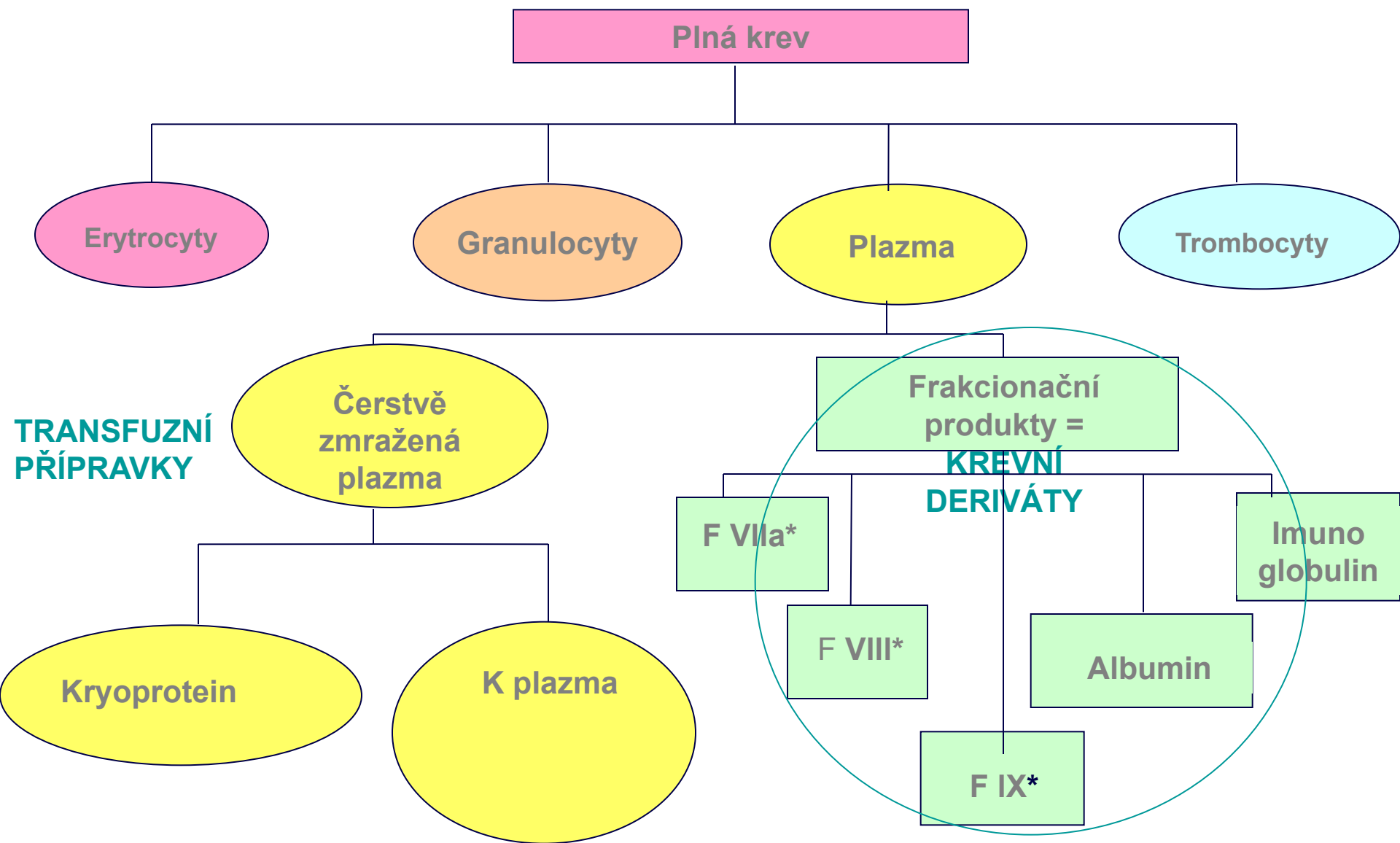


Předtransfuzní vyšetření



*existují také jako rekombinantní výrobky

Předtransfuzní vyšetření

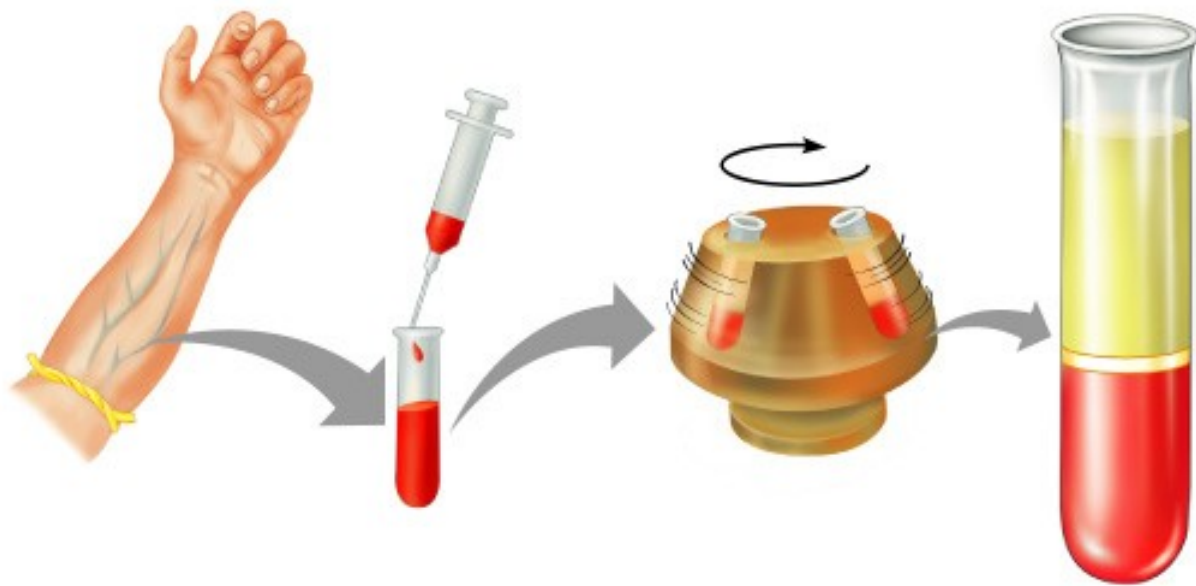
- soubor povinně prováděných testů před podáním přípravku obsahujícího erytrocyty
- riziko transfuze – nikdy není garantovaná 100% bezpečnost – použití TP pouze v případě skutečné potřeby = správná indikace
- rizika infekční a imunologická (imunizace, potransfuzní reakce)
- obvykle bezpečný proces = 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 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

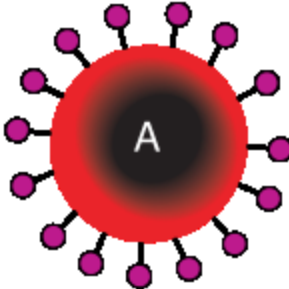
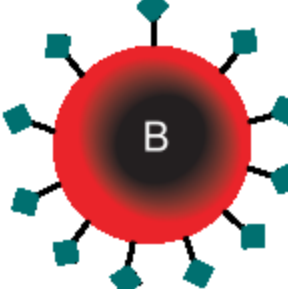
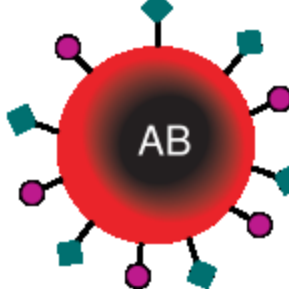
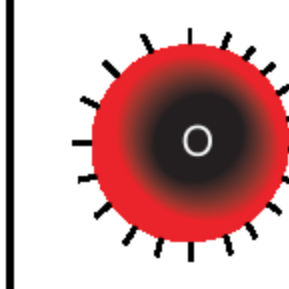
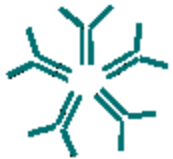

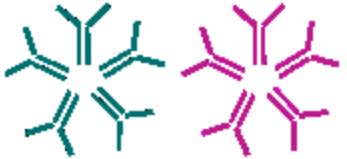



1. stanovení krevní skupiny AB0 a RhD příjemce
 2. vyšetření protilátek proti erys v séru příjemce
 3. výběr erytrocytového přípravku
 4. test kompatibility mezi sérem příjemce a erys dárce
- jakékoli diskrepance objasnit před vydáním transfuze

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				
O	-	-	+	+
A	+	-	-	+
B	-	+	+	-
AB	+	+	-	-

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 autocti–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^{VI} 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^{weak}, 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

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

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

<i>Protilátka</i>	<i>Serologický nález</i>	
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