



Společnost pro transfuzní lékařství ČLS J. E. P.

Pozvánka na pracovní den Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP

Imunohematologie



Praha, 27. 01. 2011
9.30 - 15.00 hod.

Kongresové centrum KAROLINUM
Vstup z Ovocného trhu 3-5 nebo z Celetné 20

□ Program □

Registrace 8:30-9:30

9:30-10:45

Zahájení

1. Informace výboru STL
Řeháček V.
2. Základní imunohematologická laboratorní vyšetření červené řady.
Obecné zásady a technické postupy. Návrh doporučení STL
Masopust J., Písačka M.

10.45 – 11.15

Přestávka

11.15 – 12.45

3. Předtransfuzní laboratorní vyšetření. Návrh doporučení STL
Masopust J., Písačka M.
4. Zkušenosti s elektronickým testem kompatibility
Bohoněk M.
5. Právní aspekty předtransfuzního vyšetření
Dostál O.
6. Panelová diskuse k předtransfuznímu vyšetření

12.45 – 14.00

Přestávka

14.00-15.00

7. EHK – Imunohematologie SEKK 2010
Písačka M.
8. Vyšetření v oblasti imunohematologie trombocytů, leukocytů a HLA
Bolcková H. T.
9. Zajímavé imunohematologické nálezy 2010 (nové RHD genotypy, případy Bombay, para-Bombay a „super“-para-Bombay)
Písačka M.

15.00

Závěr

Akce má charakter postgraduálního vzdělávání. Účastníci obdrží certifikát o účasti.

Sponzoři

APR	Bio-Rad	DiaSorin	Dynex
Eurex Medica	Exbio	Grifols	

Registrace

Registrujte se, prosíme, na adrese <http://www.carolina.cz/cz/PracovniDenSTL>.

Pozor! Kapacita kongresového centra je omezená.

Účastnický poplatek: VŠ 200 Kč, SZP 100 Kč. Platba při prezentaci v Karolinu.

Prosíme o zaslání námětů do panelové diskuse a případných konkrétních dotazů na právní aspekty předtransfuzního vyšetření na adresu martin.pisacka@uhkt.cz.



Informace výboru STL ČLS JEP

Řeháček V.

Praha, 27. 1. 2011



Volby výboru STL

- dle plánu v termínu, 2 kola, červen – říjen 2010
- 1. schůze nově zvoleného výboru: 25. listopadu 2010
- funkční období 2010 - 2014

Praha, 27. 1. 2011



Výbor STL – složení

- 8 lékařů, 1 VŠ nelékař, 2 NLP členové SLS
- Řeháček Vít, MUDr. - předseda
- Masopust Jiří, MUDr. - místopředseda
- Gašová Zdenka, doc., MUDr., CSc. – vědecký sekretář
- Pospíšilová Zuzana – pokladník (SLS)
- Bohoněk Miloš, MUDr., Ph.D.
- Drobníková Zdeňka (SLS)
- Kracíková Jitka MUDr.
- Galuszková Dana, MUDr., Ph.D., MBA
- Písačka Martin, MUDr.
- Turek Petr, MUDr., CSc.
- Žáková Alexandra, PharmDr. (VŠ – nelékař)

Praha, 27. 1. 2011



Revizní komise STL

- Biedermann Petr, MUDr. – předseda
- Bouček Vladimír, MUDr.
- Janek Daniel, MUDr.
- pověřený člen RK jako host schůzí výboru STL

Praha, 27. 1. 2011



Schůze výboru STL

- 1x za 4-6 týdnů mimo letních prázdnin
- zápisy jsou zveřejněny na www stránkách STL

Praha, 27. 1. 2011



Programové prohlášení výboru STL na období 2010 – 2014 (I.)

- 1) Koncepce oboru – připravit návrh koncepce transfuzního lékařství včetně organizace transfuzní služby. Výbor bude prosazovat účelnou centralizaci výrobních činností.
- 2) Doporučené postupy - vypracovávat doporučené postupy společných činností ZTS, publikovat je v časopisu Transfuze a hematologie dnes a na www stránkách STL. Zaujímat konsenzuální stanoviska k odborným tématům.
- 3) Zákonodárství - podílet se na tvorbě a připomínkování zákonů a vyhlášek týkajících se oboru transfuzní lékařství, poskytovat MZ, SUKL a dalším zainteresovaným institucím odbornou podporu při tvorbě legislativy v oboru a při řešení problematiky organizace transfuzní služby ČR.

Praha, 27. 1. 2011

Programové prohlášení výboru STL na období 2010 – 2014 (II.)

- 4) **Podpora rozvoje oboru transfuzní lékařství a odborného růstu členů STL**
- a) pravidelně pořádat odborné akce s tematikou transfuzního lékařství,
 - b) podporovat a rozvíjet časopis Transfuze a hematologie dnes ve spolupráci s ČHS,
 - c) podílet se na regulaci vzdělávání v oboru transfuzního lékařství (lékaři, VŠ nelékaři, zdravotní sestry a zdravotní laboranti), podporovat výukové programy a akreditace pro vzdělávání,
 - d) dopracovat a vydat výukový text oboru transfuzní lékařství pro lékaře,
 - e) vypracovat a vydat výukový text oboru transfuzní lékařství pro vzdělávání NLP,
 - f) udržovat a zdokonalovat webové stránky STL,
 - g) podporovat vědeckou a publikační činnost členů STL.

Praha, 27. 1. 2011

Programové prohlášení výboru STL na období 2010 – 2014 (III.)

- 5) **Úhrada činnosti TS** – ve spolupráci se SÚKL vypracovat jednotný postup pro kalkulaci transfuzních přípravků, vypracovat nové kalkulace transfuzních přípravků, revidovat výkony odbornosti 222 (postupy, náplň, kalkulace, sdílení).
- 6) **Akreditace** – spolupracovat s akreditačními orgány na tvorbě laboratorních standardů pro odbornost 222 – transfuzní lékařství.
- 7) **Hospodaření STL** – udržet kladné hospodaření STL.
- 8) **Dárcovství krve a krevních složek** – prosazovat myšlenku dobrovolného neplaceného dárcovství krve, spolupracovat na odborné úrovni s organizacemi, které se zabývají propagací dárcovství krve, náborem a oceňováním dárců krve, zejména s ČCK; podporovat výchovu k dárcovství; inovovat a udržovat registry vyřazených dárců krve a dárců krve se vzácnými krevními skupinami.

Praha, 27. 1. 2011



Naplnění programového prohlášení

Pracovní skupiny:

- zaměřeny na jedno téma nebo okruh z programového prohlášení
- členové i mimo výbor STL
- garant, informace na schůzích výboru STL

Praha, 27. 1. 2011



www stránky STL

- www.transfuznispolecnost.cz
- všechny odkazy na listě jsou funkční: aktuality, časopis, dokumenty, akce, SLS, ...
- **Interní stránky:** heslo: user
passwd: stl
- seznam členů, diskuzní fórum určeno pro diskuzi členů STL!

Praha, 27. 1. 2011



Plánované akce v roce 2011 (I.)

HARRACHOVSKY 2011

Termín: 1. – 3. května 2011

Místo: Harrachov, Hotel Sldář

Zaslání abstrakt: do 1. března 2011

Osazení rozesláno

Praha, 27. 1. 2011



Plánované akce v roce 2011 (II.)

13. PRACOVNÍ DNY TRANSFUZNÍHO LÉKAŘSTVÍ

Celostátní konference s mezinárodní účastí, ve spojení s

- Česko – německým transfuzním dnem
- Střešovickým transfuzním dnem
- Mezinárodním postgraduálním kurzem v terapeutických aferézách

Termín: 6. – 8. října 2011

Místo: Praha, Nová budova Národního muzea

1. oznámení v tisku, abstrakta do 31. května 2011

Praha, 27. 1. 2011

Základní imunohematologická laboratorní vyšetření červené řady – obecné zásady a technické postupy

Masopust J., Písačka M.

Doporučení STL

Geneze



Základní laboratorní postup pro KB, přesto mnoho odlišných postupů a názorů

Kapitoly

- Obecná doporučení
- Postupy
- Zkratky
- Přílohy
- Literatura

Obecná doporučení

- Přístroje a diagnostika
- Krevní vzorky
- Dokumentace
- Řízení neshod
- Audity a EHK
- Personál

Přístroje a diagnostika

- Splňovat legislat. požadavky ZP; CE
- Instalační kvalifikace (protokol, školení)
- Další kvalifikace min. 1x ročně, oprava, dysfunkce, aktualizace SW
- **Propouštění diagnostik**
- Použití podle návodů nebo validace
- **Vnitřní kontrola kvality** (denní, Příloha 2)
- Změna diagnostika - validace

Propouštění diagnostik

- Každá dodávka, každá šarže
- ✓ certifikáty k šarži
- ✓ bez závad při fyzické převímce
- Nepropuštěná skladovat odděleně
- Označit balení
- **Kontroly provést před propuštěním nebo jako součást denní kontroly**
- (Příloha 1)



Vzorky



- Srážlivá či nesrážlivá krev (EDTA)
- U novorozence přednostně matka
- Pupečnicková krev = promýt
- Označit před odběrem krve
- Ověření identifikace
- Min. jméno+příjmení; číslo (vygener.); event. datum
- **Podpis odebírajícího**



Vzorky



Skladování (x návody výrobce)

	18-25 °C	2-8 °C	≤ -20 °C
krev v EDTA	12 h.	7 dní	-
sérum/plazma	-	7 dní	6 měs.

Předtransfuzní vyš.: 72 hod. od odběru kromě reakce



AB0, RhD



- **Názvosloví**
- Min. séra anti-A, -B, Ery A₁, B
- Do 4 měsíců vyš. Ag AB0 2x
- 2 séra anti-D, ne D^{VI}, ne D^w
- D^{w/v}: slabé nebo různé reakce; anti-D u D+; diskrepance s A; různé jako pacient x jako dárce



AB0, RhD



- Kontroly: +/- denně nebo v sérii
- Nevychází → zpětně přetestovat
- Rh kontrola (dle výrobce)
- Diluent: když se nevyš. AGI; chladové Ab, autoaglutinace
- Ověřit výsledky
- **1. předtransfuz. vyš.: nezávislé vyš. Ag, 2 klony**
- ✓ Diskrepance → nový vzorek



AB0, RhD - anomálie



- **2 populace:** kontrolní vyš. sloupc. aglutinací
- **Chladové Ab:** za tepla nebo bez specifického Ag
- IUT (KS dárce, 2 populace)
- **Diskrepance/anomálie:** opakovat vyš. z původního vzorku; autokontrola; promytí; nový vzorek



Screening protilátek



- **LISS-NAT** při 37 °C (sl. agl., pevná fáze)
- **Enzymový test**
Laboratoř s insuf. výsledky EHK
Potransfuzní reakce
Chronicky transfundování
- Dg. Ery: min. 3, ne ve směsi; významné Ag; homozygotní (Fy, Jk, Ss)
- Kontroly (PAT, autokontrola): nejsou nutné



Identifikace protilátek



- Jen laboratoř s EHK
- Správný/é identifikační panel/y
- Stejně jako screening + autokontrola
- Potvrzení Ab = **2x Ery+**, **2x Ery-**
- Myslet na směs protilátek
- + enzym; NaCl; anti-IgG
- Fenotyp pacienta
- Genotypování



Identifikace protilátek



- Panely Ery: identifikace klinicky významných Ab a častých směsí
- Pozitivní screening x negativní identifikace: Ag s nízkou frekvencí
- Nespecif. autoAb: vyloučit aloAb (eluce, adsorpce)
- Ověřit se záznamy a řešit diskrepance



Určení dalších Ag pacienta



- Neočekávaně pozitivní: autoAb; vazba Ig; chybná specifita Ab
- Kontroly: + (heterozygot) / - event. diluent či AB sérum
- Genotypování



Autologní Ab



- **Chladová AIHA**
✓ Promýt, vyloučit aloAb; anti-IgG
- **Tepelná AIHA**
✓ Odstranit autoAb (eluce);
autoadsorpce k vyloučení aloAb;
event. aloadsorpce



Denní kontrola (Příloha 2)



- **AB0 Ag:** Ery A₁, B, 0
- **AB0 Ab:** sérum/plazma KS 0
- **RhD:** + / -
- **Fenotyp:** + (heterozygot); -
- **Screening Ab:** + (slabé anti-D; event. anti-Fy^a, anti-K)
- (AB sérum; sérum/plazma bez Ab)



Kontrola šarží (Příloha 1)



- **Vizuální kontrola** (hemolýza, zákal, precipitáty, gel, aj.)
- **Reaktivita a specifita:** jako denní kontrola
- FR, LISS, proteázy: garance výrobce



Závěr

To be continued ...





Děkuji za pozornost

Předtransfuzní laboratorní vyšetření

Masopust J., Písačka M.

Doporučení STL

Kapitoly

- Standardní postup
- Stupně naléhavosti požadavku
- Speciální postupy
- Přílohy
- Literatura

Vzorky a žádanky

- Jako obecně; 72 hodin od odběru kromě reakce
- Žádanka: vyhláška 54/2008
Identifikace žadatele, příjemce, důvod podání, KS, anamnéza, druh a množství TP, naléhavost, další úprava TP, datum, identifikace a podpis lékaře, datum a čas odběru vzorku, identifikace osoby, která odebrala vzorek
- Elektronická žádanka; telefon. požadavek

AB0, RhD

- U všech příjemců
- Opakuje se (orientačně) jen u erytrocytů

Screening protilátek

- u příjemců erytrocytových TP
- u IUT, do 4 měsíců věku: vhodné vyšetření ze vzorku matky
- nový screening min. po 72 hod.
- **není nutný vždy** vzorek se žádankou u opakovaných transfuzí

Identifikace protilátek

- posuzuje se klinická významnost Ab
- klinicky významné: anti-A, -B, -Rh, -K, -k, -Fy, -Jk, -S, -s, -U → neg. pro daný Ag, test komp. neg.
- vzácně: anti-Kp^a, -A₁, -P₁, -M, -N, -Le^a, -Lu^a → test komp. neg.
- ne: anti-Le^b, HTLA
- HFA / LFA: podle RL
- známé Ab + pokračující transfuze: kontrola tvorby dalších spec. Ab



Stanovení dalších Ag TP



- klinicky významné Ab (i v A)
- nelze jednoznačně vyloučit Ab (AIHA, anti-HFA)
- prevence tvorby Ab: již vytvořené Ab; dívky a ženy ve fertilním věku



Vlastní test kompatibility



- platnost **72 hod.** od odběru vzorku
- LISS-NAT 37 °C (sl. aglutinace, pevná fáze); enzym není standardní
- **do 4 měsíců věku + PAT-, screening Ab-, nejsou známky HON: není nutný TK (kromě pochybností, příbuzenských transfuzí)**
- auto-Ab (vysycení s vl. či dárcov. Ery)



Vlastní test kompatibility



- negat. screening x pozitivní TK
- ✓ anti-LFA
- ✓ PAT+ dárce (navázané Ig)
- ✓ chybný výběr Ery inkomp. v AB0
- ✓ anti-Leu



Elektronický test kompatibility



- validovaný IS (nevydání AB0-inkomp.)
- 2x AB0 RhD z různých vzorků
- ověření AB0 RhD TP ze segmentu
- automatizované testování, anamnéza, logické rozhodovací schéma
- screening Ab negativní
- stanovit podmínky pro provedení a neprovedení



Vydání výsledku a TP



- standardně před nebo s 1. TP
- vyznačit
- ✓ neprovedeno nebo redukováno předtr. vyš.
- ✓ pozitivní TK
- ✓ nedokončená identifikace, výběr antigen neg. TP, apod.



Uchovávání vzorků a dokumentace



- 7 dní (2-8 °C) – vzorek + **segment**
- primární dokumentace: 5 roků
- AB0, RhD, fenotyp, Ab: **trvale**
- součást zdravotní dokumentace



Stupně naléhavosti



- **vitální indikace**
- ✓ **neznámá KS:** Ery 0- (K-); plazma: AB
trombo: AB, univerzální, ev. A / B
- ✓ **známá krevní skupina:** ověř se,
vydat stejnoskupinové
- ✓ kompletně dovyšetřit, informovat
kliniky
- ✓ vzorek odebrat před podáním Ery



Stupně naléhavosti



- **statim**
- ✓ kompletní vyšetření
- ✓ **60-90 min.**
- **plánovaná transfuze**
- **plánované Ery do zálohy** (type and
screen): AB0, RhD, screening Ab →
sérolog. nebo elektron. TK
(ne u Ab, opak. transfund., novorozenců)



Speciální postupy



- **masivní transfuze**
- ✓ ověření AB0 RhD kompatibility
- **autotransfuze**
- ✓ kontrola AB0 RhD příjemce a TP
- **nemožná identifikace či vysycení Ab**
- ✓ TK s vícero Ery → vybrat neg. nebo
nejméně inkompat.



Anti-HLA



- **Ery**
- ✓ deleukotizované
- **Trombo**
- ✓ 1. HLA shodné
- ✓ 2. cross-match negativní



Anti-trombo



- **Trombo**
- ✓ 1. bez daného Ag
- ✓ 2. cross-match negativní



Anti-IgA



- **Ery, Trombo**
- ✓ 1. promyté
- ✓ 2. s IgA deficitní plazmou
- **Plazma**
- ✓ IgA deficitní

Transfuze x AB0 (Příloha 2)

- **jinoskupinové**
- ✓ dodržení kompatibility
- ✓ negativní předtransfuzní vyš.
- ✓ upozornit kliniky
- vitální indikace: Ery 0-, plazma AB
- ✓ nelze vyloučit potransfuzní hemolýzu
- Ery = málo plazmy (ev. titry anti-A, -B; plazma a trombo bez příměsi Ery)

Erytrocyty x AB0, RhD

příjemce	TP
0	0
A	A, 0
B	B, 0
AB	AB, A, B, 0
D+, D ^w (DNA)	D+ (D-)
D-, D ^{w/v} , nejasný	D-

Erytrocyty x RhD

- **Život ohrožující stavy**
- RhD neg. příjemci RhD pozit. Ery
- ✓ ne anti-D
- ✓ za 2-4 měsíce kontrola (anti-D)
- ✓ ženy – anti-D Ig
- IUT: 0, min. titry anti-A, -B, neg. pro Ag, proti kterému jsou Ab

Plazma x AB0, RhD

příjemce	TP
0	0, A, B, AB
A	A, AB
B	B, AB
AB	AB
D+, D ^{w/v} , D-	D+, D-

Trombocyty x AB0

- Stejná krevní skupina
- 0 s titrem anti-A, -B ≤ 32
- V náhradním roztoku
- U příjemce 0 trombocyty A nebo B
- AB
- Jiné krevní skupiny dle dostupnosti
- U urgentního krvácení je účinnost stejná bez ohledu na KS

Trombocyty x RhD

- RhD+ → RhD+, RhD-
- RhD-: 1. RhD-
2. RhD+*

*ženy výjimečně, event. podat do 72 hod. anti-D Ig



Inkompatibilní BMT



- **Velká neshoda** = nové Ag
- ✓ ETP: KS příjemce, dokud průkaz KS, PAT+, průkaz inkompat. anti-A,-B
- ✓ Plazma, trombo: KS dárce
- **Malá neshoda** = nové Ab
- ✓ ETP: KS dárce s min. inkomp. Ab
- ✓ Plazma, trombo: KS příjemce, dokud průkaz KS příjemce



Inkompatibilní BMT



- **Kombinovaná neshoda**
- ✓ ETP = KS 0 s min. inkomp. Ab, dokud původní KS
- ✓ Plazma, trombo: AB, dokud původní KS
- **RhD+ příjemce x RhD- štěp**
- Ery a trombo RhD-



Závěr



To be continued ...



Děkuji za pozornost




Zkušenosti s elektronickým testem kompatibility

2006 - 2010

Miloš Bohoněk
Dana Horčíčková
Tomáš Lejdar




Co to je elektronický křížový pokus?

- Metoda zjišťování slučitelnosti erytrocytárního transfuzního přípravku s krví příjemce prostřednictvím bezpečně zjištěných dat o dárce a příjemci a po jejich nezpochybnitelném zadání do IS.
- IS pak na základě předem definovaných a neměnných kritérií určí, zda je možné vybraný erytrocytární přípravek příjemci podat, či zda je nutné provést sérologickou zkoušku kompatibility.




Předpoklady pro EKP

- Na straně laboratoře:**
automatizovaný systém imunohematologických laboratorních vyšetření (automatický analyzátor) – velmi žádoucí, ale nikoli bezpodmínečně nutné
- Na straně klinických oddělení:**
elektronická žádanka o transfuzní přípravek, která zajistí úplné a správné vyplnění všech požadovaných údajů.

Nemocnice (laboratoř krevního skladu) má zajištěny podmínky pro provedení EKP a také definované případy, které jeho provedení vylučují.




Požadavky na informační systém

- důsledné využití čárových kódů
- spolehlivá autorizace procesů
- možnost vícenásobné kontroly (propouštění) výsledků
- kompletní historizace záznamů
- implementace automatických kontrol všech stanovených pravidel (vyhláška, doporučení, „guide“...)
- vysoká úroveň zabezpečení a ochrany integrity dat




Případy předem vyloučené z elektronického křížení

- neověřená krevní skupina u pacienta
- pozitivní protilátky proti erytrocytům aktuálně
- imunohematologicky významný údaj anamnéze údaj (např. potransfuzní reakce)
- interval od posledního provedení screeningu nepravdivých protilátek proti erytrocytům je delší než 42 dní
- interval po podání transfuze bez provedení nového screeningu nepravdivých protilátek proti erytrocytům je delší než 72 hod
- pacient má projevy hemolýzy (klinické nebo laboratorní)
- gravidní žena s provedeným screeningem nepravdivých protilátek proti erytrocytům starším než 14 dní
- pacient byl v minulosti označen jako nevhodný k provedení EKP




Podmínky pro vlastní provedení EKP

- požadavek na KP z klinického oddělení musí být vystaven povoleným způsobem, např. elektronickou žádankou
- nejedná se o případ předem vyloučený z možnosti elektronického křížení
- dárce a příjemce mají kompatibilní krevní skupinu.
- u příjemce je negativní výsledek screeningu nepravdivých protilátek proti erytrocytům a vyšetření není starší 42 dnů, resp. 14 dní u gravidní ženy
- vyšetření krevní skupiny na straně pacienta bylo provedeno a odesláno povoleným způsobem (např. automatizovaným systémem nebo minimálně 2 x ověřenou shodou jiným schváleným způsobem)

V případě nesplnění některých z těchto podmínek, je test kompatibility proveden sérologicky.

Spolupráce laboratoře s klinickými odděleními nemocnice

Praktickým předpokladem efektivního využívání EKP je zavedení a dodržování určitých provozních pravidel v nemocnici a dobrá spolupráce laboratoře s klinickými odděleními (např. u každého hospitalizovaného pacienta, kde přichází v úvahu požadavek na předtransfuzní vyšetření, mít předem vyšetřenou krevní skupinu, případně i nepravdivé protilátky proti erytrocytům apod.).

Elektronický křížový pokus na OHBKT UVN

- Aplikace f.TIS Brno, která tvoří nadstavbu SW modulu laboratoře předtransfuzních vyšetření AMIS*H.
- Prostřednictvím IS je zajištěna elektronická kontrola splnění podmínek pro podání krve, bez předchozího provedení klasického laboratorního testu kompatibility.
- Automatizovaný imunohematologický systém Galileo Immucor (on-line oboustranná komunikace).

Základní kritéria způsobilosti pacienta k provedení EKP v UVN

- elektronická žádanka
- kompatibilní krevní skupina dárce a příjemce
- negativní nepravdivé protilátky proti erytrocytům, vyšetření není starší 42 dnů
- vyšetření na straně pacienta je provedeno a odesláno automatizovaným systémem Galileo nebo minimálně 2x ověřeno shodou jiným schváleným způsobem na OHBKT
- pacient nevykazuje klinické, ani laboratorní známky hemolýzy
- žádanka, ani pacient nemají příznak „Elektronicky nekřížit“

Příznak „Elektronicky nekřížit“

- označen v minulosti jako nevhodný k EKP
- neověřená krevní skupina
- pozitivní protilátky proti erytrocytům aktuálně nebo v anamnéze
- anamnestický údaj imunohematologicky významný
- screening protilátek starší než 42 dní (u gravidních žen než 14 dní)
- více než 72 hod. po podání transfúze bez nového SCP
- známky hemolýzy

Software TIS Brno

The screenshot displays a web-based application window titled 'PŘESUN ŽÁDANKY K RUČNÍMU ZPRACOVÁNÍ'. It contains a form with various fields for patient and donor information, including 'Jméno', 'Příjmení', 'Datum narození', 'Krevní skupina', and 'Datum vyšetření'. There are also checkboxes and buttons for processing the request.

EKP v praxi OHBKT ÚVN

- Rutinní provoz elektronického testu kompatibility:
 - od 8/2005,
 - v plném nasazení od 1/2006.
- Plně validované postupy:
 - Ověření obecných předpokladů.
 - Ověření shody EKP se serologickým testem kompatibility.
 - Provedení SW testů.

Statistika provedených EKP v rutinním provozu OHBKT ÚVN			
	Testy kompatibility celkem	EKP	% EKP z celkového počtu
2005 (od 1.8.)	4 798	3 315	69 %
2006	13 167	11 029	84%
2007	13 262	11 174	84%
2008	14 266	12 020	84%
2009	13 807	11 377	82%
2010	13 326	10 455	79%
Celkem 2006-2010	67 818	56 055	82,6%

Přínos EKP na OHBKT v ÚVN	
•	> 80 % testů kompatibility v ÚVN pomocí EKP.
•	Úspora času - Zkrácení času od příjmu požadavku k výdeji erytrocytů. - Výhoda zejména při „dokřžování“ (polytraumata, masivní krvácení..).
•	Úspora nákladů - Diagnostika a spotřební materiál. - <u>Pracovní síla</u>.

Závěr	
EKP je:	• bezpečný • ekonomický • rychlý • hodí se pro všechny typy zařízení, při splnění daných podmínek

Země, kde je EKP aplikován v praxi	
•	Švédsko (od 1983)
•	Itálie (od 1984)
•	USA (1992 Michigan, 1993 doporučen AABB)
•	Japonsko
•	Jižní Korea
•	Velká Británie
•	Irsko
•	Nizozemí
•	Norsko
•	Maďarsko
•	Nový Zéland
•	Austrálie
•	...

Literatura	
•	Bokroski M, Jochimovich D, Bickham M, Lehm T, Šimůnek J. Elektronický křížový pokus - provedení, validace a implementace v české republice. Transfuzní lékařství 2006; 12(4): 217-222.
•	Buck SH, Jada W, Warner JA, King M, Chapman HS. Electronic verification of donor-recipient compatibility: the computer crossmatch. Transfusion 1994; 34(1): 105-108.
•	Buck SH, ed. Guidelines for implementing an Electronic Crossmatch. American Association of Blood Banks. Bethesda 2003.
•	Buck SH, Jada W. Experience with the electronic crossmatch: errors and suggested improvements. Transfusion 1996; 36(1): 26.
•	Chen C, Byrne A, Chertoff B, Seltman M, Richards B, Masters V, Woodford E. Remote electronic blood release system. Transfusion 1997; 37(5): 663-664.
•	Goodman CP, Bessent HM. The use of the computer cross-match. Vox Sangue 2001; 80(3): 184-190.
•	Guidelines for blood bank computing. Prepared by a working party of the British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force Working Party Members: P. Aubert, D. Gagnard, J. Jones, J. Hewitt and J. Wicks. Transfusion Task Force Members: M. Smeke, J. Chapman, H. Cohen, J. Dugall, P. R. Kiley, S. M. Knowles, M. P. Murphy and L. Willemssen. Transfusion Medicine 2002; 10(4): 207.
•	Chertoff B, Milnes C, Volk G. The computer crossmatch: a safe alternative to the serological crossmatch. Transfusion Medicine 2000; 10(4): 261.
•	Chen AH, Chen JC, Wang Y-Y, Chertoff B. From maximum surgical blood ordering schedule to unlimited computer crossmatching: evolution of blood transfusion for surgical patients at a tertiary hospital in Hong Kong. Transfus Med 1996 Jun; 6(2): 125-128.
•	AABB. Requirements for the electronic crossmatch. Vox Sang 1998.
•	AABB. The electronic crossmatch: an alternative to the immediate-spin crossmatch to detect ABO incompatibility. NOTAS 1998; 16(1): 6-23.
•	Seltman M, King M. Pretransfusion Testing without Serologic Crossmatch: Approaches to Ensure Patient Safety. Vox Sangue 2000; 78(2): 113-116.
•	Johnson JK, ed. Standards for blood banks and transfusion services. 15th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1993.
•	Wong KF, Kwan AMY. Virtual Blood Banking: A 7-Year Experience. Am J Clin Pathol 2005; 124(1): 124-128.



Děkuji za pozornost!
Otázky?

Právní aspekty předtransfuzního vyšetření

JUDr. Ondřej Dostál, Ph.D., LL.M.

D&D Health, s.r.o.

Advokátní kancelář Holubova.cz

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.sadlerovopravo.cz

Přehled typů právní odpovědnosti

- **Trestněprávní**
 - Zásahy do nejdůležitějších práv osob – zdraví, soukromí, majetek
- **Občanskoprávní**
 - Zejména finanční kompenzace škod na zdraví a dalších hodnotách
- **Disciplinární**
 - Porušení zákona a/nebo předpisů ČLK
- **Pracovněprávní**
 - Odpovědnost zaměstnance vůči zaměstnavateli

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.sadlerovopravo.cz

Trestní právo: zavinění úmyslné

- **Dříve §4 TZ**
- **§ 15 Úmysl**
 - (1) *Trestný čin je spáchán úmyslně, jestliže pachatel*
 - a) chtěl způsobem uvedeným v trestním zákoně porušit nebo ohrozit zájem chráněný takovým zákonem, nebo
 - b) věděl, že svým jednáním může takové porušení nebo ohrožení způsobit, a pro případ, že je způsobí, byl s tím srozuměn.

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.sadlerovopravo.cz

Zavinění nedbalostní

- **Dříve § 5 TZ**
- **§ 16 Nedbalost**
 - (1) *Trestný čin je spáchán z nedbalosti, jestliže pachatel*
 - a) věděl, že může způsobem uvedeným v trestním zákoně porušit nebo ohrozit zájem chráněný takovým zákonem, ale bez přiměřených důvodů spořádal, že takové porušení nebo ohrožení nezpůsobí, nebo
 - b) nevěděl, že svým jednáním může takové porušení nebo ohrožení způsobit, ač o tom vzhledem k okolnostem a k svým osobním poměrům vědět měl a mohl.

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.sadlerovopravo.cz

Svolení poškozeného

- **§ 30 Svolení poškozeného**
 - (1) *Trestný čin nespáchá, kdo jedná na základě svolení osoby, jejíž zájmy, o nichž tato osoba může bez omezení oprávněně rozhodovat, jsou činem dotčeny.*
 - (2) *Svolení podle odstavce 1 musí být dáno předem nebo současně s jednáním osoby páchající čin jinak trestný, dobrovolně, určitě, vážně a srozumitelně; je-li takové svolení dáno až po spáchání činu, je pachatel beztrestný, mohl-li důvodně předpokládat, že osoba uvedená v odstavci 1 by tento souhlas jinak udělila vzhledem k okolnostem případu a svým poměrům.*
 - (3) *S výjimkou případů svolení k lékařským zákrokům, které jsou v době činu v souladu s právním řádem a poznatky lékařské vědy a praxe, nelze za svolení podle odstavce 1 považovat souhlas k ublížení na zdraví nebo usmrcení.*

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.sadlerovopravo.cz

Přípustné riziko

- **§ 31 Přípustné riziko**
 - (1) *Trestný čin nespáchá, kdo*
 - v souladu s dosazeným stavem poznání a informacemi, které měl v době svého rozhodování o dalším postupu,
 - vykonává v rámci svého zaměstnání, povolání, postavení nebo funkce společensky prospěšnou činnost, kterou ohroží nebo poruší zájem chráněný trestním zákonem,
 - nelze-li společensky prospěšného výsledku dosáhnout jinak.
 - (2) *Nejde o přípustné riziko, jestliže*
 - taková činnost ohroží život nebo zdraví člověka, aniž by jí byl dán k ní v souladu s jiným právním předpisem souhlas,
 - nebo výsledek, k němuž směřuje, zcela zjevně neodpovídá míře rizika, anebo provádění této činnosti zjevně odporuje požadavkům jiného právního předpisu, veřejnému zájmu, zásadám lidskosti nebo se přiči dobrým mravům.

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.sadlerovopravo.cz

Výkladová ustanovení

- Dříve § 89 TZ
- § 112 Opomenutí
 - Jednáním se rozumí i opomenutí takového konání, k němuž byl pachatel...povinen.

Občanskoprávní odpovědnost

- Dva základní typy
 - Ochrana osobnosti (§11 a násl.)
 - Odpovědnost za škodu (§420 a násl.)
- Ochrana osobnosti
- Obecná odpovědnost za škodu (§420)
 - Striktní odpovědnost – přístroje, 421a

Náhrada škody – obecná odpovědnost

- § 420
 - Každý odpovídá za škodu, kterou způsobil porušením právní povinnosti.
 - Odpovědnosti se zproští ten, kdo prokáže, že škodu nezavinil.
- Žalobce tvrdí a prokazuje
 - Porušení právní povinnosti
 - Škodu
 - Příčinnou souvislost
- Žalovaný tvrdí a prokazuje
 - Absenci zavinění

Náhrada škody: Zvláštní případy

- Škoda způsobená přístrojem (§ 421a)
 - (1) Každý odpovídá i za škodu způsobenou okolnostmi, které mají původ v povaze přístroje nebo jiné věci, jichž bylo při plnění závazku použito. Tato odpovědnost se nemůže zprostit.
 - (2) Odpovědnost podle odstavce 1 se vztahuje i na poskytování zdravotnických, sociálních, veterinárních a jiných biologických služeb.
- V praxi
 - Časté využití – objektivní princip, netřeba prokazovat jednání non lege artis, stačí prokázat „původ v povaze přístroje“

Ochrana osobnosti

- § 11
 - Fyzická osoba má právo na ochranu své osobnosti, zejména životu a zdraví, občanské cti a lidské důstojnosti, jakož i soukromí, svého jména a projevu osobní povahy.
- § 13
 - (1) Fyzická osoba má právo se zejména domáhat, aby bylo upuštěno od neoprávněných zásahů do práva na ochranu její osobnosti, aby byly odstraněny následky těchto zásahů a aby jí bylo dáno příměrené zadostiučinění.
 - (2) Pokud by se nejevilo postačujícím zadostiučinění podle odstavce 1 zejména proto, že byla ve značné míře snížena důstojnost fyzické osoby nebo její vážnost ve společnosti, má fyzická osoba též právo na náhradu nemajetkové újmy v penězích.
 - (3) Výši náhrady podle odstavce 2 určí soud s přihlédnutím k závažnosti vzniklé újmy a k okolnostem, za nichž k porušení práva došlo.

Náhrada škody: Odpovědnost za pracovníky

- § 420 odst. 2)
 - Škoda je způsobena právnickou osobou, anebo fyzickou osobou, když byla způsobena při jejich činnosti těmi, které k této činnosti použili. Tyto osoby samy za škodu takto způsobenou podle tohoto zákona neodpovídají; jejich odpovědnost podle pracovníprávních předpisů není tím dotčena.

Základní pojmy - výklad

➤ Protiprávní jednání

- Obecná prevenční povinnost (§415 OZ)
- Specifické povinnosti zdravotníka
 - Postupovat dle pravidel pro informovaný souhlas
 - Vést zdravotnickou dokumentaci dle zákona
 - Dodržovat mlčenlivost
 - Postupovat „lege artis“

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.adleradvocacy.cz

Co je „lege artis“?

➤ Kdo definuje?

- MZ? ČLK? Akreditační standardy? Odborné společnosti?

➤ NS k TČ Neposkytnutí pomoci

- Česká lékařská společnost J. E. Purkyně nemohla vydat takové závazné standardy, které by byl obviněn jako lékař záchranné služby povinen dodržovat. Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně je totiž „dobrovolné nezávislé sdružení fyzických osob – lékařů, farmaceutů a ostatních pracovníků ve zdravotnictví...“ (srov. § 1 odst. 1 jejich Stanov). Je tedy občanským sdružením, a už proto její doporučení nemohou být pro lékaře (příp. další sdružené osoby) závazná, natož aby mohla být považována za obecně závazné standardy nejen pro její členy, ale dokonce i pro všechny zdravotnické pracovníky v České republice, jak snad chtěl odvolací soud dovodit.

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.adleradvocacy.cz

Co je „lege artis“?

➤ NS:

- To na druhé straně neznamená, že by povinnosti lékařů (příp. ostatních pracovníků ve zdravotnictví) nebyly právními normami upraveny. Postup při poskytování zdravotnické péče je obecně upraven v již výše citovaném zák. č. 20/1966 Sb., podle jehož § 11 odst. 1 zdravotní péči poskytují zdravotnická zařízení státu, obcí, fyzických a právnických osob v souladu se současnými dostupnými poznatky lékařské vědy.

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.adleradvocacy.cz

Základní pojmy - výklad

➤ Škoda

- Skutečná škoda a ušlý zisk (§442 OZ)
- Škoda na zdraví (§444 a násl.)
 - Bolestné a ztížení společenského uplatnění
 - Účelné náklady léčení
 - Ztráta na výdělků/důchodu
 - Škoda usmrcením: Jednorázové odškodné, náklady pohřbu, výživné pozůstalým

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.adleradvocacy.cz

Základní pojmy - výklad

➤ Příčinná souvislost

- *Conditio sine qua non*
- Vznik škody následkem zákroku, nebo následky dalšího rozvoje choroby?

➤ Příčinná souvislost v praxi

- Žalobce musí prokazovat (znalecký posudek)
- Nutno prokázat příčinný vztah protiprávního jednání vůči každé položce škody

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.adleradvocacy.cz

Náhrada škody: další poznámky

➤ Promlčení

- 3-letá objektivní u ochrany osobnosti
- 2-letá subjektivní u náhrady škody

➤ Dokazování

- Znalecké posudky
- Zdravotnická dokumentace

➤ Náklady řízení

➤ Pojištění profesní odpovědnosti

- Výluky (viz LN)

➤ Širší aspekty českého zdravotnictví

- Úhradový vs. odborný standard, smlouvy se ZP, limitace
- Personální zajištění (současné problémy)

D&D
HEALTH

poradenství a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.adleradvocacy.cz

Příklady a dotazy

- Jakou mají lékař a sestra aplikující TP právní odpovědnost za podání nesprávného transfuzního přípravku?
- Další případy...
- Diskuse?

D&D
HEALTH poradnictví a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.zdravopravo.cz



Děkuji za
pozornost



Přednášková činnost, vzdělávání
<http://www.zdravopravo.cz>, seminare@zdravopravo.cz

Právní pomoc
<http://www.holubova.cz>, ondrej.dostal@holubova.cz

D&D
HEALTH poradnictví a vzdělávání
ve zdravotnictví a právu
www.zdravopravo.cz

EHK – Imunohematologie SEKK 2010

M. Písačka, H. Flídrová, M. Králová
*Referenční laboratoř pro imunohematologii, ÚHKT
Budina M.
SEKK Pardubice*

Pracovní den STL - Imunohematologie
Karlovinum, 27. 1. 2011

Imunohematologické cykly SEKK 2010

- IH1/2010
 - 205 účastníků /144 ČR, 60 SR, 1 Rusko/
- IH2/2010
 - 112 účastníků /78 ČR, 34 SR/
- IH3/2010
 - 173 účastníků /116 ČR, 57 SR/
- IH4/2010
 - 133 účastníků /96 ČR, 37 SR/
-

SEKK 2010 – ABO - výsledky

- Trvale velmi dobrá úroveň kvality určení ABO
- Kompletně správné výsledky
- Podskupiny: jen v E1 IH3/2010
 - A1 – kompletně správné výsledky

SEKK 2010 – RhD - výsledky

- Při určování RhD velice dobré výsledky
- „zabralo“ hodnocení nejednoznačných zápisů jako chybných výsledků ... nebyly „administrativní chyby“
- nebyly žádné slabé nebo variantní RhD antigeny
- pouze v E2 v IH3/2010 jednou uvedeno „-w/v“ místo „-“

SEKK 2010 – další antigeny

Od 2009 antigeny hodnoceny jednotlivě

- většinou dobré výsledky
- falešné negativy: 4x: Fy(b); 3x: c, k, Jk(a), Jk(b);
2x: C, K, P1, Le(b); 1x: M, S, Fy(a)
- falešné pozitivy: 6x: Le(a); 5x: M; 4x: Cw; 3x: Le(b);
2x: c, K, S, Jk(b); 1x C, E, N, s

SEKK 2010 – další antigeny - komentář

Doporučení:

- Před definitivním zápisem je vhodné „komplexní“ posouzení dosaženého fenotypu v rámci celého systému /Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS aj./
- Tedy nehodnotit jednotlivě antigeny izolovaně
- Pokud je výsledný fenotyp „raritní“, je velmi pravděpodobné, že se někde „stala chyba“ a je to „signálem“ pro ověření výsledku
- IH2: 2x Fy(a-b-)
- IH3: 2x K+k- (jedna laboratoř, E1 i E2)

SEKK 2010 – další antigeny - komentář

Kumulace chybných určení – prověřit systém !!!

- IH1: 1 laboratoř – 6 chyb z celkem 13
- IH2: 3 laboratoře – 9 chyb z celkem 12
- IH3: 1 laboratoř 4 falešné negativity /z 10/
- IH4: 1 laboratoř 10 falešných pozitivit /z 16/ !!!

OLISEK

SEKK 2010 – další antigeny ...“soutěže“ ☺

• Mezinárodní utkání (počet „vlastních gólů“):

ČR (434 hráčů) : SR (188 hráčů) 22 : 35

• Nejvíce „faulující“ antigeny:

- 6x ... M, Le(a)
- 5x ... c, Jk(b), Le(b)
- 4x ... Cw, K, Fy(b)
- 3x ... C, S, Jk(a)
- 2x ... k, P1
- 1x ... E, e, s, Fy(a)

OLISEK

SEKK 2010 – další antigeny ...“soutěže“ ☺

• Nejhorší „brankáři“ /počet obdržených gólů/:

- 7,5 na zápas: Icik (SR): 13 gólů z 46 střel ve 2 zápasech /IH2 a 4/
= 75% úspěšnost
- 2,5 na zápas: Igor (SR): 5 gólů z 24 střel (4/IH2, 1/IH4)
= 80% úspěšnost
- 2,5 na zápas: Kwak (ČR): 11 gólů z 160 střel (6/IH1, 2/IH2, 1/IH3, 2/IH4)
= 93% úspěšnost
- další s velkým odstupem /1x 4 góly (98%), 2x 2 góly (99%)/

OLISEK

SEKK 2010 – další antigeny ...“soutěže“ ☺

• Kvalita „výstroje a výzbroje“ (kopačky, dresy, míče...)

• jen „pro ilustraci“ ... záleží hlavně na „hráčích“

firma	počet hráčů (Ag)	utržené tkaničky aj. (chyby)
• DiaMed	989	4 (0,4%)
• Immucor/APR	907	21 (2,4%)
• Exbio/Sanguin	877	13 (1,5%)
• Antitoxin	240	6 (2,5%)
• Biotest/Merck	115	0
• Grifols	95	0
• BioRad	81	0
• Dynex	53	0
• Diagast	31	0
• IVT Immuno	4	0
• „no-name“		3

OLISEK

SEKK 2010 – PAT - výsledky

• Přímý Coombsův test

- 100% úspěšnost

OLISEK

SEKK 2010 – screening - výsledky

IH1/10:	S1 – anti-Jk(b)	S2 – anti-Le(a)
• selhání	“dárce“ 5x	21x
•	“příjemce“ 2x	13x
•	“těhotná“ 1x	10x
•	enzym 8x	1x

- obě protilátky slabší ... častější „nezáchyt“ poolovanými ery
- Anti-Le(a) ... IgM, nedetekovaná „IgG-testy“ (Capture), zachycena lépe enzymovým testem

OLISEK

SEKK 2010 – screening - výsledky

IH2/10: S1 – anti-Cw, -Wr(a) S2 – anti-c

- | | S1 – anti-Cw, -Wr(a) | S2 – anti-c |
|--------------|----------------------|-------------|
| • selhání | „dárce“ 19x | 0x |
| • „příjemce“ | 5x | 0x |
| • „těhotná“ | 0x | 0x |
| • enzym | 0x | 0x |
- S1 – slabší protilátky, proti antigenům s nižší frekvencí výskytu
...horší detekce poolovanými ery a scr.panely bez příslušných Ag
... „těhotenský“ a „elektronický“ screening OK
 - S2 – silná protilátka, 100% úspěšnost



SEKK 2010 – screening - výsledky

IH3/10: S1 – negativní S2 – anti-D

- | | S1 – negativní | S2 – anti-D |
|--------------|----------------|-------------|
| • selhání | „dárce“ 0x | 1x |
| • „příjemce“ | 0x | 1x |
| • „těhotná“ | 0x | 1x |
| • enzym | 1x | 3x |
- S1 – jediná falešná pozitivita v enzymovém testu
 - S2 – silná protilátka, pouze 1 selhání u jedné laboratoře ve všech kategoriích
- atypicky více selhání v enzymovém testu – susp.
kontaminovaný/neúčinný bromelin/papain



SEKK 2010 – screening - výsledky

IH4/10: S1 – anti-C, -Wr(a) S2 – anti-M, -Fy(b)

- | | S1 – anti-C, -Wr(a) | S2 – anti-M, -Fy(b) |
|--------------|---------------------|---------------------|
| • selhání | „dárce“ 3x | 11x |
| • „příjemce“ | 1x | 16x |
| • „těhotná“ | 1x | 14x |
| • enzym | 0x | 89-/7+ |
- S1 – silná protilátka anti-C, dobrá úspěšnost, pokazená „kumulací chyb“ u jedné laboratoře
 - S2 – velmi slabé protilátky, proto úspěšnost nižší úspěšnost
... u dárcovského screeningu „pochybnosti o pravdivosti“
odpovědí, uznán i negativní výsledek jako „akceptovatelný“



SEKK 2010 – identifikace - výsledky

- **Identifikace protilátek – dobrá kvalita.**
- ojedinelé problémy
 - nevyložené specifity uváděné jako identifikované
... většinou jde o anti-LFA, které se v identifikačních panelech objevují jen na jedné krvince a často se reakce „překrývají“
 - problémem je příměs anti-Wr(a) ... závislost na skladbě identifikačního panelu, jen ojedinelé zcela správné identifikace, akceptováno i neuvedení této protilátky
 - extrémně slabá anti-Fy(b) v IH3, identifikována jediným účastníkem v systému Capture díky jamce s membránou M-Fy(a-b+)



SEKK 2008/9 – identifikace - doporučení

- NEVYLOUČENÉ SPECIFITY nepsat do identifikovaných, ale pouze zmínit do komentáře
- pro odlišení enzym-senzitivních a enzym-rezistentních specifit používat kvalitní – dvoufázový – enzymový test – např. komerční papainizované krvinky (citlivější než bromelinový test, pro Rh protilátky citlivější než antiglobulinový test)
- identifikace protilátky – podle AABB manuálu – je seriózně akceptovatelná při $p < 0,05$ (např. při 6 ery 3+ D+ a 3- D- jde s 95% o anti-D)



- **Identifikace – kalkulace pravděpodobnosti:**
- 2x2 tabulka

	•Ag+	Ag-
•Pozit	A	B
•Negat	C	D
	total = N	

$$P = \frac{(A+B)! \times (C+D)! \times (A+C)! \times (B+D)!}{N! \times A! \times B! \times C! \times D!}$$



SEKK 2010 – titrace protilátek

- velké rozdíly mezi výslednými titry v závislosti na:
 - **metodice detekce ředěné protilátky**
 - zkumavkový test
 - sloupcová aglutinace – titry cca o 2 stupně vyšší
 - rozdíly i mezi různými gelovými systémy !
 - **expresi antigenu /efekt dávky, homo-heterozygot/**
 - homozygotní erytrocyty – titry o 1-2 stupně vyšší
 - doporučováno /kde je to možné/ užívat heterozygotní krvinky /minimalizován vliv event. němé alely/
 - **subjektivním vlivu hodnotitele**
 - větší „rozptyl“ u zkumavkových testů
- Výbor STL doporučil tento parametr nehodnotit jako „správný / nesprávný“; ponechat k porovnání a edukaci.



SEKK 2010 - zk.kompatibility

- u silných protilátek správné výsledky
- slabší protilátky – více falešných negativit, zejména u zkumavkových testů

Hodnocení „provést/neprovést transfuzi“:

- většinou správné – pokud byly správné labor. výsledky
- více možností podle typu laboratoří:
 - větší laboratoře s kompletním spektrem vyšetření uvádějí většinou definitivní závěr
 - menší laboratoře s částečným spektrem vyšetření uvádějí většinou správné, že doporučení „(ne)podat“ tam, kde je pozitivní screening, je možné až po dalších vyšetřeních (NENÍ-LI NEBEZPEČÍ Z PRODLENÍ !!!



Děkuji za pozornost

•

a

přeji hodně úspěchů v dalších cyklech
- co nejméně „vlastních gólů“ ☺

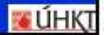


(Předtransfuzní) vyšetření v oblasti imuno hematologie trombocytů, leukocytů a HLA

Mgr. Hana Tereza Bolcková



Trombocytární protilátky – komplikace transfuzní terapie



Komplikace transfuzní terapie trombocytárními protilátkami

Trombocytární protilátky u příjemce:

- Refrakternost na podání trombocytů
- Febrilní potransfuzní reakce

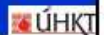
Trombocytární protilátky u dárce:

Potransfuzní reakce

- Pasivní alloimunní trombocytopenie



HLA protilátky – komplikace transfuzní terapie



Komplikace transfuzní terapie HLA protilátkami u příjemce

- Refrakternost na podání trombocytů
- Refrakternost na podání granulocytů
- Potransfuzní reakce (febrilní, TRALI - silné HLA protilátky, podání nedeleukotizovaných přípravků)
- Komplikace vyšetření erytrocytárních protilátek



Komplikace transfuzní terapie HLA protilátkami u dárce

Potransfuzní reakce

- febrilní
- TRALI - HLA protilátky I. III. třídy

Frekvence výskytu HLA protilátek u dárkyň s graviditou v anamnéze cca 15%

- závisí na použitém testu (LCT 5%, ELISA 14%)



Granulocytární protilátky – komplikace transfuzní terapie



Komplikace transfuzní terapie granulocytárními protilátkami

Granulocytární protilátky u dárce:

Potransfuzní reakce

- TRALI - HNA protilátky

Granulocytární protilátky u příjemce:

Potransfuzní reakce

- TRALI - HNA protilátky



Transfuze trombocytů u imunizovaných pacientů (dle Guidelines DGTI)



Zajištění pacientů refrakterních na transfuze trombocytů

Refrakternost na transfuze trombocytů

Definice: opakovaný nezdar dosáhnout vzestupu počtu trombocytů navzdory opakovaným transfuzím ABO-kompatibilních, čerstvých (<3 dny) trombokoncentrátů

Non-imunní příčiny: konsumpční koagulopatie u masivních krvácení nebo sepsi

Imunní příčiny: **HLA, HPA** protilátky



Serologická vyšetření u refrakterních pacientů

Nejčastější příčina imunní refrakternosti

- **HLA I. třídy**

Screening HLA:

- testem s navázanými HLA antigeny (ELISA) nebo trombocyty (Capture)
- LCT test
 - Falešná pozitivita - pacienti s autoreaktivními cytotoxickými protilátkami nebo po podání terapeutických protilátek (anti-CD3, ATG)
 - Falešná negativita – non-complement-aktivující HLA protilátky



Serologická vyšetření u refrakterních pacientů

Identifikace HLA

- specifita protilátky, PRA

Typování HLA I. třídy u pacienta – výběr dárce

HLA kompatibilního u široce imunizovaných pacientů (PRA více než 80-90%)



Serologická vyšetření u refrakterních pacientů

- 15-30% pacientů s HLA protilátkami má také HPA protilátky

Testovat specifické trombocytární aloprotilátky (HPA) – GTI PAK 12, MACE, MAIPA

- výběr dárce HPA kompatibilního

Serologická vyšetření u refrakterních pacientů

TEST KOMPATIBILITY – dárcovské trombocyty testovány se sérem příjemce – antiglobulinový test (ELISA, immunofluorescence)

Zajištění pacientů refrakterních na transfuze trombocytů – souhrn doporučení

- pacienti s potvrzenými protilátkami HLA I. třídy
 - transfuze HLA kompatibilních trombocytů získaných aferézou
- pacienti s HLA a HPA protilátkami
 - transfuze HLA a HPA kompatibilních trombocytů získaných aferézou
- kontrola účinnosti transfuze u imunizovaných pacientů – stanovení CCI (1h, 20h)

Zajištění pacientů s fetomaternální/neonatální alloimunní trombocytopenií (FNAIT)

- *transfuze kompatibilních HPA-1a a HPA-5b negativních trombocytů jako profylaxe při podezření na FNAIT v případě rizika krvácení (počet trombocytů < 30,000/ul; nedonošení novorozenci < 50,000ul) pokud jsou tyto přípravky okamžitě dostupné*
- Pokud počet trombocytů < 30,000/ul nebo při riziku krvácení, *transfuze náhodných trombocytů pokud nejsou dostupné HPA kompatibilní přípravky*
- HPA-kompatibilní přípravky připraveny před porodem jako profylaxe, podány pokud nastane krvácení (počet trombocytů < 30,000/ul; nedonošení novorozenci < 50,000ul)

Vyšetřování susp. TRALI (dle Guidelines DGTI)

Vyšetřování susp. TRALI (dle Guidelines DGTI)

vyšetření leukocytárních protilátek v sérech dárců přípravků v suspekci TRALI

- HLA I. a II. třídy a HNA
- **protilátky detekovány**
 - identifikace protilátek
 - typizace příjemce

vyšetření leukocytárních protilátek u příjemce

Kazuistiky ÚHK



Kazuistika 1 V.08

Příjemce R.H. 1977- reakce po **TK pool** – nauzea, lehká zimnice – třesavka, pokles saturace O₂ 75%, edém dle RTG, tachykardie – susp. TRALI

Vyšetření dárce:

- dárkyně 1975 - 2 gravidity (2003, 2006):
 - LCT ++++80%, GIFT sl+, GAT neg
 - ELISA I. třída ++++ PRA 93%, HLA II. třída ++++

ERD od této dárkyně:

Příjemce: J.P. 1937- reakce: zimnice, třesavka, desaturace 86%



Kazuistika 2 VII.10

Pacientka J. P. 1962

8.4.10 LCT 50%++++

3.6.10 LCT 100% +++, GAT sl+, GTI PAK 12 anti-Ia/IIa

alo-TDK 10.6.10 - 2 žena, alelické neshody na HLA-B a HLA-Cw lokusech, susp. TRALI po převodu, štěp odhojen

na transfuzní terapii – refrakternost na trombocyty:

20.7.10 LCT 100% +++, HLA I. třída 100% PRA

- dárce trombocytů HLA shodný nenalezen
- vybrání dárce částečně shodní – bez odezvy
- jediný dárce – HLA identický



Kazuistika 3 X.10

Pacient J.H. 1925 D473 na dlouhodobé transfuzní terapii

- opakované potransfuzní reakce, podávány deleukotizované, promyté erytrocytární přípravky
 - nález v červené řadě negativní
 - LCT 50%-60% +++, bez HPA protilátek
 - Identifikace HLA I. třídy PRA 85% A 68,2,(9,10 vs32), B 7,60/61,(27,8sl+, vs13)
 - Určen HLA fenotyp pacienta: A3,31/B39,44

Doporučení pro transfuze:

Přípravky dle HLA fenotypu pacienta, LCT cross-match negativní, deleukotizované – dosud bez reakcí



Děkuji za pozornost



Zajímavé imunohematologické nálezy 2010

- 3 nové *RHD* genotypy
- Bombay/para-Bombay/super-paraBombay

Písačka M., Králová M., Sklenářová M.; ÚHKT
Pejchalová A.; TO FN Brno

Ciriza Iratxe, Progenika, Derio, Spain
Storry J., Olsson M., Hulk A.; Lund, Sweden



Případ č.1

- Dárce krve TO ÚHKT
- Fenotyp RhD pozitivní /4+ reakce 2 IgM anti-D/
- C+c+E-e+Cw-
- BLOODchip v2.0: NO CALL v *RHD* - podkladem nukleotidová změna 48 G>C v SNP BCV015
- Sekvenování *RHD* genu potvrdilo pouze tuto mutaci
- Dále nalezena intronická změna IVS5-38del4
- Fragmentová analýza: hemizygotní pro *RHD* (= jen 1 gen)
- Rozšířené D epitopové mapování provedeno workshopovými MoAbs /20 IgM, 48 IgG/ - vše silně pozitivní (nedostupné však protilátky pro epitopy 1.2, 5.5, 10.1-16.1)
- Pozitivní reakce s polyklonální anti-D z D III
- Titr IgM a IgG anti-D srovnatelný s normálním RhD /R₁r/



Případ 1

BCV015 nt 48 G>C



Detail of sequence of exon 1 of *RHD*



Bloodchip v2.0-Case 1

SNP	BCV	Allele	Frequency
BCV015	1	G	1.0
BCV016	1	A	1.0
BCV017	1	G	1.0
BCV018	1	A	1.0
BCV019	1	G	1.0
BCV020	1	A	1.0
BCV021	1	G	1.0
BCV022	1	A	1.0
BCV023	1	G	1.0
BCV024	1	A	1.0
BCV025	1	G	1.0
BCV026	1	A	1.0
BCV027	1	G	1.0
BCV028	1	A	1.0
BCV029	1	G	1.0
BCV030	1	A	1.0
BCV031	1	G	1.0
BCV032	1	A	1.0
BCV033	1	G	1.0
BCV034	1	A	1.0
BCV035	1	G	1.0
BCV036	1	A	1.0
BCV037	1	G	1.0
BCV038	1	A	1.0
BCV039	1	G	1.0
BCV040	1	A	1.0
BCV041	1	G	1.0
BCV042	1	A	1.0
BCV043	1	G	1.0
BCV044	1	A	1.0
BCV045	1	G	1.0
BCV046	1	A	1.0
BCV047	1	G	1.0
BCV048	1	A	1.0
BCV049	1	G	1.0
BCV050	1	A	1.0
BCV051	1	G	1.0
BCV052	1	A	1.0
BCV053	1	G	1.0
BCV054	1	A	1.0
BCV055	1	G	1.0
BCV056	1	A	1.0
BCV057	1	G	1.0
BCV058	1	A	1.0
BCV059	1	G	1.0
BCV060	1	A	1.0
BCV061	1	G	1.0
BCV062	1	A	1.0
BCV063	1	G	1.0
BCV064	1	A	1.0
BCV065	1	G	1.0
BCV066	1	A	1.0
BCV067	1	G	1.0
BCV068	1	A	1.0
BCV069	1	G	1.0
BCV070	1	A	1.0
BCV071	1	G	1.0
BCV072	1	A	1.0
BCV073	1	G	1.0
BCV074	1	A	1.0
BCV075	1	G	1.0
BCV076	1	A	1.0
BCV077	1	G	1.0
BCV078	1	A	1.0
BCV079	1	G	1.0
BCV080	1	A	1.0
BCV081	1	G	1.0
BCV082	1	A	1.0
BCV083	1	G	1.0
BCV084	1	A	1.0
BCV085	1	G	1.0
BCV086	1	A	1.0
BCV087	1	G	1.0
BCV088	1	A	1.0
BCV089	1	G	1.0
BCV090	1	A	1.0
BCV091	1	G	1.0
BCV092	1	A	1.0
BCV093	1	G	1.0
BCV094	1	A	1.0
BCV095	1	G	1.0
BCV096	1	A	1.0
BCV097	1	G	1.0
BCV098	1	A	1.0
BCV099	1	G	1.0
BCV100	1	A	1.0

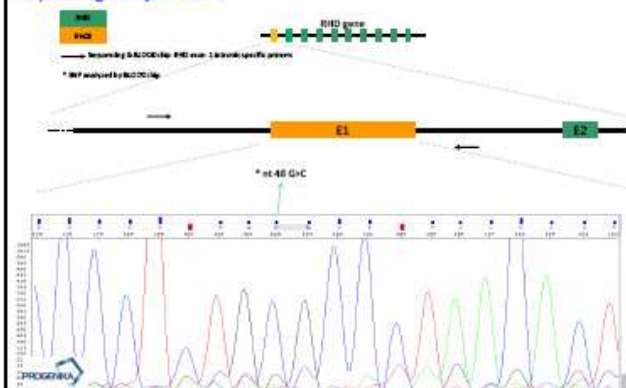
• No Call *RHD* due to a possible new SNPs combination not previously described

• *RHD* exon 1 analysis by BLOODchip suggests a genotype "Apparently non negative".

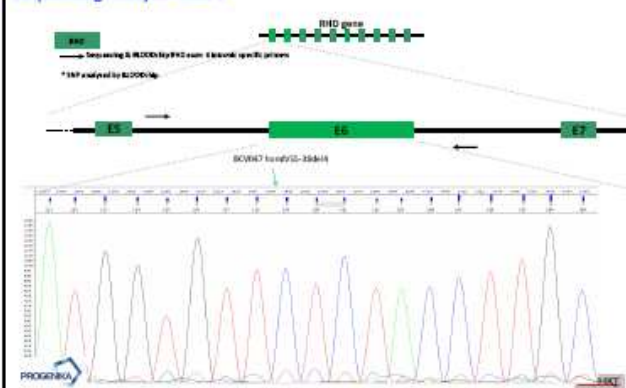
• RHCE exon 1 sequence: 48G>C and homIVS5-38del4.



Sequencing Analysis-Case 1



Sequencing Analysis-Case 1

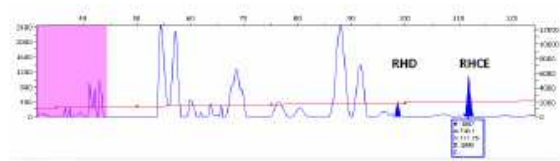


RhD zygosity-Case 1

RhD zygosity means a semiquantitative determination by fragments analysis with specific PCR non exponential of exon 7 of RHD and RHCE.

Fragments analysis allows to quantify the presence of both RHD (99pb) and RHCE (113pb). We compare the fragments intensity with an hemizygous and homozygous control.

The graph shows the presence of both fragments, RHD and RHCE. Intensity Ratio between RHD and RHCE is similar to hemizygous control, so this sample is hemizygous.



PROGRESS

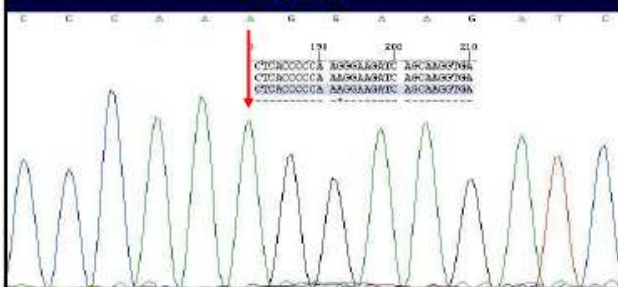
LAB

Případ č. 2

- Těhotná žena, vyšetřovaná v FTO Bmo
- Slabý antigen D v rutinním typování /2+ zkumavkový test, 3+ gelový test/
- C-c+E-e+Cw-
- PCR-SSP jako D Va typ 2 / Va / V type 7 / DCS
- D epitopové mapování 6 MoAbs ID-Partial D Typing set: vše pozitivní, Alba kit /12 MoAbs/: pouze LHM5717 neg.
- D epitopy prokázány: 1.1,1.2.3.1,6.3,6.5,8.1,9.1,15.1
- Sérologický nález neodpovídá žádnému z susp. PCR-SSP
- Sekvenování RHD genu (exonů 4 and 5) prokazuje nucleotidovou záměnu 787G>A v exonu 5

LAB

Case 2



LUND

EXAME

Detail of sequence of exon 5 of RHD

LAB

Případ č. 3

- Dárce krve z ÚHKT
- Fenotyp RhD pozitivní /4+ reakce 2 IgM anti-D/
- C+c+E-e+Cw-
- BLOODchip v2.0 prokazuje absenci signálu pro exon 9
- Exon scanning PCR-SSP prokazuje absenci PCR produktu pro exon 9 a přítomnost exonu 10
- Sekvenování exonů 1-8 prokazuje normální RHD sekvenci
- Fragmentová analýza: hemizygotní pro RHD
- Rozšířené D epitopové mapování provedeno workshopovými MoAbs /20 IgM, 48 IgG/ - vše silně pozitivní (nedostupné však protilátky pro epitopy 1.2, 5.5, 10.1-16.1)
- Pozitivní reakce s polyklonální anti-D z D III
- Titr IgM a IgG anti-D srovnatelný s normálním RhD /R₁/

LAB

Bloodchip v2.0-Case 3

Sample	Result	Interpretation
1	1	Normal
2	1	Normal
3	1	Normal
4	1	Normal
5	1	Normal
6	1	Normal
7	1	Normal
8	1	Normal
9	1	Normal
10	1	Normal
11	1	Normal
12	1	Normal
13	1	Normal
14	1	Normal
15	1	Normal
16	1	Normal
17	1	Normal
18	1	Normal
19	1	Normal
20	1	Normal

• Bloodchip showed a genotype exon 9 variant, a phenotype D variant.

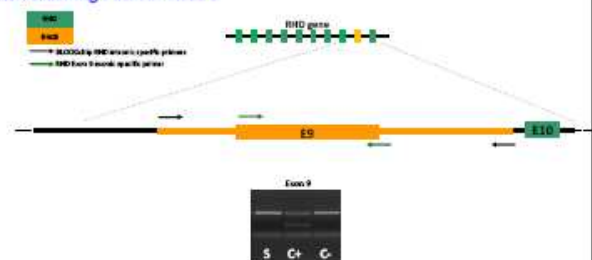
Sample	Result	Interpretation
1	1	Normal
2	1	Normal
3	1	Normal
4	1	Normal
5	1	Normal
6	1	Normal
7	1	Normal
8	1	Normal
9	1	Normal
10	1	Normal
11	1	Normal
12	1	Normal
13	1	Normal
14	1	Normal
15	1	Normal
16	1	Normal
17	1	Normal
18	1	Normal
19	1	Normal
20	1	Normal

• RHD exon 9 analysis by BLOODchip suggests a D(1-8)-CE(9)-D(10) conversion.

PROGRESS

LAB

*Exon scanning PCR-SSP-Case 3



The results of exonic and intronic specific RHD primers confirmed the gene conversion RHD (1-8)-RHCE(9)-RHD(10). The involvement of exon 8 in the gene conversion is impossible to resolve because of the 100% sequence homology between RHD and RHCE gene in exon and intron 8.

PROGRESS

LAB

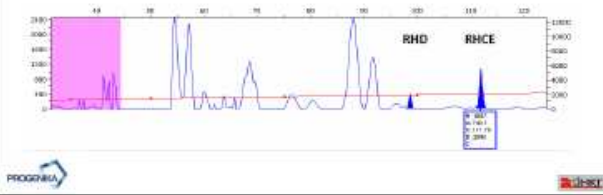
RhD zygosity-Case 3

RhD zygosity means a semiquantitative determination by fragments analysis with specific PCR non exponential of exon 7 of RHD and RHCE.

Fragments analysis allows to quantify the presence of both RHD (99pb) and RHCE (113pb). We compare the fragments intensity with an hemizygous and homozygous control.

The graph shows the presence of both fragments, RHD and RHCE. Intensity Ratio between RHD and RHCE is similar to hemizygous control, so this sample is hemizygous.

EXON 9 is not present in one allele and in the other allele there is RHCE.

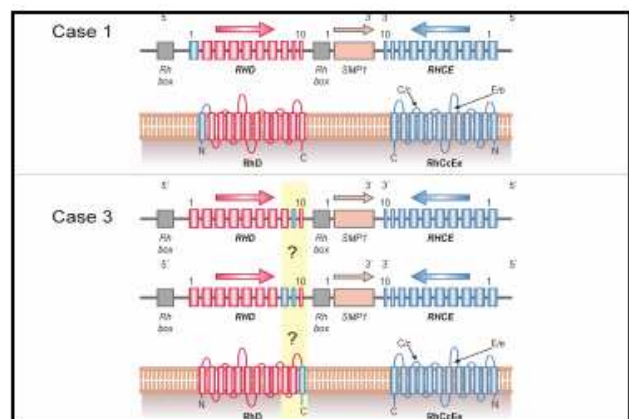
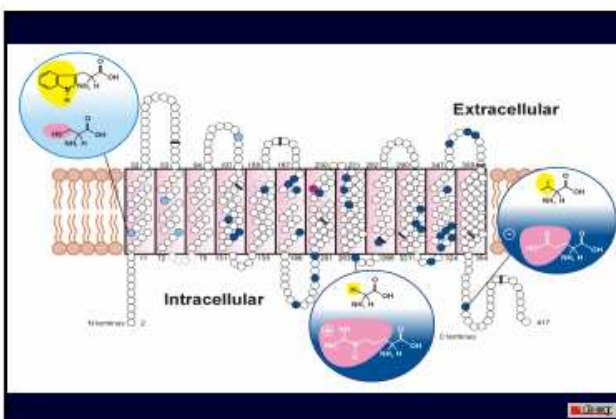
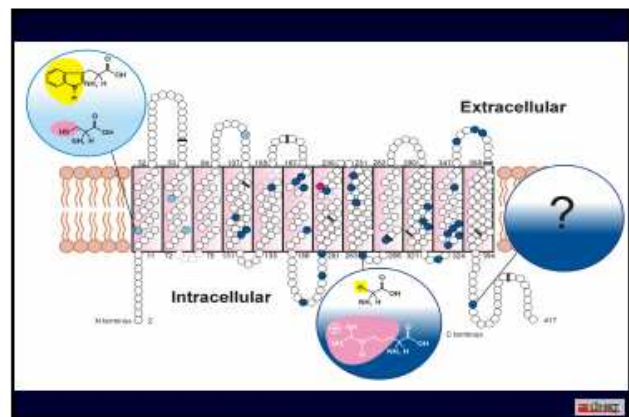


Závěry (1)

- Tyto tři *RHD* genotypy nejsou uvedeny v databázi „Rhesus Base“ a ani nalezeny v dostupné literatuře
- Případ 2 serologicky odpovídá slabému D (D weak)
- Případy 1 a 3 mají normální kvalitativní i kvantitativní serologické výsledky
- Aminokyselinové substituce v Případu 1 a 2 odpovídají RhCcEe proteinu

Závěry (2)

- Případ 1 může být hybridní gen *RHCE(1)-RHD(2-10)*
- Případ 2 může být bodová mutace nebo hybridní gen s minimální *RHCE* substitucí v exonu 5
- Případ 3 může být hybridní gen *RHD(1-8)-CE(9)-D(10)* nebo *RHD(1-7)-CE(8-9)-D(10)*
- RhC specifická aa cystein v pozici 16 neovlivňuje expresi RhD
- RHD* specifická sekvence v exonu 9 není nutná pro normální expresi RhD



Super-paraBombay: Nový ABH fenotyp, s heterozygotitou pro inaktivující mutaci v genu *FUT1*

Jill R. Storry¹, Martin Písačka², Alena Pejchalová³, Annika K. Hult¹,
Martin L. Olsson¹

1. KIT, Labmedicine Skåne, and Dept. of Laboratory Medicine, Div. Hematology & Transfusion Medicine, Lund University, Sweden
2. UHKÚTÚKEH Prague, Czech Republic
3. Transfusion Dept., Faculty Hospital, Brno, Czech Republic



ABH antigeny – „histo-blood groups“

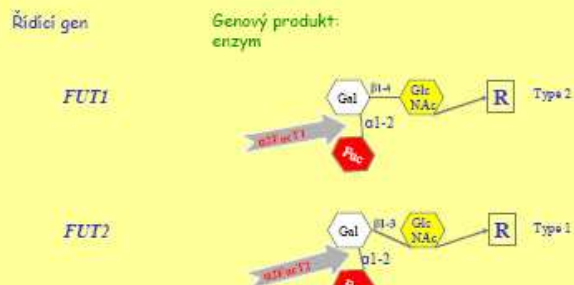
- Terminální cukry řetězců, navázaných na různé bílkoviny (glykoproteiny) a neutrální lipidy (glykolipidy)
- Široká distribuce - RBCs, endotelie, epitelie (např. trávicí cesty, močový trakt, plíce, aj.)
- Kontrolovány třemi různými geny
 - *FUT1/FUT2* na chromozomu 19
 - *ABO* na chromozomu 9
- Vícekroková syntéza: $H \rightarrow A$ a/nebo B



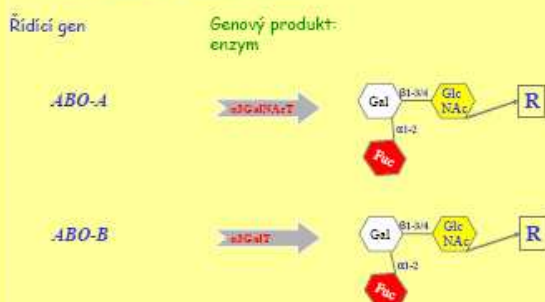
Syntéza H antigenu



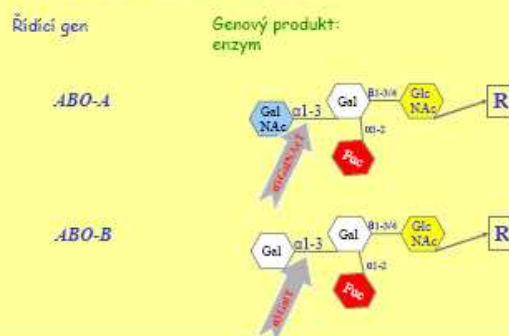
Syntéza H antigenu



Syntéza ABO antigenů



Syntéza ABO antigenů



H-negativní fenotypy – *FUT1*

- Vzácné – alelická frekvence publikována 1:347
 - Wagner FF, Flegel WA. Polymorphism of the *h* allele and the population frequency of sporadic nonfunctional alleles. *Transfusion* 1997; 37:284-290
- Homozygita pro inaktivující *FUT1* mutace
- Popsáno >40 mutací
- Kompletně inaktivní – chybí H (A a/nebo B)
 - Bombay fenotyp
- Výrazně zeslabené antigeny H (A a/nebo B)
 - paraBombay** fenotyp

Úlaskr

H-negativní fenotypy – *FUT2*

- 20% osob = non-sekretori, homozygoti pro inaktivní *FUT2*
 - 428G>A v kavkazské populaci (inaktivní)
 - 385A>T v asijské populaci (velice slabé antigeny)
- >20 vzácnějších *FUT2*-inaktivujících mutací

Úlaskr

Vyšetřované vzorky

- 2 vyšetřovaní pacienti TO FN Brno:
 - jednou skupina A
 - jednou skupina B
- Antigenní síla slabší než obvykle
- Suspektní podskupiny - ale H-negativní !!!
- Zasláno k vyšetření do ÚHK a dále vyšetřováno v Lundu

Úlaskr

Serologické výsledky

Vzorek skupiny A

- monoklonální anti-A: 4+; polyklonální anti-A: 2+
- nereaktivní s lektiny *Dolichos biflorus* (anti-A1) a *Ulex europaeus* (anti-H)
- titrace s monoklonální anti-A = 512
 - kontrolní A₂ RBCs = 4000; A₁ RBCs = 8000

Vzorek skupiny B

- monoklonální anti-B: 4+; polyklonální anti-B: 2+
- nereaktivní s lektinem *Ulex europaeus*
- Oba vzorky mají Lewis fenotyp **Le(a+b-)**

Úlaskr

Interpretace – tradiční schémata:

Fenotyp	Anti-A	Anti-B	Anti-A,B	Anti-A1 (<i>D. biflorus</i>)	Anti-H (<i>U. europaeus</i>)
A ₁	4+	0	4+	4+	0
A ₂	4+	0	4+	0	2-4+
A ₃	2+	0	2-4+	0	4+
B	0	4+	4+		1-2+
B ₃	0	2+ ^{mf}	2-3+ ^{mf}		2-4+
A _b	0	0	0-2+	0	0
B _b	0	0	0-2+		0

Úlaskr

Molekulárně-genetická analýza

Vzorek skupiny A

- A¹O¹ [A01/O01]
- FUT2* 428A/A
 - Non-sekretor
- FUT1* – **nová mutace**
 - heterozygotní pro 684G/A
 - kóduje Met228Ile

Vzorek skupiny B

- B B [B01/B01]
- FUT2* 428A/A
 - Non-sekretor
- FUT1* – **nová mutace**
 - heterozygotní pro 694T/C
 - kóduje Trp232Pro

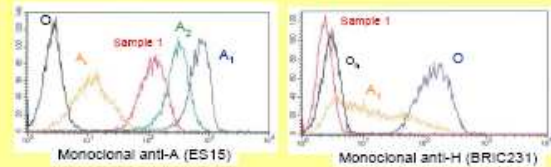
Úlaskr

Jsou tyto *FUT1* alely inaktivní?

- Zatím neexistuje strukturální model transferáz $\alpha 2$ FucT1 ani $\alpha 2$ FucT2
- Změněná oblast je pravděpodobně významná pro enzymatickou funkci
 - Yan et al. (Transfus. Med 2006;16:447): paraBombay individual homozygous for *FUT1* 682A>G $\rightarrow$ Met228Val (our A sample: Met228Ile)
 - Kaneko et al. (Blood 1997;90:339): Bombay individual homozygous for *FUT1* 695G>A $\rightarrow$ Trp232Stop (our B sample: Trp232Pro)
 - Other examples with changes in amino acids 220-232 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1068088/>)

BRISQ

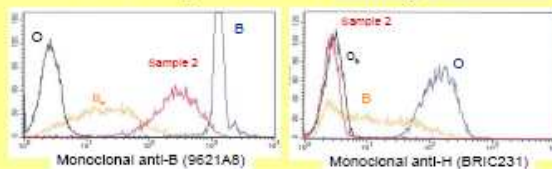
Flow-cytometrická analýza



- antigenní exprese ... slabší než A_2
... ale silnější než A_3
- kompletně H-negativní
- dosud nepopsaný vzorec reaktivity**

BRISQ

Flow-cytometrická analýza



- B antigenní exprese mezi B a B_w
- H-negativní
- dosud nepopsaný vzorec reaktivity**

BRISQ

Závěr

- Dva vzorky suspektních podskupin A a B
- Dvě nové missense mutace
 - Pravděpodobně ovlivňující enzymovou aktivitu
- Oba pacienti jsou **heterozygotní** pro danou mutaci
- Nález svědčí o tom, že *FUT1* zygóza hraje roli v A a B antigenní expresi !!!**

BRISQ

Přepíšeme učebnice ???

- Výsledky ukazují, že (některá?) heterozygosity pro normální *FUT1* je **limitujícím činitelem** v syntéze A a B antigenů
- Je syntetizováno jen limitované množství H antigenů (ale mnohem více než u paraBombay)
- Všechny H antigeny konvertovány A/B transferázami
- Super-para-Bombay** fenotyp, t.j. A+H- nebo B+H-
- Mohou tyto osoby produkovat anti-H?
- Pozorované případy neměly anti-H

BRISQ

„Nová interpretace“ ABH skupin

Fenotyp	Anti-A	Anti-B	Anti-A,B	Anti-A1 (U.europeus)	Anti-H (U.europeus)
A_1	4+	0			0
A_2	4+	0			2-4+
A_3	2+	0			4+
B	0	4+			1-2+
B_3	0	2+ ^{ml}			2-4+
A_b	0	0			0
B_b	0	0			0
Super- A_b	4+	0	4+	0	0
Super- B_b	0	4+	4+		0



BRISQ