

K OTÁZCE BEZPEČNOSTI PŘEDTRANSFÚZNÍHO VYŠETŘOVÁNÍ

Major MUDr. Jiří VORLICKÝ, plukovník MUDr. Evžen SKALA, CSc.

Transfúzní oddělení Ústřední vojenské nemocnice

(náčelník plk. MUDr. Evžen Skala, CSc.)

Počet reakcí po transfúzích se v ČSSR pohyboval v počátcích transfúzní služby kolem 5 %, ale velmi rychle došlo k poklesu na 0,5 % a udávaná procenta za posledních 15 let se pohybují kolem této hodnoty. Počet reakcí v ÚVN se mnoho neliší od celostátního průměru. Předtransfúzními vyšetřeními a zkouškami se snažíme reakcím po transfúzích zabránit.

Současný postup při předtransfúzním vyšetření lze stručně charakterizovat takto:

1. Určení krevní skupiny

Provádíme je ze vzorku krve označeného na zkumavce celým jménem nemocného a oddělením. Je zakázáno téhož vzorku použít pro jiné předtransfúzní vyšetření. Výjimkou může být pouze vyšetření krevní skupiny a křížového pokusu „statim“, kdy možnost záměny vzorků na oddělení lze vyloučit. Tím se snažíme předejít nejčastější příčině hemolytických reakcí, totiž záměně vzorků krve. Po celá léta je v ČSSR takto zaviněno přes 90 % těžkých hemolytických reakcí. Stejně zkušenosti jsou v cizině (9).

2. Zkouška kompatibility (křížový pokus)

Běžné provedení ve 2 řadách s mikroskopickým odečítáním nezachycuje všechny vyskytující se protilátky. Ale ani použití nepřímého Coombsova testu nebo enzymových testů nelze považovat za zcela spolehlivé. Proto bylo již v roce 1961 navrženo používat současně obou těchto metod k snížení výskytu falešně negativních výsledků (7).

3. Kontrola dokumentace před transfúzí na oddělení

Lékař provádějící transfúzi je povinen zkontrolovat v chorobopise krevní skupinu nemocného z jiného dokladu, než je žádanka na krev, a potom zkontrolovat označení konzervy a návěsky na konzervě a dokumentaci o provedení křížového pokusu.

4. Zajišťovací zkouška

Výhodou zajišťovací zkoušky je to, že k ní získáváme krev od příjemce přímo na lůžku nebo operačním sálem a krev konzervy přímo z transfúzní soupravy. Vylučujeme tak prakticky záměnu vzorků krve nemocných, krevních konzerv nebo pilotních zkumavek konzerv. Mezi další výhody této zkoušky počítáme rychlost, nenároč-

nost na vybavení a v neposlední řadě i levnost. Mezi nevýhody této zkoušky patří nestandardní technika, improvizované prostředí, časté provádění nedostatečně zkušeným pracovníkem a v neposlední řadě často špatné světelné podmínky při odečítání jejího výsledku. Nestandardnost techniky a z toho vyplývající obtíže při hodnocení vedla až k názorům na zbytečnost této zkoušky. Lékaři přicházející do styku s krevními převody však touto zkouškou mohli odhalit eventuální záměny a negativní výsledek do jisté míry kryl lékaře i právně. U nás se zabýval otázkou zajišťovací zkoušky Hrubíško s Mer-gancovou (1). Během posledních let bylo v zahraničí i u nás navrženo nahradit zajišťovací zkoušku určením základní krevní skupiny u lůžka nemocného. Otázka kontaminace sér na odděleních byla v poslední době vyřešena i u nás výrobou malých kapacit lahviček z umělé hmoty. Výnos MZd zatím ponechává pro přechodnou dobu na volbě, který způsob zajišťovací zkoušky chtějí zdravotnická zařízení provádět.

5. Biologický pokus

Dvakrát po sobě rychle převedené malé stoupající množství krve, které se doporučuje provádět nejen při aplikaci krve, ale i při aplikaci plazmy, je významným faktorem v zajišťování bezpečnosti transfúze, protože je vlastně jediným testem „in vivo“. Přispívá i k odhalení bakteriální kontaminace krve, která je v současné době druhou nejčastější příčinou těžkých potransfúzních reakcí. Od této zkoušky je možno ustoupit pouze v případě nebezpečí z prodlení. Málo řekne ve stavech, kdy centrální nervový systém příjemce je ve stavu hlubokého útlumu (anestézie). V takovém případě stoupá význam ostatních stupňů předtransfúzního vyšetření.

Z toho, co bylo řečeno, vyplývá, že otevřené problémy jsou ve 2. a 4. stupni. Snažili jsme se přispět k řešení těchto otázek.

Především jsme zavedli rutinní používání enzymových testů do zkoušky kompatibility před transfúzí. Bylo třeba však nejdříve stanovit optimální postup. V úvahu přicházely v literatuře nejčastěji uváděné enzymy — trypsin, papain, bromelin a ficin. Pro nedostupnost kvalitního bromelinu zkoušeli jsme pouze ficin, papain a trypsin.

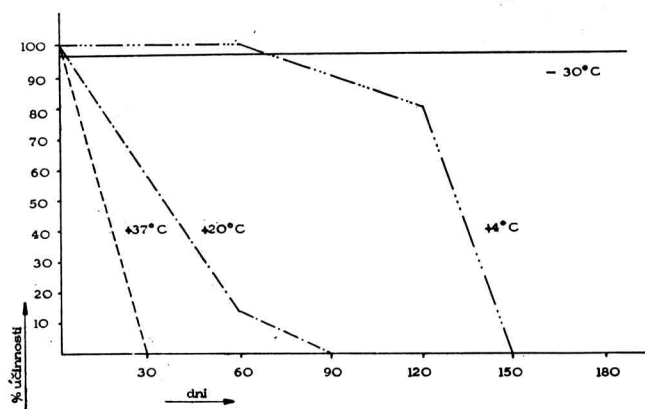
Nejdříve jsme studovali ficin a trypsin. Abychom porovnali účinnost ficinu a trypsinu v zá-

vislosti na způsobu přípravy pracovního roztoku enzymu, připravili jsme několik druhů roztoků, lišících se molaritou a hodnotou pH pufru a druhem antiseptika. Použili jsme vždy 1% roztoku enzymů. Po 3 týdnech jsme provedli kontrolu účinnosti testem navrženým Pirofským (6) za použití vhodně naředěného séra anti-D.

Vzorky roztoku trypsinu byly podstatně méně účinné než roztoky ficinu. U ficinu bylo možno pozorovat vliv složení roztoku na účinnost. Účinnost stoupala se stoupajícím pH a molaritou.

Graf. 1

Vliv délky skladování při různých teplotách na účinnost ficinu



tou roztoku. Z antiseptik byl merthiolát poněkud lepší než azid sodný. Dále jsme zkoušeli papain, protože je u nás dostupnější než ficin. Při přípravě aktivovaného papainu (cysteinem podle Löwa) docházelo i při uložení v lednici k rychlému poklesu účinku. Bez aktivace byl papain neúčinný. Abychom měli přesný obraz změn během skladování, vyrobili jsme 1% roztok ficinu s přidáním 7,5 ml/100 ml pufru (Tris pufr pH 6,5, merthiolát 1:10 000). Takto připravený roztok jsme uložili při různých teplotách a po měsíci vždy kontrolovali. Výsledky jsou na grafu 1.

Tab. 1

Účinnost zkoušených typů ficinového reagens po 21denním skladování při 4 °C

Ředění séra anti - D		4	8	16	32	64	128
1 % ficin	25% glycerin	+++	+++	+++	+++	++	+
	25% rheodextran	+++	+++	+++	+++	++	+
	50% pufr bez antiseptika	+++	+++	+++	+++	++	+
	25% rheodextran	+++	+++	+++	+++	++	+
	75% pufr bez antiseptika	+++	+++	+++	+++	++	+
	100% pufr bez antiseptika	+++	+++	+++	+++	++	+

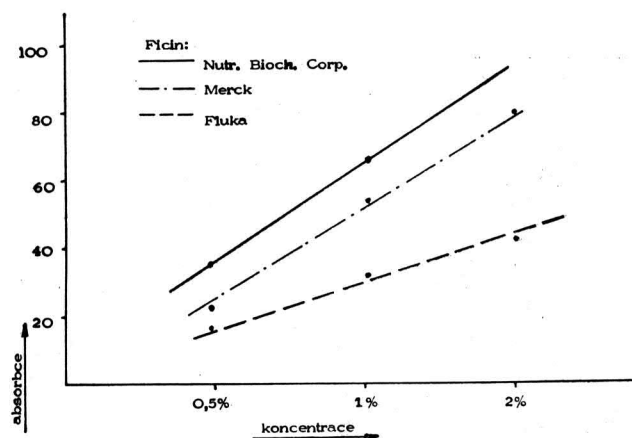
*) kys. epsilonaminokapronová, kys. para-aminomethylbenzoová, kys. para-aminomethylcyklohexankarbonová

Přidání inhibitorů proteolytických enzymů (EAC, PAMBA, AMCA)* dobu skladovatelnosti neovlivnilo. Kladného výsledku jsme dosáhli přidáním glycerinu a rheodextranu (tab. 1). Přidání cysteinu k ficinu zrušilo účinnost roztoku.

Pro praktické použití enzymatických testů je důležité zjištění výskytu falešně negativních výsledků způsobených inhibitory enzymů, obsažených v séru některých lidí (4). Dále pak vliv použití krvinek delší dobu skladovaných. Při vyšetření 70 sér jsme nenalezli nikdy inhibici ve ficinovém testu. Rovněž nebylo rozdílu při použití krvinek čerstvých nebo skladovaných 3 týdny při teplotě 4 °C. Při zjišťování zachytivosti různých erytrocytárních antigenů se nám podařilo zachytit všechny běžné antigeny systému Rh, dále k, P, MN. Nepodařilo se nám zachytit Fy, K, sS. Snažili jsme se dále porovnat sérologickou účinnost ficinu s proteolytickou účinností ficinu na kasein. Došli jsme k závěru, že biochemické výsledky nám dávají jen velmi hrubý obraz o sérologické účinnosti a při přidání cysteinu k enzymu nelze biochemické metody použít vůbec. Rovněž porovnání účinnosti 3 vzorků ficinu od různých výrobců metodou biochemickou ukázalo značné rozdíly (graf 2), ale sé-

Graf 2

Proteolytická účinnost 3 druhů ficinů (substrát kasein)



rologické výsledky byly u všech 3 druhů ficinu stejné.

Na základě našich pokusů považujeme za nejvýhodnější používat roztoku ficinu. Papain pro složitější přípravu s nutností aktivace a poměrně rychlý pokles účinnosti i při skladování v lednici se nám nezdál vhodný. Rovněž trypsin považujeme za méně vhodný pro rychlejší pokles účinnosti během skladování a možnosti výskytu inhibitorů v séru příjemce (v našich pokusech jedenkrát ze 70 vyšetření). To souhlasí s údaji většiny autorů. Přestože jsme zavedli ficinový test do rutinní práce, nepovažujeme jej za optimální a jsme si vědomi nebezpečí vyplývajících nikoliv ze stupně citlivosti, ale z užší zachytivosti. Na druhé straně oceňujeme pohotovost enzymatických testů, které

nám umožňují provést křížový pokus během 5 minut jednostupňovou technikou podle Pirofského (6), a Májského (5). Mechanismus sérologické aktivity enzymů je zatím nejasný a odkazujeme zde na některé novější zahraniční práce (2,3,8).

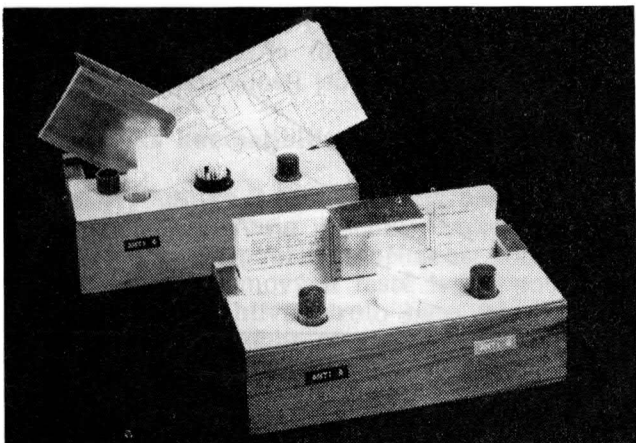
Druhým úkolem bylo připravit po technické stránce přechod z nespolehlivé zajišťovací zkoušky na určování základní krevní skupiny u lůžka nemocného. Bylo třeba důsledně respektovat personální, odborné i časové předpoklady pro spolehlivé rutinní vyšetření krevní skupiny v celém ústavu. Na obrázku č. 1 je pohotovostní stojánek pro určování základní krevní skupiny u lůžka nemocného, který se dobře osvědčuje**.

Toto vyšetření je poněkud dražší, časově jen málo náročnější, ale tyto nevýhody jsou plně vyváženy jednoznačností výsledků a možností jeho trvalého uchování.

Nejde zde jen o vyloučení falešně negativních výsledků (nízký titr aglutininů v séru příjemce), ale i o vyloučení falešně pozitivních výsledků dřívější zajišťovací zkoušky (urychlená aglomerace erytrocytů u řady chorobných stavů, použití skupiny O jako „universálního dárce“ při nebezpečí z prodlení).

Obr. 1

Souprava k určování základní krevní skupiny u lůžka nemocného



** Předtištěné lístky jsou již skladovým tiskopisem.

Závěr

V současné době máme odborné i materiální předpoklady spolehlivě předejít všem vážnějším potransfúzním reakcím, způsobeným krevní inkompatibilitou. Záleží na příslušných pracovnících, aby této možnosti skutečně využívali a uvědomili si, že opomíjení kteréhokoli stupně tohoto zajištění podstatně sníží bezpečnost transfúze krve.

Souhrn

V článku jsou stručně uvedeny současné názory na racionální systém opatření směřujících k bezpečnosti krevního převodu. Sděleny výsledky vlastních pokusů, které vedly k návrhu receptury enzymového reagensu pro zkoušky kompatibility před krevním převodem. Popsána vlastní souprava k rychlému určování základní krevní skupiny u lůžka nemocného.

Literatura

1. Hrubíško, M.: Mergancová, O.: K otázce vykonávania tzv. zaistovacej skúšky pred transfúziou krvi. Rozhl. chir. 42, 1963, 5:345-347.
2. Hughes — Jones, N. C., Polley, M. J., Telford, R., Gardner, B., Kleinschmidt, G.: Optimal conditions for detecting blood group antibodies by the antiglobulin test. Vox Sanguinis 9, 1964, 4:385 — 395.
3. Hummel, K., Leopold, E., Hein, R.: Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der Ferment-Konglutinationsteste zum Nachweis inkompletter Hämagglutinine. Z. Immun. Forsch., 130, 1966, 4:398-431.
4. Kulhánek, V., Májský, A.: Proteinase — Inhibitoren in menschlichen Serum — die Ursache des Prozone — Phänomens beim Bromelintest nach Pirofsky. Z. Immun. Forsch. 128, 1965, 72-80.
5. Májský, A.: Určování Rh za přítomnosti trypsinu v séru. Prakt. Léč. 40, 1960, 14:652.
6. Pirofsky, B., Mangum, M. E.: Use of bromelain to demonstrate erythrocyte antibodies. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 101, 1959, 1:49—52.
7. Pirofsky, B., Nelson, H., Imel, T., Cordova, N.: The present status of the antiglobulin and bromelain tests in demonstrating erythrocyte antibodies. Amer. J. Clin. Path. 36, 1961, 6: 492-499.
8. Prager, M. D., Fletcher, M. A., Efron, K.: Mechanism of the immunohematologic effect of papain and related enzymes. J. Immunol. 89, 1962, 6:834-840.
9. Rudovskij, V., Šarf, R., Šir, Ju.: Risk i osložněníja, vozniakajušcie pri perelivanií krovi. Probl. Gemat. 14, 1969, 1:11-13.

Práce uveřejněné v tomto čísle Vojenských zdravotnických listů byly předneseny na 4. vědecké konferenci anesteziologického a resuscitačního oddělení Ústřední vojenské nemocnice, uspořádané při příležitosti dvacetiletého trvání jejího anesteziologického a resuscitačního oddělení v součinnosti s Československou společností anesteziologie a resuscitace.