně skupinové systémy jsou rozděleny podle toho, jestli se na erytrocytu nachází nebo nenachází určitý antigen. Tento antigen (nebo antigeny) mohou být zakomponovány na membráně erytrocytů, ale můžeme je najít i na jiných buňkách (Friedman et al., 2016).

Erytrocytární antigeny mohou plnit různé funkce (např. strukturální – udržují tvar erytrocytu, transportní, regulační, ...) (Penka et al., 2012).

K nejdůležitějším systémům, které známe, patří systémy AB0, systém Rh, systém Kell, systém Duffy, systém Kidd, systém Lewis a Lutheran, systém P a MNS (Řeháček et al., 2013; Friedman et al., 2016).

Dále můžeme krevně skupinové systémy rozdělit do dalších dvou skupin, a to podle toho, zda si organismus vytváří protilátky IgG nebo IgM proti určitým erytrocytárním antigenům. Do skupiny IgG protilátek patří například krevně skupinové systémy Duffy, Kell, Kidd a Rh systém. Do skupiny IgM protilátek můžeme zařadit například systém Lewis (Friedman et al., 2016).

### 4.1 AB0 systém

K objevení krevních skupin (AB0 systému) došlo v roce 1901 Karlem Landsteinerem, který rozlišil tři krevní skupiny označené jako A, B, C (později byly přejmenované na A, B, 0). Čtvrtá skupina AB byla objevena o dva roky později. Nezávisle na Landsteinerovi v roce 1906 objevil Jan Janský čtyři krevní skupiny. Janský ve své práci odhalil aglutinační schopnosti sér a krvinek, podle kterých rozdělil krevní skupiny na čtyři, které označil I, II, III a IV (Penka et al., 2012; Káš, 2012).

Systém AB0 je nejvýznamnější krevně skupinový systém. (Řeháček et al., 2013).

Antigeny AB0 systému jsou zakódovány v jednom lokusu, který je pojmenovaný AB0 lokus (lokus je místo, které je na určitém chromozomu), který se nachází na 9. chromozomu. AB0 lokus má tři základní alely A, B a 0. Alela A a B je kodominantní a 0 je recesivní (Panczak a Otová, 2013; Ajmani 2020; Masopust, Písačka, 2022).

Díky dědičnosti krevních skupin může vzniknout 6 genotypů a 4 možné krevní skupiny: A, B, AB a 0. Krevní skupina A má dva genotypy: AA a A0. Dále krevní skupina B má také dva genotypy: BB a B0. U krevní skupiny 0 a AB je pouze jeden genotyp. U krevní skupiny 0 je genotyp 00 a u krevní skupiny AB je genotyp AB (Ajmani, 2020).

K určování krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 se používají testovací antiséra. U těchto antisér byla zaznamenána různě silná hemaglutinační reakce (Panczak a Otová, 2013). Tak byly krevní skupiny A a B rozděleny do 11 podskupin, rozdíly mezi podskupinami jsou kvantitativní (tzn., liší se od sebe na základě množství antigenů, které jsou na povrchu erytrocytu). Nejčastější podskupinou je A<sub>1</sub> a A<sub>2</sub>, ostatní jsou spíše vzácné (Panczak a Otová, 2013; Masopust, Písačka, 2022).

#### **4.2 Rh systém**

Jako druhý nejvýznamnější krevně skupinový systém je označen systém Rh. Tento systém byl objeven v roce 1939 Karlem Landsteinerem (Moulds et al., 2011; Penka et al., 2012; Řeháček et al., 2013).

V Rh systému bylo objeveno přes padesát antigenů, které do tohoto systému patří. Mezi nejvýznamnější antigeny Rh systému patří antigeny D, C, c, E, e (Moulds et al., 2011; Panczak a Otová, 2013).

Velmi významný v Rh systému je antigen D. Antigen D má velmi silnou imunogenicitu, která je způsobena tím, že u RhD negativních osob chybí celý protein RhD. Z tohoto důvodu dokáže imunitní systém u osob RhD negativních rozpoznat RhD pozitivní erytrocyty, které obsahují celý protein RhD. Když dojde k tomuto kontaktu, dochází k vytvoření protilátky anti-D (Masopust, Písačka, 2022).

V současné době je u antigenu D zjištěno více než 30 různých částí, které jsou označeny jako D epitopy. Podle počtu antigenních míst na erytrocytu a změn D epitopů můžeme rozdělit antigen D do dvou kategorií: slabé antigeny D a varianty antigenu D (Penka et al., 2012; Masopust, Písačka, 2022). Varianty antigenu D se označují jako D<sup>variant</sup> nebo D<sup>v</sup> a jsou kvalitativně odlišné od normálního antigenu D. D<sup>variant</sup> je nekompletní antigen, kterému chybí jen některé epitopy. Slabé antigeny D se označují jako D<sup>weak</sup> nebo D<sup>w</sup> a jsou kvantitativně odlišné (tzn., že antigen D je zcela kompletní, obsahuje všechny epitopy, ale jsou slabé) (Masopust, Písačka, 2022).

## 5 Imunohematologické testy

Imunohematologické testy jsou založeny na principu hemaglutinace (nebo zkráceně na principu aglutinace). Dochází zde k shlukování erytrocytů pomocí protilátek, které jsou namířeny proti antigenům na krvinkách (Řeháček et al., 2013; Masopust, Písačka, 2022).

Mezi základní imunohematologická vyšetření erytrocytů patří stanovení erytrocytárních antigenů a stanovení protilátek. Erytrocytární antigeny se stanovují pomocí diagnostických sér. Protilátky se u pacientů stanovují v plazmě nebo séru a prokazují se pomocí diagnostických typových erytrocytů (Masopust, Písačka, 2022).

### 5.1 Aglutinace

Pomocí aglutinace je možné v imunohematologii vyšetřit krevní skupiny (tedy antigeny na erytrocytech) a protilátky proti erytrocytům v séru či plazmě. V první fázi aglutinace dochází ke spojení erytrocytárního antigenu a protilátky. Toto pojení se nazývá senzibilace erytrocytu. První fáze aglutinace je nepozorovatelná, proto je potřeba, aby se protilátka se senzibilizovaným erytrocytem navázala na další erytrocyt (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013).

Aglutinační testy v imunohematologii můžeme rozdělit na aglutinaci přímou a aglutinaci nepřímou. V přímé aglutinaci se uplatňují protilátky, které jsou schopny překlenout vzdálenost mezi erytrocyty. Mezi tyto protilátky patří imunoglobuliny třídy IgM, ojediněle mohou aglutinovat i protilátky IgG (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013; Masopust, Písačka, 2022).

IgG protilátky jsou schopny aglutinovat erytrocyty v případě, že mají erytrocyty velký počet vazebných míst blízko vedle sebe, a tak se molekuly IgG mohou propojit s vedlejším erytrocytem (Penka et al., 2012).

Přímá aglutinace se nejvíce využívá při detekci erytrocytárních antigenů (antigeny ABO systému, RhD a u ostatních krevně skupinových systémů) a k detekci antierytrocytárních protilátek (Moulds et al., 2011; Blaney a Howard, 2013; Masopust, Písačka, 2022).

Aglutinační testy se mohou v laboratoři provádět hned několika způsoby. Mezi nejčastější patří zkumavkový test, sklíčková metoda, sloupcová aglutinace nebo metoda pevné fáze (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013).

Při hodnocení aglutinačních testů se nejčastěji používá hodnocení na kříže (stupnice 0 až čtyři kříže - +++) (Blaney a Howard, 2013).

## 5.2 *Antiglobulinové testy*

Antiglobulinové testy, dále je můžeme najít v literatuře jako AGH testy (z anglického anti – human globulin test) nebo Coombsovy testy. Antiglobulinový test je jedním z nejdůležitějších testů, které se provádějí v imuno hematologické laboratoři (Penka et al., 2012; Blaney a Howard, 2013; Erhabor a Adias, 2013).

Tyto testy se používají na průkaz protilátek, které nejsou schopné aglutinovat erythrocyty přímo. Antiglobulinové testy můžeme rozdělit na přímé (PAT – přímý antiglobulinový test) a nepřímé (NAT – nepřímý antiglobulinový test) (Moulds et al., 2011; Penka et al., 2012; Masopust, Písačka, 2022).

Přímý antiglobulinový test slouží k detekci IgG protilátek (nebo složek aktivovaného komplementu), které jsou navázané na erythrocytech pacienta in vivo. Tento test se používá při průkazu AIHA (autoimunitní hemolytická anémie), HON (hemolytické onemocnění novorozence) nebo hemolytické potransfuzní reakce (Erhabor a Adias, 2013; Řeháček et al., 2013; Masopust, Písačka, 2022).

PAT se provádí u dárců krve pouze v případě, když se objeví neobvyklé výsledky (př. pozitivní Rh kontrola, pozitivní screening protilátek). Dále se PAT také provádí v případě, že dojde k reaktivitě erythrocytárního transfúzního přípravku či krve (krevního vzorku) pacienta (Motáň et al., 2016).

Nepřímý antiglobulinový test se používá k detekci protilátek, které se nacházejí ve volném séru nebo plazmě (in vitro). Protilátky se v séru mohou prokázat až po inkubaci (při 37 °C) a po přidání AGH séra (Erhabor a Adias, 2013).

NAT se používá jako základní test identifikaci a screening protilátek, a také slouží jako základní test pro test kompatibility. Dále se může používat k detekci patologických chladových protilátek. Nebo lze tímto testem vyšetřovat antigeny některých krevních skupin (např. systém Duffy, systém S, s) (Penka et al., 2012; Erhabor a Adias, 2013; Řeháček et al., 2013; Masopust, Písačka, 2022).

### **5.3 Enzymové testy**

Enzymové testy se v imunohematologii používají jako doplňková metoda pro detekci některých protilátek (např. anti-Kidd, anti-Lewis, aj.) popřípadě pro vyšetření směsi protilátek. Enzymové testy se mohou rozdělit na jednofázové nebo dvoufázové. Mezi nejpoužívanější enzymy patří papain, bromelin a ficin (Penka et al., 2012; Masopust, Písačka, 2022).

## 6 Imunohematologická vyšetření dárce krve

Pro imunohematologické vyšetření dárce se používá převážně nesrážlivá krev, ale je možno použít i krev srážlivou. Nesrážlivou krev odebíráme do zkumavky s protisrážlivým činidlem EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina) (Základní imunohematologické vyšetření ..., 2012; Imunohematologické vyšetření ..., 2012; Laboratorní příručka HTO ..., 2022).

Pro vyšetření krevní skupiny, screeningu nepravidelných protilátek, zkoušku kompatibility, HON se odebírá nesrážlivá krev do zkumavky s protisrážlivým roztokem K2EDTA nebo K3EDTA, nebo se odebírá srážlivá krev do zkumavky bez gelu nebo do zkumavky s aktivátorem srážení. Po odebrání je vždy důležité zkumavku s roztokem promíchat. Zkumavka se jemně promíchá pomocí převrácení zkumavky (Laboratorní příručka HTO ..., 2022).

Dále mezi imunohematologická vyšetření patří stanovení chladových protilátek, pro které se odebírá srážlivá krev do zkumavky s aktivátorem srážení. U tohoto vyšetření je nutno zabránit poklesu teploty, než se vzorek dostane do laboratoře (Laboratorní příručka HTO ..., 2022).

### 6.1 *Imunohem. vyšetření prvodárce v krevně skupinovém systému AB0 a RhD*

U prvodárců vyšetřujeme krevní skupinu v AB0 systému ze dvou na sobě nezávislých vzorků. Vždy se minimálně jednou musí vyšetřit aglutinogeny (antigeny na erytrocytech) a aglutininy (protilátky v séru). Pro stanovení se používají minimálně diagnostická séra anti-A a anti-B pro stanovení aglutinogenů a diagnostické erytrocyty A<sub>1</sub> a B, které slouží pro stanovení aglutininů. U krevní skupiny A, AB se nevyžaduje stanovení podskupiny, ale pokud je podskupina určena, tak by se měla určit u následujícího odběru jako druhé kontrolní vyšetření (Imunohematologické vyšetření ..., 2012).

Jako další vyšetření se u prvodárců provádí stanovení RhD. Vyšetření se provádí dvakrát ze dvou nezávislých vzorků. Ke stanovení se používají diagnostická séra anti-D třídy IgM s dvěma různými klony protilátek a společně s nimi Rh kontrola, která by měla být vždy negativní. U vyšetření kdy jsou obě reakce s diagnostickými séry pozitivní, se dárce označí D<sup>w/v</sup> a transfúzní přípravek z jeho krve je označený jako RhD pozitivní. Pokud jsou reakce s oběma séry negativní, dárce je označen jak RhD negativní (Imunohematologické vyšetření ..., 2012).

## **6.2 Imunohem. vyšetření dárce v krevně skupinovém systému AB0 a RhD**

U opakovaných dárců se stanovuje krevní skupina a RhD jako u prvodárců, ale ve zkrácené verzi. U stanovení krevní skupiny se standardně vyšetřují alespoň aglutinogeny a jako druhé (referenční) stanovení je porovnání předchozího výsledku z předešlého odběru (Imunohematologické vyšetření ..., 2012; Základní imunohematologické vyšetření ..., 2012).

Při stanovení RhD se provádí jedno vyšetření pomocí diagnostického séra anti-D třídy IgM a RhD negativní kontrola. Jako druhé referenční stanovení je výsledek vyšetření z minulého odběru a výsledek v databázi z dalších předchozích odběrů. Jelikož můžeme porovnat výsledky dárce z minulosti, už není potřeba provádět vyšetření slabého nebo variantního antigenu D (Imunohematologické vyšetření ..., 2012).



## **7 Cíle práce a hypotézy**

### **7.1 Cíle**

Samostatně zpracovávat v imunohematologické laboratoři krevní vzorky dárců krve a to v rozsahu krevní skupina v AB0 systému + RhD.

Následně zhodnotit počty odběrů dárců z hlediska celkového počtu odběrů dárců v období 6 let, dále porovnat zastoupení jednotlivých krevních skupin v AB0 systému + RhD se zastoupením v populaci.

### **7.2 Hypotézy**

1. Rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 u dárců na HTO (hematologicko – transfúzní oddělení) Nemocnice Písek, a.s. odpovídá rozložení v populaci.
2. Poměr RhD pozitivních a RhD negativních dárců na HTO Nemocnice Písek, a.s. odpovídá poměru RhD pozitivních a RhD negativních lidí v populaci.
3. Poměry počtů odběrů plné krve u jednotlivých krevních skupin (A RhD pozit., A RhD negat., B RhD pozit., B RhD negat., AB RhD pozit., AB RhD negat., 0 RhD pozit., 0 RhD negat.) se v průběhu šesti sledovaných let na HTO Nemocnice Písek, a.s. nemění.

## 8 Metodika

Hlavním úkolem v této bakalářské práci bude v rámci automatizovaných i manuálních imunohematologických laboratorních vyšetření dárců krve a jejich složek zpracovat vyšetření krevní skupiny v systému AB0 (tedy krevní skupina A, B, AB a 0) a systému RhD (RhD pozitivní nebo RhD negativní). Vyšetření se bude provádět u pravidelných opakovaných dárců krve a dále pak u prvodárců.

Pro potřebu statistického hodnocení budou sbíraná data ze systému LIS v nemocnici Písek a.s. na Hematologicko – transfúzním oddělení, aby obsahovala období šesti let (2017–2022).

Dále pro statistické zhodnocení bude do metodiky zařazeno průměrné procentuální zastoupení krevních skupin v AB0 a RhD systému v populaci. Průměrné hodnoty byly převzaty ze zdroje Masopust, J., Písačka, M. (2022): krevní skupina A zastoupena 42 %, B 17 %, AB 9 % a 0 32 % a rozmezí pro RhD systém: RhD pozitivní 85 % a RhD negativní 15 %.

### 8.1 *Imunohematologické vyšetření*

K samotnému odběru krve (darování) je připuštěn pouze způsobilý dárcce. Dárcům se odebírá venózní krev (tzn. žilní), standardně v množství 410 až 450 ml.

Jako první se dárci odebírá krev do malého vaku, který je součástí odběrové soupravy. Po naplnění malého vaku se začne plnit hlavní odběrový vak. Odebraná krev do malého vaku slouží pro naplnění dvou zkumavek, které jsou potřebné na virologické a imunohematologické vyšetření.

Krev na imunohematologické vyšetření se odebírá do zkumavky s protisrážlivým činidlem K3EDTA.

Po ukončení odběru se z transfúzního vaku odtrhne první segment a vloží se do zkumavky, která je označena stejným číslem jako transfúzní vak a zkumavky na imunohematologické a virologické vyšetření. Tento segment slouží jako druhá kontrola k imunohematologickému vyšetření, které se provádí ze zkumavky, která byla odebrána z malého vaku.

Před samotným imunohepatologickým vyšetřením vzorků si dárce rozdělíme na prvodárce a opakované dárce. Důvodem rozdělení je rozdílné zpracování vzorku.

### **8.2 Poodběrové imunohepatologické vyšetření v poloautomatizovaném provozu**

Pro poloautomatizovaný provoz se v laboratoři používají přístroje SWING II TwinSampler, SAXO ID-Reader II a BENJO ID-Reader od společnosti BIO-RAD.

Poloautomatický přístroj SWING II slouží v imunohepatologické laboratoři k vyšetření systému ABO a RhD, dále pak k vyšetření screeningu protilátek. Hlavní funkce tohoto přístroje je pipetování krvinek a séra pacienta do karet ID-card LISS/Coombs a mikrotitračních destiček. Součástí přístroje jsou reagenty – krevinky A<sub>1</sub>, B, POOL, diluent 1 a 2.

V poloautomatizovaném provozu vyšetřuje zkumavky určené pro imunohepatologické vyšetření, které odebrala odběrová sestra z malého vaku, který je součástí odběrového setu pro odběr plné krve. Tyto vzorky po odběru stáčíme v centrifuze 10 minut při 3000 otáčkách/min. Vzorky si rozdělíme na dárce opakované a na prvodárce. U prvodárců se na ID kartě vyšetřuje krevní skupina, která je rozdělena na aglutinogeny a aglutininy, dále Rh fenotyp a nepravidelné protilátky. U opakovaného dárce se na ID kartě stanovuje zkrácená krevní skupina – pouze aglutinogeny a antigen D a nepravidelné protilátky. Po napipetování veškerých vzorků ID karty vložíme do centrifugy SAXO ID-Reader II.

Zcentrifugované ID karty odečítáme na přístroji BANJO. Výsledky v ID kartě (mikrotitračních zkumavkách) se odečítají na kříže (++++ silná pozitivita, +++ silnější pozitivita, ++ pozitivita, + slabá pozitivita, – negativita).

Načtené výsledky z přístroje BANJO můžeme kontrolovat průběžně nebo až na konci měření všech vzorků. Změřené výsledky nalezneme v programu IH-com v oddělení výsledky. Než výsledky uvolníme, musíme je nejprve zkontrolovat a potvrdit. Poté jsou výsledky automaticky přeneseny do LISu.

### **8.3 Manuální imunohepatologické vyšetření**

Jako manuální imunohepatologické vyšetření probíhá v laboratoři určení krevní skupiny a RhD pomocí zkumavkové metody. Zkumavková metoda slouží jako druhé kontrolní vyšetření k odebrané zkumavce na imunohepatologické vyšetření, které se provádí

pomocí poloautomatizovaného provozu. Vyšetření ve zkumavkách provádíme ze segmentu, který byl utržený z transfúzního vaku.

Segmenty v imuno hematolog. laboratoři přepustíme do příslušně označené zkumavky a následně z krve připravíme 3–4% suspenzi vyšetřovaných erytrocytů, které jsou jedenkrát proprané ve fyziologickém roztoku.

### 8.3.1 Vyšetření aglutinogenů a RhD ve zkumavce

Vyšetření aglutinogenů provádíme pomocí diagnostických sér. Používáme diagnostické séra anti-A, anti-B, anti-AB. Séra jsou dobře rozeznatelná, jsou rozlišena pomocí barev: sérum anti-A je modré, anti-B žluté a anti-AB průhledné. Pro vyšetření antigenu D v krevně skupinovém systému RhD se používá diagnostické sérum anti-D. Diagnostické sérum anti-D používáme dvojího typu: diagnostické sérum anti-D s protilátkami IgM a diagnostické sérum s protilátkami IgM a IgG. Při vyšetření antigenu D se musí vždy provést negativní kontrola.

Vyšetření aglutinogenů a antigenu D se provádí tak, že do připravené zkumavky kápneme jednu kapku diagnostického séra, které je vytemperované na laboratorní teplotu. A poté do zkumavky přidáme jednu kapku 3–4% suspenze vyšetřovaných erytrocytů.

Zkumavky dáme centrifugovat na 30 sekund při 2500 ot./min, poté erytrocyty resuspendujeme mírným poklepem na dno zkumavky a odečítáme makroskopicky.

Hodnotíme aglutinaci, kdy je pozitivní reakce od jednoho do čtyř křížů (hodnotíme: poz+, poz++, poz+++ nebo poz++++). Pokud k aglutinaci nedošlo, je reakce negativní.

Tabulka č. 1 – Schéma pro odečet výsledků vyšetření aglutinogenů u krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0

Krevní skupina	Diagnostická séra		
	anti-AB	anti-B	anti-A
0	-	-	-
A	+	-	+
B	+	+	-
AB	+	+	+

Zdroj: vlastní výzkum

Když ve zkumavkách se séry anti-D je negativní reakce, je dárce RhD negativní, pokud je reakce v obou zkumavkách pozitivní, je dárce RhD pozitivní. U dárce, který má rozdílně slabé nebo rozdílné reakce se séry anti-D, vyšetřujeme D<sup>w/v</sup> variantu.

### 8.3.2 *Vyšetření aglutininů ve zkumavce*

Vyšetření aglutininů v séru pacienta se provádí pomocí diagnostických typových krvinek. Používáme typové krvinky A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B a 0.

Vyšetření aglutininů se provádí tak, že do zkumavky dáme jednu kapku typových krvinek a přidáme dvě kapky vyšetřovaného séra. Poté centrifugujeme 30 sekund při 2500 ot./min, a resuspendujeme mírným poklepem na dno zkumavky a odečítáme makroskopicky.

Hodnotíme aglutinaci, kdy je pozitivní reakce od jednoho do čtyř křížů (hodnotíme: poz+, poz++, poz+++ nebo poz++++). Negativní reakce musí být vždy ve zkumavce, kde je zkoumané sérum a typové erytrocyty 0.

Tabulka č. 2 – Schéma pro odečet výsledků vyšetření aglutininů u krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0

Krevní skupina	Typové krvinky			
	0	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B
0	-	+	+	+
A	-	-	-	+
B	-	+	+	-
AB	-	-	-	-

Zdroj: vlastní výzkum

### 8.3.3 *Vyšetření krevních podskupin*

Krevní podskupinu vyšetřujeme u dárců, kteří mají krevní skupinu A nebo AB.

Při pozitivní reakci se sérem anti-A<sub>1</sub> se jedná o podskupinu A<sub>1</sub> nebo A<sub>1</sub>B, pokud je reakce se sérem anti-H, jde o podskupinu A<sub>2</sub> nebo A<sub>2</sub>B. Pokud vyšetřujeme podskupinu u krevní skupiny A a ani v jedné ze zkumavek žádná reakce, zkumavky inkubujeme při laboratorní teplotě 10 min. a poté opět zcentrifugujeme a následně se nám zviditelní reakce. Pokud vyšetřujeme podskupinu v krevní skupiny AB a aglutinace ani po inkubaci 10 min. není přítomna, jde o podskupinu A<sub>2</sub>B.

V případě, kdy je reakce v obou zkumavkách, jde o intermediální typ podskupiny a výsledek se určuje podle toho, s jakým diagnostickým sérem je reakce silnější.

#### **8.3.4 *Vyšetření D<sup>w/v</sup> varianty sloupcovou aglutinací***

Vyšetření D<sup>w/v</sup> varianty se provádí v mikrozkušavkách ID gelové karty. Do zkumavky se napipetuje 50 µl suspenze erytrocytů a 25 µl diagnostického séra anti-D Blend (obsahující protilátky IgG a IgM). Následně inkubujeme, centrifugujeme a hodnotíme vzniklou reakci.

Reakce v mikrozkušavkách se hodnotí na kříže (poz+, poz++, poz+++ nebo poz++++). Pozitivní reakce je, když je prstenec erytrocytů nad gelem, nebo erytrocyty propadají gelem postupně ke dnu, nebo erytrocyty vzlínají ode dna mikrozkušavky. Negativní reakce je tehdy, když je sediment erytrocytů usazen na dně zkumavky.

## 9 Výsledky

Soubor dat pro výzkum obsahuje data z období 6 let (rok 2017–2022), kdy se zaznamenávaly počty odběrů dárců, kteří docházeli na odběrové místo v Nemocnici Písek a.s. V rámci těchto dat budou sledována a porovnávána jednotlivá zastoupení krevních skupin v ABO systému a RhD systému.

### 9.1 Kontingenční tabulky četností

Ze získaných dat byly vypracovány v programu Excel kontingenční tabulky (tab. č. 3, tab. č. 4), které popisují počty odběrů a procentuální zastoupení odebraných dárců v jednotlivých letech (2017 až 2022), kteří docházeli na odběrové místo v Nemocnici Písek a.s.

Tabulka č. 3 – Počty odběrů jednotlivých krevních skupin v letech 2017 až 2022.

Krevní skupina		Rok					
		2017	2018	2019	2020	2021	2022
Četnosti	A	1408	1475	1618	1240	1176	1355
	B	527	531	583	460	404	478
	AB	242	262	271	207	189	235
	0	1186	1356	1381	1194	1170	1244

Zdroj: vlastní výzkum

Tabulka č. 4 – Procentuální zastoupení odběrů dárců krve v letech 2017 až 2022.

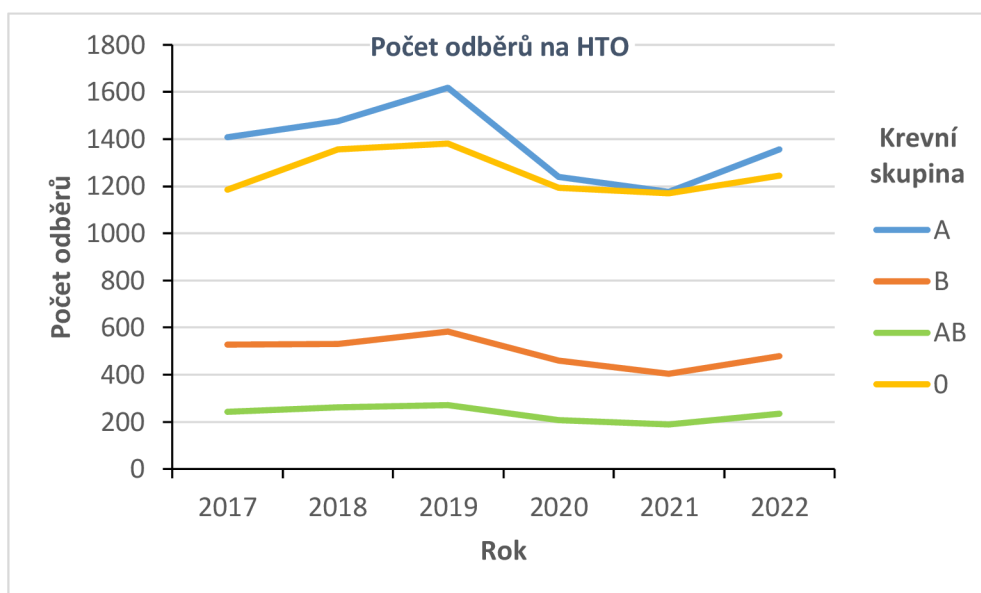
Krevní skupina		Rok					
		2017	2018	2019	2020	2021	2022
Procenta	A	42 %	41 %	42 %	40 %	40 %	41 %
	B	16 %	15 %	15 %	15 %	14 %	14 %
	AB	7 %	7 %	7 %	7 %	6 %	7 %
	0	35 %	37 %	36 %	39 %	40 %	38 %

Zdroj: vlastní výzkum

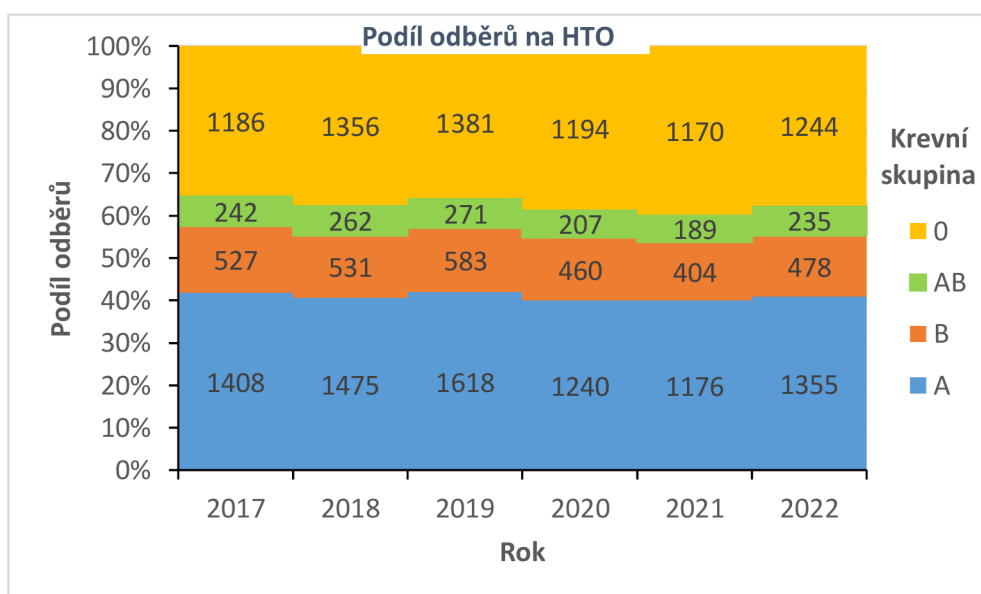
### 9.2 Zastoupení počtů odběrů dárců na HTO

V následujících grafech (obr. č. 1 a obr. č. 2) je zobrazen počet odběrů (v celých číslech a procentech) dárců plné krve, který je rozdělen podle krevních skupin v krevně skupinovém systému ABO (tj. A, B, AB a 0).

Jak podle grafů můžeme vidět, nejvíce odběrů dárců, kteří darovali krev v letech 2017 až 2022, proběhlo u krevní skupiny A, kde se počet odběrů pohybuje mezi 1176 a 1618.



Obrázek č. 1 – Graf: Počet odběrů na HTO v letech 2017–2022, rozděleno podle rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0.



Obrázek č. 2 – Graf: Podíl odběrů na HTO v letech 2017–2022, rozděleno podle rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0.

### 9.3 Zastoupení počtů odběrů dárců v krevně skupinovém systému RhD

Nejprve byly vypracovány tabulky, kde jsou zahrnuty jednotlivé počty odběrů dárců v krevně skupinovém systému RhD.

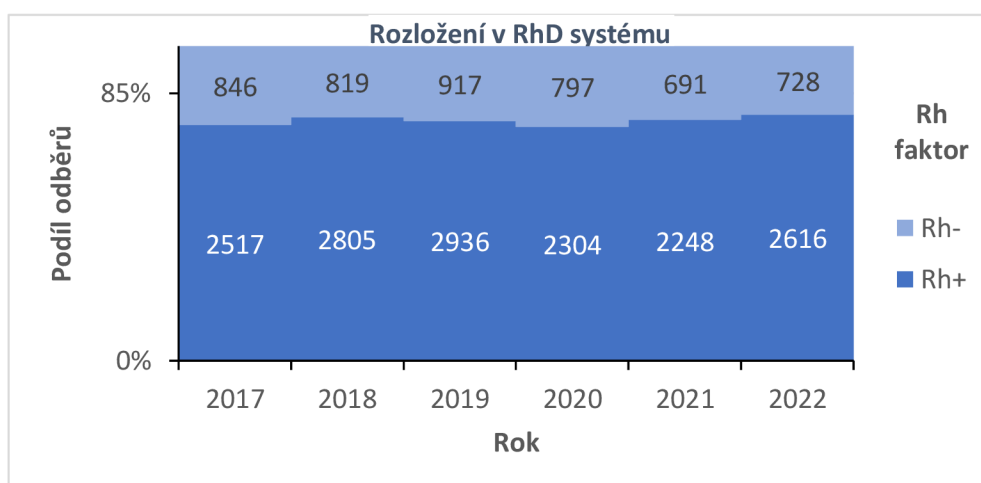
Dále ze získaných dat z HTO byla zhotovena kontingenční tabulka (tab. č. 5) a graf (obr. č. 3), kde vidíme zastoupení v odběrech dárců v krevně skupinovém systému RhD ve sledovaném období v letech 2017 až 2022.



Tabulka č. 5 – Počet odběrů a procentuální zastoupení počtu odběrů dárců v RhD systému v letech 2017 až 2022.

RhD systém		Rok					
		2017	2018	2019	2020	2021	2022
Četnosti	Rh+	2517	2805	2936	2304	2248	2616
	Rh-	846	819	917	797	691	728
Procenta	Rh+	75 %	77 %	76 %	74 %	76 %	78 %
	Rh-	25 %	23 %	24 %	26 %	24 %	22 %

Zdroj: vlastní výzkum



Obrázek č. 3 – Graf: Podíl odběrů dárců v krevně skupinovém systému RhD v období 2017 až 2022.

Podle zhotovené tabulky a grafu můžeme zhodnotit, že je větší procentuální podíl u odběru dárců RhD pozitivních. Procentuální rozmezí RhD pozitivních dárců v období 2017 až 2022 se pohybuje od 74 % do 78 %.

#### 9.4 Rozložení krevních skupin v AB0 a RhD systému na HTO

Další získaná data z LISU odkazují na první dvě předešlé tabulky (tab. č. 3 a č. 4). Data byla rozšířena a v následujících tabulkách (tab. č. 6 a tab. č. 7) a grafu (obr. č. 4) můžeme vidět rozložení všech krevních skupin v AB0 a RhD systému.

Tabulka č. 6 – Podrobné rozdělení odběrů dárců v rámci krevně skupinového systému AB0 a RhD v letech 2017 až 2022.

Krevní skupina	Rok					
	2017	2018	2019	2020	2021	2022
A+	1032	1115	1223	903	877	1025
A-	376	360	395	337	299	330
B+	440	459	491	385	349	440
B-	87	72	92	75	55	70
AB+	183	192	196	155	151	188
AB-	59	70	75	52	38	47
O+	862	1039	1026	861	871	963
O-	324	317	355	333	299	281
<b>celkem</b>	<b>3363</b>	<b>3624</b>	<b>3853</b>	<b>3101</b>	<b>2939</b>	<b>3344</b>

Zdroj: vlastní výzkum

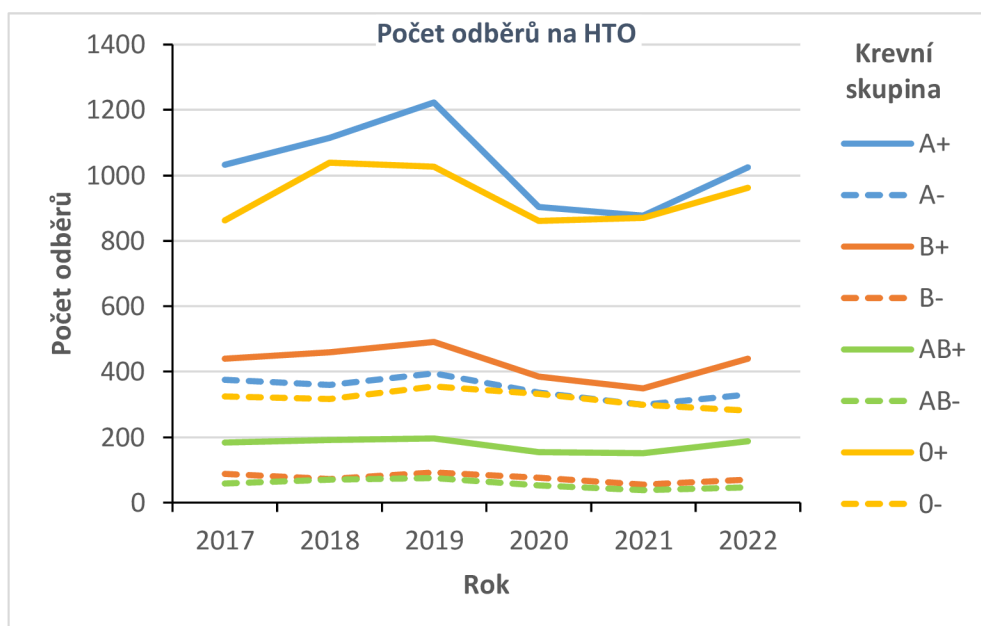
Z nasbíraných dat můžeme usoudit, že se počty odběrů dárců plné krve na HTO za jednotlivé roky mění a nejsou vždy stejné jako roky předešlé.

Na základě tabulky (tab. č. 7) a porovnání jednotlivých hodnot mezi sebou a mezi jednotlivými roky můžeme říci, že zamítáme nulovou hypotézu: „Poměry počtů odběrů plné krve u jednotlivých krevních skupin (A RhD pozit., A RhD negat., B RhD pozit., B RhD negat., AB RhD pozit., AB RhD negat., 0 RhD pozit., 0 RhD negat.) se v průběhu šesti sledovaných let na HTO Nemocnice Písek, a.s. nemění“.

Tabulka č. 7 – Podrobné procentuální rozdělení počtů odběrů dárců krve v rámci krevně skupinového systému AB0 a RhD v letech 2017 až 2022.

Krevní skupina	Rok					
	2017	2018	2019	2020	2021	2022
A+	31 %	31 %	32 %	29 %	30 %	31 %
A-	11 %	10 %	10 %	11 %	10 %	10 %
B+	13 %	13 %	13 %	12 %	12 %	13 %
B-	3 %	2 %	2 %	2 %	2 %	2 %
AB+	5 %	5 %	5 %	5 %	5 %	6 %
AB-	2 %	2 %	2 %	2 %	1 %	1 %
O+	26 %	29 %	27 %	28 %	30 %	29 %
O-	10 %	9 %	9 %	11 %	10 %	8 %

Zdroj: vlastní výzkum



Obrázek č. 4 – Graf: Počet odběrů na HTO v letech 2017–2022, rozděleno podle rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a RhD.

V nasbíraných datech je nejvíce zastoupena krevní skupina A, a z této skupiny nejvíce docházejí darovat krev dárči s krevní skupinou A RhD pozitivní. Zastoupení těchto odběrů dárců se pohybuje v letech 2017–2022 v rozmezí 1223 až 877 odběrů za rok. Druhou nejvíce zastoupenou krevní skupinou v AB0 a RhD systému je krevní skupina 0 RhD pozitivní. Jako třetí nejzastoupenější krevní skupina v krevně skupinovém systému AB0 a RhD je krevní skupina B RhD pozitivní. Nejméně zastoupenou krevní skupinou v krevně skupinovém systému AB0 a RhD je krevní skupina AB RhD negativní, u níž v letech 2017–2022 proběhlo jen 38–75 odběrů ročně.

## 9.5 Chí kvadrát test

Dále byl proveden chí kvadrát test pomocí vzorce CHITEST v programu Excel, který testuje podobnost reálných čísel a očekávaných čestností.

### 9.5.1 Chí kvadrát test pro zastoupení počtů odběrů dárců v AB0 systému

Nejprve byla z dat vypracována v programu Excel kontingenční tabulka (tab. č. 8), která popisuje reálné zastoupení počtu odběrů dárců plné krve v AB0 krevně skupinovém systému na oddělení HTO v jednotlivých letech (2017–2022).

Tabulka č. 8 – reálné zastoupení odběrů dárců krve v krevně skupinovém systému AB0 na HTO v letech 2017–2022.

Krevní skupina		Rok					
		2017	2018	2019	2020	2021	2022
Četnosti	A	1408	1475	1618	1240	1176	1355
	B	527	531	583	460	404	478
	AB	242	262	271	207	189	235
	0	1186	1356	1381	1194	1170	1244

Zdroj: vlastní výzkum

Druhá kontingenční tabulka (tab. č. 9) popisuje očekávané zastoupení odběrů dárců plné krve v AB0 krevně skupinovém systému na oddělení HTO v jednotlivých letech (2017 – 2022). Tato tabulka byla vypočítána v programu Excel. Počítala se podle rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 v populaci, podle poměru krevních skupin A 42 %, B 17 %, AB 9 % a 0 32%. Očekávané hodnoty byly vypočítány v programu Excel. Jednotlivé zastoupení bylo počítáno takto: byly sečteny počty všech odběrů za rok a poté byly podle procentuálního zastoupení vypočítány jednotlivé očekávané hodnoty zastoupení krevních skupin pro daný rok.

Tabulka č. 9 – očekávané zastoupení počtu odběrů dárců v krevně skupinovém systému AB0 na HTO v letech 2017–2022.

Krevní skupina	Rok					
	2017	2018	2019	2020	2021	2022
A	1412	1522	1618	1302	1234	1391
B	572	616	655	527	500	563
AB	303	326	347	279	265	298
0	1076	1160	1233	992	940	1060

Zdroj: vlastní výzkum

Obě tabulky byly porovnány pomocí chí kvadrát testu v programu Excel pomocí vzorce CHITEST. Hladina významnosti (p) u chí kvadrát testu byla < 5 %. Výsledek tohoto testu, je, že se zamítá nulová hypotéza: „Rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 u dárců na HTO Nemocnice Písek, a.s. odpovídá rozložení v populaci“.

### 9.5.2 Chí kvadrát test pro zastoupení počtů odběrů dárců v krevně skupinovém systému Rh

Dárci, kteří docházeli na odběrové místo na HTO v Nemocnici v Písku, byli rozděleni podle krevně skupinového systému RhD – pozitivní nebo negativní. Z těchto získaných dat byla následně zpracována kontingenční tabulka (tab. č. 10). Data byla sbírána v období 2017–2022.

Tabulka č. 10 – reálné zastoupení počtu odběrů dárců krve v krevně skupinovém systému RhD na HTO v letech 2017–2022

RhD systém		Rok					
		2017	2018	2019	2020	2021	2022
Četnosti	RhD+	2517	2805	2936	2304	2248	2616
	RhD-	846	819	917	797	691	728

Zdroj: vlastní výzkum

Další kontingenční tabulka (tab. č. 11) popisuje očekávané zastoupení počtu odběrů dárců, rozdělené podle krevně skupinového systému RhD, kteří docházeli na odběrové místo v letech 2017–2022. Tabulka byla vypočítána pomocí programu Excel. Tabulku očekávaných hodnot byla počítána pomocí průměrných hodnot zastoupení dárců v RhD systému v populaci. Poměr dárců je takovýto: RhD pozitivních 85 % a RhD negativních 15 %. Očekávané hodnoty se počítaly takto: provedl se součet všech odběrů za rok, a poté se podle procentuálního zastoupení spočítaly očekávané počty odběrů RhD pozitivních a RhD negativních. Takto se každý rok provedl zvlášť.

Tabulka č. 11 – očekávané zastoupení počtů odběrů dárců v krevně skupinovém systému RhD na HTO v letech 2017–2022.

RhD systém		Rok					
		2017	2018	2019	2020	2021	2022
Četnosti	Rh+	2565	2764	2939	2365	2242	2551
	Rh-	798	860	914	736	697	793

Zdroj: vlastní výzkum

Obě kontingenční tabulky byly porovnány pomocí chí kvadrát testu v programu Excel pomocí vzorce CHITEST. Hladina významnosti (p) u chí kvadrát testu byla < 5 %. Výsledek tohoto testu je, že se zamítá nulová hypotéza: „Poměr RhD pozitivních a RhD negativních dárců na HTO Nemocnice Písek, a.s. odpovídá poměru RhD pozitivních a RhD negativních lidí v populaci“.

## 10 Diskuze

V bakalářské práci na téma „Imunohematologické vyšetření dárců na Hematologicko – transfúzním oddělení v Nemocnici Písek a.s.“ bylo hlavním cílem zpracování krevních vzorků dárců plné krve v imunohematologické laboratoři a stanovení krevní skupiny v krevně skupinovém systému AB0 a RhD. Následně byly zhodnoceny počty odběrů plné krve v období 6 let (2017–2022) a bylo porovnáno jejich zastoupení se zastoupením krevních skupin v populaci.

Zjištěné rozložení krevních skupin v rámci odběrů krve provedených na HTO Nemocnice Písek a.s. je např. za rok 2022 následující: krevní skupina A 41 %, B 14 %, AB 7 % a 0 38 %. Ale podle Masopust, J. a Písačka, M. (2022) se rozložení krevních skupin v České republice pohybuje rozdílně. Masopust, J. a Písačka, M. (2022) uvádí, že zastoupení je následující: krevní skupina A 40–44 %, krevní skupina B 15–18 %, krevní skupina AB 8–9 % a krevní skupina 0 30–34 %. I když výpočty v bakalářské práci byly provedeny podle průměrných hodnot, které udává Masopust, J. a Písačka, M. (2022), jsou zde rozdílné výsledky v zastoupení krevních skupin. Důvodem rozdílných výsledků na HTO Nemocnice Písek a.s. je, že si samo zve dárce na odběry dle potřeby, vyšší potřeba než zastoupení v populaci je u krevní skupiny 0. Dárci s krevní skupinou 0 jsou označeni za univerzální dárce, mohou darovat krev i ostatním skupinám, jak říká Penka et al. (2012).

Dále Řeháček, V. et al. (2013) udává jiné zastoupení, než vyšlo v rámci výzkumu k této bakalářské práci a také jiné než Masopust, J. a Písačka, M. (2022). Řeháček, V. et al. (2013) říká, že zastoupení je následující: krevní skupina A tvoří 40 %, krevní skupina B 18 %, krevní skupina AB 8 % a krevní skupina 0 34 %. Výsledky získané výzkumem v rámci této bakalářské práce se tedy liší i od tohoto zdroje.

Další možné zastoupení krevních skupin uvádí Motáň, V. (2022), podle kterých se zastoupení v České republice pohybuje: krevní skupina A 42 %, B 15 %, AB 4 % a 0 39 %. Toto zastoupení od Motáň, V. (2022) je ovšem taky odlišné od výsledků výzkumu v rámci této bakalářské práce.

Podle Masopust, J. a Písačka, M. (2022) se krevní skupina A vyskytuje v naší populaci v rozmezí 40–44 %, ve Skandinávii se podle Řeháček, V. et al. (2013) zastoupení krevní skupiny A pohybuje až okolo 60 %. Dále podle Řeháček, V. et al. (2013) ve Střední

a Jižní Americe převažuje v populaci krevní skupina 0, kdy v některých případech má tuto krevní skupinu až 100 % obyvatel. V centrální Asii je podle tohoto zdroje nejčastější krevní skupina B (40 %).

Další rozdíl v populačním zastoupení uvádí Enawgaw, B., et al. (2022) ve studii, která proběhla v regionálním státu Amhara v Etiopii v letech 2016 až 2018. Studie se účastnilo 1040 účastníků. Z těchto účastníků Enawgaw, B. et al. (2022) zjistil zastoupení krevních skupin v následovném poměru: krevní skupina A zastoupena 28,7 %, B 22 %, AB 7,7 % a skupina 0 41,6 %.

Populační zastoupení krevních skupin lze mimo krevně skupinového systému AB0 dělit i podle krevně skupinového systému RhD. Masopust, J. a Písačka, M. (2022) uvádí zastoupení následující: RhD pozitivních v rozmezí 82–88 % a RhD negativních v rozmezí 12–18 %. Výsledky získané v rámci výzkumu k této bakalářské práci jsou odlišné, např. v roce 2022 bylo zastoupení v počtu odběrů plné krve na HTO Nemocnice Písek a.s. následující: RhD pozitivních 78 % a RhD negativních 22 %. Pro dalšího srovnání uvádí Motáň, V. (2022), zastoupení v České republice v RhD systému takovéto: 85 % RhD pozitivních a 15 % RhD negativních. Při porovnání s Motáň, V. (2022) jsou výsledné hodnoty z HTO opět rozdílné. Důvodem vyššího zastoupení RhD negativních odběrů může být, jak říká Penka et al. (2012), že dárce s krevní skupinou 0 a RhD negativní je využíván coby univerzální dárce.

Pro porovnání zastoupení v tomto krevně skupinovém systému v naší populaci Masopust, J. a Písačka, M. (2022) udává: RhD pozitivních v rozmezí 82–88 % a RhD negativních v rozmezí 12–18 %. V populaci Afričanů přitom Penka et al. (2012) uvádí výskyt RhD pozitivních asi 95% a RhD negativních asi 5 %. U původních obyvatel pacifické oblasti a u indiánů Masopust, J., Písačka, M. (2022) udává zastoupení: RhD pozitivních 100 %. A velké procento RhD pozitivních udává Masopust, J., Písačka, M. (2022) ve východní Asii, kde se zastoupení je RhD pozitivních 90 %.

Pro další porovnání se zastoupením RhD v České Republice uvádí Enawgaw, B. et al. (2022) studii v regionálním státu Amhara v Etiopii, kde je zastoupení v krevně skupinovém systému RhD odlišné: RhD pozitivní 92,5 % a RhD negativních 7,5 %.

Z nasbíraných dat na HTO je patrné, že na odběrové místo docházejí dárce během sledovaných let v rozdílných počtech. Např. v roce 2020 bylo na odběrovém místě

provedeno 3101 odběrů plné krve. Pro porovnání Motáň, V. (2022) uvádí počet odběrů plné krve na transfúzním oddělení v Nemocnici České Budějovice v roce 2020 celkem 16987 odběrů. Stručný přehled činnosti oboru ... (2021) uvádí, že počet odběrů plné krve v Jihočeském kraji byl v roce 2020 celkem 21392 odběrů. Důvodem rozdílného počtu odběrů mezi HTO Nemocnice Písek a.s. a odběrovým místem na transfúzním oddělení v Nemocnici České Budějovice je, že odběrové místo v Nemocnici Písek je menší než v Českých Budějovicích, a odběry jsou zde prováděny jen ve dvou dnech v týdnu.



## 11 Závěr

V bakalářské práci na téma „Imunohematologické vyšetření dárců krve na Hematologicko – transfúzním oddělení v Nemocnici Písek a.s.“ byly stanovené dva cíle a tři hypotézy, které navazovaly na předešlé cíle. Jednalo se o kvantitativní výzkum.

Prvním cílem bakalářské práce bylo samostatně vyšetřovat v imunohematologické laboratoři krevní vzorky dárců plné krve v krevně skupinovém systému AB0 a RhD. Druhým cílem bylo následně zhodnotit počty odběrů dárců na HTO za období 6 let, a poté porovnat jejich zastoupení v krevně skupinovém systému AB0 a RhD se zastoupením v populaci. Na druhý cíl navazovaly tři hypotézy.

Hypotéza č. 1 zněla: „Rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 u dárců na HTO (Hematologicko – transfúzní oddělení) Nemocnice Písek, a.s. odpovídá rozložení v populaci“. Pomocí kontingenčních tabulek a chí kvadrát testu bylo zjištěno, že zastoupení není stejné. Zastoupení krevních skupin na HTO v Nemocnici Písek a.s. se pohybuje např. v roce 2022 takto: krevní skupina A 41 %, B 14 %, AB 7 % a 0 38 %, ale v populaci se krevní skupiny vyskytují průměrně takto: krevní skupina A 42 %, B 17 %, AB 9 % a 0 32 %.

Hypotéza č. 2 zněla: „Poměr RhD pozitivních a RhD negativních dárců na HTO Nemocnice Písek, a.s. odpovídá poměru RhD pozitivních a RhD negativních lidí v populaci“. Kontingenční tabulky a chí kvadrát test odhalil, že zastoupení na HTO není stejné jako v populaci. Populační zastoupení v RhD krevně skupinovém systému se pohybuje v průměrných hodnotách následovně: RhD pozitivních je 85 % a RhD negativních 15 %. Ale na HTO se rozdělení pohybuje např. v roce 2022 takto: RhD pozitivních 78 % a RhD negativních 22 %.

Hypotéza č. 3 zněla: „Poměry počtů odběrů plné krve u jednotlivých krevních skupin (A RhD pozit., A RhD negat., B RhD pozit., B RhD negat., AB RhD pozit., AB RhD negat., 0 RhD pozit., 0 RhD negat.) se v průběhu šesti sledovaných let na HTO Nemocnice Písek, a.s. nemění“. Bylo zjištěno, že poměry odběrů v jednotlivých krevních skupinách se liší. Důvodem může být i to, že si odběrové místo zve dárce na odběr podle potřeby a reguluje si takto stav zásob transfúzních přípravků.

Nejvíce odběrů za dobu sledovaných šesti let bylo provedeno u krevní skupiny A RhD pozitivní. Počet odběrů např. za rok 2022 byl u této skupiny 1025 odběrů

z celkového počtu všech 3344 odběrů za rok. Druhou nejvíce odebíranou krevní skupinou v roce 2022 je krevní skupina 0 RhD pozitivní u které bylo 963 odběrů. A naopak nejméně odběrů v roce 2022 bylo u krevní skupiny AB RhD negativní a to pouze 47 odběrů.

Všechny cíle a hypotézy bakalářské práce byly splněny a ukázaly, jaké je zastoupení dárců v krevně skupinovém systému AB0 a RhD na odběrovém místě HTO v Nemocnici Písek a.s. Práce by měla poukázat na důležitost darování krve a ukázat, jak se krevní skupina dá vyšetřovat v imunohematologické laboratoři. Přínosem práce bylo zjištění, jaké množství dárců chodí na odběrové místo na HTO a jaké je jejich zastoupení v jednotlivých krevně skupinových systémech AB0 a RhD. Tato práce má přínos i pro samotné HTO, protože zatím takovouto statistiku na oddělení nemají.

Další výzkum z předešlých a následujících let by byl určitě velmi zajímavý. Výsledky této bakalářské práce mohou sloužit pro statistické sledování dárců na HTO v Nemocnici Písek a.s., ale také i pro veřejnost a ostatní odběrová místa, kam dárce docházejí.

## 12 Seznam literatury

1. AJMANI, P. S., 2020. *Immunohematology and Blood Banking: Principles and Practice*. Springer Nature Singapore. 208 p. ISBN 978-981-15-8434-3
2. BLANEY, K. D., HOWARD, P. R., 2013. *Basic & Applied Concepts of Blood Banking and Transfusion Practices*. 3. issue. United States: Elsevier. 408 p. ISBN 978-0-323-08663-9.
3. DELVES, P. J., et al., 2017. *Roitt's Essential Immunology*. 13. issue. West Sussex: John Wiley & Sons. 556 p. ISBN 978-1-118-41577-1.
4. DRNKOVÁ, B., 2019. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie a hygiena: pro zdravotnické obory*. Praha: Grada. ISBN 978-80-271-0693-6.
5. ENAWGAW, B., et al., 2022. *Distribution of AB0 and Rh-D Blood Group Antigens Among Blood Donors in the Amhara Regional State, Ethiopia* [online]. *Journal of Blood Medicine*, 2022 (13): 97-104 [cit. 2022-06-19]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/JBM.S356425>
6. ERHABOR, O., ADIAS, T. CH., 2013. *Essentials of Blood Transfusion Science*. USA: AuthorHouse. 518 s. ISBN 987-1-4772-5095.
7. *Etický kodex získávání dárců krve, darování krve a využití transfuzních přípravků*, 1997. [online]. *Transfuze dnes, časopis Společnosti pro transfuzní lékařství*. [cit. 2022-11-05]. Dostupné z: <https://www.transfuznispolecnost.cz/system/content-article-list/eticky-kodex-stl-383>
8. FÁBRYOVÁ, V., et al., 2012. *Imunohematológia a transfúzna medicína pre prax*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing. 224 s. ISBN 978-8-247-4391-2.
9. FRIEDMAN, M. T., et al., 2016. *Immunohematology and Transfusion Medicine: A Case Study Approach*. Springer International Publishing Switzerland. 180 p. ISBN 978-3-319-22341-4.
10. HAMPLOVÁ, L., et al., 2019. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol. 2., aktualizované vydání*. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton. ISBN 978-80-7553-729-4.

11. HILLARD, M. L., ALVIN, H. S., 2019. *Concise Guide to Hematology*. Second edition. Springer Nature Switzerland AG. 558 p. ISBN 978-3-319-97873-4.
12. HOŘEJŠÍ, V., et al., 2017. *Základy imunologie*. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák – Triton. 297 stran. ISBN 978-80-7553-250-3.
13. *Imunohematologická vyšetření dárců krve a krevních složek*. 2012. [online]. In: *Transfuze a hematologie dnes*, 2012. 18(2). [cit. 2022-09-08]. ISSN 1213-5763. Dostupné také z: <http://www.prolekare.cz/transfuze-hematologie-dnes-archiv-cisel>
14. JÍLEK, P., 2019. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně - 2., doplněné vydání*. Praha: Grada. [cit. 2022-08-13]. ISBN 978-80-271-0595-3.
15. KÁŠ, S., 2012. *Prof. MUDr. Jan Janský – psychiatr a objevitel krevních skupin*. [online]. *Praktický lékař*. 92(4), 242-243. ISSN 0032-6739. [cit. 2022-08-30] Dostupné také z: <http://www.prolekare.cz/prakticky-lekar-archiv-cisel>
16. KEOHANE, E. M., et al., 2020. *Rodak's Hematology – Clinical Principles and Applications*. 6. issue. Canada: Elsevier. 904 p. ISBN 978-0-323-53045-3.
17. KITTNAR, O., et al., 2020. *Lékařská fyziologie*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-1963-4.
18. *Laboratorní příručka HTO Nemocnice Písek a.s.*, 2022. 11 verze. [online]. Písek: Hematologicko – transfúzní oddělení. [cit. 2023-03-08]. Dostupné z: <https://www.nemopisek.cz/oddeleni/oddeleni-hematologicko-transfuzni/dokumenty-ke-stazeni/>
19. MASOPUST, J., PÍSAČKA, M., 2022. *Praktická imunohematologie - erytrocyty*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-3377-2.
20. MOULDS, J. M., et al., 2011. *BeadChip Molecular Immunohematology: Toward Routine Donor and Patient Antigen Profiling by DNA Analysis*. London: Springer Science + Business Media. 176 p. ISBN 978-1-4419-7511-9.

21. MOTÁŇ, V., et al., 2016. *Přímý antiglobulinový test jako prediktor možného lymfoproliferativního onemocnění u asymptomatické dárkyně krve*. *Transfuze a hematologie dnes*. 15. pracovní dny v transfuzním lékařství a 9. národní aferetický den. 22(Suppl. 2), 50. [cit. 2022-09-08]. ISSN 1213-5763. Dostupné také z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes/2016-supplementum/postery-59740>
22. MOTÁŇ, V., 2022. *Krevní skupiny* [online]. *Nemocniční zpravodaj* (prosinec 2022). [cit. 2022-04-15]. Dostupné z: [https://www.nemcb.cz/upload/files/zpravodaj/NEMOCNICNI\\_ZPRAVODAJ\\_prosinec\\_2022.pdf](https://www.nemcb.cz/upload/files/zpravodaj/NEMOCNICNI_ZPRAVODAJ_prosinec_2022.pdf)
23. MOTÁŇ, V., 2022. *Historie a současnost transfúzního oddělení* [online]. *Nemocniční zpravodaj* (prosinec 2022). [cit. 2022-04-15]. Dostupné z: [https://www.nemcb.cz/upload/files/zpravodaj/NEMOCNICNI\\_ZPRAVODAJ\\_prosinec\\_2022.pdf](https://www.nemcb.cz/upload/files/zpravodaj/NEMOCNICNI_ZPRAVODAJ_prosinec_2022.pdf)
24. PANCZAK, A., OTOVÁ, B., 2013. *Lékařská biologie a genetika* (III. díl). Praha: Nakladatelství Karolinum. 146 s. ISBN 978-80-246-2415-0.
25. PENKA, M., et al., 2011. *Hematologie a transfúzní lékařství I – Hematologie*. Praha: Grada Publishing. 421 s., 30, 8, 23 s. obr. příl. ISBN 978-80-247-3459-0.
26. PENKA, M., et al., 2012. *Hematologie a transfúzní lékařství II – Transfúzní lékařství*. Praha: Grada Publishing. 192 s. XVI s. obr. příl. ISBN 978-80-247-3460-6.
27. PÍSAČKA, M., et al., 2012. *Imunohematologie – historie, současný stav, poznání a role ÚHKT* [online]. *Vnitřní lékařství* 2012: 58 (Suppl 2): 103 104 [cit. 2022 06 13]. Dostupné z: <https://www.casopisvnitrnilekarstvi.cz/pdfs/vnl/2012/89/14.pdf>
28. *Poučení dárce krve*, 2019. [online]. Doporučení výboru Společnosti pro transfúzní lékařství ČLS JEP č. STL\_01, verze 6 (2019\_07). [cit. 2023-02-12]. Dostupné z: [Doporučení STL č.1 Pouče... | Společnost pro transfúzní lékařství \(transfuznispolecnost.cz\)](https://www.transfuznispolecnost.cz)

29. *Posuzování způsobilosti k dárcovství krve a krevních složek*, 2022. [online]. Doporučení Společnosti pro transfúzní lékařství ČLS JEP č. STL2007\_03, verze 10 (2022\_07\_28). Doporučení STL č. 3. [cit. 2023-03-01]. Dostupné z: [Doporučené postupy | Společnost pro transfúzní lékařství \(transfuznispolecnost.cz\)](#)
30. *Referenční meze krevního obrazu, retikulocytů, normoblastů a diferenciálního rozpočtu leukocytů dospělých*, 2021. verze 2 [online]. Laboratorní sekce české hematologické společnosti ČLS JEP. [cit. 2022-08-30]. Dostupné z: [https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporučení\\_LS\\_CHS\\_CLS\\_JEP-Ref\\_meze\\_dospeli-KO\\_Diff\\_Ret\\_NRBC\\_v02\\_rev02.pdf](https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporučení_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_dospeli-KO_Diff_Ret_NRBC_v02_rev02.pdf)
31. ŘEHÁČEK, V., et al., 2013. *Transfúzní lékařství*. Praha: Grada Publishing. 237 s., XXIV s. obr. příl., ISBN 978-80-247-4534-3.
32. *Stručný přehled činnosti oboru transfúzní služba za období 2007–2020*, 2021. [online]. UZIS. [cit. 2023-04-19]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/res/f/008395/nzis-rep-2021-k21-a051-transfuzni-sluzba-2020.pdf>
33. *Základní imunohematologická laboratorní vyšetření červené řady - obecné zásady a technické postupy*, 2012. [online]. In: *Transfúze a hematologie dnes*, 2012. 18(2). [cit. 2022-09-08]. ISSN 1213-5763. Dostupné také z: <http://www.prolekare.cz/transfuzehematologie-dnes-archiv-cisel>

## 13 Seznam příloh a obrázků

### 13.1 Seznam obrázků

Obrázek č. 1 – Graf: Počet odběrů na HTO v letech 2017–2022, rozděleno podle rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0; zdroj: vlastní

Obrázek č. 2 – Graf: Podíl odběrů na HTO v letech 2017–2022, rozděleno podle rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0; zdroj: vlastní

Obrázek č. 3 – Graf: Podíl odběrů dárců v krevně skupinovém systému RhD v období 2017 až 2022; zdroj: vlastní

Obrázek č. 4 – Graf: Počet odběrů na HTO v letech 2017–2022, rozděleno podle rozložení krevních skupin v krevně skupinovém systému AB0 a RhD; zdroj: vlastní

Obrázek č. 5 – Přístroj SWING II; zdroj: vlastní

Obrázek č. 6 – Přístroj SAXO ID-Reader; zdroj: vlastní

Obrázek č. 7 – Přístroj BANJO ID-Reader; zdroj: vlastní

Obrázek č. 8 – Nová ID karta pro vyšetření prvodárce – vyšetření aglutinogenů; zdroj: vlastní

Obrázek č. 9 – Nová ID karta, na které jsou vyšetřování opakovaní dárce; zdroj: vlastní

Obrázek č. 10 – ID karta pro stanovení Rh fenotypu; zdroj: vlastní

Obrázek č. 11 – ID karta pro vyšetření opakovaného dárce, připravená k odečtení; zdroj: vlastní

Obrázek č. 12 – ID karta pro vyšetření prvodárce připravená k odečtení; zdroj: vlastní

Obrázek č. 13 – Vyšetření aglutinogenů pomocí diagnostických sér; zdroj: vlastní

Obrázek č. 14 – Vyšetření aglutininů pomocí diagnostických typových krvinek; zdroj: vlastní

Obrázek č. 15 – diagnostické typové krvinky; zdroj: vlastní

Obrázek č. 16 – diagnostická séra – anti-AB, anti-B a anti-A; zdroj: vlastní

Obrázek č. 17 – diagnostické sérum anti-D a negativní kontrola; zdroj: vlastní

### ***13.2 Seznam příloh***

Příloha č. 1 – Přístroje pro poloautomatizované imunohem. vyšetření

Příloha č. 2 – ID karty k poloautomatizovanému imunohem. vyšetření

Příloha č. 3 – Vyšetření zkumavkovou metodou



## 14 Přílohy

### 14.1 Příloha č. 1 – Přístroje pro poloautomatizované imunohem. vyšetření



Obrázek č. 5 – Přístroj SWING II – přístroj, který rozpipetovává krev a plazmu dárce do ID karet; zdroj: vlastní



Obrázek č. 6 – Přístroj SAXO ID-Reader – přístroj napipetované ID karty centrifuguje; zdroj: vlastní



Obrázek č. 7 – Příklad BANJO ID-Reader – přístroj, který načítá výsledky ze zcentrifugovaných gelových ID karet a přenáší je do PC; zdroj: vlastní

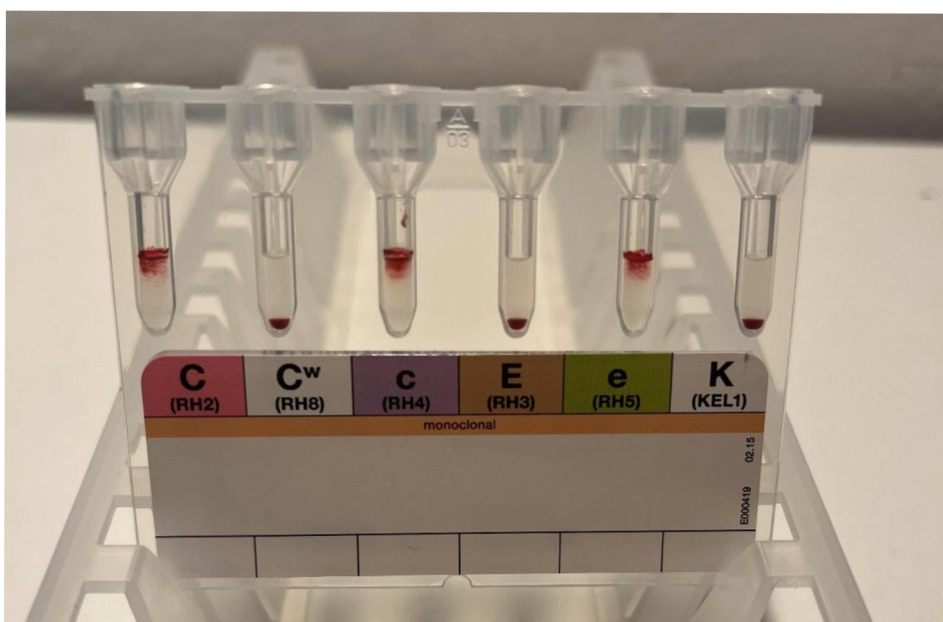
#### 14.2 Příloha č. 2 – ID karty k poloautomatizovanému imunohem. vyšetření



Obrázek č. 8 – Nová ID karta pro vyšetření prvodárce – vyšetření aglutinogenů; zdroj: vlastní



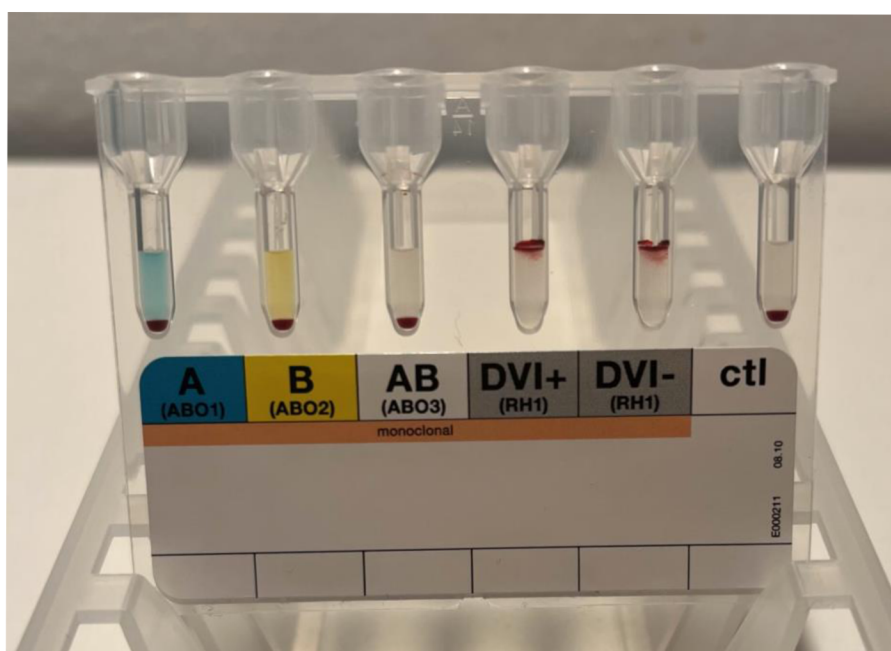
Obrázek č. 9 – Nová ID karta, na které jsou vyšetřováni opakovaní dárce – vyšetření aglutinogenů; zdroj: vlastní



Obrázek č. 10 – ID karta pro stanovení Rh fenotypu; zdroj: vlastní



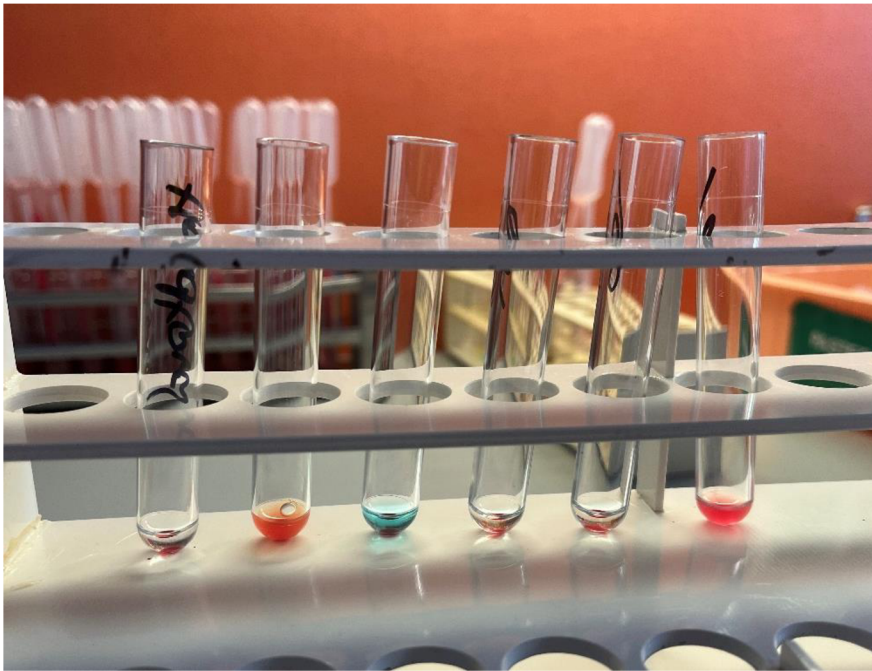
Obrázek č. 11 – ID karta, pro vyšetření opakovaného dárce, připravena k odečtení (dárce vlevo má krevní skupinu B a je RhD pozitivní, dárce vpravo má krevní skupinu A a je RhD negativní); zdroj vlastní



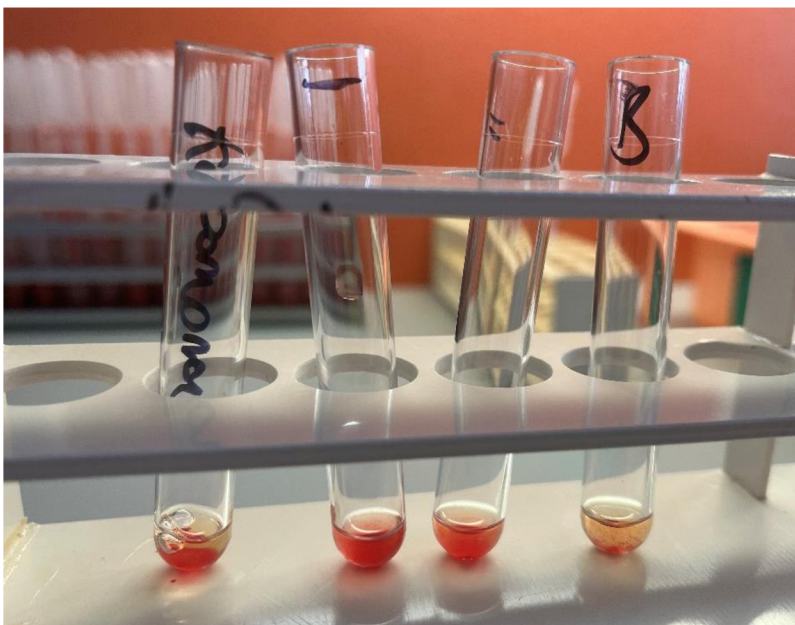
Obrázek č. 12 – ID karta, vyšetření prvodárce, připravena k odečtení (prvodárce má krevní skupinu 0 a je RhD pozitivní); zdroj: vlastní výzkum



### 14.3 Příloha č. 3 – Vyšetření zkumavkovou metodou



Obrázek č. 13 – Vyšetření aglutinogenů pomocí diagnostických sér anti-AB, anti-A, anti-B (první tři zkumavky vlevo), a vyšetření RhD pomocí dvou anti-D sér a negativní kontrola (tři zkumavky napravo); zdroj: vlastní



Obrázek č. 14 – Vyšetření aglutininů pomocí diagnostických typových krvinek (typové krvinky: 0, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> a B); zdroj: vlastní



Obrázek č. 15 – diagnostické typové krvinky; zdroj: vlastní



Obrázek č. 16 – diagnostická séra – anti-AB, anti-B a anti-A; zdroj: vlastní



Obrázek č. 17 – diagnostické sérum anti-D a negativní kontrola; zdroj: vlastní

## 15 Seznam zkratek

AGH	anti-human globulin test
AIHA	autoimunní hemolytická anémie
CNS	centrální nervová soustava
CRP	C reaktivní protein
ČČK	Český červený kříž
EDTA	ethylendiamintetraoctová kyselina
EPO	erythropoetin
Fab	antigen navazující fragment (z anglického Fragment Antigen Binding)
Fc	část molekuly imunoglobulinu, na kterou se může navázat receptor (z anglického Fragment Crystallizable)
GIT	gastrointestinální trakt
HON	hemolytické onemocnění novorozence
HTO	Hematologicko – transfúzní oddělení
IS	imunitní systém
LIS	laboratorní informační systém
NAT	nepřímý antiglobulinový test
PAT	přímý antiglobulinový test
PLT	krvní destičky (z anglického Platelets)
RBC	červené krvinky (z anglického Red Blood Cells)
TO	transfúzní oddělení
TP	transfúzní přípravky
TPO	trombopoetin



WBC      bílé krvinky (z anglického White Blood Cells)