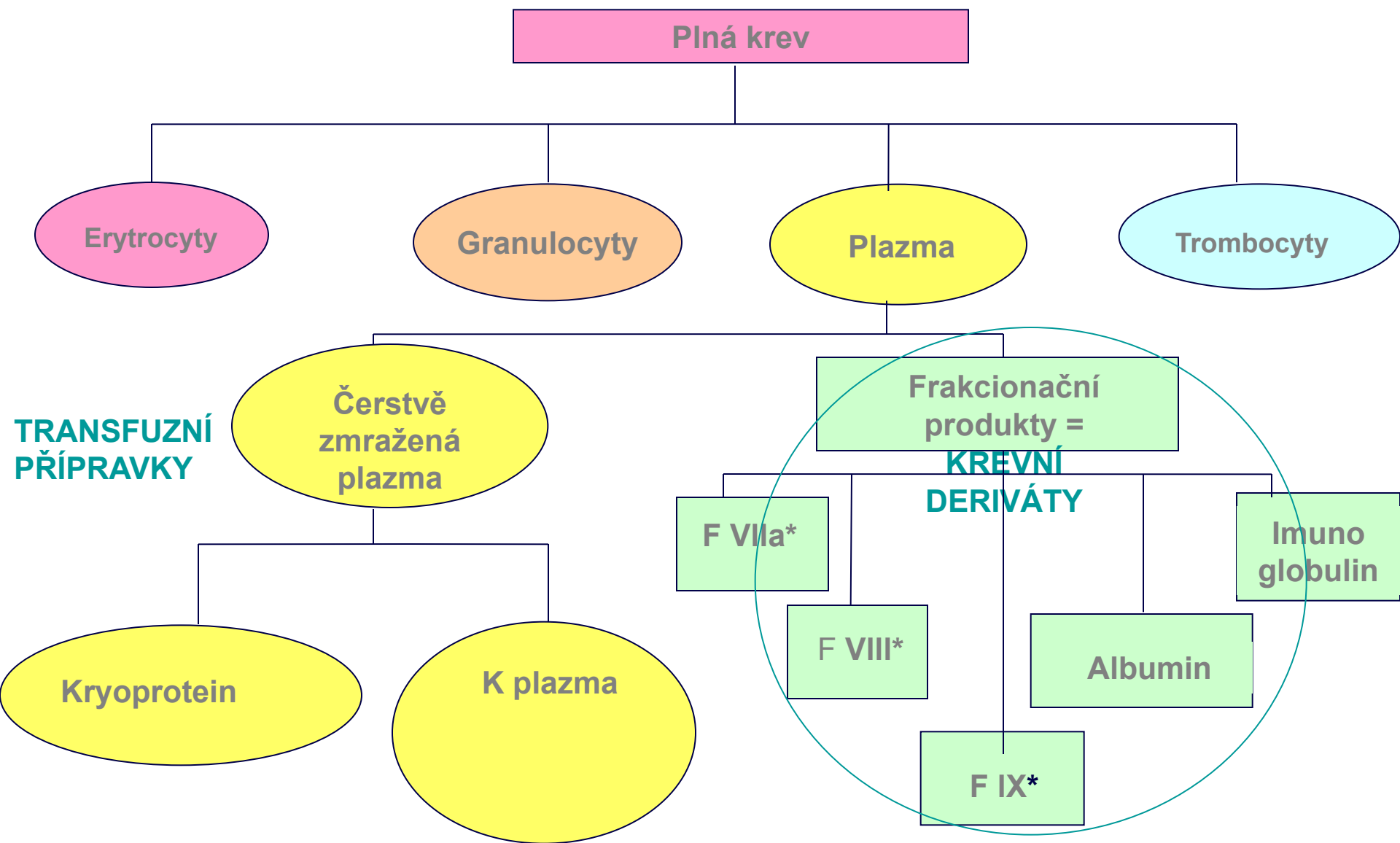


# Předtransfuzní vyšetření



\*existují také jako rekombinantní výrobky

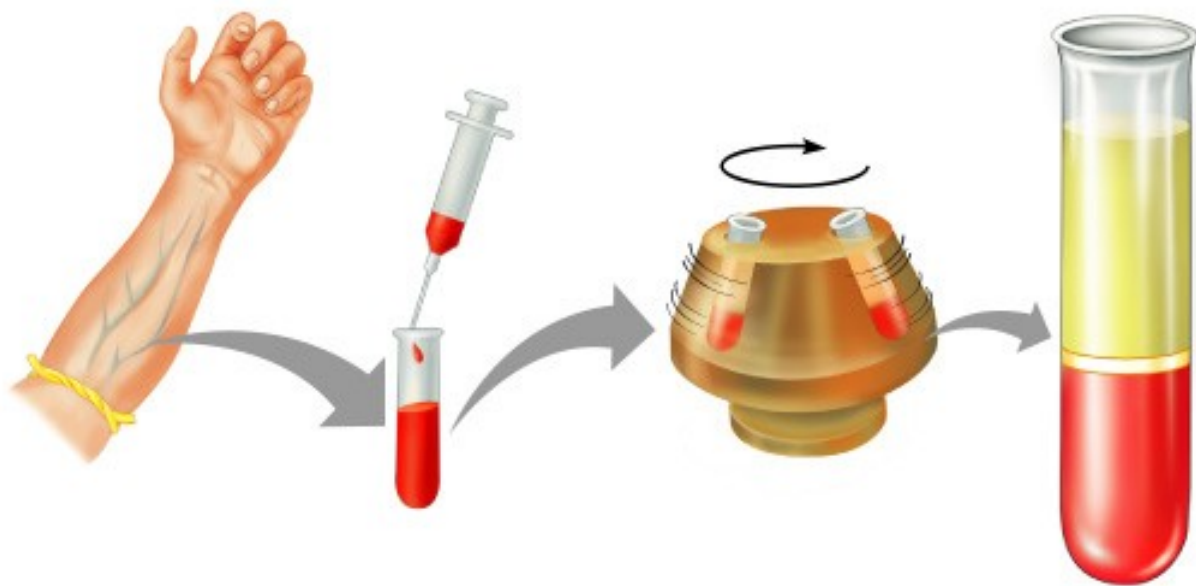
# Předtransfuzní vyšetření

- soubor povinně prováděných testů před podáním přípravku obsahujícího erytrocyty
- riziko transfuze – nikdy není garantovaná 100% bezpečnost – použití TP pouze v případě skutečné potřeby = správná indikace
- rizika infekční a imunologická (imunizace, potransfuzní reakce)
- obvykle bezpečný proces = zvýšení hodnoty Hb (1TU zvýší Hb o 10-15g/l, přežívání cca 60 dní)



# Krevní vzorky

- krev sražená /sérum
- krev s antikoagulačním roztokem/plazma
- nepoužívat hemolytické vzorky – nelze detekovat protilátky
  
- skladování vzorků – změna jejich kvality (hemolýza, zeslabení igM Abs, vymizení komplementu)
- plná krev při 4°C do 7 dní
- separované sérum/plazma při -30°C do 6 měsíců



# Žádanka o transfuzi

- písemná/elektronická
- telefonický požadavek - zaprotokolovat
- vyvarovat se dvojí dokumentace
- kontrola archivovaných záznamů před výdejem krve povinná

# ŽÁDANKA O ERYTROCYTY



FN Brno, Transfuzní a tkáňové oddělení, Jihlavská 20, 625 00 Brno

Telefon laboratoř: 532 232 545, telefon expedice: 532 232 626

## ŽÁDANKA O IMUNOHEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ A ERYTROCYTOVÉ PŘÍPRAVKY

Naléhavost požadavku (zaškrtněte):                      RUTIN                       STAT                       VĚAL

Jméno a příjmení pacienta:	Zdrav.pojišťovna:	Odesílající zařízení: (razítko s IČP, telefon, NS)
	Diagnóza:	

Číslo pojištěnce (rodné číslo):	Datum odběru vzorku:
	Podpis sestry:
	Jmenovka lékaře:

**Imunohematologická anamnéza:**                      Krevní skupina (uvedte, je-li známá):

Předchozí transfuze:     ANO (kdy)                      Gravidita (týden):

Reakce po transfuzi:     ANO (jaká)                      Porody:

Jiné nálezy (protilátky):                      Anti-D profylaxe (kdy):

Transplantace dne:                      Krevní skupina dárce:

<b>Požadovaná vyšetření (zaškrtněte):</b>	<i>Vyplní laboratoř</i>
<input type="checkbox"/> Předtransfuzní vyšetření <input type="checkbox"/> Přímý antiglobulinový test	Číslo žádanky
<input type="checkbox"/> Krevní skupina <input type="checkbox"/> Identifikace protilátky	Datum a čas příjmu
<input type="checkbox"/> Protilátky proti erys <input type="checkbox"/> Jiné vyšetření	

### Požadavky na erythrocytové transfuzní přípravky (zaškrtněte, vyplňte):

Počet TU	Deleukotizace	Ozáření	Datum a čas výdeje přípravku (nebo uveďte deponování)
	<input type="checkbox"/> ANO	<input type="checkbox"/> ANO	
	<input type="checkbox"/> ANO	<input type="checkbox"/> ANO	

Krevní vzorek pacienta odeběrejte do předem označené zkumavky poté, co si ověřte totožnost pacienta.

Zkumavku označte jménem, příjmením a číslem pojištěnce. Uveďte datum odběru vzorku.

**ŽÁDANKA O VÝDEJ TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ**

Jméno a příjmení pacienta		Zdravotní poj.	Klinika / oddělení / NS (telefon, IČP)				
		Diagnóza	Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Odbor Jit. tel. 532 233 052 Jihlavská 20, 625 00 Brno IČP: 72199173				
Rodné číslo (náhradní identifikátor)		Datum					
Krevní skupina pacienta	Transplantace kostní dřeně (kmenových buněk)						
	Datum transplantace			Krevní skupina dárce			
Erytrocyty	Pediatrická jednotka	Počet TU	Ozáření		Deleukotizace	Promytí	
	množství v ml		ano	<input type="checkbox"/>	ano	<input type="checkbox"/>	ano
Plazma	Pediatrická jednotka	Počet TU	Kryoprotein		Fibrinogen		
	ano	<input type="checkbox"/>			množství v g		
Trombocyty	Pediatrická jednotka	Počet TD	Ozáření		Jméno a podpis lékaře		
	ano	<input type="checkbox"/>	ano	<input type="checkbox"/>			



# Souhlasné identifikační údaje

- Údaje na zkumavce:  
jméno a příjmení, rodné číslo /nebo jiná  
jedinečná identifikace pacienta, datum odběru
- Údaje na žádance:  
jméno a příjmení, rodné číslo / jiná identifikace  
imunohematologická anamnéza  
razítko lékaře, podpis sestry provádějící odběr  
počet TU a typ přípravku  
datum a hodina transfuze – stupeň naléhavosti  
diagnóza, pojišťovna, IČP

Vyšetření nelze provést, pokud:

- chybí údaje o pacientovi
- jsou diskrepance údajů na žádance a na zkumavce
- urgentní pacienti také vyžadují identifikaci

**Administrativní chyby jsou nejčastější příčinou většiny potransfuzních hemolytických reakcí.**

# Komplex předtransfuzního vyšetření

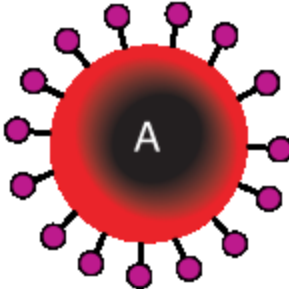
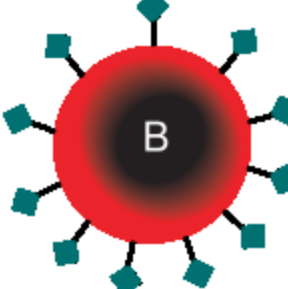
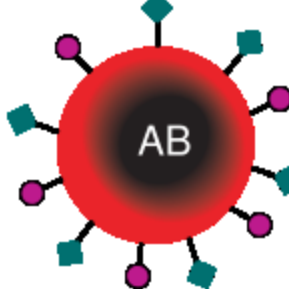
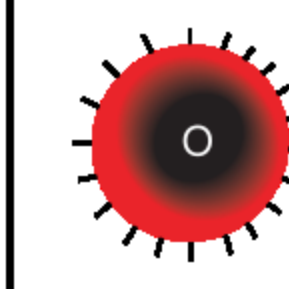
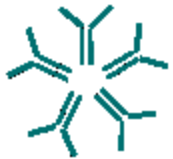

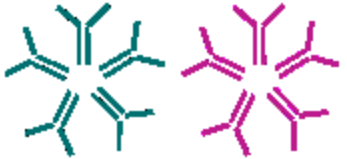



1. stanovení krevní skupiny AB0 a RhD příjemce
  2. vyšetření protilátek proti erys v séru příjemce
  3. výběr erytrocytového přípravku
  4. test kompatibility mezi sérem příjemce a erys dárce
- jakékoli diskrepance objasnit před vydáním transfuze

# Platnost vyšetření

- celé předtransfuzní vyšetření platí **72 hodin**
- krevní skupinu poprvé vyšetřit celou, poté před každou novou transfuzí ověřit ABD antigeny z nového vzorku
- screeningové vyšetření protilátek opakovat z nového vzorku krve pacienta nejpozději za 72 hodin
- test kompatibility dle toho = 72 hodin

# Stanovení AB0 skupiny příjemce

- vyšetření antigenů na erys (aglutinogeny)
  - monoklonální anti-A a anti-B diagnostická séra
- vyšetření séra/plazmy (aglutininy)
  - A1 a B erys (pro některé situace vhodné erys 0 nebo autoctí)
- přímá aglutinace, solný test při pokojové teplotě
  
- tento postup u příjemců starších 6 měsíců, musí být souhlasné reakce v obou řadách
- u pacientů do 6.měsíce věku opakovaně vyšetřit A a B antigeny (2x) různými dg., bez detekce AB0 protilátek

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type	 <p>A</p>	 <p>B</p>	 <p>AB</p>	 <p>O</p>
Antibodies present	 <p>Anti-B</p>	 <p>Anti-A</p>	<p>None</p>	 <p>Anti-A and Anti-B</p>
Antigens present	 <p>A antigen</p>	 <p>B antigen</p>	 <p>A and B antigens</p>	<p>No antigens</p>

# ABO Reciprocity

Patient Reagent	Red Cells and		Serum and	
	Anti-A	Anti-B	A cells	B cells
Patient blood type				
<b>O</b>	-	-	+	+
<b>A</b>	+	-	-	+
<b>B</b>	-	+	+	-
<b>AB</b>	+	+	-	-

## Předtím – zásady QC

- Provádění kontrol pro zjištění účinnosti diagnostika:  
Dg.sérum anti-A reaguje s ery A1 a nesmí reagovat s B  
(event. 0)  
Dg. sérum anti-B reaguje s ery B a nesmí reagovat s A  
(event. 0)
- U dárců krve stejný postup pro vyšetření AB0 skupiny jako u příjemců.



# Možné problémy při určení AB0

- Slabé/chybějící/méně obvyklé **antigeny**
- Slabé/chybějící/ méně obvyklé **protilátky**
- Jejich **kombinace**

# Diskrepance – přední řada

- MF /DP reakce
- Podskupiny A (B)
- Slabá exprese antigenů
- Polyaglutinabilita
- AB0 substance v plazmě
- Pozitivní PAT
- Reagencie nevhodné

# Řešení

- Upřesnit anamnezu, dg., léčbu, srovnat s posledními záznamy

**Přední řada:** opakovat s promytými erys (teplý FR), došetřit zadní řadu, CQ, změnit inkubace a časy, DTT působení na erys, ficinovat erys

**Zadní řada:** přidat albumin, i erys, zvýšit poměr vyš.séra, změnit inkubace a časy, použít promyté typ.erys

Rouleaux: stejná reaktivita všech erys včetně autoctí–doplnění FR k rozpuštění reakcí, je to neg.reakce

# Stanovení RhD příjemce

- pomocí dvou anti-D (IgM) dg.sér přímou aglutinací (solný test, pokojová teplota)
- sérum nesmí detekovat D<sup>VI</sup> variantu
- rozliší D+,D-,Dw/v
- pacient se známou variantou D antigenu má být transfundován RhD negativní krví
- pacient se známým weak D antigenem může být dle typu antigenu považovaný za RhD pozitivního

# Stanovení RhD u dárce krve

- povinnost testovat erys dárce na přítomnost weak D antigenů v NAT
- povinnost použít anti-D (IgG) pro NAT k došetření RhD negativních dárců
- dárce s jakýmkoli Dw/v = RhD+ erytrocyty

QC: erys D+, D<sup>weak</sup>, D-, Rh ctl. kontrolní sérum (pokyny příbalového letáku)

# Screening nepravidelných protilátek

- vyšetření séra příjemce nebo dárce na přítomnost **nepravidelných protilátek** proti erys
- pomocí známých diagnostických **erytrocytů skupiny 0**
- povinné zastoupení **určitých antigenů** včetně konkrétních haplotypů (Rh, Kel, Duffy, Kidd, MNSs, Lewis, Lutheran...)
- **pro dárce krve lze použití směs dg. erytrocytů**
- **pro pacienty nemohou být ve směsi (tři a více typů)**
- povinně **LISS/NAT** / sloupc.aglutinace, pevná fáze, zkumavkové testy/
- doplnění enzymovým testem (lepší pro –Rh,-Jk)

- pozitivní screening protilátek = patologie, nutno došetřit, identifikovat protilátku pomocí více typů diagnostických erytrocytů pro určení protilátky, stanovit klinický význam protilátky, dle toho vybrat odpovídající vak erytrocytů
- **rozlišení aloprotilátky, autoprotilátky, jiných typů reakcí**
- QC: zařazení známé slabé protilátky pro sérii vyšetření

# Určení erytrocytárního antigenu

- zhodnotit význam protilátek pro kliniku = možnost zkráceného přežívání dárcovských erys event. nežádoucí potransfuzní komplikace
- při nálezů specifických protilátek
- Transfuze negativní pro korespondující antigen při: anti-A,-B,-AB, -Rh, -Kell, -Duffy, -Kidd, -M/37°, -I/37°
- QC: správná volba pozitivní kontroly a kontrola diagnostik (diluentová) pokud ji doporučuje výrobce



# Výběr transfuzního přípravku

- AB0 a RhD shoda
- pokud není, tak erytrocyty kompatibilní pro AB0 protilátky u příjemce nebo erytrocyty skupiny 0
- pro příjemce skupiny AB erytrocyty skupiny A,B nebo 0
- pro fertilní ženy rezervovat erytrocyty RhD negativní
- erytrocyty 0 jsou tzv. univerzální
- plazma AB je tzv. univerzální
- co nejdříve přejít na skupinově shodné přípravky

# Zkouška kompatibility

- potvrdí (?) slučitelnost krve příjemce a dárce
- reakce mezi sérem příjemce a erytrocyty dárce (z TU)
- serologický test nebo elektronický výběr (e-cross match)

## Serologická zk.kompatibility

- type and screen - zkouška s okamžitou centrifugací (pouze u bezproblémových nálezů)
- **LISS/NAT test** - povinně při nálezu klinicky významné protilátky nebo problémech při vyšetření krevní skupiny, u AB0 inkompatibilního transplantátu solidního orgánu

- Elektronický crossmatch pouze při zavedeném automatickém systému pro vyšetření AB0D a skríníngu Abs, při zavedené pozitivní identifikaci pacienta a elektronickém přenosu dat (LIS), pokud nebyly u příjemce nalezené protilátky, je zajištěna ochrana vydání AB0 inkompatibilní krve, při existujících duplicitních shodných záznamech o AB0D pacienta, při zajištění validity AB0 dárcovské krve

# Zkouška kompatibility

## Serologické testy pro zk. kompatibility

- NAT (kombinace s LISS,PEG)
- enzymový test (bromelin, papain)
- aglutinační testy prováděné při různých teplotách dle typu protilátky
  
- negativní test = kompatibilita dárcovských erytrocytů
- pozitivní test = inkompatibilní transfuze = nelze vydat
- zkoušku provádí jedna osoba od začátku do ukončení

# Urgentní situace

Nedostatek času na jakékoli vyšetření / nebo chybí krevní vzorek pacienta / chyba v identifikaci pacienta:

Vydávají se univerzální transfuzní přípravky, tj.

- 0- erytrocyty (pokud nejsou, tak 0 +)
- AB plazma
- neprovádí se předtransfuzní vyšetření (KS, Abs, TK), ale dokončí se později
- je imunohematologické riziko non-AB0 inkompatibility

## Čas alespoň pro vyšetření skupiny

Vzorek dodán, vyšetření začalo ale není úplné,  
určena jen krevní skupina pacienta:

- Vydávají se AB0 RhD identické přípravky
- Bez ostatních předtransfuzních vyšetření (Abs, TK)
  - došetřit co nejdříve skrining protilátek v séru příjemce
  - provést test kompatibility
  - vzniklé problémy hlásit odesílajícímu zařízení
  - výhoda postupu - šetří se nedostatkové univerzální přípravky

## Čas na dokončení celého předtransfuzního vyšetření

- provedené kompletní předtransfuzní vyšetření
- vydávají se skupinově shodné (AB0 a RhD) a imunologicky bezpečné přípravky

<b>Tolerovaný čas*</b>	<b>Provedené testy</b>	<b>Vydaný přípravek</b>	<b>Komentář</b>
<b>ihned</b>	<b>Žádné</b>	<b>Ery: 0neg P: AB</b>	<b>Vzorek odebraný před substitucí</b>
<b>&gt;10min</b>	<b>AB0/D</b>	<b>Ery: AB0/D shodné P: AB0 shodná</b>	<b>Ověření AB0/D antigenů</b>
<b>&gt;20min</b>	<b>AB0/D</b>	<b>Ery: AB0/D shodné P: AB0 shodná</b>	<b>Vyšetřená KS včetně AB0 aglutininů</b>
<b>≥45min</b>	<b>AB0/D Screening Ab Zk.kompatibility</b>	<b>Ery: AB0/D shodné a kompatibilní P: AB0 shodná</b>	<b>Výjimečně zkrácení inkubace o 5min</b>
<b>*po dodání vzorku</b>	<b>Ery=přípravky obsahující erythrocyty</b>	<b>P= plazma</b>	<b>Ab=protilátky</b>

Vydání AB0/D shodného nebo kompatibilního transfuzního přípravku záleží na naléhavosti podání transfuze. Rozhodující je čas od dodání vzorku na laboratoř. Volba přípravku v závislosti na časovém intervalu, který je k dispozici pro provedení povinných testů před podáním transfuze, se řídí schematem v tabulce.



# Masivní transfuze

- objem převedených transfuzních přípravků během posledních 24 hodin je větší než objem krve pacienta
- přepočet pro objem krve: hmotnost (kg) x 69 (65 ženy)
- není nutné provádět předtransfuzní vyšetření
- ověřuje se pouze AB0 skupina u přípravku

# Jiné specifikace transfuzí

- fetální/neonatální tranfuze:  
čerstvá krev do 5 dnů, skupiny 0, event. antigen negativní,  
vysoký HTK (0,65-0,75), CMV neg, ozářená
- chronicky transfundovaní pacienti:  
střední riziko imunizace, není nutné/je vhodné vybírat  
fenotypově shodné krve (vs. srpkovitá anemie, AA, MDS)
- příjemci alogenních HSCT:  
výběr přípravku dle typu neshody dárce a příjemce,  
univerzálně erytrocyty 0, plazma AB

# Exsanguinační transfuze

Výběr erytrocytů pro exsanguinaci (AB0 HON)					
dítě		matka		erytrocyty	
A+		0+	B+		0+
		A+	AB+		A+
		0-	B-		0-
		A-	AB-		A-
A-	0+	0-	B+	B-	0-
	A+	A-	AB+	AB-	A-
B+		A+	0+		0+
		A-	0-		0-
		AB-	B-		B-
		AB+	B+		B+
B-	A+	A-	0+	0-	0-
	B+	B-	AB+	AB-	B-
0+	0+	A+	B+		0+
	0-	A-	B-		0-
0-	0+	A+	B+		0-
	0-	A-	B-		0-
AB+		A+			A+
		B+			B+
		AB+			AB+
		AB-			AB-
		A-			A-
		B-			B-
AB-		A+	A-		A-
		B+	B-		B-
		AB+	AB-		AB-

- Deleukotizované přípravky pro pacienty s opakovanými FNHTR, CMV negativní, IUT a EXS, novorozence, imunizované leukocytárními antigeny, těhotné, polytransfundované a transplantované
- Ozářené gamma zářením pro pacienty s možnou reakcí GvHD, transplantované HSC, IUT a EXS, granulocyty, příbuzenské transfuze
- Patogenně inkativované přípravky dtto
- Promyté buněčné přípravky pro PNH, hyperreaktivitu s anti-IgA, anafylaktoidní reakce na plazmu

<b><i>Protilátka</i></b>	<b><i>Serologický nález</i></b>	
Níkofrekventní Ag	Negativní skríníng, pozitivní CM	Krev dostupná
Vysokofrekventní Ag	Všechny dg.erys pozitivní	Krev nedostupná. Příbuzní, AUT, registry
Vícečetné Abs	Různě silné reakce s různými dg.erys	Určit specifitu, fenotyp, vyhledat shodnou krev
Nonspecifické Abs	Nedefinovatelné pozit.reakce	Bg/HLA, chladové Abs dle významu
AutoAbs	Všechny erys i autocti pozitivní	Vyloučení aloprotilátky, chladové Abs
Jiné	Rouleau, mixed-field reakce	rozpuštění v PBS, pool erys

# Kontrola kvality v imunohematologii

## QC

- důležitá součást laboratorních procesů
- účast všech složek zapojených do výroby přípravku, přípravy transfuze až k podání transfuze (od dárce po příjemce)
- Informovanost, zavedení standardních pracovních postupů a jejich průběžná aktualizace, audity a analýzy, edukace a tréninky personálu
- minimalizace rizika a chyb spojených s podáním transfuze = bezpečnost transfuze
- traceabilita všech procesů včetně výsledků laboratorních kontrol, šarží a expirací dg., identifikačních údajů apod.

# QC

- systém identifikace a kontroly veškerého materiálu použitého k transfuzi (optimální automatizace procesů)
- správná identifikace pacienta
- dodržení standardních postupů /uchovávání vzorků, materiálu, podání transfuze.../
- správný výdej a manipulace s přípravkem /skladování/
- bezpečné podání přípravku /identifikace, monitorování pacienta, uchovávání přípravku/
- zavedený systém hemovigilance

# Kontrola kvality reagensí

- Interní QC

Validace je zaměřena na vyšetření dg. sér/protilátek, dg. erytrocytů, AGH, roztoku NaCl, albuminu, proteáz, LISS.

Kontrola správnosti vyšetření pomocí známých kontrolních protilátek, antigenů (heterozygotní formy) nebo autokontroly.

Kontrola správnosti postupu zařazením známých vzorků.

- Externí Qc

národní, mezinárodní



# QC imuno hematologické laboratoře

minimální požadavky

kontrolovaný produkt	použitá kontrola	frekvence
AB0 dg.séra	A1 a B erys	každá série vyš. nová šarže dg.
RhD stanovení	RhD+ erys RhD- erys	každá série vyš. nová šarže dg.
ostatní dg.séra	Ag+ /heterozyg/ erys Ag- erys	každá série vyš. každý test
skrining Abs	slabé Abs (-D,-Fy)	série vyšetření
identifikace Abs	autoctl	každý test

# Kontrola kvality přístrojů

Chladicí a mrazicí zařízení, inkubátory, centrifugy, vodní lázně, rozmrazovací technika, pH metry, termometry, pipety, ozařovače ....

Validace přístrojů interní a externí

Kalibrace přístrojů

Provozní deníky

Validační protokoly