

Pacienta asins imūnhematoloģiskā izmeklēšana un recipienta un donora asins saderības testēšana

1. Vispārējā informācija

Tehnoloģijā aprakstīta pacientu imūnhematoloģiskās izmeklēšanas kārtība Latvijas ārstniecības iestādēs, kā arī recipienta un donora asins saderības testēšana, kuru veic pirms asins komponentu transfūzijas. Tehnoloģijā ietverta eritrocītu masas izvēle transfūzijai, tai skaitā tādām recipientu grupām kā jaundzimušie un recipienti ar alogēno cilmes šūnu transplantāciju. Pacientu imūnhematoloģiskās izmeklēšanas aprakstā ietverta gan pacientu rutīna imūnhematoloģiskas izmeklēšanas kārtība, gan rīcība gadījumos, kad paraugu izmeklēšanā konstatētas novirzes no normas. Tehnoloģijas aprakstā ietverta arī antieritrocitāro antivielu titrēšana grūtniecēm, kuru veic ar nolūku prognozēt jaundzimušo hemolītiskās slimības iespējamību un smagumu.

2. Asins paraugu sagatavošana, marķēšana, pieņemšana, reģistrēšana

- 2.1. Asins paraugu noņemšanai, sagatavošanai un uzglabāšanai ir izstrādāta dokumentēta procedūra.
- 2.2. Imūnhematoloģiskai izmeklēšanai noņem venozo asins paraugu bez antikoagulanta vai ar antikoagulantu EDTA.
- 2.3. Imūnhematoloģiskai izmeklēšanai, tai skaitā asins saderības testiem, izmanto asins paraugu, kas nav vecāks par 48 stundām no parauga sagatavošanas brīža.
 - 2.3.1 Ja asins paraugs izmantots asins saderības testu veikšanai, to drīkst izmantot atkārtoti diennakti pēc iepriekšējās asins saderības testēšanas.
- 2.4. Automatizētai imūnhematoloģiskai izmeklēšanai noņem asins paraugus ar antikoagulantu EDTA.
- 2.5. Asins paraugus pēc noņemšanas uz laboratoriju nogādā nekavējoties.
- 2.6. Asins saderības testiem noņem venozo asins paraugu bez antikoagulanta vai ar antikoagulantu EDTA.
- 2.7. Ja nepieciešams veikt asins imūnhematoloģisko izmeklēšanu un saderības testus, noņem 2 asins paraugus.
- 2.8. Ja pacientam jāizdara tikai asins saderības testi, bet pilna imūnhematoloģiskā izmeklēšana veikta jebkuras medicīnas iestādes laboratorijā, noņem vienu asins paraugu.
- 2.9. Paraugi nedrīkst būt izmantoti citu izmeklējumu veikšanai.
- 2.10. Paraugu pacienta klātbūtnē marķē persona, kas noņem asins paraugu.
- 2.11. Asins paraugu marķē atbilstoši noteiktām prasībām. Marķējumā norāda vismaz: pacienta vārdu, uzvārdu, personas kodu (jaundzimušajam-personas koda pirmo daļu), ABO asins grupu, parauga noņemšanas datumu un laiku.
 - 2.12. Asins parauga marķējumā norāda ABO grupu, ko nosaka pacienta klātbūtnē.
 - 2.12.1. Ja medicīnas iestādē (t.sk. paraugu noņemšanas vietā, laboratorijā utt.) izmanto vienotu elektronisku informācijas sistēmu (LIS) un ir izslēgta paraugu un pacientu sajaukšana, marķējumā ABO asins grupu drīkst nenorādīt.
 - 2.13. Paraugi no neatliekamās palīdzības/ uzņemšanas nodaļas var nebūt pilnībā marķēti, ja slimnieks ir bezsamaņā. Marķē saskaņā ar slimnīcā aprakstītu procedūru, norāda vismaz slimības vēstures numuru, dzimumu un datumu.
 - 2.14. Ir izstrādāta procedūra gadījumiem, ja laboratorijā tiek saņemti nepareizi marķēti vai nekvalitatīvi asins paraugi.
 - 2.15. Ja laboratorijā noteiktā asins grupa ABO sistēmā nesakrīt ar grupu parauga marķējumā, stobriņu noraida un pieprasa jaunu asins paraugu.

- 2.16. Saņemot asins paraugu laboratorijā, to vizuāli novērtē: hemolīzi, lipēmiju, leikocītu-trombocītu slāni, recekļu esamību paraugā ar antikoagulantu, asins daudzumu, plazmas (seruma)/eritrocītu attiecību. Novirzes no normas dokumentē un rīkojas atbilstoši izstrādātai procedūrai.
- 2.17. Paraugu reģistrē, piešķir unikālu laboratorijas numuru, kas var būt svītrkods.
- 2.18. Pirms paraugu izmeklēšanas salīdzina informāciju izmeklējumu pieprasījumā ar informāciju parauga marķējumā.
- 2.19. Iegūtos AB0/D un Rh-fenotipa izmeklēšanas rezultātus salīdzina ar iepriekšējiem, ja tie pieejami.
- 2.20. Ja nepieciešama asins paraugu transportēšana, nodrošina atbilstošus apstākļus.
- 2.21. Nosūtīšanai imūnhematoloģiskai izmeklēšanai uz specializētu laboratoriju sagatavo divus asins paraugus: vienu ar antikoagulantu EDTA, otru bez antikoagulanta.

3. Izmeklējumu pieprasījumi

- 3.1. Personāls, kas pieprasa nepieciešamos izmeklējumus, ir apmācīts un pilnvarots.
- 3.2. Asins paraugus uz laboratoriju nosūta kopā ar prasībām atbilstoši noformētu izmeklējumu pieprasījumu veidlapu:
- 3.2.1. Imūnhematoloģisko testu pieprasījuma forma satur vismaz sekojošu informāciju: pacienta vārds, uzvārds, dzimšanas dati, ABO asins grupa, diagnoze, parauga veids, parauga noņēmēja vārds un uzvārds, noņemšanas datums un laiks. Pieprasījumā norāda nepieciešamos izmeklējumus: ABO, Rh(D), Rh-Kell fenotips, antieritrocitāro antivielu skrīnings, tiešais antiglobulīna tests (DAT) u.c. Pieprasījumu paraksta ārsts, kas izmeklējumus pieprasījis.
- 3.2.2. Asins saderības testu pieprasījuma forma satur vismaz sekojošu informāciju: pacienta vārds, uzvārds, dzimšanas dati, ABO asins grupa, diagnoze, parauga veids, indikācijas transfūzijai, nepieciešamais eritrocītu masas (EM) daudzums, dati par iepriekšējām transfūzijām, transfūziju blaknēm un grūtniecībām, parauga noņēmēja vārds un uzvārds, noņemšanas datums un laiks. Pieprasījumu paraksta ārsts, kas izmeklējumus pieprasījis.
- 3.2.3. Pieprasījuma formu marķē ar paraugam piešķirto unikālo laboratorijas numuru.
- 3.3. Ir izstrādāta procedūra telefoniskiem asins saderības testu pieprasījumiem ar tiem sekojošu rakstveida pieprasījumu neatliekamās situācijās.
- 3.4. Telefonisku asins saderības testu pieprasījumu pieņem pilnvarota persona, kas dokumentē pacienta un testa pieprasītāja identitāti, nepieciešamo EM devu skaitu, pieprasījuma datumu un laiku.
- 3.5. Izmeklējumu pieprasījumus uzglabā noteiktu laiku.

4. Reaģenti

- 4.1. Izmeklēšanā izmanto CE marķētus reaģentus.
- 4.2. Reaģenti un to lietošana aprakstīta reaģentiem pievienotajā ražotāja lietošanas instrukcijā.
- 4.3. Reaģentu uzskaites sistēma nodrošina: reaģentu ražotāja, saņemšanas datuma, sērijas numura, derīguma termiņa, daudzuma, lietošanas uzsākšanas datuma, dokumentēšanu.
- 4.4. Saņemot reaģentus, novērtē sūtījuma un reaģentu atbilstību.
- 4.5. Ir reaģentu ražotāja liecības par reaģenta atbilstību kvalitātes prasībām.
- 4.6. Ir ziņas par specifitāti un reaktivitāti antivielas saturošiem reaģentiem.
- 4.7. Anti-D reaģents nedrīkst reaģēt ar D VI varianta eritrocītiem.
- 4.8. Monoklonālais anti - B reaģents nedrīkst reaģēt ar iegūto B antigēnu.
- 4.9. Reaģentus uzglabā un izmanto, ievērojot ražotāja instrukcijas, atbilstoši izstrādātiem izmeklēšanas metožu aprakstiem.
- 4.10. Kur noteikts, pielieto kontrolreaģentus.
- 4.11. Antivielas pret reto sistēmu antigēniem saturošus reaģentus pieļaujams izmantot ārpus ražotāja noteiktā derīguma termiņa, ja tiek veikta un dokumentēta šo reaģentu kvalitātes kontroles procedūra.
- 4.12. Katru dienu pirms darba, kā arī uzsākot jaunu izmeklējumu sēriju, izdara iekārtu, reaģentu un metožu iekšējās kvalitātes kontroles testus un dokumentē iegūtos rezultātus.
- 4.13. Ieviešot izmaiņas ražotāja paredzētajā reaģentu izmantošanā, izmeklēšanas procedūru validē.

5. Iekārtas un piederumi

5.1. Izmanto iekārtas, kuras atļautas izmantot Latvijā un Eiropas Savienības valstīs.

5.2. Laboratorijā nepieciešamas sekojošas iekārtas:

5.2.1. laboratorijas centrifūga asins paraugu sagatavošanai un izmeklēšanas procedūru veikšanai ar iespēju regulēt atbilstoši procedūrai nepieciešamo apgriezīgu skaitu un centrifugēšanas ilgumu;

5.2.2. speciālas (gelkaršu, mikroplašu) laboratorijas centrifūgas;

5.2.3. ledusskapji reaģentu un paraugu uzglabāšanai;

5.2.4. termostats izmeklēšanas procedūrā paredzētās inkubācijas temperatūras nodrošināšanai;

5.2.5. automatiskās un/vai elektroniskās pipetes ar regulējamu pilienu tilpumu;

5.2.6. taimeris;

5.2.7. datorsistēma, kas nodrošina laboratorijas informācijas sistēmas darbību;

5.2.8. automatizētas izmeklēšanas gadījumā - imūnhematoloģisks analizators, kas savienots ar laboratorijas informācijas sistēmu;

5.2.9. citas iekārtas laboratorijā izmantoto izmeklēšanas procedūru veikšanai.

5.3. Laboratorijā nepieciešami sekojoši piederumi: vienreizēji pipešu uzgaļi, plaknes, marķieri, konteineri bioloģiskā materiāla savākšanai, pastēra pipetes, irbulīši, un citi piederumi laboratorijā izmantoto izmeklēšanas procedūru veikšanai.

5.4. Iekārtas pēc instalācijas, pirms lietošanas uzsākšanas un pēc to remonta verificē, pārliecinoties par to spēju sniegt nepieciešamo izpildījumu.

5.5. Iekārtas lieto, pārbauda, kalibrē, veic to tehnisko apkopi un higiēnisko dezinfekciju saskaņā ar ražotāja instrukcijām.

5.6. Jebkuras novirzes no ražotāja instrukcijām iekārtu izmantošanā validē.

5.7. Par iekārtām uztur protokolus, kas ietver: iekārtu identifikāciju, ražotāja nosaukumu, modeli, sērijas numuru, piegādātāja kontaktinformāciju, lietošanas instrukciju, ziņas par iekārtu saņemšanas un lietošanas uzsākšanas datumu, atrašanās vietu, validāciju, apkopju, pārbaudi un kalibrēšanu plānus un ziņas par to izpildi, ziņas par iekārtu bojājumiem un remontiem.

5.8. Ar iekārtām strādā apmācīts un pilnvarots personāls.

5.9. Uztur licības par personāla apmācību darbam ar iekārtām.

6. Izmeklēšanas procedūras

6.1. Izmeklēšanā izmanto valstī apstiprinātas, validētas laboratoriskās izmeklēšanas procedūras.

6.2. Izmeklēšanas procedūras pirms to ieviešanas lietošanai laboratorijā verificē, apstiprinot, ka izmeklēšanas procedūrai izvirzītās prasības tiek pildītas.

6.3. Laboratorija validē nestandarta izmeklēšanas procedūras, laboratorijā izstrādātas izmeklēšanas procedūras vai modificējot validētas izmeklēšanas procedūras.

6.4. Izmeklēšanā stingri ievēro dokumentētus izmeklēšanas procedūru aprakstus.

6.5. Izmeklēšanas procedūru apraksti satur nepieciešamo informāciju atbilstoši medicīnas laboratoriju standartā noteiktām prasībām.

6.6. Izmeklēšanas procedūras periodiski pārskata.

6.7. Ar izmeklēšanas procedūrām strādā apmācīts un pilnvarots personāls.

7. Rezultātu protokolēšana, ziņošana un apstiprināšana

7.1. Manuālā izmeklēšanā iegūtos rezultātus protokolē nekavējoties izmeklēšanas procesa gaitā. Protokolā atspoguļo katra veiktā izmeklēšanas rezultātus un rezultātu interpretāciju. Protokolu paraksta izmeklējumu veikušā persona.

7.2. Manuālas izmeklēšanas rezultātus ievada datu informācijas sistēmā, lai nodrošinātu iegūto AB0/D un Rh -fenotipa izmeklēšanas rezultātu salīdzināšanu ar iepriekšējiem.

7.3. Ja iespējams, izmanto automatizētu izmeklēšanu, kas nodrošina elektronisku rezultātu pārvadi un samazina kļūdu rašanās iespējas.

7.4. Informācijas sistēmā ievadīto datu vākšanu, apstrādi, protokolēšanu, ziņošanu un uzglabāšanu veic atbilstoši medicīnas laboratoriju standartā noteiktām prasībām.

7.5. Izmeklēšanas rezultātu pārskats satur nepieciešamo informāciju atbilstoši noteiktām prasībām.

7.6. Izmeklēšanas rezultātus atspoguļo izmeklēšanas rezultātu pārskatā skaidri un nepārprotami;

7.7. Ja izmeklēšanas rezultāti tiek ziņoti telefoniski, jāuztur pieraksti par: zvanīšanas datumu un laiku, informācijas saņēmēju, telefoniski ziņotajiem rezultātiem, pacienta identifikāciju, rezultātu ziņotāju. Rezultātu nodošanu apliecina ziņotāja paraksts. Pārskatu izsniedz noteiktā kārtībā.

7.8. Izmeklēšanas rezultātu protokolus, un pārskatus uzglabā noteiktu laiku atbilstoši prasībām.

8. Medicīnas tehnoloģijas īss apraksts

8.1. ABO asins grupas noteikšana.

8.1.1. Pacienta klātbūtnē kapilārajā asins paraugā veic ABO noteikšanas tiešo reakciju, izmantojot anti- A un anti - B monoklonālos reaģentus, plaknes metodi. Ja medicīnas iestādē asins noņemšanas vietā un laboratorijā tiek izmantota vienota validēta elektroniskā pacientu identifikācijas sistēma un tiek izslēgta pacientu un paraugu sajaukšana, sk. p. 2.12.1.

8.1.2. Laboratorijā venozajā asins paraugā veic asins grupas noteikšanu ar dubultreakciju, izmantojot anti - A un anti - B monoklonālos reaģentus tiešajai reakcijai un A1 un B standarteritrocītus – apgrieztajai reakcijai.

8.1.3. Primāri noteiktās ABO asins grupas rezultātu salīdzina ar dubultreakcijas rezultātu un, ja ir iespējams, ar iepriekšējo izmeklēšanu rezultātiem.

8.1.4. Jebkuras rezultātu neatbilstības gadījumā ABO asins grupu neinterpretē.

8.1.5. Ja nesakrīt tiešās un apgrieztās reakcijas rezultāti, veic testus, kas palīdz atrisināt problēmu, vai pieprasa jaunu paraugu un nosūta izmeklēšanai uz specializētu laboratoriju.

8.1.5.1. Ja iztrūkst aglutinācija apgrieztajā reakcijā:

- pārbauda informāciju par pacientu, kas var izskaidrot iegūtos rezultātus: vecums, imūndeficīts, u.c.;
- atkārti apgrieztu reakciju, paaugstinot testa jutību: izmanto stobriņu vai gelkaršu metodi, zemāku inkubācijas temperatūru, izmaina plazmas/eritrocītu proporcionālo attiecību, izmanto enzīmu tehniku.

8.1.5.2. Ja konstatē negaidīti pozitīvu rezultātu apgrieztajā reakcijā:

- izmeklē uz auto - vai aloantivielu klātbūtni, kas aktīvas temperatūrā zem 37° C;
- veic apgrieztu reakciju 37° C;
- atkārti apgrieztu reakciju, izmantojot eritrocītus, kas nesatur antigēnus, kas atbilst identificētajām antivielām;
- ja ir aizdomas par anti-A1, pārbauda A2 vai vājākas apakšgrupas iespējamību, izmantojot lektīnus.

Konstatējot anti-A1, veic tā aktivitātes pārbaudi +37°C ar netiešo antiglobulīna testu (IAT), pielieto fizioloģiskā šķīduma aizvietošanas metodi.

8.1.5.3. Ja konstatē negaidīti pozitīvu rezultātu tiešajā reakcijā, tai skaitā, ja reaģenta negatīvā kontrole uzrāda pozitīvu rezultātu:

- pārbauda imūnglobulīnu esamību uz izmeklējamiem eritrocītiem, izmantojot DAT;
- atkārti testu, izmantojot citus reaģentus un metodes;
- izmanto metodes, kas samazina imūnglobulīnu daudzumu uz izmeklējamiem eritrocītiem, tai skaitā, atmazgāšanu ar siltu (37°C) fizioloģisko šķīdumu. Testu atkārti ar atbilstošām kontrolēm.

8.1.5.4. Ja konstatē negaidīti vāju vai jaukta lauka rezultātu tiešajā reakcijā:

- pārbauda informāciju par pacientu, kas var izskaidrot iegūtos rezultātus: nesena neidentiskas grupas EM transfūzija, hemopoētisko šūnu transplantācija u.c.;
- veic adsorbcijas/elūcijas testus.

8.1.6. Jaundzimušajiem ABO asins grupu nosaka, izmantojot vienīgi tiešo reakciju.

8.1.7. Jebkuru rezultātu nesakrītību atrisina pirms asins komponentu transfūzijas. Ja grupu neizdodas noteikt, transfūzijai iesaka izvēlēties 0 grupas EM.

8.1.8. Veic ABO asins grupas noteikšanas kvalitātes kontroles procedūru, ko iesaka reaģentu un iekārtas ražotājs.

8.1.9. Veicot kvalitātes kontroles testus, anti-A un anti-B reaģentiem jāuzrāda atbilstoši rezultāti ar 0, A1 un B standarteritrocītiem, standarteritrocītiem jāuzrāda atbilstoši rezultāti ar anti-A un anti-B reaģentiem.

8.2. Rh(D)- piederības, Rh fenotipa un K antigēna noteikšana.

8.2.1. Katru asins paraugu izmeklē, izmantojot divu klonu anti - D IgM monoklonālos reaģentus, kuri nenosaka DVI antigēnu.

8.2.2. Paralēli izmanto monoklonālo reaģentu negatīvo kontroli.

8.2.3. Pacientu asins paraugu izmeklēšanā neizmanto indirekto antiglobulīna testu.

8.2.4. Ja abu reaģentu rezultāti atšķiras - viens anti- D reaģents uzrāda pozitīvu rezultātu, otrs-negatīvu, iespējams parciāls D antigēns. Pacientu traktē kā Rh(D) - negatīvu, kamēr D piederība tiek precizēta.

8.2.5. Rh(D) piederības precizēšanai uz specializētu laboratoriju nosūta jaunu asins paraugu, bet asins pārļiešanai izmanto Rh(D) - negatīvu EM.

8.2.6. Parciāla D antigēna precizēšanai izmanto parciālā D antigēna noteikšanas paneli.

8.2.7. Ja anti-D reaģents uzrāda vāju rezultātu (1+), nosaka Rh-fenotipu. Ja Rh-fenotipā konstatē C antigēnu (CC, Cc), rezultātu traktē kā Rh(D) pozitīvu, ja C antigēns iztrūkst (cc), rezultātu traktē kā Rh(D) negatīvu.

8.2.8. Negaidīta jaukta lauka aglutinācija norāda uz Rh(D) - neidentisku Er pārļiešanu vai veiktu kaulu smadzeņu/ cilmes šūnu transplantāciju.

8.2.9. Jebkuru rezultātu nesakrītību atrisina pirms asins komponentu transfūzijas. Steidzamos gadījumos transfūzijām izmanto Rh(D)- negatīvu EM.

8.2.10. Ja iespējams, rezultātus salīdzina ar iepriekšējo izmeklēšanu rezultātiem.

8.2.11. Veic Rh(D)- piederības un Rh-fenotipa noteikšanas kvalitātes kontroles procedūru, ko iesaka reaģentu un iekārtas ražotājs.

8.2.12. Veicot kvalitātes kontroles testus, katrā izmeklējumā sērijā anti-D reaģentam jāuzrāda pozitīvs rezultāts ar CcDee eritrocītiem un negatīvs ar Ccdee vai ccdee eritrocītiem.

8.2.13. Rh-fenotipu un K antigēnu iesaka noteikt: meitenēm un sievietēm reproduktīvā vecumā pirms EM transfūzijas, pacientiem, kam nepieciešamas regulāras EM transfūzijas.

8.2.14. Rh-fenotipu un K antigēnu nosaka recipientiem, kuriem noteiktas jebkuras specifitātes antieritrocitāras antivielas, un kas ir antivielu identifikācijas procesa sastāvdaļa.

8.3. Antieritrocitāro antivielu skrīnings.

8.3.1. Antivielu skrīningu izdara savlaicīgi, lai pozitīva skrīninga rezultāta gadījumā, kas liecina par pacienta imunizāciju ar eritrocitāriem antigēniem, būtu iespējama saderīgu asins komponentu sagāde.

8.3.2. Antivielu skrīningu izdara ar vismaz 3 skrīninga eritrocītu paraugiem, pielietojot IAT; Aizliegts apvienot visus 3 eritrocītu paraugus vienā.

8.3.3. Pozitīva antivielu skrīninga gadījumā iesaka veikt autokontroli vai DAT. Ja autokontrolē vai DAT pozitīvs, iespējams, ka pacientam ir atklātas autoantivielas.

8.3.4. Pozitīva antivielu skrīninga gadījumā noņem jaunu asins paraugu un nosūta antieritrocitāro antivielu identificēšanai uz specializētu laboratoriju.

8.3.5. Ja pacientam, kuram iepriekš izsniegta sensibilizētas personas asins pase, antieritrocitāro antivielu skrīnings negatīvs, bet nepieciešama EM transfūzija:

- Rh-Kell sistēmā atbilstošu EM piemeklē uz vietas laboratorijā, ja iepriekš identificētās antivielas ir: anti-C,-c, -E, -e, -K, vai nosūta pacienta asins paraugu EM piemeklēšanai uz specializētu laboratoriju;

- nosūta pacienta asins paraugu EM piemeklēšanai uz specializētu laboratoriju, ja iepriekš identificētās pārējo sistēmu klīniski nozīmīgas antivielas.

8.3.6. Antivielu skrīninga rezultāts ir derīgs 72 stundas pēc EM transfūzijas, vai četras nedēļas, ja šajā laikā nav bijusi grūtniecība vai transfūzija. Ja pēc transfūzijas pagājušas 72 stundas un nepieciešama atkārtota EM transfūzija, antivielu skrīningu atkārtoti.

8.3.7. Antieritrocitāro antivielu skrīninga kvalitātes kontrolei izmanto kvalitātes kontroles procedūru, ko iesaka reaģentu un iekārtas ražotājs.

8.3.8. Katrā izmeklējumu sērijā pozitīvai kontrolei izmanto kontrolreāģentu anti-D IgG, kas satur antivielas vājā koncentrācijā (0,05 IU/ml vai zemāk), un negatīvai kontrolei- reāģentu, kas antivielas nesatur.

8.4. Antieritrocitāro antivienu identifikācija.

8.4.1. Visos gadījumos, kad pacientam konstatē pozitīvu antieritrocitāro antivienu skrīningu, veic to identifikāciju, lai nodrošinātu saderīgas eritrocītu masas izvēli transfūzijai.

8.4.2. Ja pacientam ir ziņas par aloimunizāciju, katram jaunam paraugam jāveic antivienu identifikācija (lai identificētu antivielas vai izslēgtu to esamību).

8.4.3. Veicot aloantivienu identifikāciju, nodrošina:

- aloantivienu specifitātes noteikšanu;
- identificētajām antivienu atbilstoša antigēna noteikšanu;
- saderīgas EM izvēli nepieciešamības gadījumā.

8.4.4. Ja antivienu specifitāte nav nosakāma, vai ja ir aizdomas par vairāku specifitāšu antivienu esamību serumā:

- veic pacienta eritrocītu fenotipizēšanu Rh - Kell sistēmā un paplašinātu fenotipizēšanu, nosakot: Cw,M,N,S,s,P1,Lea,Leb,Fya,Fyb,Jka,Jkb,,Lua,Lub vai vismaz Rh- Kell sistēmā un nosakot antigēnus Fya,Fyb,Jka,Jkb,S,s:

- izvēlas papildus metodes, papildus paneļus un atšķirīgu inkubācijas temperatūru;
- antivienu identifikācijai izmanto eritrocītus, kuru fenotips atbilst pacienta fenotipam, lai diferencētu antivienu maisījumu no antivienu pret bieži sastopamu antigēnu;
- izmanto aloadsorbcijas tehniku, lai apstiprinātu vairāku antivienu maisījumu.

8.4.5. Izmeklējot pacienta asins paraugu ar aizdomām par augsta titra zemas aviditātes (ATZA) antivienu esamību serumā:

- veic anti-Ch un anti-Rg antivienu neitralizēšanu ar pulētu AB grupas donoru plazmu pirms antivienu identificēšanas ar IAT;
- identifikācijai izmanto eritrocītus, kuriem iztrūkst antigēni pret ATZA antivienu.

Piezīme: ATZA ir: anti-Ch, -Rg, -Kna, McCa, -Yka, -Csa un -Sla, u.c. Parasti ATZA antivielas reaģē ar lielāko daļu identifikācijas paneļa eritrocītiem IAT, uzrādot dažādas aglutinācijas pakāpes ar dažādiem eritrocītiem;

8.4.6. Izmeklējot pacienta asins paraugu ar aizdomām par antivienu pret populācijā bieži sastopamu, jeb augstas frekvences antigēnu (AFA):

- noskaidro pacienta etnisko piederību;
- veic pacienta eritrocītu fenotipizēšanu Rh- Kell sistēmā un paplašinātu fenotipizēšanu, nosakot arī Cw, M,N,S,s,P1,Lea,Leb,Fya,Fyb,Jka,Jkb,,Lua,Lub antigēnus;
- tipizē pacienta eritrocītus, izmantojot antivielas pret AFA;
- nosūta pacienta asins paraugus identifikācijai uz starptautisku asins grupu references laboratoriju.

Piezīme: Parasti antivielas pret AFA reaģē ar visiem skrīninga un identifikācijas paneļa eritrocītiem IAT, uzrādot vienādu aglutinācijas pakāpi ar dažādiem eritrocītiem. Antivielas pret AFA ir: anti-k, -Lub, -Kpb, -Vel, -Coa, -Yta, -Fy3, -U un -Inb, u.c.

8.4.7. Izmeklējot pacienta asins paraugu ar aizdomām par antivienu pret populācijā reti sastopamu vai zemas frekvences antigēnu (ZFA):

- izmeklē pacienta plazmu ar identifikācijas paneļa eritrocītiem, kas satur ZFA;
- fenotipizē nesaderīgos donora eritrocītus, izmantojot antivielas pret ZFA;
- nosūta pacienta asins paraugus identifikācijai uz starptautisku asins grupu references laboratoriju.

Piezīme: Parasti antivielas pret ZFA tiek atklātas, veicot asins saderības testus, ja antieritrocitāro antivienu skrīnings ir negatīvs. Visbiežāk identificētās antivielas pret ZFA ir: anti-Kpa, -Wra un -Cob;

8.4.8. Izmeklējot pacienta asins paraugu ar aizdomām par autoantivienu, „apslēpto” aloantivienu konstatēšanai un identificēšanai:

- veic autoadsorbciju, izmantojot paša pacienta eritrocītus;

-veic aloadsorbciiju, izmantojot 2 vai 3 speciāli izvēlēti donora eritrocītu paraugus. Parasti izmanto ar enzīmiem apstrādātus donora eritrocītus, lai uzlabotu autoantivielu adsorbciiju.

Piezīme: Autoantivielas var būt cēlonis autoimūnai eritrocītu destrūkcijai, kā arī var būt klīniski labdabīgas. Jebkurā gadījumā antivielas var radīt problēmas pirmstransfūziju testēšanā gan pacienta eritrocītu dēļ, kas klāti ar imūnglobulīnu, gan panreaktīvu antivielu (reagējošu ar visiem identifikācijas paneļa eritrocītiem) dēļ pacienta plazmā.

8.4.9. Antieritrocitāro antivielu identifikācijā izmanto prasībām atbilstošus komerciālus eritrocītu paneļus un reaģentus eritrocītu fenotipizācijai klīniski svarīgās un retās antigēnu sistēmās: anti-Fya, anti-Fyb, anti-Jka, anti-Jkb, anti-M, anti-N, anti-S, anti-s, anti-Lea, anti-Leb, anti-Lua anti-Lub u.c. Izņēmuma gadījumos, ja nav pieejami komerciāli reaģenti, pieļaujams kā reaģentus izmantot laboratorijā iegūtus serumus un eritrocītus, paralēli lietojot pozitīvo un negatīvo reaģentu kontroli.

8.5. Recipienta un donora asins saderības testi.

8.5.1. Recipienta un donora asins saderības testus veic, izmantojot indirekto antiglobulīna testu, lai atklātu donora un recipienta asins nesaderību ABO u.c. klīniski nozīmīgās antigēnu sistēmās.

8.5.2. Asins saderības testu izdara laboratorijā, izmantojot recipienta venozo asins paraugu (serumu/plazmu) un donora asins paraugu (eritrocītus) no eritrocītu masas plastiskā maisa caurulītes segmenta.

8.5.3. Asins saderības testa procedūra ietver:

- recipienta un donora asinsgrupu pārbaudi ABO sistēmā ar anti-A un anti-B reaģentiem;
- recipienta un donora Rh(D)- piederības pārbaudi ar viena klona anti-D reaģentu;
- iegūto rezultātu salīdzināšanu ar iepriekšējiem izmeklēšanas rezultātiem;

Piezīme: Jāņem vērā, ka Rh(D)- piederība donoram asins sagatavošanas iestādē tiek precizēta ar IAT, kas atklāj ļoti vājus D un parciālu D variantus, tādēļ slimnīcas laboratorijā iegūtais D antigēna noteikšanas rezultāts var atšķirties: Rh(D) pozitīvai EM testa rezultāts var būt negatīvs;

- IAT asins saderības testu ar gēlkaršu metodi.

8.5.4. Paraugus asins saderības testiem marķē atbilstoši prasībām, sk. punktā 2.11.

8.5.5. Transfūzijai izvēlētais EM devas saderības marķējumā norāda vismaz: pacienta vārdu, uzvārdu, dzimšanas datus, ABO asins grupu un Rh(D) piederību, kā arī EM devas identifikācijas Nr., ABO asins grupu un Rh(D) piederību, saderības testu datumu un norādi „Eritrocītu masa saderīga”. Marķējumu paraksta (pievieno atšifrējumu) persona, kas veica testus.

8.5.6. Ja specializētā laboratorijā EM tiek piemeklēta pacientam ar polispecifiskām autoantivielām, seruma nespecifitāti un atsevišķos citos gadījumos, var būt neiespējami piemeklēt saderīgu EM. EM devas saderības marķējumā papildus norāda „Eritrocītu masa nesaderīga”.

8.5.7. Steidzamos gadījumos pēc vitālām indikācijām transfūzijai var tikt izsniegta nesaderināta EM. Šādas EM saderības marķējumā papildus norāda „Eritrocītu masa nav saderināta”. Pēc EM izsniegšanas laboratorija veic saderības testus atbilstoši noteiktajai kārtībai.

8.5.8. Asins paraugus, asins saderības testiem izmantotos donora plastiskā maisa caurulītes segmentus pēc izmeklēšanas uzglabā laboratorijā 5 dienas, ledusskapī, +2 - +8°C temperatūrā, lai būtu iespējams tos izmantot transfūzijas blakņu izmeklēšanā.

8.6. Eritrocītu masas izvēle transfūzijai.

8.6.1. Vienmēr, kad iespējams, recipientam izvēlas ABO/D identisku EM.

8.6.2. Ja ABO/D identiska EM nav pieejama:

- izmanto ABO saderīgu vai O grupas EM, ievērojot Rh(D) – saderību;
- Rh(D) - negatīviem recipientiem izvēlas vienīgi Rh(D) - negatīvu EM;
- AB grupas recipientiem ieteicama A vai B grupas EM, lai O grupas Er masas krājumus izmantotu lietderīgi.

8.6.3. Recipientiem ar klīniski nozīmīgām antieritrocitārām antivielām pret jebkuras sistēmas antigēniem izvēlas Rh-Kell sistēmā atbilstošu vai saderīgu, antigēnnegatīvu, IAT saderīgu EM. Šādu EM izvēlas arī tiem recipientiem, kam ir ziņas par antivielām anamnēzē, bet šobrīd antivielas ir zem seroloģiski nosakāma līmeņa.

8.6.4. Meitenēm un sievietēm reproduktīvā vecumā, pacientiem, kam nepieciešamas regulāras EM transfūzijas, iesaka izmantot Rh- Kell sistēmā identisku vai atbilstošu EM.

8.6.5. Recipientiem ar klīniski nenozīmīgām antivielām (kas nav aktīvas 37°C temperatūrā, piem. anti - A1), izvēlas IAT saderīgu EM.

8.6.6. Recipientiem ar autoantivielām izvēlas EM, kas pēc iespējas tuvāk atbilst fenotipam, lai pasargātu recipientu no iespējamās transfūziju reakcijas neidentificētu, „slēptu” aloantivielu dēļ un tālākas aloantivielu veidošanās;

8.6.7. Izvēloties EM pārļiešanai intrauterīni vai jaundzimušajam, priekšroku dod O grupas EM, ievērojot bērna Rh(D) piederību. Ja bērna un mātes asins grupas sakrīt, drīkst pārliet bērna grupai identisku EM. Ja jaundzimušajam ar A, B vai AB grupu transfūzijai izvēlas nevis O grupas, bet viņa grupai identisku EM, nepieciešama bērna seruma izmeklēšana uz mātes anti - A vai anti- B antivielu esamību, izmantojot IAT. Asins saderības testiem izmanto mātes asins serumu vai bērna asins serumu, ja mātes asinis nav pieejamas.

8.6.8. Izvēloties EM asins apmaiņai intrauterīni vai jaundzimušajam ar jaundzimušo hemolītisko slimību (JHS):

- ja JHS pamatā ir anti - D antivielas, bērna un mātes AB0 asinsgrupas nesakrīt, izvēlas O grupas Rh(D) – negatīvu EM un AB grupas plazmu. Ja bērna un mātes AB0 asins grupa sakrīt, izvēlas bērna grupas, Rh(D) - negatīvu EM;

- ja JHS pamatā ir citu (nevis anti - D) specifitāšu antivielas un bērna un mātes AB0 asinsgrupas nesakrīt, izvēlas O grupas, antigēnnegatīvu EM un AB grupas plazmu. Ja bērna un mātes AB0 asins grupa sakrīt, izvēlas bērna grupas antigēnnegatīvu EM;

- ja JHS pamatā ir ABO sistēmas antivielas, izvēlas O grupas, bērna Rh(D) piederības EM un AB grupas plazmu.

8.6.9. Izvēloties EM recipientiem, kuriem plānota alogēno cilmes šūnu transplantācija, pirms transplantācijas izvēlas recipienta ABO asins grupas un Rh(D) piederības EM.

8.6.10. Izvēloties EM alogēno cilmes šūnu transplantācijas gadījumā, recipientiem, kuriem veikta atšķirīgas ABO grupas šūnu transplantācija jāņem vērā, ka:

- pie lielās AB0 nesaderības (t. i O grupas recipients un A, B, vai AB grupas donora cilmes šūnas; A grupas recipients un B vai AB grupas donora cilmes šūnas, B grupas recipients un A vai AB grupas donora cilmes šūnas) recipienta asinsritē ir AB0 sistēmas aglutinīni pret korespondējošiem cilmes šūnu AB0 sistēmas antigēniem. Izvēlas recipienta ABO asins grupai identisku EM, kamēr pacienta DAT kļūst negatīvs un AB0 sistēmas antivielas pret donora antigēniem vairs nav atklājamas. Pārlej šūnu donora ABO grupas plazmu;

- pie mazās AB0 nesaderības (t.i. AB grupas recipients un O, A vai B grupas donora cilmes šūnas; A grupas recipients un O vai B grupas donora cilmes šūnas, B grupas recipients un O vai A grupas donora cilmes šūnas) recipientam ir AB0 sistēmas antigēni, kas var būt mērķis donora AB0 sistēmas antivielām vai jaunajām, recipienta producētajām, antivielām. Pārlej donora ABO asins grupas EM bez plazmas piejaukuma līdz recipienta paša antigēni nav nosakāmi;

- pie kombinētās AB0 nesaderības (t.i. B grupas recipients un A grupas donora cilmes šūnas, A grupas recipients un B grupas donora cilmes šūnas), O grupas eritrocītus pārlej tik ilgi, kamēr pacienta ABO antivielas pret transplantāta donora eritrocītu antigēniem vairs nav nosakāmas un DAT ir negatīvs.

8.6.11. Izvēloties EM alogēno cilmes šūnu transplantācijas gadījumā recipientiem, kuriem veikta atšķirīgas Rh(D) piederības šūnu transplantācija, Rh(D) - pozitīvam recipientam ar Rh(D) – negatīvu transplantātu izvēlas Rh(D) - negatīvus asins komponentus.

8.7. Antieritrocitāro antivielu tītrēšana.

8.7.1. Ja grūtniecei konstatēts pozitīvs antieritrocitāro antivielu skrīninga rezultāts pirmreizējā apmeklējuma reizē, veic antivielu identifikāciju un tītrēšanu.

8.7.1.1. Ja konstatētas anti-D, anti-c vai anti-K antivielas, atkārtotu antivielu identifikāciju veic katrā tītrēšanas reizē. Tītrēšanas intervāls: katras 4 nedēļas līdz 28. nedēļai, pēc tam – katras 2 nedēļas. Ja līdz 28. nedēļai novēro titra pieaugumu par divām pakāpēm, tītrē katras 2 nedēļas arī līdz 28. nedēļai.

8.7.1.2. Ja grūtniecei konstatētas citu specifitāšu antivielas (ne anti-D, anti-c vai anti-K), atkārtotu antivielu identifikāciju un titrēšanu veic 28.grūtniecības nedēļā vai ja nepieciešams, biežāk, pēc ārsta ieskatiem.

8.7.1.3. Ja grūtniecei konstatētas anti-Lea, anti-Leb vai anti-P1 antivielas, 28. grūtniecības nedēļā veic tikai antivielu identifikāciju, bet atkārtotu antivielu titrēšanu neveic, jo šīs antivielas neizraisa JHS.

8.7.2. Titrēšanai izmanto eritrocītus, uz kuriem antivielai atbilstošais antigēns atrodas vienā devā.

8.7.3. Titrēšanu veic, izmantojot IAT, gelkaršu metodi.

8.7.4. Ja titrēšana tiek veikta pirmo reizi, paralēli titrē references anti-D reaģentu.

8.7.5. Ja titrēšana tiek veikta atkārtoti, paralēli titrē iepriekšējā izmeklēšanas reizē sagatavoto seruma paraugu. Salīdzina abu titrēšanu rezultātus. Pieļaujama iepriekšējās titrēšanas rezultāta atšķirība par 1 titra pakāpi.

8.7.6. Seruma parauga atlikumu sasaldē pie -20°C un zemākā temperatūrā paralēlai titrēšanai nākošajā reizē.

8.8. Tiešais antiglobulīna tests (DAT).

DAT iesaka noteikt: iegūstot pozitīvu antieritrocitāro antivielu skrīninga rezultātu, jaundzimušo hemolītiskās slimības, autoimūnu hemolītisku anēmiju, transfūziju reakciju izmeklēšanas gadījumos, medikamentu izraisītu eritrocītu sensibilizācijas izmeklēšanai.

9. Informācija par ārstniecības personām, viņu vispārējo kvalifikāciju un papildus kvalifikāciju

9.1. Medicīnisko tehnoloģiju veic sertificēts laboratorijas ārsts, laboratorijas speciālists, transfuziologs vai biomedicīnas laborants pēc apmācības kursa imūnhematoloģijā.

9.2. Asins donora un recipienta identitātes, kā arī saderības testu rezultātu traktējumu pārbauda un protokolu un pārskatu paraksta laboratorijas ārsts, transfuziologs vai jebkuras citas specialitātes ārsts, kas ir apmācīts transfuzioloģijā un kuram pēdējo piecu gadu laikā apmācīt tiesīgs transfuziologs ir izsniedzis apliecinājumu par apmācību.

10. Informācija par telpām

10.1. Laboratorijas telpas atbilst un ir aprīkotas darba specifikai un normatīvajos aktos noteiktajām prasībām.

10.2. Laboratorijā tiek uzturēta kontrolēta vides temperatūra - $18-25^{\circ}\text{C}$, atbilstoši laboratorijā izmantoto izmeklēšanas procedūru prasībām.

11. Informācija par citām medicīniskām tehnoloģijām, kas nepieciešamas MT lietošanai

11.1. Tehnoloģijas realizēšanai izmanto valstī apstiprinātas imunoķīmiskas izoseroloģiskas laboratoriskās izmeklēšanas tehnoloģijas:

11.1.1. ABO asins grupas noteikšanai ar tiešo reakciju: La/IiS019; La/IiS020; La/IiS021; La/IiS022.

11.1.2 ABO asins grupas noteikšanai ar apgriezto reakciju: La/IiS024; La/IiS025; La/IiS026; La/IiS027.

11.1.3. A antigēna apakšgrupas noteikšanai: La/IiS013; La/IiS014; La/IiS015.

11.1.4. Rh(D)- piederības noteikšanai: La/IiS032; La/IiS033; La/IiS034; La/IiS035.

11.1.5. Rh fenotipa un K antigēna noteikšanai: La/IiS001; La/IiS002; La/IiS003; La/IiS004; La/IiS142; La/IiS143; La/IiS144; La/IiS145.

11.1.6. Antieritrocitāro antivielu skrīningam: La/IiS218; La/IiS219.

11.1.7. Antieritrocitāro antivielu identifikācijai: La/IiS225; La/IiS223.

11.1.8. Klīniski svarīgu antigēnu noteikšanai: La/IiS009; La/IiS010; La/IiS011; La/IiS012; La/IiS046; La/IiS047; La/IiS052; La/IiS053; La/IiS054; La/IiS055; La/IiS138; La/IiS139; La/IiS140; La/IiS141; La/IiS151; La/IiS152; La/IiS153; La/IiS154; La/IiS155; La/IiS156; La/IiS157; La/IiS158; La/IiS159; La/IiS160; La/IiS161; La/IiS162; La/IiS178; La/IiS179.

11.1.9. Recipienta un donora asins saderības testiem: La/IiS175; La/IiS177.

11.1.10. Antieritrocitāro antivielu titrēšanai: La/IiS167.

11.1.11. Tiešā antiglobulīna testa (DAT) noteikšanai un diferencēšanai: La/IiS134; La/IiS147; La/IiS133; La/IiS136; La/IiS146.

11.2. Ja nepieciešama asins komponentu transfūzija neatliekamās situācijās, veicot recipienta un donora asins saderības testus, ievēro MT 06-080 „Asins komponentu transfūzija”.

12. Laboratorijas kompetences pierādīšana

Laboratorija izstrādā dokumentētu procedūru savas kompetences pierādīšanai (ārējā kvalitātes kontrole vai starplaboratoriju salīdzinošā testēšana). Laboratorijas kompetenci vēlams pierādīt vismaz 2 reizes gadā.

Rīgā, 2016.gada 11.janvārī.

Direktore

I.Ozoliņa

Laboratoriju departamenta direktore

I.Sisene

VADC Imūnhematoloģijas laboratorijas ārste

G.Šmite

19.pielikums. MT 16-011