

Priprava krvi za senzibilizirane bolnike v severovzhodni Sloveniji

Providing compatible blood to patients with alloantibodies in NE Slovenia

Bojana Bizjak,¹ Tina Bizjak²

¹ Center za transfuzijsko medicino, Univerzitetni klinični center Maribor

² Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Univerzitetni klinični center Maribor

Korespondenca/ Correspondence:

Bojana Bizjak, dr. med, spec.

Center za transfuzijsko medicino UKC Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor
Tel: +386 2 321 20 92
e-mail:bojana.bizjak@ukc-mb.si

Ključne besede:

transfuzija, eritrocitna aloprotitelesa, krvna komponenta, navzkrižni preizkus

Key words:

transfusion, erythrocyte alloantibodies, blood component, crossmatch

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81 supl 2: II-307–11

Prispelo: 30. jan. 2012,
Sprejeto: 26. jun. 2012

Izvleček

Izhodišča: Eritrocitna aloprotitelesa pogosto nastanejo, zlasti pri politransfundiranih bolnikih in nosečnicah. Pomembno je, da jih pravočasno ugotovimo in bolniku zagotovimo skladno transfuzijo krvne komponente in s tem preprečimo zgodnjo ali odloženo potransfuzijsko hemolitično reakcijo. Analizirali smo našo učinkovitost pri zagotavljanju eritrocitnih komponent tem bolnikom, tako v naši ustanovi kot v Splošni bolnišnici Ptuj in Murska Sobota.

Metode: Retrospektivno smo analizirali vrste opravljenih preiskav pri senzibiliziranih bolnikih, uspešnost iskanja ustreznih komponent krvi in ravnanje po predlaganem algoritmu transfuzijskih preiskav za naš center in obe pridruženi enoti za transfuzijsko medicino v SB Ptuj in SB Murska Sobota.

Rezultati: Na Centru za transfuzijsko medicino smo v preteklem letu zagotavljali skladne transfuzije 67 bolnikom in jim s 6215 preiskavami zagotovili ustrezno krvno komponento. Pri tem smo iskali skladnost med serumom bolnika in eritrocitnimi antigeni krvodajalca s pomočjo metode, v kateri so prisotna protitelesa pokazala največjo reaktivnost. Pri bolnikih s protitelesi iz sistema Rh (D, E, e, C, c), Kell, Kidd, Duffy in MNS smo izdali eritrocitne komponente, identične za te eritrocitne antigene, pri ostalih protitelesih smo izdali kri na podlagi negativnega navzkrižnega preizkusa. Delo nam je olajšal informacijski sistem, s pomočjo katerega smo si lahko velikokrat poiskali ustrezno kri na osnovi že določenih eritrocitnih antigenov pri krvodajalcih. Sistem telekonzultacij nam je povečal hitrost pri zagotavljanju skladne transfuzije, kadar smo našli ustrezno krvno komponento na enotah za transfuzijsko medicino (ETD) Ptuj in Murska Sobota. V ETD so izvedli navzkrižni preizkus (NP), odčital ga je zdravnik v CTM preko telekonzultacije.

Zaključki: V večini primerov smo uspešno in sorazmerno hitro zagotovili krvno komponento iz naših zalog, v ostalih so nam pomagale ostale transfuzijske ustanove, predvsem Zavod RS za transfuzijsko medicino Ljubljana in Transfuzijski center SB Celje.

Abstract

Background: Erythrocyte alloantibodies often occur, especially in the case of polytransfusion and in pregnant women. Fast diagnosis and a compatible transfusion of the blood component are important to prevent an early or delayed post transfusion haemolytic reaction. We have analysed our efficiency to provide red cell units for these patients in our hospital and in the general hospitals of Ptuj and Murska Sobota.

Methods: We analysed retrospectively which examinations had been done in sensitized patients, how successful we have been in finding appropriate blood for erythrocyte transfusion. We also analysed the proposed algorithm of the immunohaematological testing in our Centre.

Results: At the Centre for transfusion medicine-CTM Maribor, we have provided compatible transfusions to 67 patients in the last year, for which we made 6215 tests to provide appropriate blood components. We were looking for compatibility between the serum of the patient and erythrocytes of the blood donor by a technique in which the antibodies showed the highest reactivity. In patients with antibodies of the Rh-system (D, E, e, C, c), Kell, Kidd, Duffy and MNS, we always provided antigen negative component, and in others a compatible component (negative result of cross match). Sometimes the appropriate blood was found based on already defined antigens in blood donors by means of the information system. If the appropriate component was found at the Unit for Transfusion Medicine in Ptuj or Murska Sobota the cross-

match was done there and the interpretation was done at the CTM by means of the teleconsultation system.

Conclusions: In most cases we provided blood components successfully and relatively quickly,

while in some cases, other transfusion centres were helping us out, especially the Blood Transfusion Centre Ljubljana and the Transfusion centre Celje.

Uvod

Glavni namen transfuzijskih preiskav je zagotoviti, da bo bolnik prejel transfuzijo eritrocitnih ali drugih krvnih komponent brez zapletov s pričakovanim ugodnim učinkom na njegovo zdravje.

Na humanih eritrocitih je prisotnih več kot 600 antigenov, zato za bolnika ne moremo pripraviti popolnoma identičnih eritrocitov v vseh antigenih. Pri 1 % prejemnikov krvi so v okviru transfuzijskega testiranja odkrili eritrocitna protitelesa, največkrat pri politransfundiranih bolnikih in pri ženskah po nosečnostih.¹ V novejših raziskavah so dokazali pri moških preiskovancih celo do 2,4 % klinično pomembnih eritrocitnih protiteles, največkrat anti-K, anti-E, anti-D, anti-Fya, anti-c in anti-C.²

Senzibilizirane osebe potrebujejo vse življenje eritrocite brez antigenov (negativne). Količina protiteles lahko kaj hitro upade pod mejo določitve, v 30 % že v enem letu, v dveh tretjinah pa v petih letih. Pri 2 % preiskovancev so protitelesa spet odkrili čez nekaj let, velikokrat brez znane izpostavitve eritrocitnemu antigenu.³

Največjo pozornost zahtevajo protitelesa, ki lahko uničijo eritrocite že znotraj žilnega prostora (intravaskularno), bodisi da skrajšajo njihovo življenjsko dobo v krvnem obtoku z zunajžilno hemolizo in povzročijo hemolitično bolezen novorojenčka.⁴ V primeru protiteles iz sistema Rh (D, C, c, E, e), Kell (K, k), Kidd (Jka, Jkb), Duffy (Fya, Fyb) in MNS (S, s in M, če reagirajo na 37 °C), moramo bolniku vedno zagotoviti t. i. antigen negativne krvne komponente. Pri ostalih protitelesih praviloma izdamo eritrocite na podlagi negativnih navzkrižnih preizkusov.⁵

Za razpad transfundiranih eritrocitov je najpomembnejša humoralna imunost, zato imunohematološke preiskave temeljijo

predvsem na ugotavljanju protiteles in aktivnosti komplementa kot izvajalca humoralne imunosti.⁶ Stopnja razpada eritrocitov je odvisna od fagocitoze eritrocitov, obloženih s protitelesi in komponentami komplementa, za katere imajo receptorje makrofagi v vranici in jetrih. Manj pogosta pri tem je znotrajžilna hemoliza, posredovana z direktno lizo celice s komponentami komplementa.⁷

Koncentracijo protiteles IgG, ki pride do hemolize, je težko določiti, saj nanjo deluje veliko drugih dejavnikov. Ugotovili so, da je za hemolizo potrebnih vsaj 100 do 1000 IgG1 vezanih protiteles.

V praksi sedaj uporabljamo metodo gel kartic, katerih spodnji prag občutljivosti je izenačen s to količino IgG protiteles.⁸

Največ protiteles odkrijemo pri onkoloških in hematoloških bolnikih.⁹

Transfuzijske preiskave v Sloveniji izvajamo v skladu s Pravilnikom o transfuzijskih preiskavah in postopkih ob transfuziji in obsegajo: določitev krvne skupine ABo, RhD in K prejemniku in dajalcu, navzkrižni preizkus in določitev klinično pomembnih nepričakovanih eritrocitnih protiteles z indirektnim antiglobulinskim testom (ICT), kadar je to potrebno.¹⁰

CTM Maribor zagotavlja preskrbo s krvjo UKC Maribor s 1316 posteljami ter skupaj z Enoto za transfuzijsko medicino (ETD) Ptuj še SB Ptuj s 262 posteljami in z ETD Murska Sobota SB Murska Sobota s 350 posteljami. Letno opravimo v CTM Maribor povprečno 26.000 navzkrižnih preizkusov in 10.500 ICT ter v obeh ETD še 8.000 navzkrižnih preizkusov in 6.000 ICT. Večino rezultatov za bolnike opravljenih preiskav v obeh ETD odčitamo s sistemom telekonzultacij. V primeru, da ugotovimo prisotna eritrocitna protitelesa, moramo vzorce čim prej dostaviti v CTM za nadaljnje preiskave. Pri tem smo v večini primerov v časovni

stiski, če bolnik nujno potrebuje transfuzijo krvi.

Analizirali smo opravljeno delo in izdelali navodila za čim boljše in čim hitrejšo zagotavljanje ustrezne krvi senzibiliziranim bolnikom, tako v UKC Maribor kot v obeh enotah.

Metode

Transfuzijsko testiranje se začne s pravilnim odvzemom vzorca krvi pravemu bolniku pravočasno, tj. v 72 urah pred načrtovano transfuzijo. Sum na eritrocitna protitelesa lahko postavimo že ob določanju krvne skupine, običajno pa ICT, ko protitelesa v serumu preiskovanca reagirajo z antigenom na testnih eritrocitih.

V CTM Maribor s pridruženima enotama opravimo vsem bolnikom pred transfuzijo krvi presejalna testiranja z ICT na prisotnost eritrocitnih aprotiteles v serumu s tremi različnimi raztopinami eritrocitov, ki imajo klinično najpomembnejše antigene v homozigotni obliki. S tem povečamo občutljivost metode v primerjavi z navzkrižnim preizkusom, kjer je lahko krvodajalec heterozigot za dotičen antigen, kar pomeni, da je število antigenov na eritrocitih mnogo manjše.

V CTM Maribor določamo specifičnost protiteles z metodo na gelu. Pri tem uporabljamo različne panele – po enajst različnih raztopin eritrocitov, med njimi tudi eritrocitne raztopine z dodatkom papaina. Me-

tode v encimskem in fiziološkem mediju ter s Coombsovim testom nam omogočijo določitev čim večjega števila klinično pomembnih eritrocitnih protiteles. Določamo tudi temperaturni razpon delovanja protiteles, saj so klinično pomembna predvsem tista protitelesa, ki delujejo na telesni temperaturi. V primeru prisotnosti več protiteles nadaljujemo preiskavo z nadaljnjimi tehnikami: z adsorbicijo, elucijo, določanjem eritrocitnih antigenov in dodajanjem nadaljnjih reagentov za okrepitev vezave med protitelesi in antigeni.

Ob vsakem odkritemu eritrocitnemu protitelesu pri preiskovancu preverimo, kako nujna je transfuzija krvi, izključimo tehnično napako, preverimo, ali so pri preiskovancu že kdaj odkrili protitelesa, in ali je kdaj prejel transfuzijo, oziroma zberemo podatke o nosečnostih. Pri tem dobro sodelujemo s kliničnimi zdravniki, pomaga pa nam tudi informacijski sistem. Če bolnik ni prejel transfuzije in je možki, so odkrita protitelesa lahko naravna in klinično običajno manj pomembna.

Rezultati

V preteklem letu smo odkrili eritrocitna protitelesa prvič pri 131 bolnikih. Opravili smo 250 določitev vrst protiteles in pri 35 primerih nismo uspeli identificirati specifičnosti. Pogostnost posameznih vrst protiteles prikazuje Tabela 1. Pri devetih bolnikih sta bili hkrati prisotni dve vrsti eritrocitnih protiteles, pri dveh bolnikih tri protitelesa in pri eni bolnici štiri vrste protiteles. Pri večini bolnikov z večvrstnimi protitelesi, v osmih primerih, je bilo prisotno protitelo anti-E.

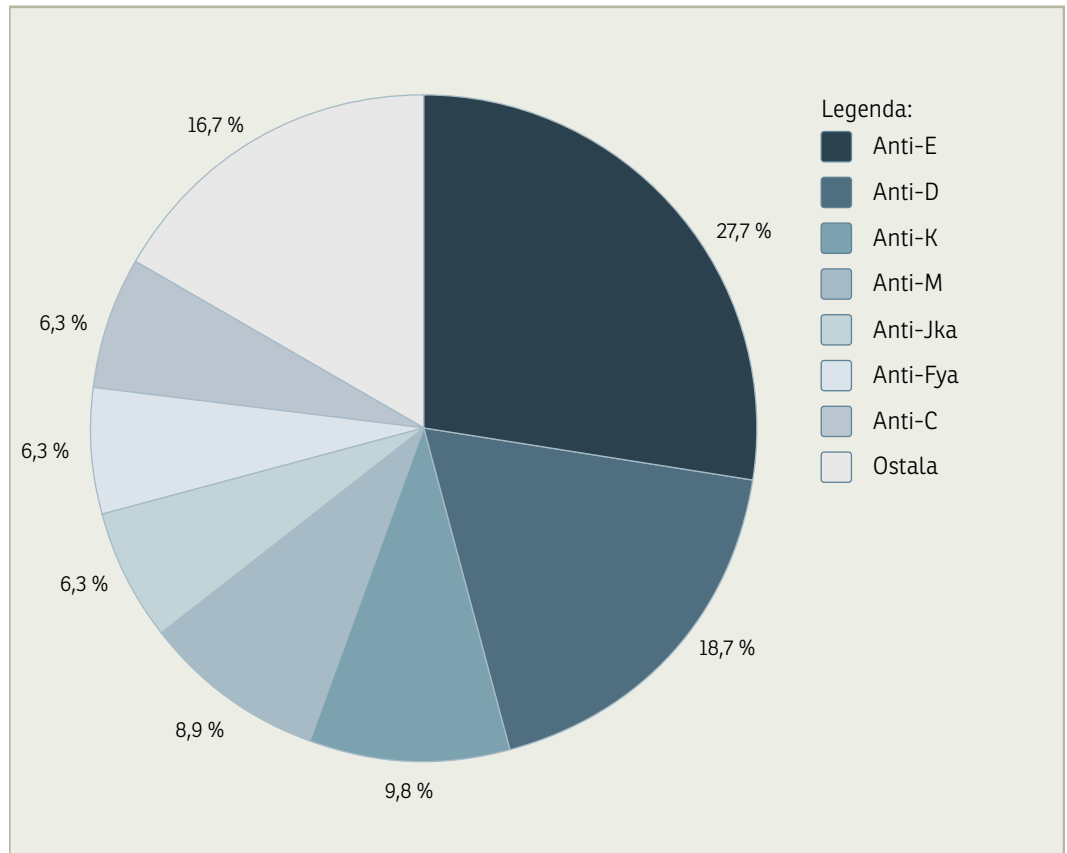
Delež posameznih ugotovljenih specifičnosti protiteles prikazuje Slika 1. Med njimi smo pri 31 bolnikih specificirali protitelesa anti-E in pri 21 protitelesa anti-D, anti-M in protitelesa anti-E dokazali pri 11 bolnikih.

V preteklem letu smo za 67 bolnikov opravili 6215 preiskav za zagotavljanje skladnih enot eritrocitov. Med njimi so bili tako bolniki, pri katerih so bila eritrocitna protitelesa prvič odkrita, kot tisti, pri katerih so bila protitelesa že znana. Pri devetih bolnikih sta bili prisotni po dve protitelesi, največkrat anti-E z anti-c in anti-K. Pri treh

Tabela 1: Pogostost ugotovljenih protiteles v letu 2011.

Specifičnost	Število	Odstotek (%)
anti-E	31	27,7
anti-D	21	18,7
anti-K	11	9,8
anti-M	10	8,9
Anti- Jka	7	6,25
Anti -Fya	7	6,25
Anti – C	7	6,25
ostala	18	16,7
skupaj	112	100

Slika 1: Delež ugotovljenih protiteles v letu 2011.



bolnikih so bila prisotna tri protitelesa in pri treh po štiri protitelesa. Največ preiskav smo opravili za onkološko bolnico, katere serum je reagiral z večino testiranih vzorcev krvi. Za bolnico smo opravili 446 preiskav za zagotavljanje skladne transfuzije krvi. Vzorec krvi bolnice smo poslali na dodatne preiskave v Zavod RS za transfuzijsko medicino v Ljubljana in v Bristol v Mednarodni referenčni laboratorij za serologijo krvnih skupin (IBGRL). V serumu bolnice je bilo poleg protitelesa anti-E prisotno še protiteleso anti-Ch/Rg, ki praviloma ni klinično pomembno. Tudi ostali bolniki so bili večinoma onkološki bolniki in bolniki z avtoimunskimi boleznimi. Med njim smo opravili 156 preiskav za politransfundirano bolnico s tremi eritrocitnimi protitelesi (anti-E, c in Kpa), 149 preiskav za bolnico s štirimi eritrocitnimi protitelesi (anti-E, Fya, c in S) in 180 preiskav za bolnika s tremi (anti-E, c in Jka) in bolnico s štirimi protitelesi (anti-E,C,Kpa in Lua).

V veliko pomoč pri iskanju skladnosti krvnih komponent nam je bil spremenjeni algoritem testiranja krvodajalcev, ki jim rutinsko določamo antigene K in fenotip Rh

(določitev E,e,C in c), saj smo tako lahko s pomočjo informacijskega sistema (IS) DATEC poiskali že delno ustrezne krvne komponente za naše bolnike. V drugih primerih zagotavljamo zadostno količino eritrocitnih komponent s pomočjo izmenjave z drugimi transfuzijskimi ustanovami v Sloveniji in z dodatnim klicanjem primernih krvodajalcev. Če tudi te nimajo ustrezne krvne komponente in lahko transfuzijo odložimo, pokličemo na odvzeme primerne krvodajalce, ki jih najdemo s pomočjo IS DATEC.

V CTM Maribor hranimo vzorce krvi, ki smo jih odvzeli med odvzemom polne krvi v vseh treh enotah do izteka uporabnosti koncentriranih eritocitov. Iz teh vzorcev krvi krvodajalcev lahko po potrebi določimo eritrocitne antigene za enote, ki se že nahajajo med zalogo krvi v ETD. Tam naredijo NP in rezultate preiskav odčitamo s sistemom telekonzultacij. Tako lahko hitreje pripravimo kri za bolnike z eritrocitnimi protitelesi, ki so hospitalizirani v SB Ptuj ali SB Murska Sobota.

V večini primerov smo zagotovili bolnikom kri znotraj treh do dvanajstih ur ali najkasneje v 24 urah.

Zaključek

Z analizo naših rezultatov transfuzijskih preiskav smo ugotovili, da je porazdelitev različnih eritrocitnih protiteles podobna, kot je navedeno v literaturi. Protitelesa anti-E so najpogostejša, sledijo protitelesa anti-D. Slednja so bila prisotna v večini primerov pri starejših ženskah, ki po porodih še niso prejele zaščitnega odmerka z imunoglobulini anti-D, in le pri štirih moških. Število protiteles anti K je manjše, kot je navedeno v literaturi. Najverjetneje zato, ker v naši bolnišnici bolniki že od leta 1974 prejemajo K-negativne eritrocitne komponente in od leta 2007 po antigenu K skladne eritrocitne komponente.

Pri zagotavljanju ustreznih eritrocitov senzibiliziranim bolnikom ravnamo po algoritmu, ki je bil predlagan na Razširjenem strokovnem kolegiju za transfuzijsko medicino. Kadar s pozitivnim ICT ali navzkrižnim preizkusom v tehniki z antihumanim globulinom (Combsovim reagentom) ugotovimo prisotnost eritrocitnih protiteles, z nadaljnjimi preiskavami ugotavljamo njihovo vrsto. Pri bolnikih s protitelesi iz sistema Rh (D, E, e, C, c), Kell, Kidd, Duffy in MNS smo vedno zagotovili antigen negativno krvno komponento, pri ostalih pa na podlagi negativnega rezultata navzkrižnega preizkusa. Bolniki z več različnimi protitelesi so bili najzahtevnejši izziv pri iskanju ustrezne krvne komponente.

Literatura

1. Issitt PD, Anstee DJ. Antibody detection and identification and compatibility testing. In: Applied blood group serology. Fourth ed. Durham: Montgomery Scientific Publications; 1998. p. 873–906
2. Tormey CA, Fisk J, Stack G. Red blood cell alloantibody frequency, specificity, and properties in a population of male military veterans. *Transfusion* 2008; 48: 2069–76 [cited Jan 30 2012]. Dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18631165>
3. Tormey CA, Stack G. The persistence and evanescence of blood group alloantibodies in men. *Transfusion* 2009; 49: 505–12 [cited Jan 29 2012]. Dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19040411>
4. Schonewille H, van de Watering LM, Loomans. Red blood alloantibodies after transfusion: factor influencing incidenc and specificity. *Transfusion* 2006; 46: 250–56 [cited Jan 29 2012]. Dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16441603>
5. Chapman JF, Elliot C, Knowles SM, Milkens CE, Pool GD. Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *Transfus Med* 2004; 14: 59–73 [cited Jan 30 2012]. Dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15043595>
6. Overbeeke MAM. The immune destruction of red cells. In: Red cell immunohaematology 1998. Proceedings of the 1st International Postgraduate School of Immunogenetics in Transfusion Medicine. Ljubljana 1998. p. 51–58.
7. Red cell incompatibility in vivo. In: Klein HG, Anstee DJMollison's Blood transfusion in Clinical Medicine. 11th ed. Oxford: Blackwell Science; 1997. p. 406–454.
8. Bromilow IM, Adams KE, Hope J, Eggington JA, Duquid JK. Evaluation of the ID gel test for antibody screening and identification. *Transfus Med* 1991; 1: 159–61 [cited Jan 30 2012]. Dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9259842>
9. Schonewille H, Haak HL, van Zijl AM. Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases. *Transfusion* 1999; 39: 763–70 [cited Jan 30 2012]. Dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10413286>
10. Pravilnik o transfuzijskih preiskavah in postopkih ob transfuziji. Ur.l. RS, št. 9/2007.