

## IMUNOHEMATOLOGIE II

### 28 ZÁCHYT ANTIERYTROCYTOVÝCH PROTILÁTEK PŘI PŘEDTRANSFUZNÍM VYŠETŘENÍ

Řeháček V., Kloučková K., Drešerová Z.

Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta UK Hradec Králové

**Úvod.** Podání transfuzních přípravků s sebou nese riziko imunizace pacienta. Cílem práce je statistické zhodnocení zachytu antierytrocytových protilátek u pacientů v rámci předtransfuzního vyšetření na Transfuzním oddělení Fakultní nemocnice Hradec Králové v období od srpna 2013 do konce června 2016.

**Metodika.** U pacientů, u nichž je požadováno podání erytrocytových transfuzních přípravků, se vyšetřuje krevní skupina, screening nepravidelných antierytrocytových protilátek a test kompatibility. Screeningovým vyšetřením metodou nepřímého antiglobulinového testu se zjišťuje přítomnost imunních antierytrocytových protilátek v plazmě pacienta. Při pozitivním nálezu ve screeningu se antierytrocytová protilátka identifikuje a pacientovi jsou vybírány kompatibilní erytrocytové transfuzní přípravky bez antigenu, proti kterému je protilátka namířena.

**Výsledky.** V období 08/13 až 06/16 bylo vyšetřeno na TO FN HK 40945 pacientů s indikací erytrocytových transfuzních přípravků. U 114 pacientů byly při předtransfuzním vyšetření identifikovány imunní protilátky. Z toho u 61 pacientů byla zachycena antierytrocytová protilátka již při prvním předtransfuzním vyšetření při příjmu do FN HK. Nejčastější byla imunizace antierytrocytovou protilátkou anti-D a anti-K (12x), anti-E (8x), anti-M (6x), anti-Fy<sup>a</sup> (4x), anti-Kp<sup>a</sup> (3x) atd. U 10 pacientů byly zjištěny směsi dvou a více protilátek (např. anti E+K, anti C+D atd.). Celkem 53 pacientů bylo imunizováno podáním transfuzních přípravků ve FN HK nebo transfuzí mimo FN (první screening protilátek byl negativní, další již pozitivní v různém časovém odstupu od prvního vyšetření). Nejčastěji se jednalo o antierytrocytovou protilátku anti-E (9x), anti-K (8x), anti-D (5x), anti-c (4x), anti-C<sup>w</sup> (4x), anti-Jk<sup>a</sup> (4x) atd. Směs antierytrocytových protilátek byla zjištěna u 9 pacientů, např. anti-C+D (3x), anti-E+K (3x), anti c+E (3x) atd. U 4 pacientů došlo pravděpodobně k vytvoření protilátky anti-D po podání trombocytů a/nebo plazmy.

**Závěr.** Plošné podávání erytrocytových transfuzních přípravků shodných ve všech antigenních systémech s fenotypem pacienta není reálné. Snížit riziko tvorby antierytrocytových protilátek je možné dodržáním Rh + Kell, eventuálně Jk fenotypu, striktním podáváním

Kell negativních TP ženám ve fertilním věku (není-li u nich vyšetřen K antigen) a dodržáním Rh fenotypu při transfuzích ženám ve fertilním věku. RhD pozitivní přípravky by měly být podávány RhD negativním pacientům pouze ve výjimečných případech, určitě ne ženám ve fertilním věku.

### 29 VZÁCNÝ PŘÍPAD ERYTROCYTÁRNÍ ALOIMUNIZACE PACIENTKY PO PODÁNÍ TROMBOCYTÁRNÍHO TRANSFUZNÍHO PŘÍPRAVKU

Zemanová M.<sup>1</sup>, Holusková I.<sup>1</sup>, Pospíšilová D.<sup>2</sup>, Galuszková D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>2</sup>Dětská klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

**Úvod.** K erytrocytární aloimunizaci příjemců krve dochází většinou po podání erytrocytárních transfuzních přípravků (TP), inkompatibilních v daném krevně skupinovém systému. Po podání trombocytárních transfuzních přípravků bývá aloimunizace popisována zcela výjimečně. Nebezpečí vzniku aloimunizace je největší u antigenů Rh (CDE/ce) a Kell systému, proto by u rizikových pacientů (pacienti polytransfundovaní, pacienti s již prokázanou specifickou antierytrocytární protilátkou) mělo být dodržováno podání erytrocytárních transfuzních přípravků kompatibilních v uvedených antigenních systémech. Pro podání trombocytárních TP je doporučeno pouze zohlednit kompatibilitu v AB0 systému, přičemž trombocytární TP krevní skupiny AB a 0 (s nízkým titrem aglutininů anti-A a anti-B) jsou považovány za univerzální.

**Metodika.** V rámci kompletního imunohematologického vyšetření je na našem oddělení standardně prováděn screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek v nepřímém antiglobulinovém testu a enzymatickém (papain) testu metodou sloupcové aglutinace (SA) na systému Bio-Rad. Při zjištěné pozitivitě ve screeningovém testu je doplněno určení specifity antierytrocytárních protilátek v příslušném testu metodou SA Bio-Rad, v případě potřeby doplněné o SA DG-gel či Makropanel firmy Sanguin. V uvedeném sdělení je popsán případ erytrocytární aloimunizace 9měsíční holčičky, léčené pro pancytopenii nejasné etiologie opakovanými převody erytrocytárních i trombocytárních transfuzních přípravků.

**Výsledky.** Při vstupním imunohematologickém vyšetření v 7/2015 byly metodou SA Bio-Rad identifikovány pouze nepravidelné tepelné antierytrocytární autoproti-

látky v.s. nespecifické, reagující v enzymovém (papain) testu. Při kontrolním vyšetření v 10/2015, po aplikaci celkem 5 T.U. ERD a 7 T.U. TADR/TAD, byla nově zjištěna nepravidelná tepelná antierytrocytární aloprotilátka anti-K, reagující v nepřímém antiglobulinovém testu na SA Bio-Rad pouze s homozygotní formou antigenu (KK), při doplňujícím vyšetření za použití Makropanelu (Sanguin) byla jednoznačně potvrzena přítomnost antierytrocytární aloprotilátky anti-K. Při zpětném dohledání aplikovaných transfuzních přípravků bylo zjištěno, že jeden přípravek TADR pocházel od dárce s fenotypem Kk.

**Závěr.** Trombocytární transfuzní přípravky většinou nebývají příčinou erytrocytární aloimunizace. Příměs zbytkových erytrocytů v trombocytárních TP je minimální, nejsou stanoveny konkrétní limity pro hodnocení jakostních parametrů. Nicméně i takto minimální příměs erytrocytů či jejich mikročástic může vést ve vzácných případech k imunizaci příjemce a je tedy otázkou, do jaké míry je nutné zohlednit přítomnost konkrétních erytrocytárních antigenů při podání trombocytárních TP rizikovým pacientům. Na základě zkušenosti s uvedenou pacientkou již na našem TO dodržujeme zohlednění fenotypu K/k při podání trombocytárních TP dívkám a ženám ve fertilitním věku.

Za posledních 10 let (2006–2015) jde o jediný zaznamenaný případ erytrocytární aloimunizace pacienta po podání trombocytárního TP, z celkového množství 25700 podaných trombocytárních TP na TO FNOL v uvedených letech.

### 30 DARATUMUMAB – TERAPEUTICKÁ MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKA JAKO ZDROJ KOMPLIKACÍ PŘI IMUNOHEMATOLOGICKÝCH VYŠETŘENÍCH

Písačka M., Králová M.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Úvod.** Moderní biologická léčba často využívá různých monoklonálních protilátek (MoAb), cílených na strukturu patologických buněk. Jednou z nich je anti-CD38 (Daratumumab, DARA), lidská IgG1 používaná k léčbě mnohočetného myelomu. Zatímco u jiných terapeutických MoAb (např. rituximab, cetuximab, aj.) byly pozorovány interference s elektroforetickým vyšetřením séra, u DARA se objevil nový fenomén, interference s rutinními imunohematologickými testy, používanými při předtransfuzním vyšetření. Důvodem je slabá exprese molekuly CD38 na erytrocytech.

**Cíl.** Prezentace výsledků imunohematologických vyšetření u několika pacientů, léčených DARA a zasláných pro nález interferujících reakcí do Referenční laboratoře pro imunohematologii v ÚHK.

**Materiál a metody.** Byly vyšetřovány běžné vzorky krve (srážlivé i nesrážlivé), používané k rutinním imunohematologickým vyšetřením, testy sloupcové aglutinace, pevné fáze a zkumavkovým testem.

**Výsledky.** U pacientů léčených DARA byly pozorovány různé formy interakce této protilátky s imunohematologickými testy. V některých případech byla pozorována pozitivita přímého antiglobulinového testu (PAT polyspecifický i anti-IgG) – nález tak imitoval obraz pozorovaný u AIHA. V jiných případech byl ale PAT i autokontrola negativní a byla pouze pozitivita nepřímého antiglobulinového testu se všemi erytrocyty kromě vlastních – nález zde imitoval obraz směsi aloprotilátek nebo aloprotilátky proti antigenu s vysokou frekvencí výskytu. Ve zkumavkovém NAT byly reakce zřetelně slabší až negativní.

**Závěr.** Podávání DARA vede k interferencím s imunohematologickými vyšetřeními a způsobuje komplikace při předtransfuzním vyšetření. Pravděpodobně rozdílná síla exprese CD38 u různých jedinců vede k tomu, že někdy je pozorována pozitivita PAT i NAT, někdy pouze NAT. PAT pozitivita komplikuje určování fenotypu těch antigenů, k jejichž detekci je používán antiglobulinový test (Duffy, Ss). Pozitivita NAT způsobuje pozitivní výsledky screeningu a identifikace protilátek a zkoušek kompatibility. Interferenci DARA je možné odstranit opracováním erytrocytů dithiotreitol (DTT), což je ale nestandardní postup, nejsou dostupné certifikované reagenty a DTT destruuje některé významné antigeny (zejména Kell a Dombrock). Vhodnější je před zahájením terapie DARA vyšetřit co nejširší fenotyp pacienta, popřípadě vyšetřit genotyp (tento postup pak lze použít i u pacientů již léčených a s pozitivním PAT, navíc umožní i stanovení v systému Dombrock). Pacienti léčení DARA by měli být upozorněni, že tato léčba může komplikovat předtransfuzní vyšetření a tato informace by měla být zaznamenána na žádance o předtransfuzní vyšetření. Vzhledem k pozorovaným rozdílům v síle reakcí by měly být prováděny zkoušky kompatibility více přípravků, vybraných podle fenotypu/genotypu a vybírány ty s nejslabšími reakcemi. Případné silnější skryté aloprotilátky mohou být odhaleny kombinací testů pevné fáze, sloupcové aglutinace a zkumavkového NAT.

### 31 AIHA – KAZUISTIKY

Řehořová L., Procházková R.

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec a.s.

**Úvod.** Autoimunní hemolytická anémie (AIHA) patří mezi tzv. extrakorpulární hemolytické anémie, kdy příčinou destrukce erytrocytů jsou mechanismy

vznikající mimo červenou krvinku. Její příčinou je ztráta imunologické tolerance vůči antigenům expromovaným na povrchu erytrocytů. Toto onemocnění často vzniká sekundárně ze známé vyvolávající příčiny (infekce, nádory, léky aj.).

**Cíl.** Cílem práce bylo prezentovat předtransfuzní vyšetření (PV) u dvou pacientů s AIHA.

**Materiál a metodika.** Screening, identifikace antierytrocytárních protilátek a přímý antiglobulinový test (PAT) byl proveden standardními technikami (sloupcová aglutinace (SA), Grifols). Při pozitivitě PAT bylo provedeno kvantitativní stanovení navázané protilátky (zkumavkový test) a rozlišení senzibilizace erytrocytů (SA, Grifols). Pro určení tepelného charakteru protilátek bylo provedeno vyšetření tepelného optima (screening protilátek SA při 20 a 4 °C, Grifols). Pro vyšetření AIHA byly použity srážlivé i nesrážlivé vzorky (KEDTA).

**Výsledky.** *Kazuistika 1:* dívka J. K., nar. 2013. Leden 2016: pacientka hospitalizována pro hemoglobinurii a šokový stav. Požadavek na PV z vitální indikace z důvodu anémie (Hb 57 g/l, HCT 0,15, Rtc 0,02 – abs. 34) a podezření na AIHA. Screening antierytrocytárních protilátek při 37 °C negativní, PAT pozitivní v titru 8, senzibilizace erytrocytů C3d složkou komplementu, IgG negativní, autokontrola pozitivní na 4+. V séru prokázány volné chladové protilátky reagující při 4 °C. Transfuze 1 jednotky ozářených ERD (0 RhD negativní) z vitální indikace bez komplikací. Závěr: v.s. chladová AIHA, sekundárně po infekci Mycoplasma pneumoniae. Dívka přeložena do FN Motol, zde aplikace další jednotky erytrocytů. Klinická diagnóza chladové paroxysmální hemoglobinurie laboratorně nepotvrzena (Donath-Landsteinerův test negativní). Krátkodobá léčba kortikoidy ukončena v dubnu 2016, bez další ataky AIHA. Duben 2016: opakovaná trombocytopenie s dg. ITP, st. p. po akutní AIHA se senzibilizací komplemtem. T. č. pacientka bez obtíží.

*Kazuistika 2:* muž J. S., nar. 1937. Červen 2016: pacient hospitalizován pro dušnost, únavnost, laboratorně záchyt lymfocytosy a hemolytické anemie: leuko  $203 \times 10^9/l$ , ery  $1,92 \times 10^9/l$ , Hb 66 g/l, HCT 0,21, rtc 0,066 – abs. 127, bilirubin 65, LD 5,57  $\mu\text{kat/l}$ , haptoglobin 0,02 g/l. Požadavek na PV – screening a identifikace protilátek pozitivní se všemi dg. erytrocyty, PAT pozitivní v titru 64, senzibilizace erytrocytů IgG, tepelné optimum při 20 °C negativní. Provedena autoabsorpce s ficinem, záchyt autoprottilátky anti-e a nespecifické autoprottilátky bez skryté aloprottilátky, zkouška kompatibility provedena z autoabsorbentu. Závěr: sekundární tepelná AIHA při nově diagnostikované CLL, aplikace 2 ERD dle Rh-Kell fenotypu pacienta bez komplikací. Stav pacienta t.č. při léčbě kortikoidy stabilizován.

**Závěr.** První kazuistika popisuje autoimunní hemolytickou anémii s chladovými protilátkami u tříleté dívky po prodělané infekci; druhá kazuistika komplikované předtransfuzní vyšetření u pacienta s tepelnou AIHA u pacienta s CLL. Předtransfuzní vyšetření u pacientů s AIHA představuje pro laboratoř časovou zátěž nejen na vyloučení případné skryté aloprottilátky, ale i k získání absorbentu k provedení zkoušky kompatibility. Pro laboratoř, která uvedenými metodami nedisponuje, je řešením stresový výdej přípravků s „nejmenší pozitivitou“ ve zkoušce kompatibility, v režimu vitální indikace.

### 32 POTRANSFUZNÍ MIKROCHIMERISMUS

Štolba P.<sup>1</sup>, Pacholíkova P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

<sup>2</sup>Policie České republiky, Krajské ředitelství ústeckého kraje, Odbor kriminalistické techniky a expertizy

**Úvod.** Chimerismus je stav současné existence buněk různého původu v jednom organismu. Původ může být přirozený (hermafroditismus) nebo uměle vytvořený a běžně popisovaný potransplantační chimerismus. Literatura však uvádí, že je možné setkat se i s potransfuzním mikrochimerismem, při kterém je výskyt frakce dárcovských jaderných buněk v periferním krevním oběhu do 10 %. Mikrochimerismus byl poprvé popsán u bývalých vojáků s mnohočetnými poraněními (většinou střelná poranění). Vzniku mikrochimerismu nelze zabránit ani podáváním samotných erytrocytů (EBR) ani deleukotizací transfuzních přípravků. Nejčtenější výskyt mikrochimerismu je popsán po podání plné krve.

**Metody.** Při analýzách byla použita metoda real-time PCR se značenými sondami FAM/HEX-TAMRA. Pro detekci přítomnosti cizorodé DNA byl použit gen SRY. U pacientek-příjemkyň transfuzních přípravků byla testována přítomnost genu SRY z transfuzních přípravků dárců mužského pohlaví.

Pro testování pomocí analýzy mikrosatelitů a pro detekci přítomnosti alel příjemce a dárcy byly použity kity sloužící pro forenzní účely (PowerPlex ES17 a GlobalFiler).

**Výsledky.** V odebraných vzorcích tří pacientek, jimž byl podán transfuzní přípravek od mužského dárcy, se podařilo prokázat přítomnost koexistence mužských jaderných buněk po dobu 24 a 48 hodin po podání. Poté nebyl signál genu SRY detekován. *Post mortem* byla u pěti pacientů provedena analýza vzorků různých druhů tkání. U většiny testovaných vzorků byla detekována přítomnost směsi buněk.

**Závěr.** Na základě získaných výsledků bylo prokázáno, že je možné detekovat perzistenci dárcovských jaderných buněk v periferním krevním řečišti příjemce. Dále byl stanoven threshold (detekční limit) pro analýzu mikrosatelitů. Zároveň byla zjištěna distribuce dárcovských buněk v těle příjemce. Studie se bude dále zabývat skupinou polytransfundovaných pacientů.

### 33 TECHNOLOGIE LUMINEX – MONITORING ANTI-HLA PROTILÁTEK PO ORGÁNOVÉ TRANSPLANTACI A DALŠÍ MOŽNOSTI VYUŽITÍ

Janků L.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno, <sup>2</sup>Katedra laboratorních metod, Lékařská fakulta MU Brno

**Úvod.** Lymfocytotoxický test je standardním testem používaným k záchytu anti-HLA protilátek u pacientů před zařazením do transplantčního programu, k provádění aktuálního cross-match před transplantací solidního orgánu nebo u polytransfundovaných pacientů s refrakternitou. Nově zavedená technologie Luminex, na principu pevné fáze využívající značené mikropartikelky s navázanými HLA molekulami, umožňuje detekci a specifikaci anti-HLA protilátek s větší senzitivitou než ostatní testy. Tato technologie je převážně využívána k monitoringu tzv. donor specifických protilátek (DSA) u pacientů po orgánové transplantaci, nemalé je však i její využití v dalších oborech.

**Metodika a soubor.** Technologie Luminex využívá polystyrenové mikročástice s navázanými HLA molekulami. Tyto mikročástice jsou kódovány směsí 2 fluorescenčních barev v různém poměru. K vizualizaci navázaných anti-HLA protilátek ze séra dochází pomocí sekundární protilátky konjugované s R-Phycoerythrinem (PE). Hodnoty průměrné intenzity fluorescence (MFI, Mean Fluorescence Intensity) reprezentují množství navázané protilátky ze séra. Séra byla testována pomocí reagenčních kitů LABScreen Mixed, LABScreen Single Antigen Class I, LABScreen Single Antigen Class II, firmy One Lambda Inc., Canoga Park, USA.

Soubor 100 dárců krve mužů byl testován na přítomnost anti-HLA protilátek z důvodu screeningu anti-HLA protilátek ve zdravé populaci.

V souboru 91 pacientů po transplantaci solidního orgánu s podezřením na rozvíjející se humorální rejekci byla technologií Luminex stanovována přítomnost tzv. donor- specifických protilátek namířených proti neshodným HLA antigenům dárce orgánů.

**Výsledky.** V souboru dárců krve byla zjištěna přítomnost anti-HLA protilátek I. třídy u 3 dárců krve, u 2

dárců byly detekovány anti-HLA protilátky II. třídy. Ve všech případech se jednalo o slabou pozitivitu tzv. “přirozeně” se vyskytujících anti-HLA protilátek, které byly namířeny převážně proti HLA antigenům se vzácným výskytem v populaci.

V souboru transplantovaných pacientů s podezřením na humorální rejekci byly detekovány anti-HLA protilátky celkem u 43 pacientů. Z toho donor-specifické protilátky I. nebo II. třídy byly detekovány u 24 pacientů, u dalších 9 pacientů jsme se nemohli k DSA vyjádřit z důvodu chybějící typizace DQ lokusu u dárce orgánů. Potvrzení přítomnosti donor-specifických protilátek I. nebo II. třídy v sérech pacientů s rozvíjející se humorální rejekcí umožňuje včasné zahájení léčby humorální rejekce a tím prodloužení životnosti transplantovaného orgánu.

Technologie Luminex je využívána také k provádění HLA typizací, dále nachází uplatnění v transfuzní medicíně při řešení refrakternity na podání trombokonzentrátů, při detekci protilátek u potransfuzní reakce TRALI nebo při specifikaci anti-HPA protilátek u autoimunitní trombocytopenie.

### 34 REFRAKTERNOST ZPŮSOBENÁ SPECIFICKÝMI ANTITROMBOCYTOVÝMI PROTILÁTKAMI

Bolcková H.T., Gašová Z., Bhuiyanová Ludvíková Z., Böhmová M., Slouková M., Matějková E., Miarková E. Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Úvod.** Refrakternost na podání trombocytů se definuje jako opakovaný neúspěch dosažení dostatečného vzestupu počtu trombocytů po podání čerstvých, ABO shodných trombocytů. Příčiny refrakternosti mohou být neimunní (horečka, sepse, splenomegalie, DIC, krvácení, GVHD, některé léky...) a imunní (protilátky anti-HLA I. třídy, anti-HPA). Aloimunizace proti HLA antigenům je běžnější než proti HPA antigenům a je považována za hlavní příčinu imunní refrakternosti. Pro sledování účinnosti transfuze se nejčastěji používá stanovení vzestupu počtu trombocytů pomocí CCI (corrected count increment CCI) 1h nebo 24h po transfuzi, přičemž za refrakterní se považuje podání s CCI < 5.

**Metodika.** Protilátky anti-HLA I. třídy byly vyšetřeny testy LCT (lymfocytotoxický test) a ELISA [LIFECODES QuikScreen]. Protilátky proti trombocytům byly vyšetřeny testy DIFT (destičkový imunofluorescenční test), ELISA [LIFECODES Pak12] a Luminex bead [LIFECODES PakLx].

**Výsledky.** V květnu 2015 byla přijata 51letá pacientka k léčbě akutní myeloidní leukemie. Při vstupním vyšetření byla detekována slabá pozitivita v DIFT

testu. Pacientka byla transfundována erytrocyty i trombocyty. Dle hodnot CCI stanovaných 1 h po transfuzi se zdály transfuze trombocytů úspěšné, CCI dosahovalo hodnot od 4,32 do 25,92 s mediánem 11,34, nicméně počet trombocytů po transfuzi prudce klesal a hodnoty CCI 24h po transfuzi dosahovaly nulových až záporných hodnot. 12 dní po zahájení transfuzní terapie bylo provedeno došetření vstupního vzorku. Byly identifikovány specifické trombocytové protilátky anti-HPA-1a a anti-HPA-5b. HLA protilátky zjištěny nebyly. Pro další transfuzní terapii byly vybírány trombocyty s vyloučením antigenů komplementárních k nalezeným protilátkám (HPA-1a, -5b negativní). Pokud byly podávány trombocyty HPA kompatibilní ABO shodné, byla podání úspěšná [CCI po 1h: 14-18; CCI po 24h: 6-11], při podání ABO neshodných HPA kompatibilních trombocytů byla úspěšnost nižší [CCI po 1h: 3-8; CCI po 24h: 0,81- 4,32].

**Závěr.** Úspěšnost transfuzní terapie u refrakterních pacientů s protilátkami proti HPA antigenům může zajistit podání HPA kompatibilních trombocytů. Jejich získání je obtížné, protože HPA antigeny se u dárců běžně nevyšetřují a některé homozygotní HPA typy jsou vzácné.

### 35 ŽIVOT OHROŽUJÍCÍ KRVÁCENÍ Z POHLEDU HEMATOLOGA

**M. Penka**  
**OKH FN Brno**

#### Definice:

- ztráta objemu krve v průběhu 24 hodin (u dospělého člověka ekvivalent cca 10 transfúzních jednotek erytrocytů)\* nebo
- ztráta 50% objemu krve během 3 hodin a/nebo
- pokračující krevní ztráta přesahující objem 150 ml/min a/nebo
- krevní ztráta v lokalizaci vedoucí k ohrožení životních funkcí (např. krvácení do CNS) a/nebo
- přítomnost klinických a laboratorních známek tkáňové hypoperfuze v průběhu krvácení a/nebo

- přítomnost klinických a laboratorních známek poruchy orgánových funkcí v průběhu krvácení

\* Poznámka: děti 80ml/kg, dospělí 65ml/kg; prům. dospělý cca 4900 ml

Stupeň závažnosti každého krvácení je určován:

- příčinou a zdrojem krvácení,
- velikostí krevní ztráty,
- výchozím funkčním stavem koagulačního systému organismu,
- počtem podaných transfúzních jednotek krevních derivátů,
- přítomností klinických a laboratorních známek tkáňové hypoperfuze,
- přítomností klinických a laboratorních známek poruchy orgánových funkcí.

K základním aspektům zajištění péče se řadí:

- identifikace zdroje krvácení a jeho včasné ošetření,
  - náhrada cirkulujícího objemu,
  - podpora koagulace a cílená terapie průvodní nebo vyvolávající příčiny koagulační poruchy
  - podpora/náhrada orgánových funkcí
- Současná doporučení hematologických opatření:
- U pacientů s masivním krvácením má být iniciálně zahájeno podávání čerstvě zmražené plazmy (1C)
  - Podávání fibrinogenu je doporučeno u pacientů s krvácením, při němž je potvrzen pokles pod 1,5 - 2,0 g/l (1C)
  - Je doporučeno podávat destičky k dosažení hodnoty > 50 x 10<sup>9</sup>/l (1C)
  - Je doporučeno zahájit farmakologickou trombotrofylaxi VTE v průběhu 24 hodin od okamžiku, kdy je dosaženo kontroly zdroje krvácení (1B)
- Úloha hematologa v péči o nemocné s život ohrožujícím krvácením:

- Zajištění včasné a odpovídající laboratorní diagnostiky
- Účast na řízení hemoterapie
- Konzultace indikace, načasování a provedení diagnostických a terapeutických postupů
- Řešení neočekávaných okolností