



Krajská nemocnice Liberec, a.s.

*nemocnice Liberec nemocnice Turnov*

# Imunohematologická kasuistiky – diskrepance při vyšetření erytrocytárních antigenů

Lenka Řehořová

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

11. Střešovický transfuzní den

Praha, 29. 11. 2017

*umíme pomáhat*



# Úvod

- Vyšetřování na imunohematologickém analyzátoru:
  - zvyšuje kvalitu provedených vyšetření, vč. dokumentace
  - obousměrný přenos dat eliminuje chyby při manuálním zadávání
  - flexibilita přístrojů umožňuje automatizovat další imunohematologické metody
  - přináší neshody ve vyšetření proti minulosti (jiná diagnostika, lidský faktor).



# Metody vyšetření

## Imunohematologická vyšetření TP → Galileo NEO

v rozsahu Vyhlášky 143/2008 Sb. dle Doporučení STL ČLS JEP č. STL2012\_09  
a č. STL2012\_10

- nezávislé vyšetření KS AB0/RhD u prvdárce
- kontrola shody s výsledkem u opakovaného DK
- screening antierytrocytárních protilátek (capture pooled)
- nezávislé vyšetření antigenů systému Rh-Kell (1. a 2. odběr)
- vyšetření antigenu Cw a cellano u Kell pozitivních
- identifikace protilátek v případě pozitivního screeningu
- **od června 2017 vyšetření antigenů systémů Fy, MNSs (Jk)**

Rozšíření spektra metod nám umožnil kompletní přesun patientského provozu na imunohematologický analyzátor **Erytra**.



# Metody vyšetření II

## Imunohematologická vyšetření pacientů → Erytra

dle Doporučení STL ČLS JEP č. STL2010\_06, č. STL2011\_07, č. STL2011\_08  
a č. STL2012\_10

### Předtransfuzní vyšetření:

- kompletní vyšetření KS AB0/RhD u neznámého pacienta
- ověření KS a kontrola shody s výsledkem u známého pacienta
- screening antierytrocytárních protilátek
- zkouška kompatibility
- identifikace protilátek v případě pozitivního screeningu
- přímý antiglobulinový test, vč. rozlišení typu senzibilizace erytrocytů
- **vyšetření antigenů systémů Fy, MNSs, Jk**

### Vyšetření novorozenců:

- vyšetření krevní skupiny (karta Newborn – dvojí určení antigenů + PAT)
- screening protilátek

### Vyšetření těhotných:

- vyšetření krevní skupiny (dle indikace žadatele)
- screening protilátek v NAT



## Režim vyšetření u dárců krve

- v den odběru (se změnou virologického analyzátoru)
- provedení denní kontroly diagnostik
- import požadavků k vyšetření z OpenLIMS
- systém rozliší prvodárce x opakovaný dárce
- 1. série – opakovaní dárce a prvodárci ze zkumavky K2EDTA
- druhý den ráno:
  - 2. série – prvodárci ze zkumavky na KO
  - případná identifikace protilátek u pozitivního screeningu
  - vyšetření dalších erytrocytárních antigenů (KS 0, dovyšetření jednou vyšetřených antigenů dle registru)
- převod výsledků zpět do OpenLIMS
- systém hlídá údaje v registru dárců – nahlášení případné neshody ve vyšetření
- přenos výsledků je validovaný (2x ročně validace přenosu dat, vč. vyšetření antigenů)



## Režim vyšetření u pacientů

- IKK prováděna 2x týdně (pro všechny typy vyšetření KS, SCRP a Rh-Kell)
- vzorky jsou do analyzátoru vkládány průběžně bez ohledu na požadavky v režimu statim a rutina
- jako statim jsou vkládány superurgentní požadavky
- v sérii vkládány pouze prenatální vzorky
- obousměrný přenos dat Erytra – OpenLIMS
  - import požadavků z OpenLIMS
  - převod výsledků zpět do OpenLIMS
- systém hlídá údaje v registru pacientů – nahlášení případné neshody ve vyšetření
- přenos výsledků je validovaný (2x ročně validace přenosu dat, vč. vyšetření antigenů)



## Výsledky I

- 2010 – dosud: celkem vyšetřeno 77800 dárců krve
- zachyceno 21 neshod ve vyšetření erytrocytárních antigenů
  - 3x RhD (1xD, 2x Dw/v)
  - 12x Rh/Kell/Cw (6xC, 2xE, 1xē, 2xKell, 1xCw)
  - 6x „vzácné“ antigeny (1xN, 2xS\*, 1xFy b, 1xJk a, 1xN)
  - z toho 8x falešné negativy, 2x falešné pozitivy (jiná diagnostická séra v minulosti), 5x chybné záznamy v LIS, \* 2x kontaminace diagnostik
  - v případě 4 neshod při vyšetření antigenu C - rozdílná reakce mezi vyšetřením různými klony diagnostik, prokázána slabší exprese antigenu C, dtto antigen Fy(b) – viz kasuistiky



## Výsledky II

- do dubna 2017: pacienti vyšetřováni zkumavkovou metodou
- neshody ve vyšetření erytrocytárních antigenů evidovány v rámci neshod na laboratoři
- po přechodu na IH analyzátor zatím zachycena 1 neshoda ve vyšetření antigenu Fy(b) – viz kasuistiky



## Kasuistika I - Galileo NEO

- srpen 2017: podezření na neshodu ve vyšetření **antigenu S** u 2 DK proti záznamu v registru
- kontrola vyšetření na analyzátoru Galileo Neo
- přešetření odběrů na analyzátoru Erytra
- v rámci analýzy nebyla neshoda proti minulému vyšetření potvrzena, byl zjištěn problém s vyšetřením na analyzátoru Galileo NEO – suspekce na kontaminaci dg. sér anti-S a anti-s, kdy analyzátor uzavíral výsledky jako falešně pozitivní
- v rámci nápravných opatření:
  - provedena kontrola analyzátoru firmou → vyloučena možnost kontaminace diagnostik přenosem pipetovací jehlou
  - firmou doporučeno skladování diagnostik ve svislé poloze nastálo a důsledné dotahování uzávěrů lahviček k omezení možnosti kontaminace
  - provedena identifikace protilátek z kontaminovaných lahviček → zjištěna kontaminace diagnostika anti-S diagnostikem anti-s, jakou protilátkou kontaminováno anti-s ale spolehlivě zjištěno nebylo



## Kasuistika I - Galileo NEO

- v rámci nápravných opatření:
  - provedeno zrušení neplatných výsledků (u dárců vyšetřených poprvé, neshodné výsledky se do OpenLIMS nepřevádějí)
  - s laborantkami projednána důsledná kontrola výsledků vyšetření (v dané sérii vyšetření 24 dárců krve byly získány všechny výsledky S+s+) a zopakován režim IKK (pozitivní a negativní kontroly v každé sérii vyšetření)

### Závěr:

- **ne každá neshoda je skutečnou neshodou ve vyšetření, ale může ukázat na jiný problém v laboratoři**
- **pravidelně prověřovat nastavené postupy v laboratoři**
- **provádět pravidelné školení laborantek**



## Kasuistika II - Galileo NEO

- září 2017: podezření na neshodu ve vyšetření **antigenu Fy(b)** u DK proti záznamu v registru
- kontrola vyšetření na analyzátoru Galileo Neo – reakce na 3+, kontroly O.K.
- přešetření antigenu na analyzátoru Erytra – Fy(b) negativní
- manuálně ve zkumavce – také Fy(b) negativní
- v rámci analýzy bylo na základě diskrepance ve vyšetření zasláno do NRL ÚHKT Praha
- **Závěr:** Metodou PCR-SSP prokázána přítomnost polymorfismů pro alely FY\*A i FY\*B, zároveň detekována přítomnost polymorfismu pro fenotyp Fyx neboli Fy(b+w), způsobující zeslabení exprese antigenu Fyb.
- **Jako dárce dop. označit Fy(b+), jako příjemci (extrémní zeslabení, nelze vyloučit ev. Fy(b) variantu) dop. podávat Fy(b-) přípravky**



## Kasuistika III - ERYTRA

- listopad 2017: diskrepance ve vyšetření **antigenu Fy(b)** u pacienta z oddělení hemodialýzy (vyšetření rozšířeného fenotypu vč. Fy)
- antigen na Erytře Fy(b+/-)
- kontrola vyšetření na analyzátoru Galileo Neo – reakce na 1+
- na základě slabých reakcí zasláno do NRL ÚHKT Praha
- **Závěr:** Metodou PCR-SSP prokázána přítomnost polymorfismů pro alely FY\*A i FY\*B, zároveň detekována přítomnost polymorfismu pro fenotyp Fyx neboli Fy(b+w), způsobující zeslabení exprese antigenu Fyb.
- **Jako dárce dop. označit Fy(b+), jako příjemce bez doporučení**
- s ohledem na minulou kasuistiku raději příjemci podávat také Fy(b-) erytrocyty

### Závěr:

- **ne každá diskrepance je laboratorní chybou**
- **může být způsobena rozdílnou citlivostí různých vyšetřovacích metod**

*umíme pomáhat*



# Závěr

## Přínos automatizace v laboratoři

- zvýšení bezpečnosti a standardizace procesu
- zvýšení pracovního komfortu pro personál
- snížení pracnosti pro personál (manuální úkony)
- zvýšení nároků na personál (technika)

## Více vyšetřovacích systémů v laboratoři:

### Nevýhody:

- diskrepance ve vyšetření (limity metod)
- nutnost mezilaboratorního porovnání

### Výhody:

- větší pružnost laboratoře (interpretace výsledků)

**Kasuistiky ukazují na oprávněný posun imunohematologické diagnostiky k molekulárně biologickým metodám.**

*umíme pomáhat*



Krajská nemocnice Liberec, a.s.  
*nemocnice Liberec nemocnice Turnov*

Imunohematologická kasuistiky – diskrepance  
při vyšetření erytrocytárních antigenů



**Děkuji za pozornost.**

*umíme pomáhat*