

Odborné usmernenie pre základné vyšetrovacie postupy v imunoematológii

Čl. I

- (1) Odborné usmernenie sa vydáva za účelom:
 - definovania správnych laboratórnych postupov v imunoematológii,
 - definovania minimálnych štandardov pre imunoematologické vyšetrenia,
 - bezpečného a efektívneho podávania transfúzných liekov, vykonania účinných opatrení v prevencii nežiadúcich reakcií a udalostí u príjemcov transfúzných liekov a u darcov krvi.
- (2) Odborné usmernenie pre základné vyšetrovacie postupy v imunoematológii platí pre všetky pracoviská, ktoré vykonávajú imunoematologické vyšetrenia, vrátane pracovísk, ktoré pripravujú a skladujú transfúzne lieky a poskytujú ich iným zariadeniam podávajúcim transfúzne lieky.

Čl. II

- (1) Metodická a odborná zodpovednosť za spôsob vykonávania imunoematologických vyšetrení a ich hodnotenie patria do kompetencie lekára so špecializáciou v odbore hematológia a transfuziológia, laboratórneho diagnostika so špecializáciou v odbore laboratórne a diagnostické metódy v hematológii a transfuziológii, alebo zdravotného laboranta s magisterským stupňom vysokej školy a špecializáciou laboratórne a diagnostické metódy v hematológii a transfuziológii.
- (2) Základné vyšetrenia vykonáva zdravotný laborant a špeciálne vyšetrenia vykonáva zdravotný laborant-špecialista so špecializáciou laboratórne a diagnostické metódy v hematológii a transfuziológii.
- (3) Vedúci laboratória kontroluje dodržiavanie stanovených štandardných pracovných postupov v laboratóriu a v prípade potreby ich aktualizuje.

Čl. III

Základné vyšetrovacie postupy v imunoematológii sú bližšie špecifikované v prílohe tohto odborného usmernenia.

Imunohematologické vyšetrenia

Cieľom vyšetrení je zamedziť v maximálnej možnej miere nežiadúcim komplikáciám po podaní transfúzných liekov, spôsobených reakciami medzi antigénmi a protilátkami príjemcu a darcu.

Imunohematologické vyšetrenia zahŕňajú určenie vlastností AB0, RhD, skriningový test na nepravidelné protilátky proti antigénom erytrocytov, vyšetrenie ďalších krvno-skupinových vlastností a protilátok, sérologickú skúšku zlučiteľnosti (kompatibility) krvi darcu a príjemcu a ďalšie špeciálne imunohematologické vyšetrenia.

Tieto vyšetrenia sa vykonávajú pred všetkými zákrokmi a operáciami, pri ktorých je pravdepodobnosť podávania transfúzných liekov a možnosť vzniku transfúzných komplikácií. Pred operačnými krokmi je potrebné včas pripraviť zodpovedajúci počet kompatibilných transfúzných liekov.

Prípady, ktoré nie je možné v danom laboratóriu diagnosticky vyriešiť, vyžadujú spoluprácu so špeciálnymi imunohematologickými pracoviskami.

Zabezpečenie identity

Zámeny pri identifikácii môžu byť príčinou nezlučiteľnosti a spôsobiť závažné transfúzne reakcie. Zámeny sú možné pri odbere vzorky krvi od pacienta alebo darcu, pri jej vyšetrení, pri zaznamenávaní výsledkov, vydávaní písomnej dokumentácie, transporte transfúzných liekov alebo pri vykonávaní transfúzie. Preto je nevyhnutné pri podávaní transfúzneho lieku potvrdiť identitu darcu a príjemcu a vylúčiť prípadné zámeny. Za identitu krvnej vzorky je zodpovedný lekár žiadajúci imunohematologické vyšetrenie a/alebo transfúzny liek spolu s osobou odoberajúcou vzorku krvi .

Pri objednávaní transfúzneho lieku pre pacienta je nevyhnutné zabezpečiť :

1. každá skúmavka pred odberom vzorky krvi od pacienta sa musí vopred označiť štítkom, na ktorom je uvedené meno, priezvisko, rodné alebo identifikačné číslo pacienta,
2. sprievodný lístok a/alebo objednávka transfúzneho lieku sa musia úplne a správne vyplniť, pričom údaje na sprievodnom lístku musia byť v súlade s údajmi uvedenými na štítku odberovej skúmavky, ktorá obsahuje vzorku krvi pacienta,
3. sprievodný lístok musí okrem náležitostí uvedených v bode 1 obsahovať: názov nemocničného zariadenia, názov oddelenia alebo ambulancie, meno osoby zodpovednej za odber vzorky krvi, meno a identifikačný kód odosielajúceho lekára, údaje o predchádzajúcich transfúziách, graviditách, prípadne o transplantácii kostnej drene, informácie o liekoch podávaných pacientovi, ktoré môžu spôsobiť nešpecifické výsledky vyšetrení (napr. expandery plazmy, heparín vo vysokých dávkach, intravenózne imunoglobulín),
4. pri zistení rozdielov v označení na štítku krvnej vzorky a obsahu sprievodného lístku sa musia overiť potrebné údaje z novej vyžiadanej vzorky,
5. mechanické poškodenie skúmavky alebo krvou znečistený štítok skúmavky, ktorý znemožňuje kontrolu požadovaných údajov, sú dôvodom na vyžiadanie novej vzorky.

Pred podaním transfúzneho lieku pacientovi je nutné pri lôžku pacienta:

1. skontrolovať, či údaje na etikete transfúzneho lieku súhlasia so sprievodným lístkom k transfúznemu lieku – číslo odberu, typ transfúzneho lieku, dátum expirácie, krvná skupina,
2. skontrolovať, či údaje o pacientovi na sprievodnom lístku k transfúznemu lieku sú totožné s údajmi pacienta, pre ktorého je transfúzny liek určený – meno pacienta, rodné alebo identifikačné číslo, krvná skupina,
3. skontrolovať výsledok skúšky kompatibility na sprievodnom lístku k transfúznemu lieku,
4. vykonať orientačnú kontrolu krvnej skupiny pacienta,
5. vykonať orientačnú kontrolu krvnej skupiny transfúzneho lieku (ak sa podáva transfúzny liek s obsahom erytrocytov).

Každý nesúlad údajov je dôvodom na nepodanie transfúzneho lieku a jeho okamžité odoslanie na pracovisko, ktoré vykonávalo vyšetrenia pred transfúziou. Súčasne sa na uvedené pracovisko musí odoslať aj nová kontrolná vzorka krvi od pacienta.

Materiál na vyšetrenie

Na imuno hematologické vyšetrenie sa vyžaduje vzorka krvi určená len na tento účel. Na vyšetrenie nie je prípustné použiť hemolyzovanú, lipemickú alebo kontaminovanú vzorku. Na vyšetrenie sa môže použiť krv zrazená aj nezrazená. Chladové protilátky sa vyšetrujú zo vzorky krvi odobratej a transportovanej za tepla.

Krvné vzorky majú byť vyšetrené čo najskôr po odbere, za štandardných okolností najneskôr do 48 hodín od odberu krvi. Po ukončení vyšetrenia sa pôvodné skúmavky skladujú pri teplote $+2^{\circ}$ - $+8^{\circ}$ C po dobu minimálne 7 dní z dôvodu riešenia prípadnej transfúznej reakcie.

Vzorka musí byť označená podľa inštrukcií uvedených vyššie. Vzorka krvi od novorodenca, odobratá z pupočníka, musí byť označená ako pupočníková krv.

Vyšetrovacie postupy

Výber vyšetrovacích metód

Robí sa so zreteľom na aktuálne poznatky v imuno hematológii a v súlade s týmto odborným usmernením. Imuno hematologické vyšetrenia môžu byť vykonávané manuálnym spôsobom alebo s využitím poloautomatického, prípadne plnoautomatického zariadenia určeného na tento účel.

Reagencie na vyšetrenie

Pri všetkých imuno hematologických vyšetreniach sa používajú komerčné reagencie registrované Štátnym ústavom pre kontrolu liečiv. Pri vyšetrení je potrebné riadiť sa pokynmi výrobcu pre dané reagencie uvedenými v návode na použitie príslušnej reagencie. Potrebná je dôsledná evidencia šarží použitých reagencií vo vzťahu k vykonaným vyšetreniam tak, aby v prípade potreby bolo možné spoľahlivo identifikovať príslušnú šaržu reagencie, ktorá bola použitá v danom teste. Testovacie reagencie sa zásadne nesmú používať po expiračnej dobe.

Kvalita reagencií musí byť v priebehu ich používania denne kontrolovaná systémom vnútornej kontroly kvality, o čom sa vedie písomný záznam.

Kontrola kvality

Každé laboratórium, ktoré vykonáva imuno hematologické vyšetrenia je povinné robiť pravidelné denné kontroly kvality v rámci systému vnútornej kontroly kvality. Rozsah

vnútornej kontroly kvality je určený spektrom vykonávaných vyšetrení v príslušnom laboratóriu, má byť v súlade s pokynmi výrobcu použitých reagensí a so zreteľom na aktuálne poznatky v imunohematológii.

Laboratórium vykonávajúce imunohematologické vyšetrenia musí byť zapojené do systému externého hodnotenia kvality. Externá kontrola kvality má byť realizovaná v rozsahu vykonávaných vyšetrení s frekvenciou minimálne 2 krát do roka.

Určovanie krvnej skupiny AB0

Krvná skupina AB0 sa určuje vyšetrením aglutinogénov AB0 pomocou monoklonálnych diagnostických sér anti-A a anti-B a vyšetrením prirodzených aglutinínov (anti-A a anti-B) s testovacími erytrocytmi A₁ a B. Vyšetrenie je úplné len vtedy, keď sú vyšetrené nielen skupinové vlastnosti erytrocytov, ale súčasne aj vlastnosti séra, pričom jedno vyšetrenie slúži ako kontrolné pre druhé. Ak vyšetrenie aglutinínov nezodpovedá vyšetreným aglutinogénom, je potrebné tento nález analyzovať pred vydaním výsledku vyšetrenia.

Od vyšetrenia aglutinínov možno upustiť pri overení krvnej skupiny príjemcu a krvného prípravku pri vyšetrení skúšky kompatibility.

Použitie monoklonálneho séra anti-AB pri vyšetrení aglutinogénov sa vyžaduje v odôvodnených prípadoch (napr. diskrepancia medzi vyšetrením aglutinogénov a aglutinínov).

Vyšetrenie podskupiny sa vykonáva v odôvodnených prípadoch (napr. pri prítomnosti protilátky anti-A₁ u príjemcu transfúzie).

Určenie krvnej skupiny musí byť vykonané overenou metódou, pričom postup sa musí riadiť odporúčaniami uvedenými v návode na použitie príslušnej reagensie.

AB0 krvná skupina musí byť vždy, keď je to možné, overená voči minulému výsledku daného pacienta. Ak ide o prvé vyšetrenie krvnej skupiny, je vhodné okrem kompletného vyšetrenia aglutinogénov a aglutinínov, vykonať nezávislé overenie výsledku orientačným vyšetrením aglutinogénov z originálnej vzorky.

V prípade, že v príslušnom laboratóriu bola už predtým vyšetrená krvná skupina a je opätovne požadované vyšetrenie krvnej skupiny AB0 a RhD, opakuje sa len vyšetrenie AB0 aglutinogénov a vyšetrenie RhD antigénu s použitím jedného monoklonálneho anti-D séra.

Manuálne vykonávané vyšetrenia krvnej skupiny AB0 a RhD vyžadujú dvojité odčítavanie výsledkov zaškolenými pracovníkmi s možnou výnimkou v čase pohotovostných služieb s písomným súhlasom odborného garanta laboratória. Dvojité odčítavanie sa nevyžaduje v prípade použitia polo alebo plnoautomatizovaných zariadení slúžiacich na vyšetrenie krvných skupín, ak je zabezpečená ich obojsmerná komunikácia s laboratórnym informačným systémom. Pri všetkých nejasných nálezoch musí byť konzultovaný zodpovedný lekár.

Vyšetrenie krvnej skupiny RhD u pacientov

Vyšetrenie krvnej skupiny RhD u pacientov, vrátane tehotných žien a novorodencov, sa vykonáva pomocou dvoch rôznych klonov monoklonálnych diagnostických sér anti-D triedy IgM, ktoré nezachytávajú variantu D^{VI}. Pri určení RhD vlastnosti u pacientov, vrátane tehotných žien a novorodencov, sa nemá používať nepriamy antiglobulínový test.

1. Ak sú výsledky vyšetrenia s dvomi diagnostickými sérami jednoznačne negatívne, ide o krvnú skupinu RhD negatívnu.
2. Ak sú súhlasne a jednoznačne makroskopicky pozitívne výsledky, vrátane nepochybne slabšie pozitívnych testov s oboma diagnostickými sérami, ide o krvnú skupinu RhD pozitívnu.
3. Pri rozporných (negatívny a pozitívny výsledok) a nejednoznačných výsledkoch (slabšie reakcie ako 2+ s oboma diagnostickými sérami alebo rozdiel v sile reakcií

medzi oboma anti-D sérami o 2+), ide o krvnú skupinu RhD^{w/v} slabú/variantnú. Pacienti s takouto krvnou skupinou sú indikovaní k ďalšiemu doriešeniu (špecifikácii) D^{w/v} antigénu s použitím panelu monoklonálnych anti-D diagnostických sér, (umožňujúcich diferenciaciu medzi slabými a variantnými D fenotypmi) a/alebo molekulovo-genetických metód na vyššom pracovisku. Výsledkom uvedenej špecifikácie je krvná skupina RhD^w slabá alebo krvná skupina RhD^v variantná.

Pre pacientov s krvnou skupinou RhD^{w/v} sú až do vyriešenia diskrepantného výsledku indikované RhD negatívne transfúzne lieky.

Pre pacientov s dokázaným RhD^v variantným antigénom sú indikované RhD negatívne transfúzne lieky.

Pre pacientov s dokázaným RhD^w slabým antigénom sú indikované RhD pozitívne transfúzne lieky.

Vyšetrenie krvnej skupiny RhD u darcov

Vyšetrenie krvnej skupiny u darcov sa vykonáva pomocou dvoch monoklonálnych anti-D IgM diagnostických sér pochádzajúcich z rôznych klonov. V prípade potreby vykonania nepriameho antiglobulínového testu (viď nižšie) sa používa monoklonálne diagnostické sérum anti-D triedy IgG. Výber kombinácie používaných diagnostických sér má za cieľ spoľahlivo zachytiť všetky klinicky významné slabé (weak) a variantné formy antigénu D (najmä variantu D^{v1}).

1. Ak sú výsledky vyšetrenia súhlasne a jednoznačne pozitívne, darcovia sa považujú za RhD pozitívnych.
2. Ak sú výsledky vyšetrenia testov s oboma diagnostickými sérami negatívne, následne sa vykonáva nepriamy antiglobulínový test. V prípade jeho negativity je vyšetrovaný darca RhD negatívny.
3. V prípade negativity testov v prvej fáze vyšetrenia a pozitivity nepriameho antiglobulínového testu v druhej fáze vyšetrenia vyšetrovaný darca má krvnú skupinu RhD^{w/v} slabú/variantnú. Erytrocytové transfúzne lieky od darcu krvi s krvnou skupinou RhD^{w/v} sú určené pre príjemcov s krvnou skupinou RhD pozitívnu a označujú sa na štítkoch transfúzných liekov ako RhD pozitívne.

Určovanie ostatných krvnoskupinových znakov

Určovanie ďalších Rh antigénov a iných krvnoskupinových znakov sa vykonáva s použitím dvoch rôznych diagnostických sér (z rôznych klonov) pre každý antigén so súčasne vyšetrenými pozitívnymi a negatívnymi kontrolami.

Skríning nepravidelných antierytrocytových protilátok

Skríning protilátok slúži na zistenie prítomnosti voľných nepravidelných protilátok proti antigénom erytrocytov.

U pacientov sa vykonáva v dostatočnom predstihu, najlepšie súčasne s vyšetrením krvnej skupiny AB0, RhD pred plánovanou alebo možnou transfúziou.

Čas odberu vzorky krvi na skríning protilátok je závislý od času poslednej transfúzie krvi. Odporúčený postup pre správne časovanie odberu vzorky je uvedený v prílohe č. 1.

U pacientov, u ktorých sa podávajú opakovane transfúzne lieky s obsahom erytrocytov, je nutné zopakovať skríning protilátok z čerstvo odobratej vzorky pri nasledujúcej skúške kompatibility, ak uplynulo viac ako 72 hodín od posledného vyšetrenia skríningu protilátok.

Zvolená metóda pre skríning nepravidelných protilátok má zachytiť všetky klinicky významné protilátky. Na dôkaz protilátok proti antigénom erytrocytov sa používa nepriamy

antiglobulínový test s použitím roztoku s nízkou iónovou silou (LISS), vykonaný tekutou metódou v skúmavke alebo citlivejšími metódami stĺpcovej aglutinácie alebo pevnej fázy. Prípustné je použitie postupov v skúmavke s porovnateľnou alebo vyššou citlivosťou a špecificitou (napr. nepriamy antiglobulínový test s použitím iného potenciátora).

Negatívne výsledky nepriamych antiglobulínových testov v skúmavke sa kontrolujú pomocou IgG senzibilizovaných erytrocytov.

Použitie samotného nepriameho antiglobulínového testu (t.j. bez enzýmového testu) vykonaného tekutou metódou v skúmavke je možné len vtedy, ak:

1. laboratórium má zavedený program správnej účinnosti prepierania pri skúmavkových testoch (t.j. na prepieranie v rámci antiglobulínových testov je používané automatizované zariadenie),
2. laboratórium opakovane dosahuje správne výsledky v rámci systému externého hodnotenia kvality v príslušnej metóde.

Použitie samotného nepriameho antiglobulínového testu je možné aj v prípade, že laboratórium používa na skrining protilátok overenú a dostatočne citlivú metódu, napr. metódu stĺpcovej aglutinácie alebo metódu pevnej fázy.

Enzýmový test má byť súčasťou skriningu protilátok u pacientov pri riešení transfúzných komplikácií.

Enzýmový test sa nevyžaduje pri skriningu protilátok u tehotných žien za splnenia vyššie uvedených podmienok pre výber metódy pre skrining protilátok.

Diagnostické erytrocyty používané na skrining protilátok musia byť výlučne komerčné, pričom na erytrocytoch každej šarže musia byť exprimované minimálne nasledujúce antigény: D, C, c, E, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s, M, N, P₁, Le^a, Le^b.

U darcov krvi pri vyhľadávaní nepravidelných protilátok možno v teste použiť komerčne pripravenú zmes diagnostických krviniek.

U pacientov sa nesmú použiť pri skriningu nepravidelných protilátok diagnostické krvinky v zmesi. Požaduje sa použitie kombinácie komerčných erytrocytov s homozygotnou expresiou nasledujúcich antigénov: D, C, c, E, e, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, S, s, čo si vyžaduje použitie kombinácie minimálne 3 typov komerčných erytrocytov, ktoré sa vzájomne dopĺňajú v antigénnom zložení.

Ak sa vo vyšetrovanej vzorke plazmy alebo séra potvrdí prítomnosť nepravidelnej protilátky a/alebo autoprotilátky, musí sa určiť jej špecificita a klinický význam pre hemoterapiu.

Priamy antiglobulínový test

Priamy antiglobulínový test slúži na dôkaz protilátok a/alebo zložiek komplementu, ktoré sa naviazali in vivo na vyšetrované erytrocyty.

Priamy antiglobulínový test sa vykonáva s použitím polyšpecifického (anti-IgG, -C3d) antiglobulínového séra zo vzorky nezrazenej krvi. Ak je výsledok pozitívny, robia sa ďalšie vyšetrenia pomocou monošpecifických antiglobulínových sér. Zároveň sa robia kontroly s IgG senzibilizovanými a nesenzibilizovanými erytrocytmi.

Negatívne výsledky priamych antiglobulínových testov v skúmavke sa kontrolujú pomocou IgG senzibilizovaných erytrocytov.

Autolónna kontrola, priamy antiglobulínový test nie sú súčasťou predtransfúzneho vyšetrenia, pokiaľ nejde o vyšetrenie špecifikácie protilátok a pri podozrení na imunitnú hemolytickú anémiu (po transfúzii, u novorodencov, autoimunitnú hemolytickú anémiu).

Identifikácia (špecifikácia) antierytrocytových protilátok

Identifikácia protilátok je určenie špecificity antierytrocytových protilátok s cieľom zhodnotenia ich klinickej významnosti.

Identifikáciu protilátok sú oprávnené vykonávať len špecializované imunoematologické laboratóriá nemocníc a pracovísk Národnej transfúznej služby. Podmienkou je účasť v systéme externého hodnotenia kvality s dosiahnutím správnych výsledkov pri identifikácii protilátok.

Identifikácia protilátok sa vykonáva použitím metódy, ktorou bola zistená protilátka pri skríningu protilátok a podľa potreby ďalšími metódami s porovnateľnou alebo vyššou citlivosťou. Štandardnou súčasťou vyšetrenia je okrem nepriameho antiglobulínového testu s použitím roztoku s nízkou iónovou silou (LISS) aj enzýmový test. V rámci vyšetrenia je možné doplniť ďalšie metódy a postupy s cieľom vylúčiť, resp. potvrdiť prítomnosť antierytrocytových protilátok, zistených v rámci skríningu protilátok a určiť ich špecificitu.

Na vyšetrenie je nutné používať minimálne jeden panel 8-11 typov komerčných diagnostických erytrocytov. Panely majú umožniť spoľahlivú identifikáciu často sa vyskytujúcich klinicky významných protilátok a súčasne umožniť špecifikáciu kombinácie viacerých protilátok.

Špecificita protilátok musí byť potvrdená pozitívnou reakciou minimálne s 2 typmi diagnostických erytrocytov s daným antigénom a negatívnou reakciou minimálne s 2 typmi diagnostických erytrocytov negatívnych pre daný antigén.

Neoddeliteľnou súčasťou identifikácie protilátok je autológa kontrola a priamy antiglobulínový test.

Pri náleze nešpecifických autoprotilátok je potrebné vylúčenie súčasnej prítomnosti nepravidelných aloprotilátok použitím elučných a adsorpčných testov.

Ak sa u vyšetrovanej osoby dokáza klinicky významné protilátky, musí byť výsledok tohto vyšetrenia odoslaný lekárovi, ktorý o vyšetrenie žiadal. Súčasne musí pracovisko, ktoré vykonalo identifikáciu protilátky, vystaviť v prípade nálezu klinicky významných protilátok písomný doklad pre účely transfúzie určený pre pacienta (viď príloha č. 2). Doručenie tohto dokladu do rúk pacienta zabezpečí lekár, ktorý o vyšetrenie žiadal.

Skúška kompatibility (zlučiteľnosti)

Sérologická skúška kompatibility je povinnou súčasťou predtransfúzneho vyšetrenia pred podaním každého transfúzneho lieku s obsahom erytrocytov (celá krv, erytrocyty, granulocyty). Cieľom vyšetrenia je overenie zlučiteľnosti séra/plazmy príjemcu s erytrocytmi darcu.

Čas odberu vzorky krvi na skúšku kompatibility je závislý od času poslednej transfúzie krvi. Odporúčený postup pre správne časovanie odberu vzorky je uvedený v prílohe č. 1.

Platnosť skúšky kompatibility je maximálne 72 hodín od odberu vzorky príjemcu. Po uplynutí tejto doby je potrebné vykonať novú skúšku s novou vzorkou krvi príjemcu. Ku skúške zlučiteľnosti sa ďalej používa suspenzia erytrocytov, ktoré boli bezprostredne pred jej vykonaním odobraté zo segmentu transfúzneho lieku.

Pred skúškou kompatibility sa v každej novej vzorke príjemcu a darcu overuje krvná skupina ABO a RhD orientačným vyšetrením ABO aglutinogénov a RhD antigénu s použitím jedného monoklonálneho anti-D diagnostického séra s obsahom IgM protilátok.

Pre výber metódy na vykonanie skúšky kompatibility platia rovnaké odporúčenia ako pre skríning protilátok. Zvolená metóda pre skúšku kompatibility má zachytiť všetky klinicky významné protilátky. Na dôkaz protilátok proti antigénom erytrocytov sa vyžaduje použitie nepriameho antiglobulínového testu s použitím roztoku s nízkou iónovou silou (LISS), vykonaného tekutou metódou v skúmavke alebo citlivejšími metódami stĺpcovej aglutinácie alebo pevnej fázy. Prípustné je použitie postupov v skúmavke s porovnateľnou alebo vyššou citlivosťou a špecificitou (napr. antiglobulínový test s použitím iného potenciátora).

Negatívne výsledky nepriamych antiglobulínových testov v skúmavke sa kontrolujú pomocou IgG senzibilizovaných erytrocytov.

Použitie samotného nepriameho antiglobulínového testu (t.j. bez vykonania enzýmového testu) vyšetreného tekutou metódou v skúmavke je možné len vtedy, ak:

1. laboratórium má zavedený program správnej účinnosti prepierania pri skúmavkových testoch (t.j. na prepieranie v rámci antiglobulínových testov je používané automatizované zariadenie),
2. laboratórium opakovane dosahuje správne výsledky v rámci systému externého hodnotenia kvality v príslušnej metóde.

Použitie samotného nepriameho antiglobulínového testu je možné aj v prípade, že laboratórium používa na skúšku kompatibility overenú a dostatočne citlivú metódu, napr. metódu stĺpcovej aglutinácie alebo metódu pevnej fázy.

Výsledky skúšky kompatibility sú dokumentované na sprievodnom lístku, ktorý sa bezpečne pripojí k transfúznemu lieku. Okrem výsledku vyšetrenia musí sprievodný lístok obsahovať aj nasledovné údaje: meno a priezvisko pacienta, rodné alebo identifikačné číslo, krvnú skupinu pacienta, miesto určenia (názov nemocničného zariadenia a príslušného oddelenia alebo ambulancie), celé číslo odberu tak, ako je uvedené na štítku transfúzneho lieku.

V prípade, že je vydaný transfúzny liek inej krvnej skupiny ako je krvná skupina pacienta, súčasťou sprievodnej dokumentácie musí byť komentár o kompatibilite transfúzneho lieku s krvnou skupinou pacienta a údaj o jeho možnom podaní príslušnému pacientovi.

Ak boli v rámci predtransfúzneho vyšetrenia vykonané neštandardné opatrenia (napr. vynechanie identifikácie protilátok alebo skúšky kompatibility z dôvodu časovej tiesne), alebo boli zistené neštandardné výsledky (napr. pozitivita skúšky kompatibility v dôsledku prítomnosti autoprotilátok), je potrebné tieto informácie zreteľne uviesť na sprievodnom lístku k vydanému transfúznemu lieku.

Skúšku kompatibility nie je potrebné vykonávať u autológnych transfúzných liekov s obsahom erytrocytov.

Výber vhodného transfúzneho lieku

Výber vhodného transfúzneho lieku sa riadi Metodickým pokynom č. 75 o prevencii, hlásení a vyšetrení transfúzných reakcií (Vestník MZ SR z r. 2002).

Transfúzie z vitálnej indikácie musia byť dokumentované indikujúcim, resp. podávajúcim lekárom ako "vitálna indikácia" v žiadanke na transfúzny liek a v chorobopise pacienta. Zodpovednosť za zvýšené riziko takejto transfúzie má lekár indikujúci, resp. podávajúci transfúziu.

V naliehavých situáciách je potrebné dbať na primeranú kvalitu vzoriek, zvýšené nebezpečenstvo ich zámény a možnosť chybného vyšetrenia.

V prípade prítomnosti klinicky významných antierytrocytových protilátok v sére príjemcu je potrebné sa pri výbere transfúzneho lieku riadiť v prvom rade odporúčením uvedeným v závere kompletného imuno hematologického vyšetrenia (identifikácie protilátok), alebo postupovať v súlade s odporúčením uvedeným v priloženej tabuľke (príloha č. 3). V závislosti od klinického významu protilátok sa vyberajú transfúzne lieky negatívne na príslušný antigén s následnou negatívnou skúškou kompatibility, alebo sa vyberajú krvné prípravky nevyšetrené na prítomnosť daného antigénu, iba na základe negativity skúšky kompatibility. Pri výbere krvného prípravku u imunizovaných pacientov je potrebné rešpektovať aj údaj o prítomnosti klinicky významných protilátok v minulosti a to aj v prípade negatívneho výsledku skríningu protilátok z aktuálnej vzorky krvi.

V prípade, že z technických dôvodov alebo z dôvodov časovej tiesne nie je možné po predchádzajúcom pozitívnom výsledku skríningu protilátok vykonať identifikáciu protilátok, je nutné vybrať AB0 RhD kompatibilné prípravky na základe negatívneho výsledku skúšky kompatibility. V takomto prípade je nutné následne doplniť identifikáciu protilátok.

V záujme prevencie administratívnych omylov sa bezprostredne pred každým podaním transfúzneho lieku s obsahom erytrocytov a to aj v prípade, že ide o autológny transfúzny liek, povinne vykonáva overenie krvnej skupiny AB0 pacienta a erytrocytov v transfundovanej jednotke. Overenie sa vykonáva pri lôžku pacienta pomocou diagnostických sér anti-A a anti-B zo vzoriek krvi pacienta a transfúzneho lieku odobratých bezprostredne pred transfúziou. Toto vyšetrenie sa robí aj v urgentných situáciách. Pred podávaním čerstvo zmrazenej plazmy sa overí pri lôžku iba krvná skupina pacienta. Pred transfúziou trombocytov sa overenie krvnej skupiny príjemcu ani transfúzneho lieku nevykonáva.

Imunohematologické vyšetrenie novorodencov a detí do 4 mesiacov veku

Rutinné vyšetrenie AB0 a RhD skupiny u všetkých novorodencov sa nevyžaduje. Vyšetrenie AB0 a RhD skupiny, prípadne vykonanie ďalších imunohematologických vyšetrení, sa vyžaduje u novorodencov RhD negatívnych matiek (indikácia anti-D profylaxie), ďalej pri podozrení na hemolytickú chorobu novorodenca a v prípade potreby hemoterapie. Uprednostňuje sa vyšetrenie zo vzorky pupočníkovej krvi.

Krvná skupina AB0 sa u novorodencov a detí do 4 mesiacov veku určuje iba vyšetrením aglutinogénov. Testy na vyšetrenie aglutinínov sa vynechávajú z dôvodu pasívneho prenosu protilátok od matky. Ak ide o prvé vyšetrenie krvnej skupiny, je vhodné vykonať nezávislé overenie výsledku opakovaným vyšetrením aglutinogénov z originálnej vzorky.

Predtransfúzne vyšetrenie novorodenca musí obsahovať vyšetrenie AB0 a RhD skupiny, skrínung antierytrocytových protilátok zo vzorky krvi matky alebo dieťaťa a sérologickú skúšku kompatibility zo vzorky krvi matky alebo novorodenca. V prípade podozrenia na hemolytickú chorobu novorodenca je nutné vyšetrenie priameho antiglobulínového testu, prípadne vykonanie ďalších imunohematologických vyšetrení. (nepriamy antiglobulínový test na dôkaz voľných klinicky významných protilátok, prípadne elučný test na dôkaz viazaných protilátok) zo vzorky krvi novorodenca.

Dokumentácia

Na každom pracovisku musia byť k dispozícii štandardné pracovné postupy ku každej laboratórnej metóde, ktorá sa na danom pracovisku vykonáva. Štandardné pracovné postupy musia byť zrozumiteľné, validované, podpísané manažérom kvality a označené dobou platnosti.

Súčasťou dokumentácie musí byť aj záznam o výrobných šaržách všetkých použitých reagensí.

Výsledky všetkých imunohematologických vyšetrení, vrátane reakcií kontrol, musia byť zaznamenané v laboratórnej dokumentácii.

Zaznamenávanie výsledkov krvných skupín erytrocytov

AB0 systém

A, B, 0, AB.

Základné podskupiny AB0 systému: A₁, A₂, A₁B, A₂B

Rh systém

Označovanie antigénov a fenotypu erytrocytov je založené na zvyčajnej medzinárodnej nomenklatúre. V prípade ručne písaných nálezov majú byť malé písmená abecedy označené čiarkou nad písmenom, aby sa predišlo možným omylom.

Príklady zápisu :

RhD pozit

RhD^{w/v} slabý/variantný, RhD^w slabý, RhD^v variantný

RhD negat

C+, C-

CCDee

Ostatné krvné skupiny erytrocytov

K +, K -

Fy (a+), Fy (a-)

Jk (a+b-)

Zaznamenávanie výsledkov prítomnosti antierytrocytových protilátok

Označovanie protilátok proti erytrocytom je založené na zvyčajnej medzinárodnej nomenklatúre, napr.:

Anti-K

Anti-Fy^a

Kompletný imunoematologický nález musí obsahovať: špecificitu protilátok, opis použitej metódy, titer protilátok (len u tehotných žien a pacientov v indikovaných prípadoch, napr. s výskytom chladových autoprottilátok). Nález musí obsahovať záver s príslušným klinickým odporúčením.

Vypracovali : 25.6.2010

MUDr. Daniela Cupaníková, hlavný imunoematológ NTS, námestníčka pre LPS NTS SR

MUDr. Viliam Lauko, produktový manažér firmy BIOG

MUDr. Jana Rosochová, expert rady Európy pre transfuziológiu

Oponenti : MUDr. Mirko Peprný, hlavný odborník pre transfuziológiu SR

MUDr. Marta Kučeráková, pracovisko NTS Žilina

Príloha č.1

Časový rozvrh odberu vzoriek krvi na predtransfúzne vyšetrenie (skrining protilátok a skúšku kompatibility) vo vzťahu k poslednej transfúzii, podanej viac ako pred 72 hodinami:

Pacient transfundovaný pred:	Vzorka krvi nie staršia ako:
3 – 14 dňami	24 hod pred transfúziou
15 - 28 dňami	72 hodín pred transfúziou
29 dňami - 3 mesiacmi	1 týždeň pred transfúziou