

به نام خداوند هستی بخش



# اقدامات و تست‌های آزمایشگاهی پس از بروز عوارض ترانسفیوژن

## اقدامات قبل از تزریق

### ب- تحویل گرفتن خون و فرآورده توسط بخش

<b>نحوه ارزیابی خون و فرآورده خون:</b>	
اگر کیسه خون یا فرآورده داراي هر يك از شرایط زیر باشد باید به بانک خون عودت داده شود.	
-	هر گونه نشت از کیسه
-	رنگ غیر طبیعی (بنفش - ارغوانی ... )
-	همولیز
-	وجود لخته
-	گذشتن از تاریخ انقضاء فرآورده
-	وجود کدورت
-	وجود گاز در کیسه (کیسه باد کرده)
-	برچسب ناسالم
-	در صورت وجود هر کدام از موارد بالا باید از تحویل گرفتن خون و فرآورده خودداری کند و با تکمیل قسمت مربوطه در فرم مشخصات خون ارسالی برای بیمار کیسه را عودت دهد.

# کنترل وضعیت بیمار در هنگام تزریق خون

- ثبت علائم حیاتی (تعداد ضربان قلب و تنفس، میزان فشار خون و درجه حرارت) بلافاصله قبل از تزریق خون.
- کنترل تعداد ضربان قلب و تنفس، فشار خون و درجه حرارت به صورت منظم بعد از شروع تزریق فرآورده ها ضروري است. (مطابق فرم نظارت بر تزریق).
- در مواردی که نیاز به تزریق فرآورده ها بصورت سریع است نظارت دائمی الزامی میباشد.
- اگر بیمار هرگونه علائم و نشانه های واکنش به تزریق را نشان دهد، سریعاً تزریق خون متوقف شده، علائم حیاتی ثبت و اقدام مناسب انجام شود.
- بعد از اتمام تزریق خون نیز ثبت ضربان قلب، فشار خون، تعداد تنفس و درجه حرارت ضروري است.
- در ثبت عوارض، ثبت تمامی نشانه ها مانند لرز، بثورات پوستی، برافروختگی، تنگی نفس، درد در محل تزریق خون یا دردکمر ضروري بوده، نیاز به توجه و درمان دارد.

## فراموش نکنیم

واکنش های حاد تزریق خون در ابتدای امر ممکن است تظاهرات یکسان داشته باشند بنابراین هر نشانه ای باید جدی گرفته شود و **تزریق خون متوقف** تا علت مشخص گردد.

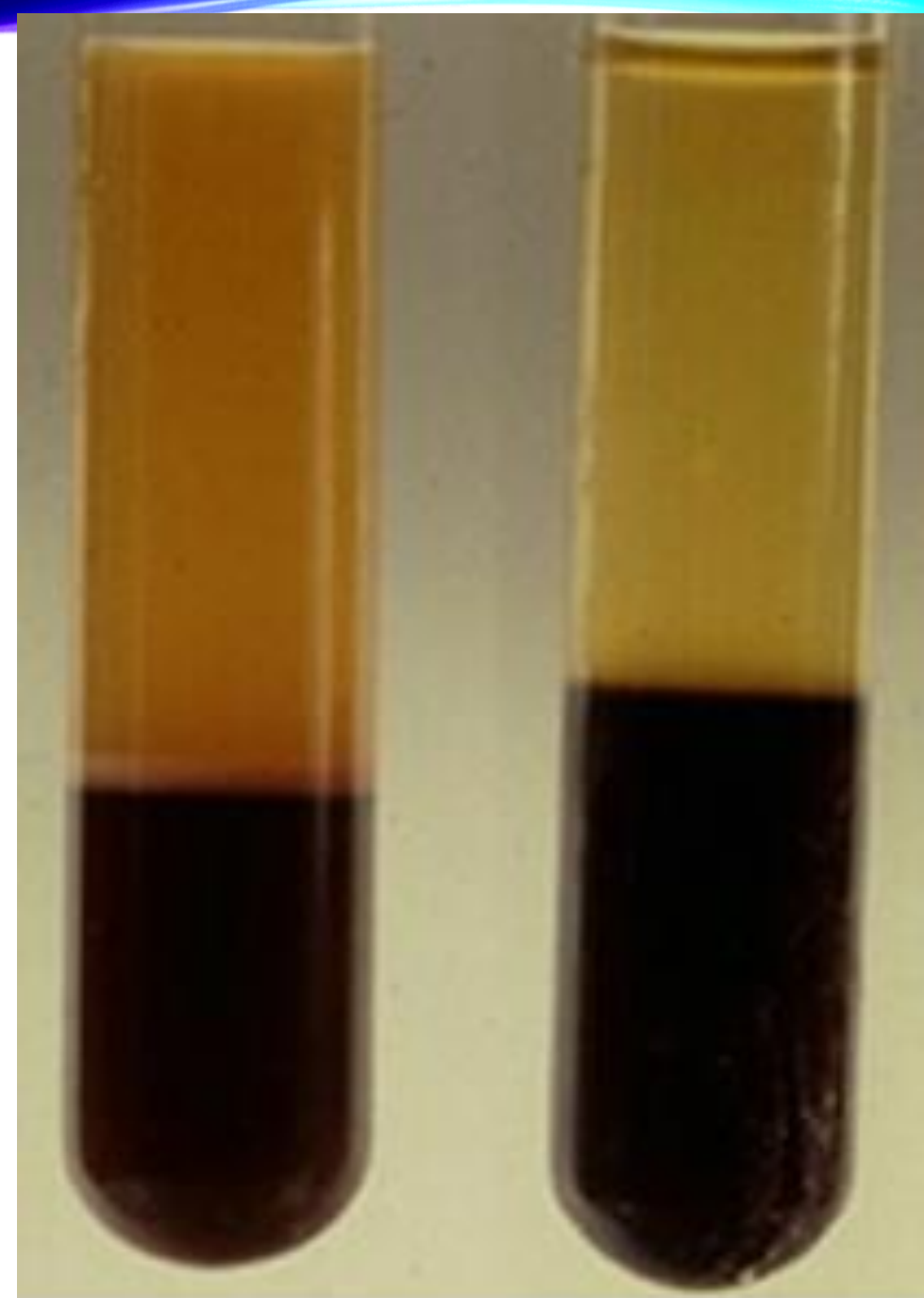
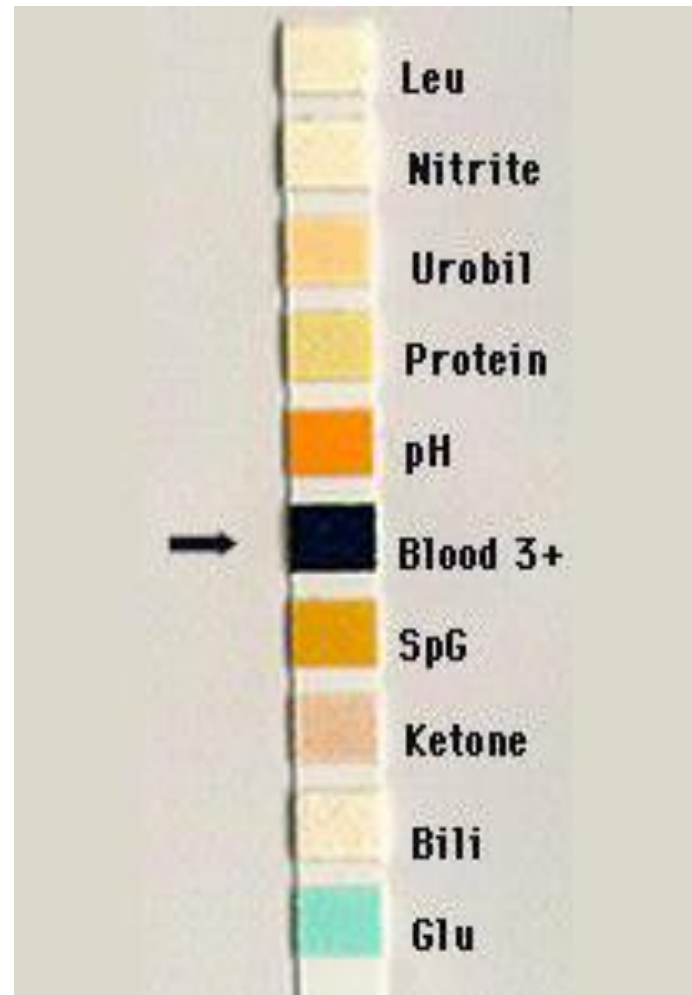
## اقدامات فوری

- قطع تزریق خون و باز نگاه داشتن مسیر وریدی با نرمال سالین
- چک مجدد علائم حیاتی
- تایید هویت بیمار با توجه به مستندات موجود ( کیسه خون - فرم درخواست خون و...) به جهت کسب اطمینان از تزریق فرآورده مورد نظر به بیمار مورد نظر
- اطلاع به پزشک معالج
- اطلاع به بانک خون
- ارسال کیسه و ست تزریق خون - نمونه خون و **ادرار جدید** از بیمار بعد از وقوع عارضه به بانک خون



اقدامات آزمایشگاهی مورد نیاز وقتی به واکنش های ناشی از انتقال خون شک می کنیم:

- ۱- بررسی مجدد وقوع یا عدم وقوع اشتباهات دفتری
  - ۲- ارسال نمونه خون جدید از بیمار جهت :
- الف - بررسی چشمی وجود همولیزدر سوپرناتانت نمونه قبل و بعد از تزریق و
- ب- تکرار آزمایشات DAT (در صورت حصول نتیجه مثبت انجام DAT بر روی نمونه قبل از تزریق) و
- ج- در صورت شک به واکنش همولیتیک تکرار آزمایشات - ABO - Rh غربالگری آنتی بادی و کراس میچ بر روی نمونه قبل و بعد از تزریق
- ۳- ارسال نمونه ادرار جهت بررسی هموگلوبینوری



**Hemolysis**

**Normal**



# EXTENDED TESTING FOR SUSPECTED AHTR

- **\*ABO/Rh on pre and post transfusion specimens**
  - **\*ABO/Rh on donor unit**
  - **\*DAT on pre and post transfusion specimens**
- 
- **Transfusion of ABO incompatible RBC**
  - **-Other antibodies**
  - **-Transfusion of ABO incompatible Plasma**

# CONTINUE,

- If intravascular hemolytic reaction is confirmed :
- Monitor renal status (BUN,creatinin)
- Monitor coagulation status ( PT ,PTT,fibrinogen)
- Monitor for signs of hemolysis ( LDH ,bilirubin,haptoglobin)
- If sepsis is suspected , culture as appropriated.

## واکنش همولیتیک حاد AHTR

- - بررسی عملکرد کلیه (کراتینین **BUN**)
- - بررسی ادرار از جهت وجود هموگلوبینوری
- - بررسی وضعیت انعقادی (**PT, PTT, PLT, FIBRINOGEN**) بیمار و استفاده از فرآورده های پلاکتی - کرایو - **FFP** (در موارد خونریزی و در صورت نیاز)
- - بررسی علائم همولیز (**LDH**, هموگلوبین پلاسما - بیلی روبین و هاپتوگلوبین) -
- - بررسی هموگلوبین و هماتوکریت
- - تکرار تستهای سازگاری

# ATHR

- تست مثبت آنتی گلوبولین مستقیم برای Anti C3 و یا آنتی IgG
- به دلیل elution تست مثبت حضور آنتی بادیها بر سطح گلبولهای قرمز تزریق شده
- وجود 2 مورد یا بیشتر از موارد زیر :
  - - LDH افزایش
  - - افزایش بیلی روبین
  - - کاهش هاپتوگلوبولین
  - - کاهش فیبرینوژن
  - - هموگلوبینمیا

# BACTERIAL CONTAMINATION

- **\*The source of the bacteria:**
  - Donor blood,
  - donor skin flora,
  - contaminants introduced during collection, processing, and storage.
- **\*Numerous gram-positive and gram-negative organisms :**  
*Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens, Pseudomonas and Staphylococcus epidermidis.*

# LABORATORY EVALUATION IN BACTERIAL CONTAMINATION

- **\*1-Visual examination returned component:**
  - **-COLOR CHANGE**
  - **-BUBBLES**
- **\*2-Gram's stain on returned component**
- **\*3-Cultures on returned component & post transfusion specimen**



# **BACTERIAL CONTAMINATION MANAGEMENT**

- **Other products from the same donor can be quarantined**
- **\*Return clamped blood unit& tubing attached for culture**
- **Collect blood samples for blood culture**
- **Broad spectrum antibiotic therapy**

## آلودگی باکتریایی

### پیشگیری :

- ۱- بررسی کیسه خون قبل از تزریق از جهت وجود علائم همولیز، کدورت، گاز، تغییر رنگ، لخته توسط پرسنل بانک خون و پرستار
- ۲- بهتر است تزریق فرآورده گویچه قرمز در طی ۲ ساعت و تزریق پلاکت یا پلاسما در خلال ۶۰-۳۰ دقیقه کامل شود.
- ۳- فرآورده RBC حداکثر می تواند ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۴-۲۰ °C) پس از خروج از بانک خون در بخش نگهداری شود .

- واکنش آنافیلاکتیک :

تستهای اندازه گیری سطح سرمی IgA و Anti-IgA

- پورپورای پس از ترانسفیوژن:

شناسایی آلوآنتی بادیهای بر علیه HPA-1a یا سایر آنتی ژنهای مخصوص پلاکتی در حین یا بعد از واکنش.

- GVHD

- افزایش آنزیمهای کبدی شامل ALT, AST, ALP و بیلی روبین, پان سیتوپنی

## Hemolytic Transfusion Reactions:serologic Presentation

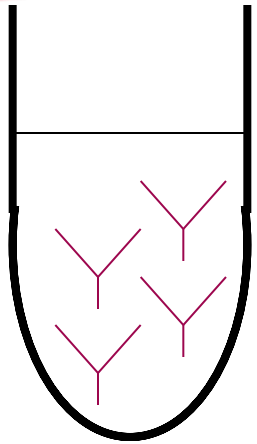
<b>type</b>	<b>Antibody Detectable initially</b>	<b>Primary Antibody type</b>	<b>Degree of Complement Binding</b>	<b>Example</b>
<b>Acute Intra vascular</b>	<b>yes</b>	<b>IgM</b>	<b>Full(c1-9)</b>	<b>ABO system</b>
<b>Acute Extra vascular</b>	<b>yes</b>	<b>IgG</b>	<b>None/ partial</b>	<b>Rh system</b>
<b>delayed Intra vascular</b>	<b>No</b>	<b>IgG</b>	<b>Full(c1-9)</b>	<b>Kidd system</b>
<b>delayed Extra vascular</b>	<b>No</b>	<b>IgG</b>	<b>None/ partial</b>	<b>Duffy system</b>

# THE DELAYED HEMOLYTIC TRANSFUSION REACTION

- Ab against:
- MNS, Rh, Kell, Kidd, or duffy
- Knowledge of prior red cell alloimmunization is essential to preventing the DHTR.
- Clinical presentation:  
or very mild  
to maintain the patients post transfusion hemoglobin level/low-grade fever / mild jaundice

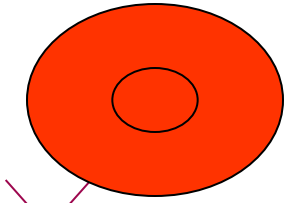
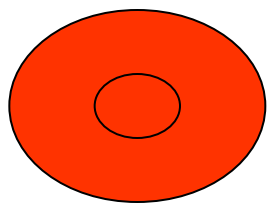
**Fever**  
**Anemia**  
**History of blood transfusion**

Asymptomatic  
an unexplained failure



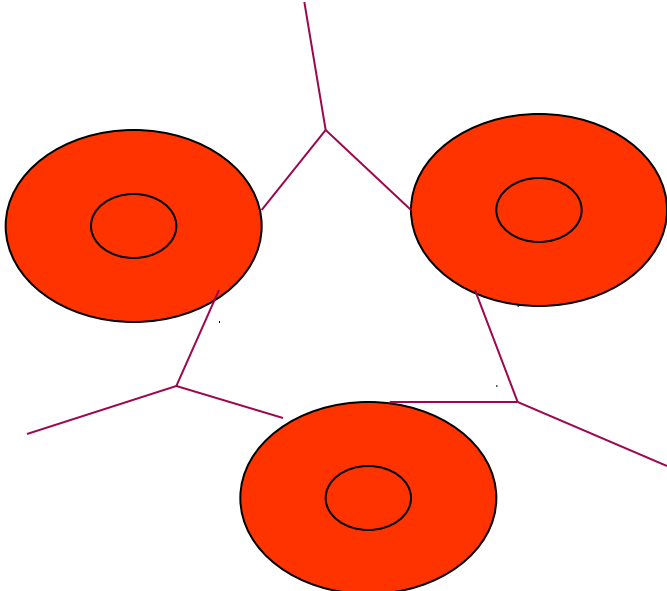
+

RBC



+

Anti\_ IgG



*Patient serum*



## **Expected onset of Clinical and Laboratory Manifestations of a Delayed Hemolytic Transfusion Reaction**

**•Positive direct anti globulin test: 2-3days post transfusion**

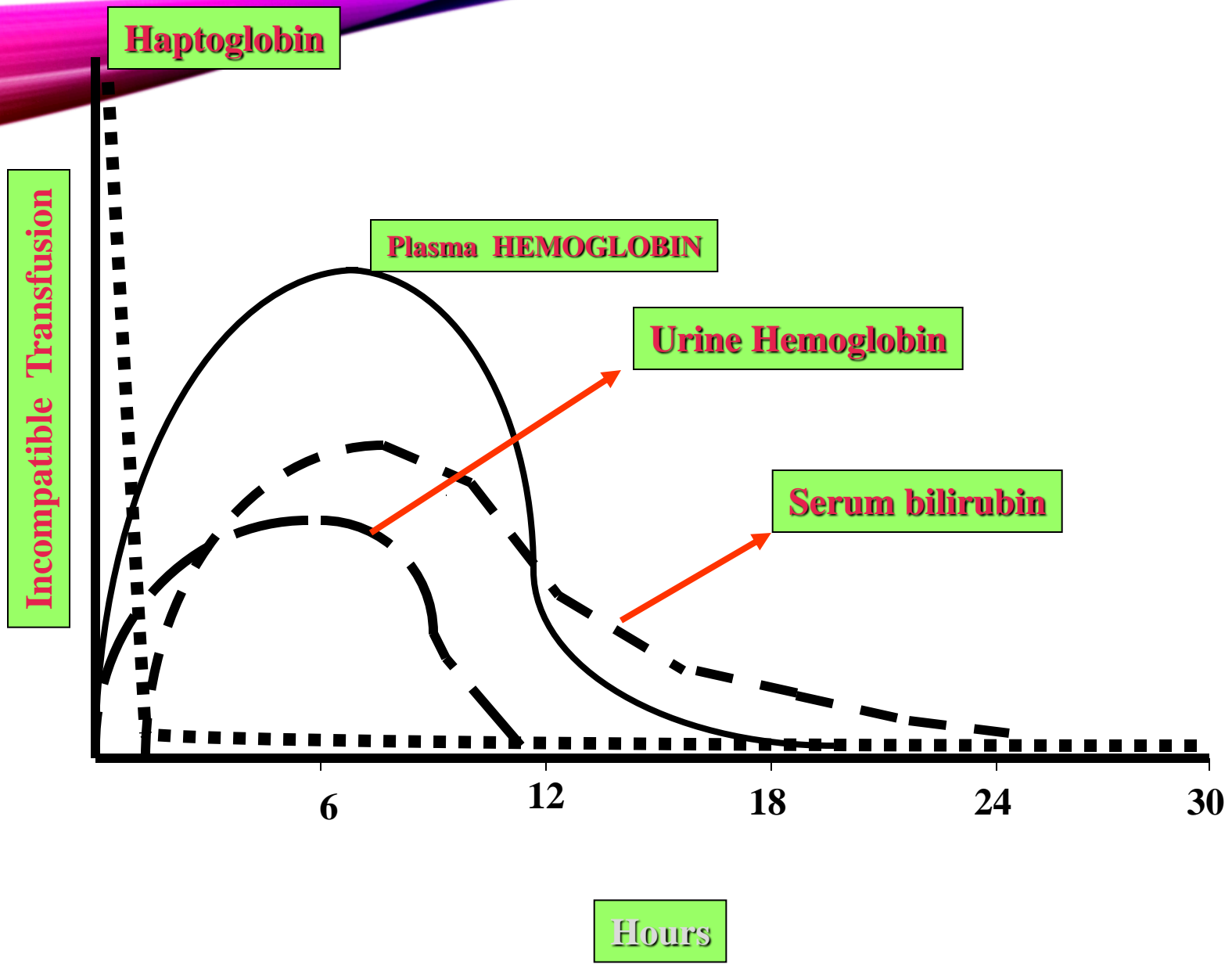
**•Spherocytes: 3-4days post transfusion**

**•Free Antibody detectable by indirect anti globulin test: 5-7 days post transfusion**

**•Anemia: 5-7 days post transfusion**

**•Jaundice : 5-7 days post transfusion**

**•Hemoglobinuria: 5-7 days post transfusion**



Haptoglobin

Incompatible Transfusion

Plasma HEMOGLOBIN

Urine Hemoglobin

Serum bilirubin

Hours

## علل خطاهای موجود در زنجیره انتقال خون

\* **تجویز ناصحیح** (بیمار نیاز به خون یا فرآورده نداشته ولی برای وی تجویز شده است و یا اشتباه در انتخاب فرآورده صورت گرفته است)

\* **عدم شناسایی بیمار** در زمان نمونه‌گیری یا در زمان تزریق خون و فرآورده به بیمار

\* نمونه‌گیری یا برچسب‌گذاری **غیر صحیح**

\* اشتباه در ارسال خون از بانک خون بیمارستان به بخش بیمارستان

\* خطا در طی تزریق خون یا فرآورده خون

\*\* عدم رعایت اصول ذخیره‌سازی و نگهداری و حمل و نقل خون

\* خطاهای فنی (مانند آزمایش‌هایی که به روش صحیح انجام نشوند)

## تهیه نمونه خون قبل از تزریق خون<sup>24</sup>

\*نمونه خون همولیز حتی الامکان باید با نمونه صحیح جایگزین شود.

\*نمونه نباید بیش از سه روز قبل از تزریق جمع آوری شوند مگر مشخص باشد بیمار حامله نبوده و یا در خلال 3 ماه قبل تزریق خون نداشته است.

\*اگر بیمار در 10 روز گذشته تزریق خون داشته است نمونه قبل از تزریق نباید بیش از یک روز قبل از تزریق جمع آوری شود.

## تهیه نمونه خون قبل از تزریق خون

\*لازم به ذکر است برای غربالگری آنتی بادی و کراس میچ و تعیین گروه خون و Rh، می توان از نمونه های لخته و یالوله ای که دارای EDTA است، استفاده شود.

**ولی نمونه پلاسما ارجح است.**

# ABO TYPING

- ▣ **Forward typing** – identifying ABO antigens on red cell
  - Combine specific antisera (anti-A and anti-B) with red cells
  - Carried out at room temperature
- ▣ **Reverse typing** – identifying ABO antibodies present in serum
  - Combine serum with known A1 and B red cells
- ▣ Forward and reverse typing must agree – discrepancies must be resolved



# تعیین گروه خونی

- Cell type

در لوله آزمایش سوسپانسیون 5% از خون حاوی EDTA را با آنتی سرمهای تجاری Anti-B و Anti-A مخلوط کرده و سانتریفیوژ میکنیم سپس از نظر وجود آگلوتیناسیون بررسی میکنیم

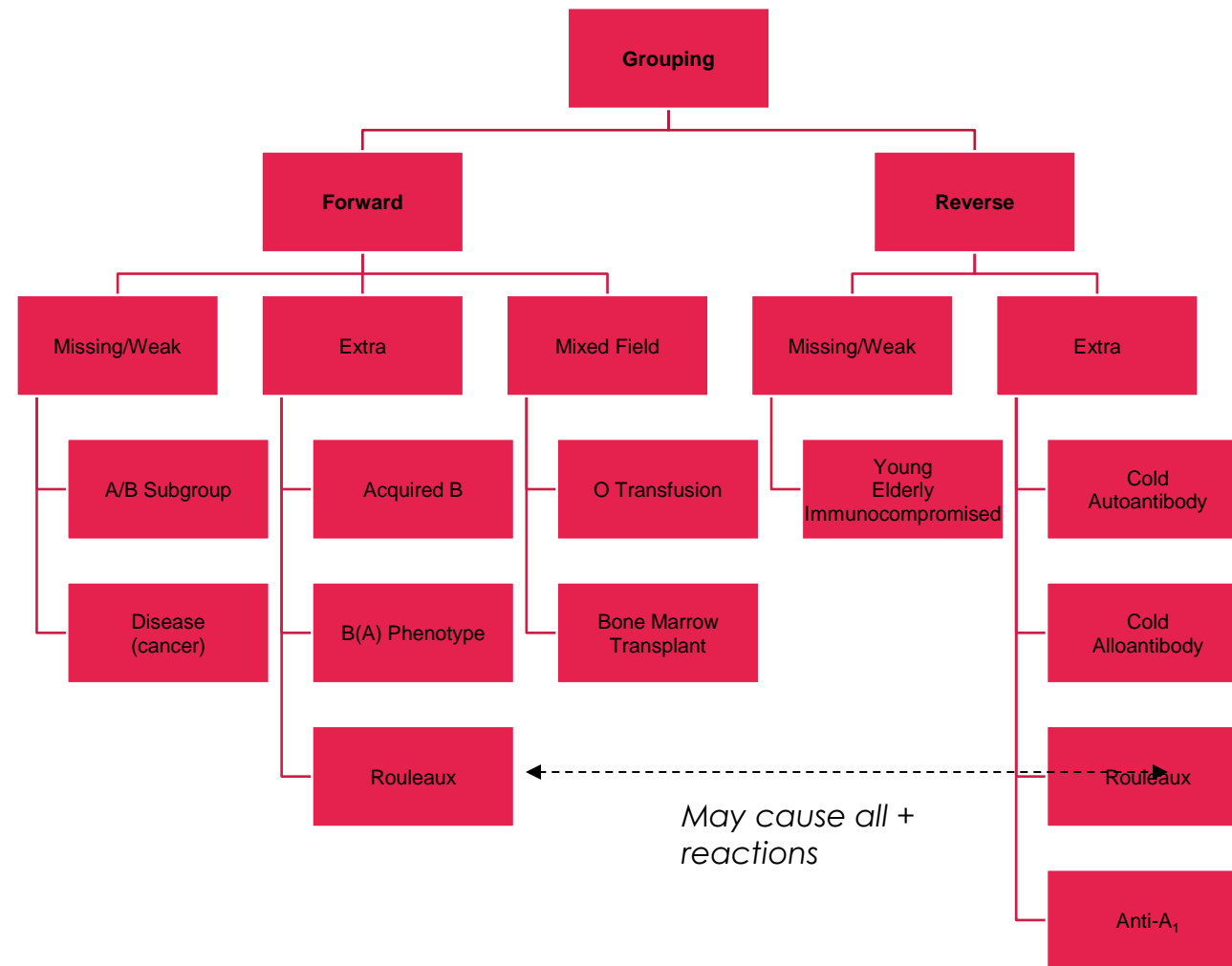
- Back type

در لوله آزمایش سرم بیمار را با سلولهای خونی دارای گروه مشخص (A cell, B cell, O cell) مخلوط کرده و پس از سانتریفیوژ از نظر وجود آگلوتیناسیون بررسی میکنیم

## Cell type

## Back type

گروه خونی	Anti A	Anti B	A cell	B cell
A	Positive(+)	Negative(-)	Negative(-)	Positive(+)
B	Negative(-)	Positive(+)	Positive(+)	Negative(-)
AB	Positive(+)	Positive(+)	Negative(-)	Negative(-)
O	Negative(-)	Negative(-)	Positive(+)	Positive(+)



# ABO ANTIBODIES

---

- The most important in transfusion medicine
- **Naturally occurring**
- Weak or absent in the sera of newborns until 3 to 6 months of age
- **Are detected as Room temperature, Salin Agglutinins with optimal reactivity at 4°C**
- Anti-A & Anti-B are IgM
- **Anti-A,B in Group O is IgG**
- Are a cause of Hemolytic Transfusion Reaction (HTR) & Hemolytic Disease of the Newborn (HDN)
- **a cause of acute rejection in solid organ transplantation**
- In ABO-incompatible bone marrow transplantation can result hemolysis and a delay in erythroid and megakaryocyte engraftment
- **Immune ABO antibodies (following transfusion & pregnancy) are predominantly of IgG isotype and are reactive at 4°C and 37°C**

# BOMBAY BLOOD GROUP:

- ▣ The Bombay blood group lacks H gene and therefore cannot make H antigen (H substance).



Since the H substance is the precursor for the A and B antigens, these antigens Secrets Activity also are not made. The cells type as O and the serum has anti-A, anti-B, and anti-H since the individual lacks all of these antigens.

- ▣ Anti-H agglutinates O cells.
- ▣ The only cells Bombay individuals do not agglutinate are from other Bombay blood people since they lack the H antigen,

## Transfusion safety



### ABO compatibility rules



		 Patient = Recipient			
		A	B	AB	O
 Red blood cells = Donor	A	Yes	No	Yes	No
	B	No	Yes	Yes	No
	AB	No	No	Yes	No
	O	Yes	Yes	Yes	Yes



# Transfusion safety



## ABO compatibility rules

		 Patient = Recipient			
		A	B	AB	O
 plasma = Donor	A	Yes	No	No	Yes
	B	No	Yes	No	Yes
	AB	Yes	Yes	Yes	Yes
	O	No	No	No	Yes

## روش عملکرد استاندارد آزمایش (D RH) روش لوله ای:

- به لوله ای که از قبل نشانه گذاری شده یک قطره Anti-D و یک قطره از سوسپانسیون گلبول قرمز (2-5) اضافه نمایید.
- محتوای داخل لوله ها را به آرامی مخلوط کرده و سانتریفوژ نماید.
- لوله ها را به آرامی تکان دهید تا توده ی گلبولی به صورت سوسپانسیون آزاد شود وجود هر گونه آگلوتیناسیون را مشاهده درجه بندی کنید.
- هر لوله را به مدت 15-30 دقیقه در دمای 37 سانتیگراد انکوبه بنمایید.
- لوله ها را سانتریفوژ کنید و سپس لوله ها را به آرامی تکان تا توده های گلبولی به صورت سوسپانسیون آزاد شود وجود هرگونه آگلوتیناسیون را بررسی نمایید.
- اگر لوله Anti-D واکنش قوی + 2 بازمینه شفاف را نشان می دهد نتیجه آزمایش را Rh-positive گزارش نمایید.

# ABO & RH دستورالعملهای سازگاری

گروه خون بیمار	گلبول قرمز سازگار	فرآورده پلاسمایی سازگار
<b>A</b>	<b>A,O</b>	<b>A,AB</b>
<b>B</b>	<b>B,O</b>	<b>B,AB</b>
<b>AB</b>	<b>A,B,AB,O</b>	<b>AB</b>
<b>O</b>	<b>O</b>	<b>A,B,AB,O</b>
<b>Rh- POSITIVE</b>	<b>Rh-POSITIVE, Rh-NEGATIVE</b>	<b>N/A</b>
<b>Rh-NEGATIVE</b>	<b>Rh-NEGATIVE*</b>	<b>N/A</b>

# روش انجام آزمایش سازگاری CROSS MATCH

- نوع نمونه: پلاسما EDTA ( ارجح ) یا سرم بیمار
- ظاهر همولیز یا لیپمی نباشد، نمونه 72 ساعت اخیر باشد
- نمونه باید به مدت حداقل 7 روز پس از هر کراس مچ دردمای یخچال 2-8 درجه سانتی گراد ذخیره شود
- به هر یک از لوله های دارای برچسب 2 قطره سرم یا پلاسما بیمار اضافه کرده سپس به هریک از لوله های مربوطه 1 قطره سوسپانسیون 5%-2% گلبول قرمز خون اهداء کننده (کیسه خون) اضافه می کنیم
- محتوای لوله ها را مخلوط نمائید سپس سانتریفوژ می نمائیم.
- سپس لوله ها را از نظروجوده همولیز و درجه بندی آگلوتیناسیون با استفاده از آینه مقعر مشاهده و ارزیابی می نمائیم.
- دو قطره آلبومین 22% یا محلول LISS به لوله فوق اضافه نموده و در دمای 37C انکوبه نمائید (آلبومین 22% را به مدت 15-30 دقیقه و لوله حاوی LISS را به مدت 10-15 دقیقه )

# جست و جوی آنتی بادی های غیر منتظره

## ANTIBODY SCREENING

- سه لوله 12-75mm را به صورت جداگانه نشانه گذاری نمایید
- به هر یک از لوله ها دو قطره سرم یا پلاسماي بیمار را اضافه کنید.
- به ترتیب به هر یک از لوله ها 1 قطره گلوبول قرمز استاندارد I II III اضافه کنید.
- لوله ها را در سانتریفوژ کالیبره مطابق زمان مشخص یا دور 1000xg زمان 15-20 ثانیه سانتریفوژ نمایید.
- لوله ها را جهت مشاهده آگلوتیناسیون و همولیز با استفاده از آینه مقعر ارزیابی نمایید
- نتایج واکنش را درجه بندی و ثبت کنید.
- به هریک از لوله های فوق 2 قطره آلبومین 22% یا محلول LISS اضافه نمایید.
- سپس لوله ها را در دمای 37 درجه سانتی گراد قرار دهید (آلبومین به مدت 15-30 دقیقه LISS لوله ها را به مدت 10-15 دقیقه)
- سپس لوله ها را سانتریفوژ کرده و جهت مشاهده آگلوتیناسیون و همولیز ارزیابی نمایید .
- در ادامه لوله ها را حداقل 3 تا 4 بار باسالین 0.9% شسته و پس از آخرین مرحله شست و شو محلول سالین را کاملاً تخلیه کرده و به لوله های شسته شده معرف AHG اضافه کنید سپس لوله ها را به آرامی مخلوط نمایید و سانتریفوژ کرده و جهت مشاهده آگلوتیناسیون و همولیز ارزیابی کنید



# DIRECT ANTIGLOBULIN TEST (DAT)

## آزمایش آنتی گلوبولین مستقیم

- به منظور تشخیص گلوبولهای قرمز خون حساس شده و علت همولیز آنها با IgG و یا کامپلمان (complement C3 در داخل بدن)
- برای شناسایی آنتی بادهایی که به سطح گلوبول قرمز خون متصل شده و آنها را حساس نموده است و مستقیماً آگلوتیناسیون قابل مشاهده ای ایجاد نمیکنند ، از این آزمایش استفاده میشود .
- Hemolytic Disease of the Fetus & New Born (HDFN)
- Auto Immune Hemolytic Anemia (AIHA)
- Drug Induced Hemolytic Anemia
- Hemolytic Transfusion Reactions (HTR)

# DAT

- نمونه : ۲ میلی لیتر نمونه خون کامل که در لوله حاوی ماده ضد انعقادی EDTA
- تهیه سوسپانسیون تازه (2-5 درصد) بلافاصله قبل از انجام آزمایش،
- در هر يك از لوله های 1 تا 3 يك قطره سوسپانسیون گلبول های قرمز خون ( 2-5 درصد) اضافه نموده و هر يك از لوله ها را ۳ الي ۴ بار با نرمال سالین شستشو دهیدو در مرحله آخر، سالین را کاملاً تخلیه کنید
- به لوله های 1 و 2 AHG با دو کلون متفاوت و به لوله سوم نرمال سالین اضافه میکنیم
- به مدت 15-30 ثانیه سانتریفوژ کنید.
- مشاهده آگلوتیناسیون
- لوله های واکنش منفي را به مدت ۵ دقیقه در ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه نمایید، سپس سانتریفوژ کنید



لوله شماره ۱	لوله شماره ۲	لوله شماره ۳	پروتئین متصل به گلبول قرمز	نتیجه DAT	ردیف
AHG PS1	AHG PS2	سالین 0.9%			
+	+	0	IgG+ C <sub>3</sub> d	Positive	۱
+	+	+	غیرقابل گزارش	Unresolved	۲
0	0	0	----	Negative	۳
+	0	0	IgG+ C <sub>3</sub> d	Positive	۴
0	+	0	IgG+ C <sub>3</sub> d	Positive	۵



