

615.38

K OTÁZCE BEZPEČNOSTI TRANSFÚZE KRVÉ ZA MIMOŘÁDNÝCH OKOLNOSTÍ

Plk. doc. MUDr. Evžen SKALA, CSc., o. p. L. MATYSKOVÁ,
transfúzní oddělení Ústřední vojenské nemocnice

Zdravotnická pomoc má při náhlém výskytu hromadných poranění některé zvláštnosti, které nutí uvažovat v kategoriích při zabezpečování konvenční zdravotnické péče neobvyklých. Této „medicině katastrof“, jak se někdy nepřilíš šťastně nazývá, se věnuje v současné době mnoho pozornosti. Nejde samozřejmě o nový obor lékařství, ovšem způsob odborného myšlení, organizační principy i zásady zásobování materiálem jsou natolik specifické, že je výhodné posuzovat a rozpracovávat tento druh zdravotnické pomoci samostatně.

Do popředí zde vystupuje význam rychlé, přímočaré — třeba rámcové — diagnostiky, zúžené lékařské pomoci s vitálně důležitými výkony a zdravotnický zajištěný odsunu. Počítá se zde i se zúženým sortimentem léků a zdravotnického materiálu dodaného v soupravách, s přesně vypracovaným časovým plánem činnosti a spíše se sledem menších výkonů než s menším počtem velkých výkonů charakteru definitivní pomoci. Nebudou výjimkou situace, kdy několik odborníků bude řídit práci většího počtu méně kvalifikovaných a pomocných pracovníků, často bez větších praktických zkušeností. Do popředí zde tedy logicky vystupuje požadavek, aby provedení plánovaných výkonů mohlo být spolehlivé a rychle kontrolováno. Nelze zapomínat ani na to, že se tu pochopitelně uplatní nepříznivé psychologické faktory, které s sebou nese neobvyklost a stressující vliv katastrof samotných.

Pokusili jsme se aplikovat uvedené zásady na řešení problému, jak zajistit při náhlém vý-

skytu hromadných poranění bezpečnost krevní transfúze v improvizovaných podmínkách z hlediska zábrany hemolytických reakcí, způsobených nestejnokupinovou transfúzí.

Pomineme-li možnost omylů a chyb způsobených obecnými organizačními nedostatky (nedbalá dokumentace, záměna krevních konzerv apod.), zůstává hlavním problémem rychlé hromadné určování krevní skupiny raněných málo kvalifikovaným personálem. Předpokládáme samozřejmě používání krevních konzerv s bezpečně určenými základními skupinami a faktorem Rh, protože jinak je riziko potransfúzních reakcí značné (4).

Problém zahrnuje několik dílčích otázek: (a) které skupinové vlastnosti příjemce určovat, (b) jakým způsobem testy provést, (c) kterých diagnostických sér použít, (d) jak zabezpečit standardnost vyšetřování a jak výsledky kontrolovat. Je nutno dále konfrontovat výhody a nevýhody navrženého řešení a stanovit zdroje možných omylů s uvedením cest jejich maximálního omezení. V dalším popisujeme způsob možného řešení.

Při vzniku situace uvedené v úvodu je nesporně bezpečnější užít systému „univerzálních dárců krve“ (krevní skupiny 0 o titru izoaglutininů nižším než 200), než počítat s používáním krevních konzerv všech čtyř skupin (4, 19). Počítat s použitím pouze krve skupiny 0 v naší oblasti nelze, protože je zastoupena v naší populaci jen v 31 % (tab. č. 1), tedy sotva každá třetí z odebraných konzerv by byla použita v dané situaci. Zahrneme-li do použití

i krev skupiny A (1, 13, 16, 17, 20, 21), zvýší se využití odebrané krve na 74 % — tedy 3 krevní konzervy ze čtyř odebraných jsou použitelné v dané situaci. Předpokládá to ovšem rozlišit příjemce do dvou „skupin“ — „A“ a „ne A“. K faktoru Rh se u mužů nepřihlíží, ženám se podá paušálně krev Rh-negativní, pokud není bezpečně známo, že jsou Rh-pozitivní (všechny záznamy o krevních skupinových vlastnostech mají jen orientační význam). Riziko jednorázové transfúze Rh-pozitivní krve Rh-negativním mužům není tak velké, aby ospravedlnilo odklad vitálně indikované transfúze (8).

Tab. 1

Rozložení krevních skupin

%		%		%	
A	43	A Rh+	34,6	A ₁ Rh+	28,65
				A ₂ Rh+	5,95
		A Rh—	8,4	A ₁ Rh—	7,0
				A ₂ Rh—	1,4
B	17	B Rh+	13,4		
		B Rh—	3,7		
O	31	O Rh+	25,3		
		O Rh—	5,8		
AB	9	AB Rh+	7,1	A ₁ B Rh+	5,6
				A ₂ B Rh+	1,5
		AB Rh—	1,7	A ₁ B Rh—	1,4
				A ₂ B Rh—	0,3

n = 3192 (transf. odd. ÚVN 1975 – vojáci v základní službě)

Laboratorní rozlišení příjemců na „A“ a „ne A“ je jednoduché: krev příjemce se smísí s diagnostickým sérem anti-A; dojde-li k aglutinaci, jde o krevní skupinu A nebo AB, nedojde-li k aglutinaci, jde o krevní skupinu 0 nebo B. V prvním případě se podá krev skupiny A, v druhém případě krev skupiny 0.

K určování základní krevní skupiny se běžně užívá diagnostických sér lidského původu. Tato séra je nutno uchovávat v teplotě kolem 4 °C, dlouhodobě se skladují zamražená. Jejich lyofilizace je drahá a nespolehlivá. V pokojové teplotě ztrácejí za několik týdnů účinnost a snadno se bakteriálně kontaminují, což je znehodnocuje — často nebezpečně, protože mohou získat panaglutinující vlastnosti (aglutinují krvinky všech krevních skupin). Navíc pro náš účel potřebujeme vysoce účinná séra, aby výsledek mohl v nejkratší době odečíst i nekvalifikovaný záchytný pracovník. Úkol nahradit sérum anti-A lidského původu pro daný účel jsme řešili pokusně.

Materiál a metodika

Připravili jsme 0,5% extrakt ze sušené bílkové žlázy hlemýždě *Helix pomatia* (za poskytnutí substance jsme zavázáni prim. MUDr. M. Smýkalové z TO FN v Olomouci), který je zdrojem protektinu anti-A_{HP}, objeveného Prokopem (11). Žlutošedý prášek byl extrahován v 0,9% roztoku NaCl po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C, po filtraci přes papír byl extrakt rozdělen na 3 části: k jedné byl přidán azid sodný v konečné koncentraci 0,1%, ke druhé merthiolát v konečné koncentraci 0,02%, třetí část byla ponechána bez úprav.

Tyto tři typy extraktů byly ponechány ve skleněných kapacích lahvičkách po dobu tří let (1972–1975) při pokojové teplotě v temnu. Současně byl skladován i výchozí práškový materiál. Vlastní aglutinační reakce jsme prováděli sklíčkovou technikou: na podložním sklu se smísila 1 kapka extraktu (asi 0,05 ml) s malou kapkou vyšetřované krve (asi 0,01 ml). Směs se po promíchání rozetřela do tvaru čtverce o délce strany 18–20 mm. Výsledek jsme odečítali do 1 minuty. Jako kontrolního diagnostika jsme použili čerstvě připraveného extraktu.

Bylo vyšetřeno 100 vzorků krve podskupin A₂, A₁B a A₂B (podskupinu A₁ prokazuje extrakt nejlépe, a proto nebyla zařazena do pokusu). U každé série vyšetření byla zařazena příslušná negativní kontrola (krev skupiny 0 a B).

Dále byly stanoveny mezní podmínky aglutinační reakce z hlediska potřeb situace uvedené v úvodu, ale také z hlediska metodiky rychlého záchviku nekvalifikovaných pracovníků a z hlediska potřeby rychlé kontroly jejich práce: vliv konečné koncentrace erytrocytů v reakci (sledováno mikrohematokritovou technikou) a vliv teploty na reakci v rozmezí 4–40 °C.

Výsledky

1. Extrakt, k němuž nebylo přidáno antiseptikum, se do 4 týdnů zakalil, jeho účinnost poněkud klesla a z dalších zkoušek byl vyřazen.

2. Výsledky získané s dvěma zbývajících extrakty, které zůstaly po 3 roky čiré, jsou uvedeny v tab. č. 2. Reakce byla vždy zřejmá do 1 minuty, v naprosté většině případů do 30 vteřin, s jedinou výjimkou, uvedenou dále.

3. Jako optimální pro odečítání výsledku aglutinační reakce se ukázala konečná koncentrace erytrocytů kolem 10 %, reakce bylo možno spolehlivě odečíst v rozmezí 4–40 °C.

Diskuse

Z výsledků můžeme shrnout:

Extrakt bílkové žlázy běžného hlemýždě *Helix pomatia* je spolehlivým diagnostikem lidské krevní skupinové vlastnosti A, a to i po více než tříletém skladování při pokojové teplotě. Ve studované koncentraci zachycuje spolehlivě podskupinu A₂ a také A₂B. V jediném pří-

Tab. 2

Výsledek vyšetření 100 vzorků krve protektinem anti- A_{HP}

Typ výsledku			Výskyt		
kontrolní (čerstvý) extrakt	starý extrakt		krevní pod- skupina	počet	%
	A	B			
+++	+++	+++	A ₂	15	100
+++	+++	+++	A ₁ B	63	100
+++	+++	+++	A ₂ B	16	73
+++	+++	++	A ₂ B	1	4,5
+++	+++	+	A ₂ B	1	4,5
+++	++	++	A ₂ B	2	9
++	++	+	A ₂ B	1	4,5
++	+	± (3 min)	A ₂ B	1	4,5
Celkem:				100	

A = extrakt s azidem sodným, B = extrakt s merthiolátem

padě byla reakce u extraktu s azidem sodným slabá, zřetelná až za 3 minuty a u extraktu s merthiolátem byla reakce sporná. Ficin reakci neovlivnil. Nebyla zjištěna nespecifická pozitivita. Typ přidávaného antiseptika není asi rozhodující, doporučujeme však vzhledem k výsledkům (tab. č. 2) použít azidu sodného. Mimořádná trvanlivost nejen prášku (15), ale i extraktu vyplývá zřejmě mimo jiné i z relativně nízké molekulární váhy protektinu (12). Příprava prášku i extraktu je jednoduchá (9, 15). Protektin anti- A_{HP} je jedním ze skupiny přírodních látek podobných protilátkám, které mají schopnost vázat se selektivně na chemické determinanty podmiňující i skupinové krevní vlastnosti (v daném případě — u skupiny A — to je N-acetyl-D-galaktosamin). Bližší údaje o této zajímavé skupině látek byly nedávno souhrnně publikovány (12).

Reakci lze provést nejjednodušším sklíčkovým testem s krví příjemce, získanou vpíchem do prstu. Zjistili jsme, že nepřekročení optimální (asi 10%) koncentrace erytrocytů (při vysoké koncentraci erytrocytů hrozí přehlédnutí aglutinace) lze zajistit snadno: skrze rozetřenou kapku musí být čitelný běžný text novin (o velikosti písmen kolem 1,5 mm). Tento jednoduchý pokyn je důležitý pro zácvek nekvalifikovaných pracovníků, umožňuje rychlou kontrolu dodržení standardnosti práce a současně vymezuje i požadavek nutného osvětlení pracovního místa. Šíře teplotního optima reakce umožňuje provádět vyšetřování i v improvizovaných podmínkách.

Výhody a nevýhody navrženého řešení musí být posuzovat jednak z hlediska vlastní laboratorní metody, jednak z širšího hlediska — předpokládaného zúžení dodávky krevních konzerv na 2 krevní skupiny.

Vlastnosti protektinu anti- A_{HP} se ukázaly v našich pokusech natolik dobré, že nemáme

pochyb o jeho výhodnosti. Vlastní reakci jsme prováděli spolehlivě na skle, ve zkumavkách, na Lauerových destičkách a zjistili jsme, že protektin je vhodný i pro Zeitlinovu metodu (20), kdy se podložní sklo potáhne vrstvou diagnostického séra a uchová pro další potřebu. Naše předběžné výsledky jsou příznivé, skladovací doba našich preparovaných sklíček zatím není dostatečně dlouhá, abychom mohli dát definitivní zprávu. Ovšem protektin by zde byl nesrovnatelně levnější než Zeitlinem navrhované hyperimunní sérum podle Morgana (10).

Extrakt ve studované koncentraci reagoval spolehlivě s erytrocyty A_2B , s jedinou výjimkou u extraktu s merthiolátem. Teplotní šíře reakce je pro studovaný účel výhodná. Při případném selhání diagnostika u velmi slabých podskupin A (A_x , A_m) nedojde k transfúzní nehodě, protože výsledek reakce bude negativní a bude tedy podána krev skupiny 0. Falešně pozitivní výsledek (pozitivita reakce u erytrocytů skupiny 0 a B) se nám podařilo získat zatím pouze u části silně bakteriálně kontaminovaných vzorků krve, což se při náhlém hromadném vyšetřování krevních vlastností poraněných na místě samozřejmě neuplatní.

Problematika používání krve skupiny 0 jako „univerzálního dárce“ je podrobně rozebrána v dostupné literatuře (3, 5, 6, 14). Není jistě bez rizika, ovšem rozsáhlé praktické zkušenosti mluví pro její docenění (4, 5, 7, 8, 17, 21).

Jde tu o dvě otázky. Po masívním podání krve skupiny 0 — i s nízkým titrem aglutininů — příjemci, který má jinou skupinu, mohou kolovat převedené aglutininy v krvi příjemce dlouho a dokonce se postupně ještě snižuje podíl vlastních erytrocytů příjemce — asi destrukcí novotvořených erytrocytů (2, 4). Následná transfúze krve vlastní skupiny příjemce může způsobit těžkou hemolytickou reakci (8). Je tedy třeba na vyšším stupni zdravotnické pomoci pokračovat v případě naléhavé potřeby v podávání krve skupiny 0 (resp. erytrocytové masy skupiny 0 s plazmou skupiny příjemce nebo AB), pokud není křížový pokus příznivý (2, 4).

Druhou otázkou je volba metodiky vyřazení tzv. „nebezpečných univerzálních dárců krve“. Zde jsou naše informace stále nedostatečné (1, 3, 4, 14). Důležitější je nesporně aktivita hemolyzinů než aglutininů (1, 3). V nedávné době jsme znovu provedli vyšetření izohemolyzinů u 64 vojáků v základní službě skupiny 0, očkovaných proti variole: 59 % mělo v séru hemolyzin anti-A i po zředění 1 : 8 — 11 % výrazně, 31 % slabě. V celém souboru byl nalezen hemolyzin anti-B jen jednou. Z literatury je známo, že hemolytické reakce, způsobené převodem krve skupiny 0 jinogrupinového příjemci, probíhají daleko nepříznivěji u příjemce skupiny A než skupiny B (2, 18). Metoda rozlišování příjemců na „A“ a „ne A“ je tedy výhod-

ná i z tohoto hlediska, protože vlastně vylučuje možnost nebezpečné srážky anti-A s antigenem A.

Zavedení protektinu anti-A_{HP} do laboratorní techniky pokládáme proto za nadějně.

Souhrn

Autoři analyzují výhody a nevýhody systému dvou krevních skupin (0 a A) pro zajištění transfúzní léčby při náhlém výskytu hromadných poranění. Doporučují využít k tomu účelu protektinu anti-A_{HP}. 0,5% extrakt protektinu ve fyziologickém roztoku byl spolehlivě účinný i po tříletém skladování při pokojové teplotě.

Literatura

1. Akeroyd, J. H. — Crosby, W. H.: A plan to make available more blood in case of war or disaster. *J. Amer. med. ass.*, 159, 1955, s. 424—426.
2. Barnes, A. Jr. — Allen, T. E.: Transfusions subsequent to administration of universal donor blood in Vietnam. *J. Amer. med. ass.*, 204, 1968, s. 695—697.
3. Camp, F. R. Jr. — Shields, Ch. E.: Military blood banking. *Milit. med.*, 132, 1967, s. 426—429.
4. Crosby, W. H.: Safety of blood transfusion in the treatment of mass casualties. *Milit. med.*, 117, 1955, s. 354—362.
5. Crosby, W. H. — Akeroyd, J. H.: Some immunohematologic results of large transfusions of group 0 blood in recipients of other blood groups. *Blood*, 9, 1954, s. 103—116.
6. Ervin, D. M. — Christian, R. M. — Young, L. E.: Dangerous universal donors I, II. *Blood*, 5, 1950, s. 61, 553.
7. Jeffrey, H. C.: Blood transfusion for mass casualties. *J. Roy. Army med. corps*, 108, 1962, s. 114—122.
8. Kiel, F.: Development of blood program in Vietnam. *Milit. med.*, 131, 1966, s. 1469—1482.
9. Kytlicová, J. — Smýkalová, M. — Středová, B.: Vyšetření krevních skupin dárců extraktem z bílkových žláz zahradních hlemýžďů — protektinem anti-A. *Sborník předn. mezikraj. sem. transf. služby Jm. a Sm. kraje, ÚKTH Brno*, 1973, s. 53—57.
10. Morgan, W. T. J.: *Brit. J. exp. Path.*, 24, 1943, s. 41 — cit. podle 20.
11. Prokop, O. — Schlesinger, D. — Rackwitz, A.: Ueber eine thermostabile „antibody like substance“ (Anti-A_{hel}) bei Helix pomatia und deren Herkunft. *Z. immun. Forsch.*, 129, 1965, 402—412.
12. Prokop, O. — Uhlenbruck, G.: *Protektine. Fortschritte der Hämatologie*, Leipzig, J. A. Barth, 1970, s. 17—94.
13. Skala, E.: Transfusní služba. *Voj. zdrav. Listy, Sborník*, 26, 1957, č. 1, s. 144—148.
14. Skala, E.: K otázce nebezpečných univerzálních dárců krve. *Voj. zdrav. Listy*, 27, 1958, s. 66—68.
15. Smýkalová, M.: Některé možnosti užití protektinu anti-A_{HP}. *Sborník předn. mezikraj. sem. transf. služby Jm. a Sm. kraje, ÚKTH Brno*, 1973, s. 49—52.
16. Steigner, K. F.: Die Vermeidung hämolytischer Transfusionszwischenfälle im Katastrophenfall. *Acta haemat. (Basel)* 1965, Suppl. č. 20, s. 82—87.
17. Stewart, P. D.: Rapid selection of group A recipients among mass casualties. *Brit. med. J.*, 1961/II, 5244, s. 93—94.
18. Tisdale, L. H. — Gerland, D. M. — Szanto, P. B. — Hand, A. M. — Bonnett, J. C.: The effects of the transfusion of group 0 blood of high isoagglutinin titer into recipients of other blood groups. *Amer. J. clin. Pathol.*, 16, 1946, s. 193—197.
19. Whitby, L. E. H.: History of the Second war, UKMD-Surgery; Cope H. M. S. O. London, s. 46 — cit. podle 21.
20. Zeitlin, R. A.: Safer emergency blood-transfusion. *Lancet*, 266, 1954/I, 6801, s. 23—24.
21. A Field surgery pocket book. Section C, s. 7. MD London 1972.