

Naše zkušenosti s vyšetřením vzorků SEKK

Lenka Řehořová

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

**11. Hradecká imunohematologická konference
Hradec Králové 17.1.2023**



Obsah sdělení:

1. Obecné požadavky na externí kontrolu kvality (EHK)
2. Nastavení EHK v naší laboratoři
3. EHK – výsledky
4. EHK– zkušenosti
5. Diskuse a závěr



1. Obecné požadavky

- Nepodkročitelná minima odbornosti 222
 - Účast v EHK s vyhovujícími výsledky = platný certifikát pro danou metodu (SEKK, event. jiné kontroly schválené výborem STL).
- Odborná doporučení
 - Laboratoř se má účastnit systému externího hodnocení kvality v imunohematologických metodách, které dané pracoviště používá (pro vyšetření DK 2x ročně).
- Norma ČSN 15 189
 - Laboratoř se musí zúčastnit programů mezilab. porovnání (EHK n. programy zkoušení způsobilosti) odpovídajících příslušnému laboratornímu vyšetření a interpretaci výsledků tohoto vyšetření
 - Srovnatelnost výsledků vyšetření (EHK či alternativně).



2. Externí kontrola kvality - nastavení

SEKK pro imunohematologii

- 2 cykly IH pro analyzátory (Erytra kód N610, Galileo kód N612).
- Cyklus pro Erytru navázaný na sloupcovou aglutinaci manuálně → srovnatelnost výsledků.
- 2 cykly PAT – manuální metody SA/zkumavkovým testem + ověření srovnatelnosti metod na analyzátorech, kde lze vyšetřit PAT+ vzorky.
- **Rok 2022:** cyklus Immunhämatologie Major od Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB)



2. Externí kontrola kvality - nastavení

PLÁN EHK rok 2022				EVIDENCE EHK rok 2022		
Termín	Označení a název programu	Organizátor	Celková nabídka programu (přehled parametrů/ rozsahů měření)	Datum realizace	Účast laboratoře - Parametry/ rozsahy měření - úspěšnost	Odkaz na řešení neshodného výsledku
Imunohematologie						
16.2.2022	IH1/22	RfB	Imunohematologie Major	24.2.2022	Parametry: Krevní skupina AB0, RhD , Cw, Kell, PAT, screening protilátek , titr protilátek, identifikace protilátek.	/
23.5.2022	IH2/22	SEKK s.r.o	Imunohematologická vyšetření – metody sloupcové aglutinace přístrojově (N610)	1.6.2022	Parametry: Krevní skupina AB0, RhD , fenotyp, PAT, screening protilátek , titr protilátek, zkouška kompatibility , typování vzácných antigenů, identifikace protilátek.	CLM_TO 3/2022 (titr protilátek – neakreditovaná metoda)
			Imunohematologická vyšetření – metody capture (N612)	1.6.2022	Parametry: Krevní skupina AB0, RhD, fenotyp, typování vzácných antigenů, screening protilátek, identifikace protilátek.	/
7.11.2022	IH4/22	SEKK s.r.o	Imunohematologická vyšetření – metody sloupcové aglutinace přístrojově (N610)	18.11.2022	Parametry: Krevní skupina AB0, RhD , fenotyp, PAT, screening protilátek , titr protilátek, zkouška kompatibility , typování vzácných antigenů, identifikace protilátek.	CLM_TO 7/2022 (titr protilátek – neakreditovaná metoda)
			Imunohematologická vyšetření – metody capture (N612)	18.11.2022	Parametry: Krevní skupina AB0, RhD, fenotyp, typování vzácných antigenů, screening protilátek, identifikace protilátek.	/

2. Externí kontrola kvality - nastavení

23.5.2022	PAT1/22	SEKK s.r.o	Přímý antiglobulinový test - metody sloupcové aglutinace a zkumavkové (N610)	1.6.2022	Parametry: Přímý antiglobulinový test (kvalitativní a semikvantitativní stanovení), krevní skupina AB0, RhD , fenotyp, typování vzácných antigenů.	/
7.11.2022	PAT2/22	SEKK s.r.o	Přímý antiglobulinový test - metody sloupcové aglutinace a zkumavkové (N610)	18.11.2022	Parametry: Přímý antiglobulinový test (kvalitativní a semikvantitativní stanovení), krevní skupina AB0, RhD , fenotyp, typování vzácných antigenů.	/



2. Externí kontrola kvality – nastavení IH cyklů

Metody SEKK N610 (Erytra)	Metody SEKK N612 (Galileo NEO)	Metody RfB (SA manuálně)
AB0 skupina , A podskupina RhD antigen (příjemce) Antigen C, c, Cw, E, e, K, k Antigen MNSs Antigen Fya/Fyb Antigen Jka/Jkb PAT Screening protilátek NAT (dárce, příjemce, těhotná) Screening protilátek enzym Identifikace protilátek Zkouška kompatibility <i>Podání transfuze</i> <i>Titr protilátek</i>	AB0 skupina RhD antigen (dárce) Antigen C, c, Cw, E, e, K, k Antigen MNSs Antigen Fya/Fyb Antigen Jka/Jkb Screening protilátek NAT (dárce) Identifikace protilátek	AB0 skupina , A podskupina RhD antigen (příjemce) Antigen C, c, Cw, E, e, K PAT Screening protilátek Autokontrola Identifikace protilátek Titr protilátek



2. Externí kontrola kvality – nastavení PAT cyklů

Metody

SEKK N610 (SA, zkumavkový test)

PAT

Typ senzibilizace anti-IgG

Typ senzibilizace anti-C3d

ABO skupina

RhD antigen

Antigen C, c, Cw, E, e, K

Antigen Ss

Antigen Jka/Jkb

Antigen Lea/Leb



3. Úspěšnost v EHK výsledky (5 let)

Cyklus IH	N610	N612
1/18	100%	94%
2/18	100%	x
3/18	100%	100%
4/18	100%	x
1/19	100%	100%
3/19	100%	100%
1/20	100%	100%
3/20	100%	100%
1/21	100%	100%
3/21	100%	100%
RfB	100%	x
2/22	100%	100%
4/22	100%	100%



3. Úspěšnost v EHK výsledky (5 let)

Cyklus PAT	N610
1/18	100% úspěšnost
2/18	
1/19	
2/19	
1/20	
2/20	
1/21	
2/21	
1/22	
2/22	



3. EHK výsledky ID protilátek

Cyklus IH	Vzorek	Vztažná hodnota	Náš výsledek	
			N610	N612
1/18	S1	Anti-K, anti-M	Anti-K, anti-M	Anti-K
	S2	Anti-s	Anti-s	Anti-s
2/18	S1	Anti-S, anti-Cw	Anti-S, anti-Cw	x
	S2	Anti-E, anti-S	Anti-E, anti-S	
3/18	S1	Anti-Jka, anti-M	Anti-Jka, anti-M	Anti-Jka, anti-M
	S2	Anti-Fya	Anti-Fya	Anti-Fya
4/18	S1	Anti-c	Anti-c	x
	S2	Anti-K, anti-S	Anti-K, anti-S	
1/19	S1	Anti-Fyb, anti-M, anti-Kpa, anti-Wra	Anti-Fyb, anti-M	Anti-Fyb, anti-M
	S2	Anti-D	Anti-D	Anti-D
3/19	S1	Anti-E, anti-Jkb	Anti-E, anti-Jkb	Anti-E, anti-Jkb
	S2	Anti-E, anti-K, anti-Wra	Anti-E, anti-K	Anti-E, anti-K



Cyklus IH	Vzorek	Vztažná hodnota	Náš výsledek	
			N610	N612
1/20	S1	Jka	Jka	Jka
	S2	Anti-M, anti-S, anti-HLA	Anti-M, anti-S	Anti-M, anti, anti-Fya
3/20	S1	Anti-K	Anti-K	Anti-K
	S2	Anti-c, anti-f	Anti-c, anti-f	Anti-c, anti-f
1/21	S1	Anti-Fya	Anti-Fya	Anti-Fya
	S2	Anti-s, anti-M	Anti-s	Anti-s
3/21	S1	Anti-D, anti-Jkb	Anti-D, anti-Jkb	Anti-D, anti-Jkb
	S2	Anti-S	Anti-S	Anti-S
RfB	S1	Anti-K	Anti-K	x
	S2	Anti-S, anti-K	Anti-S, anti-K	
2/22	S1	Anti-c, anti-E, anti-Wra	Anti-c, anti-E	Anti-c, anti-E
	S2	Anti-K, anti-S, anti-Wra	Anti-K, anti-S	Anti-K, anti-S
4/22	S1	Anti-E, anti-Fya, anti-Wra	Anti-E, anti-Fya, anti-Wra	Anti-E, anti-Fya
	S2	Anti-D	Anti-D	Anti-D



4. EHK zkušenosti

- **Cyklus IH1/18:** vzorek S1 - protilátka anti-K, anti-M
 - Kód N610: SA správný výsledek
 - Kód N612: Galileo – protilátka anti-M uvedena pouze v komentáři /anti-M nezachyceno pevnou fází, zřejmě třídy IgM či podtřídy IgG4/, hodnoceno jako chybný výsledek.
 - Reklamace na SEKK, neuznáno, řešeno s firmou APR.
 - Doporučení od SEKK – do výsledků zapisovat všechny zjištěné protilátky bez ohledu na způsob vyšetření.
- **Cyklus IH1/19:** vzorek S1 - protilátky anti-Fyb, anti-M, anti-Kpa, anti-Wra
 - Anti-Fyb a anti-M byly slabé a detekce dvou anti-LFA záležela na tom, zda použité ID panely obsahovaly tyto antigeny.
 - Anti-M navíc byla chladového typu (IgM) a capture a zkumavkovým NAT nebyla zjistitelné (v tomto případě jako chybný výsledek neposuzováno).



4. EHK zkušenosti

- **Cyklus IH3/19:** vzorek S2 – protilátky anti-E, anti-K, anti-Wra
 - Detekce anti-Wra záležela na tom, zda použité ID panely obsahovaly tento antigen.
- **Cyklus IH1/20:** vzorek S2 - protilátky anti-M, S a anti-HLA
 - Anti-M velmi slabá, nezachycena 10 laboratořemi.
 - U 8 laboratoří (vč. naší) navíc uvedena anti-Fya - akceptováno vzhledem k přítomnosti anti-HLA, které mohly imitovat jinou specifitu.
- V obou případech neuvedení protilátky nebylo hodnoceno jako chybný výsledek.
- **Cyklus IH1/21:** vzorek S2 - protilátky anti-s, anti-M
 - Anti-M charakteru slabé autoprotiátky, její neuvedení jako chybný výsledek neposuzováno.



4. EHK zkušenosti

- **Cyklus IH2/22:** vzorek S1 - protilátky anti-c, anti-E
vzorek S2 protilátky anti-K, anti-S, oba vzorky navíc anti-Wra
 - Detekce anti-Wra záležela na tom, zda použité ID panely obsahovaly tento antigen.
- **Cyklus IH4/22:** vzorek S1 protilátky anti-E, anti-Fya, anti-Wra
 - Zde jsme již anti-Wra detekovali a uvedli do výsledků – použití krvinek č. 16 z Makropanelu firmy Sanquin k potvrzení protilátky.
 - Pro r. 2023 budeme nastavovat vyšetření anti-Wra u pacientů se směsmi protilátek.



4. EHK zkušenosti

- **Titrace protilátek** – SEKK nehodnocená metoda
 - Provedení SA + heterozygotní erytrocyty
 - V roce 2022 – 2x neúspěch v cyklu 2 a 4/22
 - Cyklus IH2/22: vzorek S1 protilátka anti-E:
 - Vztažná hodnota 256
 - Náš výsledek: titr 64
 - Cyklus IH4/22: vzorek S1 protilátka anti-Fyb
 - Vztažná hodnota 8
 - Náš výsledek: titr 32
 - Pro oba cykly – prověřen neshodný výsledek, přijata nápravná opatření /trénink personálu, úprava SOP/.



4. EHK zkušenosti

- **Vyšetření erytrocytárních antigenů**

- Dlouhodobě dosahujeme 100% úspěšnosti.
- V rámci vyšetření posledního cyklu IH4/22 při srovnání výsledků vyšetření všemi používanými metodami zjištěna diskrepance ve vyšetření
 - falešná negativita antigenu Jkb u vzorku E2 (Jka+Jkb+) na analyzátoru Erytra
 - Galileo NEO a SA manuálně – pozitivní výsledek.
- Tč. řešeno s firmou Grifols.
- Metoda na analyzátoru nepoužívána.



4. EHK zkušenosti

• Zahraniční EHK RfB

- K dispozici 3 imunohematologické cykly.
- Také obsahují 2 vzorky k testování.
 1. základní cyklus IM (minor) bez ID protilátek.
 2. Cyklus RfB IH major (rozšířený) → spektrum metod O.K.
 - není vhodný pro analyzátor – málo materiálu k vyšetření
 - Erytrocyty 2ml
 - Sérum 6ml
 3. Pro IH analyzátor cyklus IA – pro automatické systémy:
 - Plná krev 2,5 ml
 - Základní metody bez identifikace protilátek.
- Cena cyklů 61€ (IH), 51€ (IM), 85€ (IA).



4. Diskuse a závěr

- Vyšetření vzorků EKH nám kromě kontroly správnosti naší diagnostiky přináší řadu informací /srovnatelnost výsledků využitelných pro verifikace metod, edukace/.
- Obecně velmi často zařazovány slabé n. klinicky nevýznamné protilátky , které často pod hranicí detekovatelnosti, popř. nedetekovatelné metodou pevné fáze /anti-M/. Většinou supervizorem uznáno jako správný výsledek.
- Doporučení od SEKK uvádět zjištěnou protilátku všemi používanými dg. systémy – v běžné laboratorní praxi tímto způsobem nefunguje, 2. systém používáme pouze v případě nejasných výsledků.



**Děkuji za pozornost
a přeji hodně štěstí při vyšetřování EHK.**

