

Pregledni prispevek/Review article

IMUNOHEMATOLOŠKA OBRAVNAVA ŠKODLJIVIH NEŽELENIH UČINKOV TRANSFUZIJE KRVI

IMMUNOHEMATOLOGICAL EVALUATION OF TRANSFUSION REACTIONS

Marjeta Maček, Marjeta Potočnik, Irena Bricl, Matjaž Urbajs, Primož Rožman

Zavod RS za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

Prispelo 2004-02-13, sprejeto 2004-03-10; ZDRAV VESTN 2004; 73: Suppl. I: 101-4

Ključne besede: transfuzijske reakcije; identifikacija bolnika; imunska hemoliza; krvna skupina ABO; direktni antiglobulinski test; presejalno testiranje na eritrocitna protitelesa

Izveček – Izhodišča. Transfuziolog se odloči za obseg preiskovanja neželenega škodljivega učinka transfuzije na osnovi poročila o kliničnem poteku, ki ga poda lečeči zdravnik. Z imunohematološkimi preiskavami rutinsko preverjamo predvsem skladnost v eritrocitnih antigenih, redkeje pa v trombocitnih in levkocitnih antigenih. Obravnava prijavljenih neželenih škodljivih učinkov transfuzije zajema ponovno preverjanje identifikacije bolnika, izdane komponente in skladnosti v krvnih skupinah ABO med prejemnikom in dajalcem. Pri sumu na imunsko hemolizo napravimo iz vzorca krvi, odvzete po reakciji, direktni antiglobulinski test in presejalno testiranje na prisotnost eritrocitnih aloprotiteles. Z dodatnimi imunohematološkimi preiskavami nadaljujemo v primerih, ko je glede na simptome in znake reakcije ter dobljene izsledke imunska hemoliza verjetna.

Zaključki. Transfuziolog glede na klinični potek, odziv na zdravljenje in izsledke preverjanj in preiskav opredeli vrsto transfuzijske reakcije. Obravnavo zaključimo s pisnim obvestilom lečečemu zdravniku, ki vsebuje nadaljnja priporočila, ter poročilom o neželenem škodljivem učinku, namenjenem Službi za svetovanje uporabnikom krvnih komponent na Zavodu RS za transfuzijsko medicino. Opisani rutinski postopki obravnave nam omogočajo odkritje morebitnih napak v postopku transfuzije in so v pomoč pri opredelitvi vrste neželenega škodljivega učinka transfuzije.

Izhodišča

Transfuzija krvi v današnjem času predstavlja varen in učinkovit način zdravljenja. Večinoma poteka brez zapletov, v nekaterih primerih pa jo spremljajo škodljivi neželeni učinki transfuzije (transfuzijske reakcije). Ti so lahko posledica napak na katerikoli stopnji verige transfuzijskega procesa, bolnikovega imunskega odziva ali neimunskih zapletov transfuzije (1). Z njimi se ukvarja tako zdravstveno osebje ob bolniku, ki mora škodljiv neželeni učinek transfuzije prepoznati, ustrezno ukrepati in o njem poročati, kot tudi transfuziologi, ki prijavljene primere obravnavajo. Ti na osnovi poteka in odziva na zdravljenje ob upoštevanju izsledkov imunohematoloških in drugih preiskav opredelijo vrsto neželenega škodljivega učinka trans-

Key words: transfusion reactions; patient identification; immune haemolysis; ABO blood group; direct antiglobulin test; antibody screening

Abstract – Background. The decision, made by transfusion medicine specialist, for the extent of investigation of the transfusion reaction is based on the clinical course of transfusion reaction, reported by the patient's physician. Immuno-haematological tests are used for testing of compatibility in red blood cells antigen and rarely also in platelet and leucocyte antigens. Evaluation of reported transfusion reactions includes repeated checking of patient identification, of issued component and of the compatibility in ABO blood groups between the patient and the donors. In cases of suspected immune haemolysis, direct antiglobulin test and antibody screening is performed from the patient's post-transfusion sample of blood. Whenever, due to the signs and symptoms of transfusion reaction and the results of testing, immune haemolysis is possible, additional immuno-haematological tests are done.

Conclusions. Specialist of transfusion medicine determines the type of transfusion reaction regarding the clinical course, the response to the treatment and the results of checking and testing. The evaluation is finished with a report for the patient's physician with further instructions. In addition, a report for the Consulting Service for Blood Component Users in Blood Transfusion Centre of Slovenia is issued. Described routine procedures of evaluation help us in the detection of the possible mistakes in the transfusion process and in the determination of the type of transfusion reaction.

fuzije, predpišejo zdravljenje, priporočijo ukrepe za preprečevanje njihovega pojavljanja in o njih poročajo Službi za svetovanje uporabnikom krvnih komponent na Zavodu RS za transfuzijsko medicino.

Transfuzijske reakcije razvrščamo na različne načine. Glede na čas nastanka jih delimo na akutne (< 24 h od začetka transfuzije) in odložene (> 24 h), glede načina nastanka pa na imunske in neimunske. Na osnovi simptomov in znakov reakcije, prikazanih v razpredelnici 1, jih delimo na take, pri katerih je hemoliza eritrocitov zaradi protiteles možna, in tiste, kjer ni verjetna (2).

Razpr. 1. *Simptomi in znaki transfuzijskih reakcij, kadar je imunska hemoliza možna in kadar ni verjetna.*

Table 1. *Symptoms and transfusion reaction signs with possible/not probable immune hemolysis.*

Imunska hemoliza/ Immune hemolysis	
Je možna/ Possible	Ni verjetna/ Not probable
- Porast telesne temperature za $\geq 1^\circ\text{C}$ med ali v dveh urah po začetku transfuzije pri prej afebrilnem bolniku. Body temperature elevation of $\geq 1^\circ\text{C}$ during the course of the 2 hours in previously afebrile patient.	- Blag do zmeren porast telesne temperature brez drugih simptomov. Mild to moderate temperature elevation without other symptoms.
- Šok, hipotenzija, huda hrbtna bolečina ali pekoča bolečina na mestu infuzije. Shock, hypotension, severe back pain or smarting pain at the infusion site.	- Urtikarija in/ali srbenje brez drugih simptomov. Urticaria and/or itching without other symptoms.
- Pojav nenormalnih krvavitev (pomembno pri anesteziranih bolnikih). Uncontrollable bleedings (especially important with patients having anaesthesia).	- Znaki volumske preobremenitve brez drugih simptomov. Circulatory overload signs without other symptoms.
- Kateri koli znak razpada eritrocitov (npr. hemoglobinurija). Any sign of the erythrocyte disintegration (e.g. hemoglobinuria).	

Glede na klinični potek neželenega škodljivega učinka transfuzije se transfuziolog odloči za obseg preverjanja podatkov in imunohematoloških ter drugih laboratorijskih preiskav. Razširjeno preiskujemo primere, ko sumimo, da je prišlo do imunskega razpada eritrocitov. Kadar le-ta ni verjeten, nadaljnje preiskave niso potrebne. Z imunohematološkimi preiskavami rutinsko ugotavljamo neskladje v eritrocitnih antigenih med prejemnikom transfuzije krvi in krvodajalcem, v redkih primerih suma na posttransfuzijsko purpuro ali sindrom TRALI (angl. Transfusion-related acute lung injury) pa tudi v trombocitnih oz. levkocitnih antigenih. Druge laboratorijske preiskave priporočimo lečečemu zdravniku pri hemolitičnih reakcijah (spremljanje serumskega hemoglobina in hematokrita, indirektni in direktni bilirubin, hemoglobin in hemosiderin v urinu, haptoglobin, urea in kreatinin, testi hemostaze, število trombocitov), pri anafilaktičnih reakcijah in pri septičnih transfuzijskih reakcijah (mikrobiološke preiskave zaradi suma na bakterijsko onesnaženje krvnih komponent) (3).

Obravnavanje prijavljenih škodljivih neželenih učinkov transfuzije

V prispevku predstavljamo način obravnave neželenih škodljivih učinkov transfuzije na Zavodu RS za transfuzijsko medicino. Izpostavljene so imunohematološke preiskave, ki jih za opredelitev javljenih primerov najpogosteje uporabljamo. Želimo odgovoriti na osrednje vprašanje, ali je transfuzijska reakcija posledica imunske hemolize, intravaskularne ali ekstravaskularne.

Najprej zberemo podatke o bolniku (matični podatki, diagnoza, transfuzijska anamneza), o škodljivem neželenem učinku transfuzije krvi (datum, ura, vrsta simptomov in znakov, odziv na zdravljenje), o transfundirani komponenti (vrsta, starost, že dana prostornina) in zapišemo kontaktno osebo v bolnišnici. Vedno zaprosimo za vzorec bolnikove krvi, odvzet po transfuziji, in transfuzijski sistem brez igle z ostankom komponente. Izjemo pri tem predstavljajo alergijske reakcije, ki se kažejo izključno skozi simptomatiko (srbenje, izpuščaj, urtikarija). Nadaljnja obravnava transfuzijskih reakcij poteka stopenjsko.

1. V imunohematološkem laboratoriju takoj po prispetju vzorcev preverimo identifikacijo bolnika. Pregledamo skladnost

matičnih podatkov na vzorcih njegove krvi, odvzetih pred in po transfuzijski reakciji, na izdanem transfuzijskem izvidu in v računalniškem arhivu. Iz poročila lečečega zdravnika in izdanih izvidov oz. izdajnice preverimo, ali je bolnik v zadnjih 24 urah prejel zanj izdane komponente krvi. S temi postopki želimo odkriti napake pri jemanju vzorcev in identifikaciji bolnika ter napake pri predtransfuzijskem testiranju, izdaji krvnih komponent ali pri njihovem transfundiranju.

S pregledom prejšnjih določitev krvne skupine (KS) AB0 v računalniškem arhivu in s ponovnim določanjem KS AB0 bolnika iz vzorca krvi odvzetega po reakciji preverimo skladnost KS AB0 med bolnikom in dajalci. Zaradi neskladja KS AB0 se lahko razvije intravaskularna hemoliza, ki z visoko smrtnostjo sodi med najhujše škodljive neželene učinke transfuzije krvi (1, 4). Kadar simptomi in znaki škodljivega neželenega učinka transfuzije niso taki, da bi bila imunska hemoliza verjetna, z imunohematološkimi preiskavami ne nadaljujemo.

2. Kadar je imunski razpad eritrocitov možen, nadaljujemo s preiskovanjem. Makroskopsko ocenimo in primerjamo med sabo vidno hemolizo (vsebnost prostega hemoglobina) v centrifugiranih vzorcih krvi, odvzetih pred in po transfuzijski reakciji. Izsledok je pozitiven v primerih intravaskularne imunske hemolize ali pri neimunski hemolizi. Nato napravimo direktni antiglobulinski test (angl. Direct Coombs test: DCT) in presejalno testiranje na eritrocitna protitelesa (angl. Indirect Coombs test: ICT) iz vzorca krvi, odvzetega po reakciji. Z DCT ugotavljamo protitelesa (Pt), vezana na eritrocite, z ICT pa prosta, nepričakovana eritrocitna Pt v serumu bolnika. Če je DCT pozitiven, ga napravimo še iz vzorca pred reakcijo. Pozitiven oz. močnejši pozitiven DCT po reakciji lahko pomeni, da so se nepričakovana eritrocitna Pt bolnika vezala na transfundirane eritrocite dajalca, in kaže na ekstravaskularno hemolizo. Pri vrednotenju rezultatov je treba upoštevati, da je negativen DCT lahko posledica kompletne hemolize transfundiranih eritrocitov. Pozitiven ICT pomeni, da ima bolnik v serumu nepričakovana eritrocitna Pt. Le-ta lahko povzročijo imunske hemolize transfundiranih eritrocitov, če je na njih ustrezni antigen (Ag) (npr. v serumu bolnika Pt anti-K, na eritrocitih dajalca prisoten Ag K).

Kadar pri transfuzijski reakciji ne pride do zvečanja telesne temperature $\geq 1^\circ\text{C}$, mrzlice s tresenjem in/ali krčji, dihalne stiske, šoka, zvečanja pulza nad 120/min, spremembe diastolnega tlaka za $\geq 40\text{ mm Hg}$ in sistolnega za $\geq 30\text{ mm Hg}$, ter ni znakov hemolize v vzorcu krvi, odvzetem po reakciji, in v prvem vzorcu urina (ocenijo v bolnišnici) ter smo izključili neskladje med bolnikom in dajalcem v KS AB0, obenem pa sta DCT in ICT negativna, so hemolitični ali drugi resni škodljivi neželeni učinki transfuzije krvi najverjetneje izključeni. V primerih, ko so izpolnjeni vsi naštetni pogoji, nadaljnje preiskave niso potrebne.

3. Za razširjeno preiskovanje se odločimo v primerih, ko transfuzijsko reakcijo spremljajo resni simptomi in znaki (naštet v prejšnjem odstavku) ali smo ugotovili znake hemolize v prvem vzorcu urina oz. v vzorcu krvi, odvzetem po reakciji ali pa sta DCT in/ali ICT pozitivna (pred reakcijo pa sta bila negativna oz. DCT manj pozitiven). Za razlago pozitivnega DCT ali nastale hemolize zaradi neskladja v eritrocitnih Ag (AB0 in drugih) ponovno preverimo bolnikovo KS AB0 iz vzorca krvi, odvzetega pred reakcijo, in KS AB0 dajalca iz vrečke koncentriranih eritrocitov ali njenega segmenta. Ponovimo tudi navzkrižne preizkuse (NP), ki smo jih prvič napravili že pred izdajo enot koncentriranih eritrocitov. Z NP izključujemo neskladje med eritrociti transfundiranih enot in bolnikovim serumom. Uporabimo vzorec krvi, odvzet po reakciji. Po potrebi ugotavljamo nepričakovana Pt v bolnikovem serumu

iz vzorcev pred in po reakciji z določenimi testi, ki so občutljivejši od presejalnega ICT (npr. dodatek encima), in določamo specifičnost Pt. Če je DCT po reakciji pozitiven oz. bolj pozitiven kot pred reakcijo, pride v poštev tudi tehnika elucije, pri kateri z eritrocitov najprej odstranimo Pt, nato pa jim določamo specifičnost. Pri bolnikih z eritrocitnimi protitelesi določene specifičnosti ponovno preverimo ustrezne Ag na transfundiranih eritrocitih. V ciljanih primerih nadaljujemo z dodatnimi preiskavami (absorbicija Pt, neutralizacija Pt, titracija Pt, ugotavljanje hemolizinov anti-A in anti-B pri dajalcu, ICT in DCT dajalca, testiranje od zdravil odvisnih Pt idr.). Ostale preiskave za razjasnitev hemolitičnih transfuzijskih reakcij, kot so test polia glutinacije, Hamov test za diagnozo paroksizmalne nočne hemoglobinurije in Donath-Landsteinerjev test za diagnozo paroksizmalne hemoglobinurije zaradi ohladitev, pridejo v poštev v zelo redkih primerih (3, 5).

Negativni izsledki serološkega testiranja ne izključijo dokončno imunske hemolize, kažejo pa na verjetni neimunski vzrok. V takem slučaju pazljivo pregledamo vrnjeno komponento oz. pripadajoče segmente, da ugotovimo morebitne strdke, hemolizo, motnost oz. neprozornost in spremembo barve. Na enak način pregledamo vzorec krvi, odvzet iz vrečke. Preverimo tudi transfuzijski sistem in i.v. raztopine, ki so jih infundirali sočasno s transfuzijo krvi, ter pogoje hranjenja in prenosa krvnih komponent. Pri pregledu vrnjene komponente, ki je povzročila zaplet, smo pozorni tudi na spremembe, ki kažejo na morebitno bakterijsko onesnaženje komponente. Po potrebi pošljemo ustrezne vzorce na mikrobiološko testiranje.

Pri septičnih transfuzijskih reakcijah priporočimo mikrobiološko testiranje (barvanje po Gramu, kultura, ugotavljanje endotoksinov) vzorcev bolnika in sumljivih komponent krvi. Pri sumu na anafilaktično reakcijo (hiter začetek, dihalna stiska, slabost, bruhanje, šok, izguba zavesti) lečečemu zdravniku priporočimo določitev serumske koncentracije IgA in haptoglobina. Kadar sumimo na sindrom TRALI, ki se kaže kot akutna dihalna stiska z nastankom pljučnega edema običajno v 6 urah po transfuziji, če je izključeno srčno popuščanje, določimo granulocitna in limfocitna Pt pri dajalcih in bolniku (6). Za diagnozo posttransfuzijske purpore ugotavljamo specifična trombocitna protitelesa v serumu bolnika in iz genomske DNK z genotipizacijo določimo njegove antigene HPA.

Pri vseh obravnavanih primerih neželenih škodljivih učinkov transfuzije zapisujemo podatke o bolniku, krvnem pripravku, kliničnem poteku transfuzije, izsledkih preverjanj in preiskav, o vrsti škodljivega neželenega učinka transfuzije in priporočilih lečečemu zdravniku na poseben obrazec in v računalniški arhiv.

Opredelitev škodljivih neželenih učinkov transfuzije krvi

Transfuziolog opredeli vrsto transfuzijske reakcije na osnovi izsledkov preverjanj in preiskav ob upoštevanju transfuzijske anamneze, kliničnega poteka reakcije in odziva na morebitno takojšnje zdravljenje. Možne opredelitve transfuzijskih reakcij prikazuje razpredelnica 2.

Po opravljenih preiskavah poda transfuziolog lečečemu zdravniku mnenje, v katerem povzame potek, navede izsledke preiskav, opredeli vrsto neželenega škodljivega učinka transfuzije oz. njegovo povezanost s transfuzijo, priporoči ustrezno zdravljenje ter ukrepe za preprečevanje ponovnega pojavljanja, kot so strožje upoštevanje meril za transfuzijo, uporaba filtriranih, opranih ali obsevanih celičnih komponent, premedikacija, avtologni odvzem krvi, izbira posebnega dajalca in drugo. Kadar je potrebno, priporoči tudi nadaljnje klinično

Razpr. 2. Opredelitev transfuzijskih reakcij (7).

Table 2. Definition of transfusion-related reactions (7).

Transfuzijske reakcije / Transfusion reactions	
Akutne / Acute	
Imunske / Immune	Neimunske / Nonimmune
- hemolitična hemolytic	- hipotenzija ob uporabi inhibitorjev angiotenzinske konvertaze hypotensia when using inhibitors of the angiotensin conversion
- vročinska nehemolitična / mrzlica febrile nonhemolytic / shivers	- volumska preobremenitev circulatory overload
- alergična allergic	- hemolitična hemolytic
- anafilaktična anaphylactic	- septična septic
- sindrom TRALI TRALI syndrome	- zračna embolija air embolus
	- zapleti prehitre ali masivne transfuzije (hipotermija, citratna toksičnost, hiperkalemija, acidoza, itd.) complications related to too fast or massive transfusion (hypotermia, citrate toxicity, hyperkalemia, acidosis, etc.)
Odložene (imunske in neimunske) / Delayed (immune and nonimmune)	
- aloimunizacija na eritrocitne oz. antigene HPA, HNA ali HLA alloimmunisation	
- hemolitična hemolytic	
- bolezen presadka proti gostitelju transplant vs. host disease	
- potransfuzijska purpura posttransfusion purpura	
- imunomodulacija immunomodulation	
- preobremenitev z železom iron overload	

Katerakoli druga reakcija v zvezi s transfuzijo

Any other transfusion related reaction

Povezava s transfuzijo ni verjetna (posledica bolnikovega kliničnega stanja)

Relationship between transfusion and reaction not likely (result of patient's clinical condition)

spremljanje bolnika in laboratorijskih znakov hemolize ali svetuje dodatne preiskave (8).

Zaključek obravnave škodljivega neželenega učinka transfuzije

Z opisanimi rutinskimi postopki preverjamo, ali je neželeni škodljivi učinek transfuzije posledica morebitnih nepravilnosti, ki se lahko pojavijo na kateri koli stopnji v procesu transfuzije od vene do vene. Izključujemo možne napake pri odvzemanju bolnikovih vzorcev krvi in naročanju, napake v transfuzijski ustanovi kot tudi najpogostejše napake, ko se bolnikom transfundirajo napačne komponente (1). S ponovnim določanjem KS izključujemo neskladje v AB0 med dajalcem in prejemnikom, ki lahko zaradi akutne intravaskularne hemolize povzroči enega najhujših neželenih škodljivih učinkov transfuzije z možnim smrtnim izidom (1, 4). Z imunohematološkimi preiskavami nadaljujemo v vseh primerih, pri katerih je glede na klinični potek imunska hemoliza eritrocitov verjetna. Dodatne preiskave pridejo v poštev predvsem pri drugih resnih transfuzijskih reakcijah, kot so septične in anafilaktične transfuzijske reakcije ter sindrom TRALI. Kadar obstaja močan klinični sum, da so bolnikovi simptomi povezani s transfuzijo krvi, z negativnimi izsledki preiskav ne moremo dokončno izključiti transfuzijske reakcije.

Obravnavo zaključimo s Poročilom o neželenem škodljivem učinku transfuzije, ki jih zbiramo v Službi za svetovanje uporabnikom krvnih komponent na Zavodu RS za transfuzijsko medicino (9).

Literatura

1. Love EM, Soldan K, Jones H et al. Serious hazards of transfusion (SHOT) Annual report 2000–2001; 35–50.
2. Issitt PD, Path FRC, FIBMS, Biol Fl. Applied blood group serology. 4th ed. Durham: Montgomery Scientific Publications, 1998: 929–31.
3. Guidelines for the laboratory evaluation of transfusion reactions. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2003: 1–9.
4. Sazama K. Reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. *Transfusion* 1990; 30: 583–90.
5. Davenport RD. Hemolytic transfusion reactions. In: Popovsky MA. *Transfusion reactions*. 2nd ed. Bethesda: AABB Press, 2001: 1–19.
6. Engelfriet CP, Reesink HW, Brand A et al. Transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Vox Sang* 2001; 81: 269–83.
7. Brecher ME. *Technical Manual*. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2002: 586–9.
8. Potočnik M. Report on clinical transfusion practice and haemovigilance in Slovenia. Proceedings of the ESTM residential course: Basic clinical and organisational requirements for an effective haemovigilance, Sofia, 28.–30. 11. 2002; Sofia: ESTM, 2002: 175–6.
9. Pravilnik o vsebini vodene dokumentacije o uporabi krvi, krvnih pripravkov in zdravil iz krvi, vključno z biotehnoškimi nadomestki za kri. Uradni list RS, 18. 7. 2003, št. 70; 10817–8.