proLékaře.cz | 6.9.2025

DOPORUČENÍ SPOLEČNOSTI PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ ČLS JEP
Č. STL2012_09 ZE DNE 19. 04. 2012

IMUNOHEMATOLOGICKÁ VYŠETŘENÍ DÁRCŮ KRVE A KREVNÍCH SLOŽEK

1 Obecná doporučení

1.1 Zásady vyšetření

1.1.1 Závazná imunohematologická vyšetření dárců krve a jejích složek stanovuje vyhláška č. 143/2008 Sb. (v platném znění). Jsou to: vyšetření krevní skupiny AB0, RhD, screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům (dále jen „screening protilátek“). Tato vyšetření se neprovádějí u suroviny pro další výrobu, nejsou-li taková vyšetření zpracovatelem požadována.
1.1.2 U každého dárce plné krve a trombocytů z aferézy se stanoví Rh fenotyp (C, c, E, e) a antigen Kell. V případě nálezu Kell pozitivity se vyšetřuje i antigen Cellano.
1.1.3 U předoperačního **autologního** odběru se imunohematologická vyšetření uvedená v odstavci 1.1.1 provádějí alespoň jedenkrát v každé sérii odběrů pro plánovaný léčebný výkon, krevní skupina AB0, RhD u každého odběru.
1.1.4 Imunohematologická vyšetření dárců krve a jejích složek tvoří součást kritérií pro propuštění transfuzních přípravků pro léčebné použití a suroviny pro další výrobu a provádějí se při každém odběru. Screeningová vyšetření se provádějí v zařízení transfuzní služby (ZTS) nebo ve smluvní laboratoři, a to přiměřeně citlivými specifickými testy a metodikami.

1.2 Přístroje a diagnostika

Postupuje se podle doporučení STL2011_07.

1.3 Krevní vzorky

1.3.1 Typ
K testování se používá **přednostně nesrážlivá** krev dárce. Pro odběr nesrážlivé krve je vhodné použít jako protisrážlivé přísady **EDTA** (chelatonan).
1.3.2 Odběr a značení
Vzorky se odeberou v den darování krve nebo její složky.
Zkumavka pro odběr krevního vzorku se předem označí číslem daného odběru v podobě čárového kódu a čitelného čísla.

Doporučená maximální doba uchovávání vzorků před jejich vyšetřením (viz doporučení STL2011_07)

	18–25 °C	2–8 °C	≤ -20 °C
EDTA plná krev	do 12 hodin	do 7 dní	nelze
Separovaná plazma/sérum	nevhodné	do 7 dní	6 měsíců

1.3.3 Skladování
Před vyšetřením se vzorky uchovávají za vhodných podmínek (skladovací teplota, doba uchovávání) způsobem stanoveným ve vnitřní předpisové dokumentaci.

1.3.4 Vizuální kontrola
U vzorku se před jeho použitím k imunohematologickému vyšetření kontroluje přítomnost hemolýzy, chylozity, sraženiny (pokud se nejedná o srážlivý vzorek), jeho objem, poměr krvinek a plazmy (séra).

1.4 Dokumentace

1.4.1 Primární dokumentace obsahuje:
- identifikaci vzorku (číslo odběru),
- výsledek každého testu (pozitivní, negativní, event. síla reakce),
- hodnocení výsledku (krevní skupina, specifita protilátky apod.).

Výsledky se zaznamenávají přednostně elektronicky (pomocí personálního počítače přímo z analyzátoru).
Je nutná dohledatelnost výsledku vyšetření každého vzorku včetně kontrol, názvu a čísla šarže diagnostika a identifikace pracovníka, který vyšetření provedl a kontroloval.
Jakékoliv odchylky od běžného postupu musí být dokumentovány.
1.4.2 Sekundární dokumentace
Výsledková zpráva – vychází z primární dokumentace a obsahuje výsledné hodnocení daného vyšetření (obvykle se k danému odběru kumulují všechny výsledky vyšetření do souhrnné výsledkové zprávy). Výsledkovou zprávu autorizuje oprávněná osoba.
1.4.3. Elektronický přenos dat
Přenos dat mezi dvěma různými softwarovými programy, stejně jako přenos dat mezi automatizovanými laboratorními zařízeními a informačními systémy, musí probíhat validovaným způsobem, tak aby bylo zajištěno, že nemůže dojít k chybnému přiřazení dat k danému odběru či ke zkreslení dat.

proLékaře.cz | 6.9.2025

Manuální zadávání dat v rutinním provozu se nedoporučuje. Při ručním zadávání dat do informačního systému (např. z důvodu poruchy elektronického přenosu) musí následovat kontrola správnosti vložených dat.

1.4.4. Archivace

Primární i sekundární dokumentace se uchovává v tištěné podobě po dobu 15 let.

1.5 Řízení neshod

Každá laboratoř má vypracován systém řízení neshod.
V případě automatického vyšetřování musí mít každé pracoviště jasně definován záložní manuální postup.

1.6 Vnitřní audity a externí hodnocení kvality

Laboratoř má mít zaveden systém pravidelných vnitřních auditů.
Laboratoř se musí účastnit nejméně 2x ročně systému externího hodnocení kvality v imunohematologických metodách, které dané pracoviště používá.

1.7 Personál

V laboratoři má existovat dokumentovaný program vzdělávání a tréninku příslušných pracovníků v používaných imunohematologických metodách.

2 Postupy

2.1 Obecně

2.1.1 Postupuje se podle doporučení STL2011_07.

2.1.2 Nezávislý vzorek – definice

Za nezávislé vzorky lze považovat např. krevní vzorek odebraný před odběrem pro vyšetření krevního obrazu a/nebo krevní vzorek odebraný při vlastním odběru např. z přídatného váčku odběrové soupravy a/nebo segment hadičky spojené s transfuzní soupravou / transfuzním přípravkem.

2.2 Stanovení AB0 a antigenu D (AB0, RhD)

2.2.1 AB0

2.2.1.1 Noví dárci

Vyšetření se provádí 2x, ze dvou nezávislých vzorků („nezávislý vzorek“ viz odstavec 2.1.2). Alespoň jedno vyšetření musí zahrnovat stanovení antigenů erytrocytů i stanovení protilátek proti nim.

Minimálně: diagnostická séra anti-A a anti-B, diagnostické erytrocyty A_1 a B.

Druhé vyšetření AB0 může zahrnovat pouze určení antigenů.

Rutinní stanovení podskupiny A, AB se nevyžaduje. Pokud se stanovení podskupiny A, AB stanovuje, pak se doporučuje kontrolní druhé vyšetření při následném odběru.

2.2.1.2 Opakovaní dárci

Standardně se vyšetřují alespoň antigeny erytrocytů (1x). Za druhé (referenční) vyšetření se považuje výsledek vyšetření v databázi z předchozích odběrů. Je nutné zajištění kontroly shody výsledku vyšetření krevní skupiny s údaji v databázi.

Kontrola kvality vyšetření: minimálně **1x denně** a při změně diagnostika během dne vyšetření krevních vzorků se známou krevní skupinou A_1, B a známými aglutininy anti-A, -B (v případě vyšetřování pouze antigenů se neprovádí kontrola protilátek).

2.2.2 RhD

2.2.2.1 Noví dárci

2 vyšetření, ze dvou nezávislých vzorků.
(„nezávislý vzorek“ viz odstavec 2.1.2).
Diagnostická séra: anti-D třídy IgM s 2 různými klony + kontrola falešné pozitivity („Rh kontrola“)

slabé D: vyšetřuje se u RhD negativních dárců ze 2 nezávislých vzorků
Diagnostická séra anti-D s 2 různými klony, a to metodou NAT či jinou metodou srovnatelné citlivosti (určenou pro detekci slabého D) + kontrola falešné pozitivity („Rh kontrola“). Diagnostická séra by měla zachytávat minimálně variantu DVI.

V případě **pozitivního** výsledku **s oběma** diagnostickými **séry** pro vyšetření slabého D se **dárce** označí jako **$D^{w/v}$**, transfuzní **přípravek** jako **RhD pozitivní**; při jasné **negativitě s oběma séry** se dárce i transfuzní přípravek označí jako **RhD negativní**.

V případě **diskrepantního** výsledku (s jedním diagnostickým sérem pozitivní reakce, s druhým diagnostickým sérem negativní reakce) se dárce označí jako $D^{w/v}$, transfuzní přípravek jako RhD pozitivní.

V případě, že je znám typ slabého D či varianty, měla by se tato informace zaznamenat do dokumentace dárce.

Viz také doporučení STL2012_10.

2.2.2.2 Opakovaní dárci

Diagnostické sérum anti-D třídy IgM + kontrola falešné pozitivity („Rh kontrola“).
1 vyšetření.
Za druhé (referenční) vyšetření se považuje výsledek vyšetření v databázi z předchozích odběrů.
Neprovádí se vyšetření slabého D.

Kontrola kvality vyšetření: Vyšetření se provádí minimálně 1x denně, jako kontrolu je nutné mít alespoň 1 známý vzorek D-pozitivní (např. DCe/dce) a 1 známý vzorek D-negativní (fenotypu ce nebo Cce).

Pro stanovení slabého D se používá pozitivní kontrola (známý vzorek D^w) a negativní kontrola (známý vzorek D-negativní).

proLékaře.cz | 6.9.2025

2.3 Rh fenotyp

U nového dárce erytrocytů (plné krve, erytrocytů z aferézy) se provádí vyšetření Rh fenotypu (C, c, E, e), které se ještě 1x ověřuje při následujícím odběru nebo lze vyšetřit u prvodárce z druhého nezávislého vzorku (definice nezávislého vzorku – viz 2.1.2).
Nevyžadují se 2 různé klony diagnostických sér dané specifity.
Na štítku transfuzního přípravku se doporučuje výsledek vyšetření Rh fenotypu uvádět až po dvojím vyšetření.
Doporučuje se i vyšetření antigenu C^w.
Kontrola kvality: Používají se pozitivní a negativní kontroly pro příslušný antigen (mohou se použít erytrocyty známých dárců). *Pozitivní kontrola*: heterozygotní zastoupení daného antigenu; *negativní kontrola*: bez přítomnosti daného antigenu; *kontrola falešné reaktivity:* kontrolní reagencie s diluentem.

2.4 Stanovení antigenu Kell

Doporučuje se u každého nového dárce erytrocytů (plná krev, erytrocyty z aferézy) stanovit přítomnost či nepřítomnost antigenu Kell, která se ještě 1x ověřuje při následujícím odběru nebo lze vyšetřit u prvodárce z druhého nezávislého vzorku (definice nezávislého vzorku – viz 2.1.2).
V případě nálezu Kell pozitivity se stejným způsobem vyšetřuje i antigen Cellano.
Na štítku transfuzního přípravku se doporučuje výsledek vyšetření antigenu Kell / Cellano uvádět až po dvojím vyšetření.
Kontrola kvality: používají se pozitivní (heterozygotní – Kk) a negativní kontroly (obvykle diagnostické erytrocyty známých dárců).

2.5 Další antigenní systémy

Je vhodné především u dárců krevní skupiny 0 určit fenotyp i v dalších antigenních systémech (např. Duffy, Kidd, Lutheran, MNSs, aj.).

2.6 Screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům

U každého odběru se provádí vyšetření přítomnosti nepravidelných protilátek přiměřeně citlivou metodou se zaměřením na záchyt klinicky významných protilátek, především anti-D.

Diagnostické erytrocyty: k vyšetření se mohou použít diagnostické erytrocyty ve směsi.
Metoda: NAT.
Kontrola kvality vyšetření: minimálně 1x denně pozitivní kontrola se známou klinicky významnou protilátkou.

2.7 Další vyšetření

2.7.1 Identifikace nepravidelných protilátek proti erytrocytům

V případě pozitivního výsledku screeningového vyšetření nepravidelných protilátek proti erytrocytům je vhodné provést identifikaci protilátky(-ek).
Použití transfuzního přípravku erytrocytů v případě zjištění nepravidelných protilátek proti erytrocytům záleží na klinickém významu zjištěné protilátky / zjištěných protilátek a na rozhodnutí kvalifikované osoby ZTS.
Plazmu se zjištěnými specifickými protilátkami lze nabídnout Národní referenční laboratoři pro imunohematologii pro kontrolní účely.

2.8 Přímý antiglobulinový test

Vhodné provést v případě:
- pozitivity autokontroly nebo referenční kontroly při testování AB0, RhD,
- pozitivního screeningu protilátek bez jasné specifity zjištěných protilátek,
- retrospektivně v případě pozitivního testu kompatibility s erytrocyty dárce

2.9 Manuální změny výsledků v primární dokumentaci

Provádí pouze oprávněná osoba. O případné manuální změně hodnocení aglutinační reakce automatickým či poloautomatickým systémem je nutný záznam.

Literatura

1. *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 16th edition, 2010. Council of Europe, 2011.*
2. *Vyhláška MZ ČR 143/2008 Sb. O stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi) ve znění pozdějších předpisů*

Seznam zkratek, vysvětlení pojmů
NAT = nepřímý antiglobulinový test
ZTS = zařízení transfuzní služby