

SUM NA TTP/aHUS/cHUS – OBRAVNAVA PRI ODRASLIH

Sum na trombotično trombocitopenično purpuro (TTP), atipični hemolitično uremični sindrom (aHUS) ali klasični hemolitično uremični sindrom (cHUS) se postavi glede na klinično sliko in tipične odklone v laboratorijskih preiskavah. Klinična slika je odvisna od vrste bolezni. Pri TTP je značilnejša prizadetost ČŽS z glavobolom, motnjami zavesti ali konvulzijami. Prizadeti so lahko tudi ostali organi (srce, pankreas, ščitnica, nadledvične žleze, prebavila...), ledvice so redko kdaj prizadete. Pri aHUS so tipično prizadete ledvice, možna pa je tudi prizadetost ČŽS in drugih organov. Pri cHUS se bolezen tipično začne z drisko zaradi okužbe z bakterijo, ki izloča Shiga toksin. Tipična je prizadetost ledvic, možna pa je tudi prizadetost ČŽS in drugih organov. Na omenjene diagnoze pomislimo predvsem ob laboratorijskih znakih trombotične mikroangiopatije. Med temi so najbolj pomembni in ključni za postavitve suma na TTP/aHUS/cHUS prvi štirje, ostali pa so prisotni pri večini bolnikov:

- trombocitopenija,
- anemija,
- zvišan LDH,
- povišan odstotek fragmentiranih eritrocitov (shizocitov),
- znižan haptoglobin,
- povišan celokupni oziroma indirektni bilirubin,
- zvišani retikulociti.

V začetni diagnostiki je pomembno izključiti tudi ostale pogostejše vzroke za hemolizo ali trombocitopenijo, predvsem DIK in avtoimunske hemolitične anemije. Bolniki s sumom na TTP/aHUS/cHUS imajo zato tipično:

- normalne teste hemostaze,
- negativen Coombsov test.

Pri bolnikih s sumom na TTP/aHUS/cHUS je za potrditev etiologije **nujno potrebno** vzeti:

- ADAMTS-13 (aktivnost in protitelesa) – pri TTP tipično aktivnost < 10%;
- komplementne preiskave – pri aHUS tipično znaki aktivacije komplementnega sistema, vendar ne vedno;
- blato na Shiga toksin (verotoksin) – pozitivno pri cHUS.

Ker že ob sumu na TTP/aHUS/cHUS praviloma pričnemo z zdravljenjem z urgentno plazmaferezo, je zelo pomembno, da nekatere preiskave za potrditev etiologije bolezni **OBVEZNO** odvajamo pred prvo proceduro, saj so izvidi po začetku zdravljenja s plazmaferezo lahko nerealni zaradi infuzij sveže zmrznjene plazme (Tabela 1).

Tabela 1. Preiskave, ki jih je **POTREBNO** odvzeti **PRED PRVO PLAZMAFEREZO** pri bolniku s sumom na TTP/aHUS/CHUS.

Preiskava	Epruveta	Laboratorij in napotna dokumentacija	Posebni pogoji transporta oz. shranjevanja*
Komplement – aHUS (C3, C4, C5b-9, CH50, AH50, lektinska pot, faktor H, faktor I, faktor B, C3dg, C4d, protitelo proti faktorju H, C3 nefritični faktor), C5b-9 v urinu	1x rdeča epruveta (6 ml) za kri, 1x vijolična epruveta (6 ml) za kri, 1x vijolična epruveta (3 ml) za urin NA LED!!!!	IMI, napisati dve »mikro« napotnici: • ena za vzorce krvi, preiskava: Komplement – aHUS • ena za vzorec urina, preiskava: C5b-9	DA NA LED!!!! Obvezno glej navodila na naslednji strani!!!!
Protitelesa proti C1q, ANCA protitelesa	1x rdeča epruveta (6 ml)	MF PATO, napisati interno napotnico	DA
ADAMTS-13 (aktivnost, protitelesa), lupusni antikoagulant	2x modra epruveta (4,5 ml)	KOH, naročiti preiskave v Hipokratu	DA
Krvna skupina Virusni markerji (HBsAg, anti-HBc, anti-HBs, anti-HCV, anti-HIV) Coombsov test (direktni in indirektni)	2x vijolična epruveta (6 ml)	Zavod za transfuzijo, napisati interno napotnico ZTS	NE
Imunoserologija (Hep-2, ENA, aCL, anti beta2 GPI, aPS/PT)	1x rdeča epruveta (6 ml)	LIR, naročiti preiskave v Hipokratu	DA
Monoklonski imunoglobulini (proteinogram seruma, proste kapa in lambda verige, monoklonski imunoglobulini v serumu)	1x rdeča epruveta (6 ml)	KIKKB, naročiti preiskave v Hipokratu	NE
Testi hemostaze (PČ, INR, aPTČ, fibrinogen, D-dimer)	1x modra epruveta (4,5 ml)	KIKKB, naročiti preiskave v Hipokratu	NE
Serologija na Hantaviruse Serologija na Leptospire	1x rdeča epruveta (6 ml)	IMI, napisati »mikro« napotnico	NE

* Posebni pogoji so opisani v naslednjih dveh odstavkih. Rdeča epruveta: brez antikoagulant, vijolična epruveta: z EDTA, modra epruveta: s citratom. IMI – Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, MF PATO – Inštitut za patologijo MF, KOH – Laboratorij Kliničnega oddelka za hematologijo, LIR – Laboratorij za imunologijo revmatizma BPD, KIKKB – Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo.

V dopoldanskem času ob delovnih dnevih se vse preiskave oddajo kot običajno. Epruvete za KIKKB, LIR v BPD, Inštitut za patologijo, Zavod za transfuzijo, Laboratorij KOH (od 7.30 do 15.00) in za serologijo na Hantaviruse in Leptospire (IMI) potujejo z običajno kurirsko službo brez posebnih pogojev. Epruvete za IMI za določanje komplementa (Komplement – aHUS: 1x rdeča epruveta in 1x vijolična za kri in 1x vijolična za urin za C5b-9) pa potrebujejo **posebno pripravo**. Eno vijolično epruveto s krvjo je potrebno dobro premešati in **takoj! ohladiti na ledu**. Rdečo epruveto s krvjo je potrebno pustiti na sobni temperaturi, da kri koagulira (od 30 do največ 60 minut), nato pa prav tako ohladiti **na ledu**. Vzorec urina je potrebno **takoj po odvzemu** preliti v 1x vijolično epruveto (3 ml), vsebino se v epruveti dobro premeša in **takoj! da na led**. Transport vseh treh epruvet mora biti opravljen na ledu z ustrezno napotnico s kurirsko službo v sprejemno pisarno IMI, Zaloška 4.

V času dežurstva (v popoldanskem času, ponoči, čez vikend in ob praznikih) se epruvete za Zavod za transfuzijo, testi hemostaze in monoklonski imunoglobulini za KIKKB in serologija na Hantaviruse in Leptospire (IMI) pošljejo kot običajno po kurirski službi brez posebnih pogojev transporta. Vse ostale epruvete je potrebno dostaviti v urgentni laboratorij KIKKB, kjer jih bodo ustrezno shranili do naslednjega rednega delovnega dne. **Če že v dopoldanskem času pričakujemo, da bo potrebno vzorce odvzeti v času dežurstva (npr. premestitev iz druge bolnice) o tem nujno obvestimo KIKKB, da bodo lahko zagotovili ustrezen kader v času dežurstva (tel. št. 2733 ali 3652)**. Vzorce moramo v 24-urni laboratorij transportirati v vrečkah namenjenih za transport biološkega materiala, skupaj s pripadajočo napotno dokumentacijo, ločeno glede na sklop preiskav (IMI: Komplement – aHUS, C5b-9 v urinu), (MF PATO: protitelesa proti C1q in ANCA protitelesa), (KOH: ADAMTS-13, lupusni antikoagulant), (LIR: Imunoserologija). **Poleg napotne dokumentacije za IMI, MF PATO in LIR je nujno potrebno pri naročanju preiskav za laboratorij v Hipokratu označiti v predelku »ODVZEMI, POŠILJANJE, POCT« označiti še: »Posebna priprava vzorca«**. Epruvete za IMI za določanje komplementa (Komplement – aHUS: 1x rdeča epruveta in 1x vijolična za kri, 1x vijolična za urin) je potrebno obravnavati po enakem protokolu kot v dopoldanskem času. Takoj po odvzemu je potrebno vijolično epruveto s krvjo ali urinom dobro premešati in jo ohladiti **na ledu**. Rdečo epruveto je potrebno pustiti na sobni temperaturi, da kri koagulira (od 30 do največ 60 minut), nato pa prav tako ohladiti **na ledu**. Vzorec urina je potrebno **takoj po odvzemu** preliti v 1x vijolično epruveto (3 ml), vsebino se v epruveti dobro premeša in **takoj da na led**. Vse tri epruvete namenjene preiskavam komplementa je potrebno transportirati v urgentni laboratorij KIKKB **na ledu**. Ostale epruvete (2x rdeča epruveta in 2x modra epruveta) lahko potujejo v urgentni laboratorij na sobni temperaturi. Epruvetam, ki bodo shranjene v urgentnem laboratoriju je potrebno priložiti ustrezne napotnice: dve »mikro« napotnic (Komplement – aHUS za krvne preiskave in C5b-9 za urin) ter ena interna napotnica za Inštitut za patologijo za anti-C1q protitelesa in ANCA (ostale preiskave – ADAMTS-13, lupusni antikoagulant in imunoserologija – so naročene v Hipokratu). Obravnava vzorcev v urgentnem laboratoriju je opisana v nadaljevanju.

Navodila za obravnavo in shranjevanje vzorcev v urgentnem 24-urnem laboratoriju KIKKB

- V urgentnem 24-urnem laboratoriju KIKKB je potrebno prinesene vzorce krvi centrifugirati, odpipetirati serum oziroma plazmo v nove epruvete, epruvete ustrezno označiti in vzorce shraniti v zamrzovalni skrinji ali hladilniku – odvisno od vzorca.
- **1x rdeča epruveta + 1 x vijolična epruveta za kri + 1 x vijolična epruveta za urin**, ki bi morale biti transportirane do laboratorija na ledu, so namenjene analizi komplementa v Laboratoriju za humoralno imunologijo na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo. Vse tri epruvete je potrebno centrifugirati pri **1260 g za 10 minut pri +4°C**. Serum iz rdeče epruvete je potrebno razdeliti **v vsaj pet** različnih epruвет z zamaškom s **po 200 µl vzorca**. Epruvete je potrebno označiti z imenom in priimkom pacienta, rojstnim datumom ter označbo: Komplement – aHUS – **serum**. Plazmo iz vijolične epruvete je potrebno razdeliti **v vsaj štiri** različne plastične epruvete z zamaškom **po 200 µl vzorca**. Epruvete je potrebno označiti z imenom in priimkom pacienta, rojstnim datumom ter označbo: Komplement – aHUS – **plazma**. Urin iz vijolične epruvete se prelije v novo plastično epruveto z zamaškom. Epruveto je potrebno označiti z imenom in priimkom pacienta, rojstnim datumom ter označbo: Komplement – aHUS – **urin**. Vse vzorce iz te skupine je potrebno **takoj!** po centrifugiranju in razdelitvi v epruvete shraniti **pri – 20°C**.
- **2x rdeča epruveta** sta namenjeni imunoserološkim preiskavam v Laboratoriju za imunologijo revmatizma in na Inštitutu za patologijo. Epruvete je potrebno centrifugirati pri **2000 g za 10 minut pri + 20°C**. Serum iz vsake epruvete je potrebno odpipetirati v svojo novo plastično epruveto z zamaškom. Vse epruvete je potrebno označiti z imenom in priimkom pacienta ter rojstnim datumom. Na eno epruveto dodatno napišemo LIR, na drugo pa MF PATO. Epruvete shranimo v hladilniku (+4°C). Naslednji redni delovni dan je potrebno vzorce prenesti v ustrezne laboratorije za analizo. Vzorcju, ki gre na Inštitut za patologijo je potrebno priložiti ustrezno napotnico.
- **2x modra epruveta** sta namenjeni analizi ADAMTS-13 in lupusnega antikoagulanta v Specializiranem hematološkem laboratoriju. Epruvete centrifugiramo pri **2000 g za 15 minut pri +4°C ali sobni temperaturi**. Plazmo odpipetiramo v dve plastični epruveti z zamaškom in pri tem pazimo, da ne odpipetiramo eritrocitov. Obe epruveti ponovno centrifugiramo pri **2600 g za 15 minut pri +4°C ali sobni temperaturi**. Vzorec tako pridobljene plazme zamrznemo – **4 x po 500 µL plazme** (supernatant) iz vsake epruvete prenesemo v novo plastično epruveto (pazimo, da ne odpipetiramo trombocitov, ki so se lahko zbrali na dnu epruvete). Epruveti je potrebno označiti z imenom in priimkom pacienta, rojstnim datumom ter označbo: ADAMTS-13 za SHL in jo shraniti **pri – 20°C ali pri – 80°C**.

POZOR: naslednji redni delovni dan je shranjene vzorce potrebno primerno transportirati v ustrezne laboratorije, kar je **dolžnost oddelka na katerem je bolnik hospitaliziran.** Transport vzorcev mora odrediti lečeči zdravnik, koordinira pa ga višja medicinska sestra (VMS), ki je odgovorna za bolnico/bolnika.

Za vzorce za preiskavo Komplement – aHUS smo dogovorjeni, da vzorce na ledu transportirajo uslužbenci IMI laboratorija, zato da bo transport čim krajši s čimer preprečimo, da bi se vzorci med transportom odtajali, zaradi česar bi bili izvidi nerealni. VMS mora o prisotnosti vzorcev v zamrzovalniku 24-urnega laboratorija ter imenu in priimku bolnika obvestiti Laboratorij za humoralno imunologijo IMI na tel. št. 01-543-7488. Laboratorij sprejema vzorce od ponedeljka do petka od 8.00 do 14.00 ure.

Za vzorce za preiskavo za preiskave ADAMTS-13 in lupusni antikoagulant smo dogovorjeni, da vzorce na ledu transportirajo uslužbenci Specializiranega hematološkega laboratorija, zato da bo transport čim krajši s čimer preprečimo, da bi se vzorci med transportom odtajali, zaradi česar bi bili izvidi nerealni. VMS mora o prisotnosti vzorcev v zamrzovalniku 24-urnega laboratorija ter imenu in priimku bolnika obvestiti Specializirani hematološki laboratoriji na interno tel. št. 2440. Laboratorij sprejema vzorce vsak delovni dan od 7.30 do 15.00 ure.

Za vzorec za Inštitut za patologijo poseben način transportiranja ni potreben. VMS mora obvestiti kurirko, da je ustrezna epruveta z vzorcem (tista na kateri piše MF PATO) v hladilniku 24-urnega laboratorija KIKKB in da ga je potrebno transportirati, skupaj z ustrežno napotnico, na Inštitut za patologijo MF.

Vzorce za Laboratorij za imunologijo revmatizma in za ostale laboratorije KIKKB bo transportiral KIKKB po svojem utečenem notranjem transportu. Kljub temu mora VMS po telefonu (3652, 3785) obvestiti 24-urni laboratorij, da se vzorci za omenjene preiskave nahajajo v hladilniku pod imenom bolnika in da jih je potrebno transportirati naprej.

Pomembne telefonske številke:

- 24-urni urgentni laboratorij KIKKB: interni telefonski številki: 3652, 3785, Vodja laboratorija: mag. Nada Snoj, spec. med. biokem., tel. št. 2733.
- Laboratorij za humoralno imunologijo IMI: 01-543-7488, Vodja laboratorija: strok. svet. asist. dr. Saša Simčič, univ. dipl. kem., tel. št. 01-543-7491; sodelavka asist. dr. Sanja Stopinšek, univ. dipl. biol., tel. št. 01-543-7481.
- Specializiran hematološki laboratorij KO za hematologijo: Vodja laboratorija: Izr. prof. dr. Helena Podgornik, spec. med. biokem., sprejem lab. za hemostazo, interna telefonska številka: 2440. Asist. dr. Martina Fink, spec. med. biokem ali doc. dr. Tadej Pajič, spec. med. biokem., spec. lab. med. genetike, tel. št. 4854.
- V primeru nejasnosti lahko pokličete na 041-368-253 (dr. Andrej Škoberne)