

# Donoru asins imūnhematoloģiskā izmeklēšana

## *Izvērstas medicīnas tehnoloģijas metodes apraksts*

### Vispārējā informācija.

Tehnoloģija nosaka asins donoru imūnhematoloģiskās izmeklēšanas kārtību Latvijā. Donoru imūnhematoloģiskajā izmeklēšanā atļauts izmantot tikai Latvijas Republikas normatīvajos dokumentos noteiktajā kārtībā reģistrētus reaģentus, apstiprinātas tehnoloģijas un pārbaudītas medicīnas ierīces.

### 1. Asins paraugi.

- Imūnhematoloģiskai izmeklēšanai izmanto asins paraugus, kas noņemti vakuumbiņņos ar EDTA.
- Pirmreizējam donoram un donoram 2. donācijas reizē noņem 2 asins paraugus, atkārtotam donoram- 1 asins paraugu.
- Asins paraugus marķē atbilstoši noteiktām prasībām, marķējums satur svītrkodu, vizuāli nolasāmu identifikācijas numuru, sagatavošanas vietas un datuma norādi, AB0 asins grupas un Rh(D) piederības norādi.
- Asins paraugus transportē izotermiskā tarā, vertikālā stāvoklī.
- Asins paraugu atbilstību vizuāli novērtē pirms izmeklēšanas:
  - paraugu, kuram iztrūkst marķējums, tas nesatur vajadzīgo informāciju, vai ir kļūdaini, neizmeklē;
  - paraugus, kas ir hemolizēti, hilozi, satur recekļus vai ar nepietiekošu asins daudzumu, neizmeklē.
- Asins paraugus izmeklē ne vēlāk kā 72 stundas pēc noņemšanas.
- Asins paraugus izmeklē +18°C līdz +25°C temperatūrā.
- Asins paraugus uzglabā +2°C līdz +8 °C temperatūrā 5 dienas pēc izmeklēšanas.

### 2. Reaģenti.

- Izmanto reaģentus, kas atbilst Eiropas Komisijas Direktīvas 98/79/EK par medicīnas ierīcēm, ko lieto *in vitro* diagnostikā, prasībām.
- Reaģentu uzskaites sistēma nodrošina: reaģentu ražotāja, saņemšanas datuma, sērijas numura, lietošanas termiņa, daudzuma, atlikuma dokumentēšanu.
- Saņemot reaģentus, novērtē sūtījuma un reaģentu atbilstību.
- Ja ražotāja paredzētajā reaģentu izmantošanā ievieš izmaiņas, izmeklēšanas procedūru validē.
- Jābūt reaģentu ražotāja liecībām par reaģenta atbilstību kvalitātes prasībām.
- Antivielas saturošiem reaģentiem jābūt ziņām par to specifitāti un reaktivitāti.
- Reaģentus uzglabā un izmanto, ievērojot ražotāja instrukcijas. Kur noteikts, pielieto kontrolreaģentus.
- Katru dienu pirms darba, kā arī uzsākot jaunu izmeklējumu sēriju, izdara iekārtu, reaģentu un metožu iekšējās kvalitātes kontroles testus un dokumentē iegūtos rezultātus.
- Nodrošina izmantoto reaģentu izsekojamību.

### 3. Iekārtas.

- Iekārtas pēc instalācijas un pirms lietošanas uzsākšanas verificē, pārliecinās par to spēju sasniegt nepieciešamo izpildījumu.
- Iekārtas lieto, pārbauda, kalibrē, veic to apkopi un higiēnisko dezinfekciju saskaņā ar ražotāja instrukcijām.
- Jebkuras novirzes iekārtu izmantošanā no ražotāja instrukcijām validē.
- Par iekārtu uztur protokolus, kas ietver: iekārtas identifikāciju, ražotāja nosaukumu, iekārtas modeli, sērijas numuru, piegādātāja kontaktinformāciju, lietošanas instrukciju, ziņas par iekārtas saņemšanas un lietošanas uzsākšanas datumu, atrašanās vietu, validāciju, apkopju, pārbaudi un kalibrēšanu plānus un ziņas par to izpildi, ziņas par iekārtas bojājumiem un remontiem.
- Ar iekārtām strādā apmācīts un pilnvarots personāls.
- Uztur liecības par personāla apmācību.

#### 4. Izmeklēšanas procedūras.

- Izmeklēšanā izmanto valstī apstiprinātas, validētas laboratoriskās izmeklēšanas procedūras.
- Izmeklēšanas procedūras pirms to ieviešanas ikdienas lietošanā verificē, apstiprinot, ka izmeklēšanas procedūrai izvirzītās prasības ir izpildītas.
- Laboratorija validē nestandarta izmeklēšanas procedūras, laboratorijā izstrādātas izmeklēšanas procedūras vai validētas izmeklēšanas procedūras, kas ir modificētas.
- Izmeklēšanas procedūru apraksti ir dokumentēti.
- Izmeklēšanas procedūru apraksti ietver izmeklēšanas rezultātu pierakstu.
- Izmeklēšanas procedūras periodiski pārskata.
- Izpildē stingri ievēro dokumentētus izmeklēšanas procedūru aprakstus.
- Ar izmeklēšanas procedūrām strādā apmācīts un pilnvarots personāls.
- Uztur liecības par personāla apmācību.

#### 5. Rezultātu protokolēšana un ziņošana.

- Manuālā izmeklēšanā iegūtos rezultātus protokolē un manuāli ievada vienotā donoru datu informācijas sistēmā, kura ievadītos rezultātus automātiski verificē- salīdzina ar iepriekšējiem rezultātiem.
- Automatizētā izmeklēšanā iegūtos rezultātus vizuāli verificē pirms protokola izdrukāšanas, pārvada vienotā donoru datu informācijas sistēmā, kura pārvadītos rezultātus automātiski verificē - salīdzina ar iepriekšējiem rezultātiem.
- Donoru datu informācijas sistēma verificē katra atsevišķa parametra pārvadi. Rezultātu nesakritības gadījumā rīkojas atbilstoši noteiktām prasībām. Rīcību dokumentē.
- Rezultātus verificē apmācīts un pilnvarots personāls.
- Izmeklēšanas rezultātu protokols atspoguļo katras dienas un katra izmeklējuma rezultātus.
- Izmeklēšanas rezultātu protokolus arhivē un uzglabā noteiktu laiku atbilstoši prasībām.
- Izmeklēšanas rezultātus saglabā vienotajā donoru datu informācijas sistēmā atbilstoši prasībām.
- Rezultātu pārskats ir asins komponenta etiķete. Uz eritrocītu masas etiķetes norāda AB0 asins grupu, Rh(D) piederību, Rh-Kell fenotipu, fenotipu citās klīniski svarīgās antigēnu sistēmās. Uz trombocītu masas etiķetes norāda AB0 asins grupu un Rh(D) piederību, uz plazmas-AB0 asins grupu. . un paaugstināta aglutinīnu titra gadījumā - „Pārliet tikai 0 grupas pacientam.”

#### 6. Izmeklēto asins komponentu izsniegšana.

- Standartprocedūra nodrošina, ka asins komponentus nevar izplatīt pirms visi nepieciešamie laboratorijas rezultāti saņemti, dokumentēti un apstiprināti.
- Rezultātu saņemšanai, dokumentēšanai un apstiprināšanai izmanto validētu sistēmu.

#### 7. Laboratorijas izmeklējumu kategorijas.

Laboratorijas izmeklējumus daļa sekojošās kategorijās:

- Obligātie izmeklējumi- nepieciešami, lai asins komponentus varētu izplatīt. Rezultātus norāda uz asins komponenta etiķetes. Tie ietver asins grupu AB0 sistēmā, Rh(D) piederību, Rh-Kell fenotipu, antieritrocitāro antivielu skrīninga rezultātu.
- Papildizmeklējumi- veic īpašos gadījumos, lai palielinātu transfūzijas drošību atsevišķām pacientu kategorijām, bet nav nepieciešami visām donācijām vai komponentiem. Tie ietver: antieritrocitāro antivielu identifikāciju, augsta titra anti-A un anti-B aglutinīnu skrīningu, papildus fenotipēšanu.

#### 8. Obligātie imūnhematoloģiskie izmeklējumi.

Obligātos imūnhematoloģiskos izmeklējumus venozajos asins paraugos veic, izmantojot automatizētas sistēmas, izņēmuma gadījumos- manuāli. Jebkuras novirzes no normas izmeklē manuāli.

##### 8.1. ABO asins grupas noteikšana.

###### 8.1.1. Pirmreizējam donoram ABO asins grupu nosaka:

- a) pirmo reizi kapilārajā asins paraugā pirms donācijas ar tiešo reakciju, plaknes metodi, izmantojot anti-A un anti-B monoklonālos reaģentus.
- b) otro reizi venozajā asins paraugā ar dubultreakciju, ar mikroplašu, plaknes vai gelkaršu metodi. Tiešajā reakcijā izmanto anti-A un anti-B monoklonālos reaģentus, apgrieztajā reakcijā

A<sub>1</sub> un B standarteritrocītus. Ja donoru izmeklēšanā izmantotais anti-A monoklonālais reaģents nenosaka Ax kategoriju, papildus izmanto anti-A,B monoklonālo reaģentu.

**8.1.2. Otrās donācijas reizē** ABO asins grupu nosaka tikai venozajā asins paraugā tāpat kā pirmreizējam donoram, sk. punktā 8.1.1.b)

**8.1.3. Regulāram** donoram ABO asins grupu nosaka venozajā asins paraugā, ar tiešo reakciju, mikroplašu, plaknes vai gelkaršu metodi, izmantojot anti-A un anti-B monoklonālos reaģentus.

- ABO asins grupu nosaka un dokumentē katrā donācijas reizē.
- Katras donācijas reizē ievadītos/pārvadītos ABO noteikšanas rezultātus vienotā donoru datu informācijas sistēma automātiski salīdzina ar primāri noteikto ABO rezultātu pirmreizējam donoram vai iepriekš apstiprināto ABO rezultātu atkārtotam (regulāram) donoram.

## 8.2. ABO asins grupas noteikšanas kvalitātes kontrole.

- Izmanto kvalitātes kontroles procedūru, ko iesaka reaģentu un iekārtas ražotājs.
- Veicot kvalitātes kontroles testus, anti-A un anti-B (un anti-A,B, ja izmanto) reaģentiem jāuzrāda atbilstoši rezultāti 0, A<sub>1</sub> un B standarteritrocītiem, standarteritrocītiem jāuzrāda atbilstoši rezultāti ar anti-A un anti-B (un anti-A,B, ja izmanto) reaģentiem.

## 8.3. Rh(D) – piederības noteikšana.

**8.3.1. Pirmreizējam** donoram Rh(D) - piederību nosaka:

a) pirmo reizi kapilārajā asins paraugā pirms donācijas, ar plaknes metodi, izmantojot viena klona anti-D (VI-) IgM monoklonālo reaģentu.

b) otru reizi venozajā asins paraugā, izmantojot divus atšķirīga klona anti- D IgM reaģentus un kontrolreaģentu ar mikroplašu, plaknes vai gelkaršu metodi.

- Ja abi anti-D reaģenti uzrāda skaidri pozitīvu reakciju, donoru traktē kā Rh(D) pozitīvu.
- Ja abi anti-D reaģenti uzrāda skaidri negatīvu reakciju, vai rezultāts ir šaubīgs, vai reakcijas rezultāts ar diviem anti-D reaģentiem nesakrīt, asins paraugu izmeklē ar anti-D IgG reaģentu netiešajā antiglobulīna testā, ar gelkaršu metodi, ar kuru iespējams atklāt visus D<sup>w</sup> un parciālos D variantus.
- Ja Rh(D) izmeklēšanas rezultāts ar anti-D IgG reaģentu netiešajā antiglobulīna testā, ar gelkaršu metodi ir negatīvs, donoru traktē kā Rh(D) negatīvu, ja pozitīvs, veic tiešo antiglobulīna testu. Ja tiešais antiglobulīna tests ir negatīvs, donoru traktē kā Rh(D) pozitīvu, ja tests ir pozitīvs, asins devu neizmanto komponentu sagatavošanai.

**8.3.2. Otrās donācijas laikā** Rh(D) - piederību nosaka venozajā asins paraugā tāpat kā pirmreizējam donoram, sk. punktā 8.3.1.b)

**8.3.3. Regulāram** donoram Rh(D)-piederību nosaka venozajā asins paraugā, izmantojot viena klona anti-D IgM reaģentu un kontrolreaģentu ar mikroplašu, plaknes vai gelkaršu metodi.

- Rh(D)- piederību nosaka un dokumentē katrā donācijas reizē.
- Katras donācijas reizē ievadītos/pārvadītos Rh(D) noteikšanas rezultātus vienotā donoru datu informācijas sistēma automātiski salīdzina ar primāri noteikto Rh(D) rezultātu pirmreizējam donoram vai iepriekš apstiprināto rezultātu regulāram donoram.
- Ja Rh(D) noteikšanas rezultāts ir negatīvs, bet iepriekšējās donācijas reizēs apstiprinātais rezultāts –pozitīvs, pilnvarota persona veic labojumus datu bāzē.

## 8.4. Rh(D) piederības noteikšanas kvalitātes kontrole.

- Izmanto kvalitātes kontroles procedūru, ko iesaka reaģentu un iekārtas ražotājs.
- Veicot kvalitātes kontroles testus katrā izmeklējumā sērijā anti-D reaģentam jāuzrāda pozitīvs rezultāts ar DCe/dce (R1r) eritrocītiem un negatīvs ar dCe/dce (r' r) vai dce/dce (rr) eritrocītiem.

## 8.5. Fenotipizācija RH un Kell sistēmās.

- Fenotipizāciju RH un Kell sistēmās ( C,c,E,e,K antigēnu noteikšana ) veic un dokumentē divu secīgū donācijū reizēs.
- Venozo asins paraugu izmeklē, izmantojot attiecīgas specifitātes monoklonālus reaģentus ar mikroplašu, plaknes vai gelkaršu metodi.
- Atkārtotā donācijas reizē ievadītos/pārvadītos Rh-Kell noteikšanas rezultātus vienotā donoru datu informācijas sistēma automātiski salīdzina ar iepriekšējo Rh- Kell rezultātu.
- Identisku rezultātu gadījumā Rh-Kell fenotipu atkārtoti nenosaka.
- Ja reakcijas traktējums divās donācijas reizēs nesakrīt, Rh-Kell fenotipēšanu atkārtoti.

## 8.6. Fenotipizācijas RH un Kell sistēmās kvalitātes kontrole.

- Izmanto kvalitātes kontroles procedūru, ko iesaka reaģentu un iekārtas ražotājs.

- Katrā izmeklējumu sērijā reaģentiem jāuzrāda sekojoši rezultāti:

Reaģents	Kontrolieritrocīti	
	Pozitīvs rezultāts	Negatīvs rezultāts
anti-C	DcE/dce (R1r)	dce/dce (rr) vai DcE/dce (R2r)
anti-E	DcE/dce (R2r) vai dcE/dce ( r''r)	dce/dce (rr) vai Dce/dce (R1r)
anti-c	Dce/dce (R1r) vai dCe/dce ( r 'r)	DcE/DcE (R1R1)
anti-e	DcE/dce (R2r) vai dcE/dce ( r''r)	DcE/DcE (R2R2)
anti-K	K+k+	K-k+

### 8.7. Antieritrocitāro antivielu skrīnings.

- Antieritrocitāro antivielu skrīningu veic un dokumentē pirmajā donācijas reizē un pēc tam vienu reizi divos gados, vai ja periodā pēc pēdējās donācijas bijusi transfūzija vai grūtniecība.
- Izmeklē venozo asins paraugu, izmantojot netiešo antiglobulīna testu.
- Skrīningieritrocīti var būt: eritrocīti no vismaz divām atsevišķām donācijām vai eritrocītu puls no ne vairāk kā divām atsevišķām donācijām.
- Skrīningieritrocītiem jāsaturs vismaz šādi antigēni: D,C,c,E,e,K,k,Fya,Fyb,Jka,Jkb,S,s un M.
- Ja antieritrocitāro antivielu skrīninga rezultāts ir pozitīvs, veic antivielu identifikāciju, asins devu neizmanto **komponentu sagatavošanai**.

### 8.8. Antieritrocitāro antivielu skrīninga kvalitātes kontrole.

- Izmanto kvalitātes kontroles procedūru, ko iesaka reaģentu un iekārtas reģotājs.
- Katrā izmeklējumu sērijā pozitīvai kontrolei izmanto kontrolreaģentu anti-D IgG , kas satur antivielas 0,5 IU/ml vai zemāk un negatīvai kontrolei- reaģentu, kas antivielas nesatur.

## 9. Imūnhematoloģiskie papildizmeklējumi.

### 9.1. Antieritrocitāro antivielu identifikācija.

- Antieritrocitāro antivielu identifikāciju veic un dokumentē visiem paraugiem, kuriem antieritrocitāro antivielu skrīnings uzrāda pozitīvu rezultātu.
- Donoram, kuram identificētas antieritrocitāras antivielas, izsniedz sensibilizētas personas asins pasi.

### 9.2. Augsta titra Anti-A un anti-B aglutinīnu skrīnings 0 grupas donoriem.

- 0 grupas eritrocītu masa, trombocītu masa un svaigi saldēta plazma, kas satur anti-A un anti-B aglutinīnus augstā titrā, var izsaukt hemolītisku transfūziju reakciju, ja tos pārlej citas asins grupas recipientam.
- HTR visbiežāk iespējama, ja:
  - anti-A, anti-B un/vai anti-A,B titrs asins komponentā ir augsts;
  - pārlietais asins komponents satur lielu plazmas daudzumu;
  - recipientam ir mazs asins tilpums.
- Augsta titra aglutinīnu skrīningu veic un dokumentē visiem 0 grupas donoriem katrā donācijas reizē.
- Augsta titra aglutinīnu skrīningu veic ar fizioloģiskā šķīduma aglutinācijas metodi atšķaidījumā, kas nodrošina negatīvu reakciju pie aglutinīnu titra 128 vai ekvivalentu titru, izmantojot citu metodi.
- Aglutinīna titrs **256 un augstāks** uzskatāms par paaugstinātu.
- Asins komponentus ar paaugstinātu aglutinīnu titru marķē ar uzlīmi „pārliet tikai 0 grupas donoriem” un citu asins grupu donoriem pārļiešanai neizmanto.
- Asins komponentu ar paaugstinātu aglutinīnu titru izslēgšana no pārļiešanas citu grupu donoriem samazina hemolītisku transfūziju risku, tomēr pilnībā to nenovērš.

### 9.3. Papildus fenotipēšana.

- Fenotipizāciju citās **klīniski nozīmīgās** antigēnu sistēmās (ne RH un Kell sistēmās) veic un dokumentē divu donāciju reizēs.
- Izmeklē venozo asins paraugu, izmantojot gelkaršu, stobriņu vai plaknes metodi.

- Atkārtotā donācijas reizē ievadītos /pārvadītos citu sistēmu antigēnu noteikšanas rezultātus vienotā donoru datu informācijas sistēma automātiski salīdzina ar iepriekšējo rezultātu.
- Identisku rezultātu gadījumā fenotipizāciju atkārtoti neveic.
- Ja reakcijas traktējums divās fenotipizācijas reizēs nesakrīt, fenotipēšanu atkārtoti.
- Kvalitātes kontrolei katrā izmeklējumu sērijā kā pozitīvo kontroli izmanto heterozigotus antigēnpozitīvus eritrocītus un kā negatīvo kontroli- antigēnnegatīvus eritrocītus.

#### 10. Rīcība pozitīva direktā antiglobulīna testa gadījumā.

- Direkto antiglobulīna testu veic, ja:
  - konstatē pozitīvu antieritrocitāro antivielu skrīninga rezultātu;
  - veicot ABO vai Rh(D) noteikšanu vai fenotipizēšanu, atklāj novirzes no normas,;
  - veicot asins saderības izmeklējumus, konkrētā asins deva nesader recipientam, kuram nav antivielu pret donora eritrocitāriem antigēniem.
- Ja direktais antiglobulīna tests pozitīvs, eritrocītu masu neizmanto pārļiešanai, pārējos asins komponentus, kas nesatur eritrocītus, izmanto transfūzijai.
- Donorus, kuriem konstatē pozitīvu direkto antiglobulīna testu, atraida uz 6 mēnešiem; Pēc DAT atkārtotās negatīva rezultāta gadījumā atļauj atkārtotu donāciju, pozitīva rezultāta gadījumā donoram nosaka pastāvīgu atteikumu.

#### 11. Automatizēta izmeklēšana.

- Automatizēta sistēma nodrošina vismaz: paraugu identifikāciju, parauga un rezultātu izsekojamību, elektronisku rezultātu pārvadi.
- Ir dokumentēta procedūra rīcībai nestandarta situācijās automatizētas izmeklēšanas sistēmas bojājuma gadījumos.
- Ir dokumentēta procedūra darbam ar automatizētām izmeklēšanas sistēmām.
- Ir pieejamas aktuālas programmatūras un dokumentu versijas.

#### 12. Manuāla izmeklēšana.

- Manuālu izmeklēšanu izmanto gadījumos, kad automatizētu izmeklējumu rezultātos konstatē novirzes no normas, rezultātu precizēšanai, vai automatizēti izmeklējumi nav pieejami.
- Manuālos izmeklējumus un to kvalitātes kontroli veic saskaņā ar ražotāja instrukcijām un procedūru aprakstiem.
- Izmeklēšanas rezultātus dokumentē.
- Izmanto drošu un validētu rezultātu ievadi donoru datu informācijas sistēmā. Pirms un pēc rezultātu ievades veic to verifikāciju.

#### Vēres:

- 1) Guidelines for blood Transfusion Services (Red Book), 8 th edition (2013)
- 2) Medicīnas laboratorijas. Kvalitātes un kompetences prasības (ISO 15189: 2012)
- 3) „Rokasgrāmata asins, asins komponentu sagatavošanai, kvalitātes nodrošināšanai un pielietošanai ” (VADC; 2011)
- 4) „Immunoematology screening for donors- EBA survey (2010)
- 5) Titers of ABO antibodies in group 0 blood donors (Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia; 2011)
- 6) Haemolisin test for screening of immune ABO antibodies (Asian Journal of Transfusion Science; Vol.2 Issue 1, p.37, 2008)
- 7) High titre anti-A/B Testing of donors within the National Blood Service (2002)
- 8) 27.12.2005. MK noteikumi Nr.1037 "Noteikumi par cilvēka asiņu un asins komponentu savākšanas, testēšanas, apstrādes, uzglabāšanas un izplatīšanas kvalitātes un drošības standartiem