НАРЕДБА № 18 ОТ 1 АВГУСТ 2014 Г. ЗА УТВЪРЖДАВАНЕ НА МЕДИЦИНСКИ СТАНДАРТ "ИМУНОЛОГИЧНА ПОДГОТОВКА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ОРГАНИ, ТЪКАНИ И КЛЕТКИ"

Издадена от министъра на здравеопазването

Обн. ДВ. бр.70 от 22 август 2014г.

Член единствен. (1) С наредбата се утвърждава медицинският стандарт "Имунологична подготовка при трансплантация на органи, тъкани и клетки" съгласно приложението.

(2) Наредбата не се прилага за вземането, съхранението и предоставянето на стволови клетки от пъпна връв за трансплантация.

Заключителни разпоредби

§ 1. Наредбата се издава на основание чл. 6, ал. 1 от Закона за лечебните заведения и отменя Наредба № 43 от 2010 г. за утвърждаване на медицински стандарт "Имунологична подготовка при трансплантация на органи, тъкани и клетки" (ДВ, бр. 68 от 2010 г.).

§ 2. Указания по прилагането на наредбата се дават от министъра на здравеопазването.

Приложение към член единствен, ал. 1

МЕДИЦИНСКИ СТАНДАРТ "ИМУНОЛОГИЧНА ПОДГОТОВКА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ОРГАНИ, ТЪКАНИ И КЛЕТКИ"

Раздел I

Общи положения

1. Медицинският стандарт цели осигуряване на критерии за постигане на високо качество на имунологичната диагностика при трансплантация на органи, тъкани и клетки, отговарящо на съвременното развитие на науката.

2. Структурата по клинична имунология, която извършва имунологични изследвания на реципиенти и донори, трябва да отговаря на медицинския стандарт "Клинична имунология", да спазва изискванията за тъканна съвместимост и имуногенетични изследвания на Европейската федерация по имуногенетика, както и да бъде акредитирана от Европейската федерация по имуногенетика за съответните видове трансплантация и за следните категории:

2.1. трансплантация на органи - типизиране на реципиенти и донори, скрининг и определяне на алоантителната специфичност, кросмачреакция;

2.2. трансплантация на хемопоетични стволови клетки - типизиране на реципиенти, родствени и неродствени донори, донори за включване в регистър на потенциалните донори, кръв от пъпна връв, кросмачреакция, химеризъм.

3. Имунологичната диагностика на реципиентите и донорите се извършва от една и съща структура.

4. Структурата по клинична имунология участва чрез научни разработки в развитието на трансплантологията, както и в подготовката и усъвършенстването на медицински и немедицински специалисти за тези дейности.

Раздел II

Имунологична подготовка при трансплантация на органи

5. Реципиенти

5.1. Имунологичното изследване на даден пациент преди трансплантация започва със снемане на анамнеза за възможни сенсибилизации (хемотрансфузия, бременност, предшестваща трансплантация).

5.2. Имунологичната подготовка на пациент, нуждаещ се от орган за трансплантация, обхваща изследване на HLA системата и доказване на алоантитела.

6. HLA типизиране

6.1. На потенциалния реципиент се извършва HLA типизация двукратно чрез използване на две различни кръвни проби.

6.2. Типизиране за локусите HLA-A и -B (клас I) се извършва чрез серологичен лимфоцитотоксичен и/или чрез молекулярно-биологичен метод. При необходимост се изследва HLA-C локуса чрез молекулярно-биологичен метод.

6.3. Типизиране за HLA-DRB1 и HLA-DQB1 локусите (клас II) се извършва чрез молекулярно-биологични методи.

6.4. Ако резултатите от изследването на HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 локусите покажат само един алел от локус, се извършва верифициращо типизиране чрез молекулярно-биологичен метод.

6.5. Хомозиготност се доказва само чрез изследване на фамилията чрез молекулярно-биологични методи и определяне на хаплотипното унаследяване.

6.6. Записването на резултата от HLA типизирането задължително се съобразява с актуалната номенклатура на Световната здравна организация (СЗО) за факторите на HLA системата.

7. Доказване на алоантитела

7.1. При пациенти, които подлежат на трансплантация на органи, преди включването им в регистъра на Изпълнителната агенция по трансплантация се изследва наличието на HLA антитела. За трансплантация на бъбреци и панкреас изследванията се повтарят периодично най-малко два пъти годишно.

7.2. След сенсибилизиращи събития (хемотрансфузия, бременност) и след необратимо отхвърляне на органа HLA антителата се изследват на 14-ия ден.

7.3. Определят се и се документират HLA антигенните специфичности, срещу които са насочени откритите антитела. Необходимо е да бъдат разграничени антителата срещу HLA антигени от антитела с друга специфичност.

7.4. Серумите след всяко сенсибилизиращо събитие и положителните за алоантитела серуми се съхраняват за бъдещ кросмач.

7.5. Използват се техники, които дават възможност за определяне на комплемент-фиксиращи, комплемент-нефиксиращи и нискотитърни HLA клас I и клас II антитела.

8. Трупен донор

8.1. Екипът на структурата, осъществяваща имунологична подготовка при трансплантация от трупен донор, е на разположение 24 часа в денонощието 7 дни в седмицата. Изготвя се месечен график и актуален списък с имената и телефоните на екипа.

8.2. Прилага се общоприетият (базиран на научни доказателства) принцип за съвместимост по HLA системата на донора и реципиента с оглед оптимизиране на прогнозата, минимализиране на риска от отхвърляне и избягване на сенсибилизация към HLA антигени. Имунологичното изследване на трупен донор включва HLA типизиране.

8.3. На потенциалния донор се извършва двукратно HLA типизиране.

8.4. Типизиране за локусите HLA-A и -B (клас I) се извършва чрез серологичен лимфоцитотоксичен и/или чрез молекулярно-биологичен метод.

8.5. Типизиране за HLA-DRB1 и HLA-DQB1 локусите (клас II) се извършва чрез молекулярно-биологични методи.

9. Жив донор

9.1. Входящите критерии за жив донор са съвместимост по АВО с проспективния реципиент на органи и съобразяване на данните от инфекциозния статус.

9.2. HLA типизиране на жив донор се извършва съгласно т. 6.1 - 6.6.

10. Проба за кръстосана реактивност (кросмач реакция)

10.1. Проверката на съвместимостта при избора на жив донор или на реципиенти за трупен донор се извършва чрез серологична кръстосана проба между реципиента/ите и проспективния жив/трупен донор чрез флоуцитометричен метод или друг високочувствителен тест.

10.2. Пробата за кръстосана реактивност се извършва с пресен серум. При доказани HLA антитела у реципиента пробата се извършва и с исторически серум/и. Взетите на 14-ия ден след сенсибилизиращо събитие серуми също се включват в кросмач реакцията преди трансплантация. Структурата, която извършва кросмач реакция, трябва да има утвърдена политика за подбор на положителните исторически серуми.

10.3. Структурата трябва да може да определя Т- и В-клетъчен кросмач и да отдиференцира положителен кросмач, дължащ се на алоантитела, от този, дължащ се на автоантитела.

11. Избор на двойка донор/реципиент при трансплантация на органи

11.1. Извършва се проверка на съвместимостта на кръвната група, съвместимостта на инфекциозните маркери, кросмач реакцията и степента на тъканна съвместимост в тясна и точна зависимост с трансплантацията.

11.2. Имунологична диагностика при трансплантация от трупни донори

11.2.1. Имунологичната диагностика обхваща проверка на кръвната група на донора, HLA типизиране и проба за кръстосана реактивност.

11.2.2. Имунологичната преценка за избора на двойката донор/реципиент се базира на степента на тъканната съвместимост, резултата от кросмач реакцията и имунологичната информация за реципиента (предишна сенсибилизация и HLA несъвместимост при предишни трансплантации).

11.3. Имунологична диагностика при трансплантация от живи донори

11.3.1. Проверява се изчерпателността на информацията за имунологичната съвместимост на избраната двойка жив донор/реципиент на орган съобразно т. 9 и 10 и се допълва при необходимост с нова информация и изследвания.

11.3.2. Потвърждава се имунологичната съвместимост на избраната двойка жив донор/реципиент непосредствено преди трансплантацията чрез повторение на кросмач реакцията.

11.3.3. Серум се получава от прясно взета кръвна проба.

12. Висока степен на тъканна съвместимост

12.1. Преживяемостта значително се увеличава при пациенти, които получават орган с висока съвместимост. Висока степен на съвместимост е тази, при която няма HLA-DRB1 несъвпадение и е налице най-много един несъвместим антиген в HLA-A и/или HLA-B локусът.

12.2. При възможност се избягва несъвместимост по основните HLA антигени, особено при младите реципиенти, за да се минимализира вероятността за последващо формиране на специфични HLA антитела.

12.3. Използването на HLA-съвместим орган е от изключително значение при деца с оглед подобряване на преживяемостта и намаляване риска от сенсибилизация. Препоръчва се деца, които са с голяма вероятност да получат орган с висока степен на съвместимост, да не бъдат

трансплантирани с такъв с ниска степен на съвместимост. Целта е поне 60 % от бъбречните трансплантации да са с висока степен на HLA съвместимост.

Раздел III

Имунологична подготовка при алогенна трансплантация на костен мозък, периферни хемопоетични стволови клетки и стволови клетки от пъпна връв

13. Търсене на донор

13.1. Имунологичното търсене на донор се изиска от лекар с призната медицинска специалност от лечебно заведение за болнична помощ с разрешение за дейност по чл. 48, ал. 1 от Закона за лечебните заведения, в което е включена дейност по трансплантация на стволови клетки и костен мозък.

13.2. Имуногенетичното търсене на донор се извършва само от специалисти с опит и квалификация в областта на търсене и определяне на съвместимост при родствени и неродствени донори. HLA типизирането задължително се извършва от структура, акредитирана към Европейската федерация по имуногенетика.

14. Алгоритъм на търсене

14.1. Търсенето на донор във фамилия е търсене при братя, сестри и родители.

14.2. Разширено търсене на донор във фамилията е търсене при останалите кръвни родственици на пациента.

14.3. Търсене на донор по регистър е търсене сред неродственото население в база данни на донори на костен мозък в България и между интернационални регистрирани донори.

15. Видове търсене

15.1. Търсене на донор във фамилия

15.1.1. Търсенето на донор задължително започва с търсене на донор във фамилията. Изследват се задължително родителите на пациента, за да може да се определят недвусмислено майчиният и бащиният HLA-A, -B, -DRB1 хаплотип на пациента чрез сегрегационен анализ.

15.1.2. В случай че търсене на донор във фамилията е безрезултатно, трябва във фиша с резултатите да се информира лекуващият лекар за възможността и шанса за успех на разширено търсене на донор във фамилия.

15.1.3. Ако в семейството се установи само един частично HLA-съвместим донор, трябва лицето, извършило/изискало търсенето, да изясни в сътрудничество със структурата, която ще извърши трансплантацията, дали този донор е подходящ за пациента, или търсенето трябва да продължи под формата на разширено търсене на донор във фамилия и/или търсене на донор по регистър.

15.2. Разширено търсене на донор във фамилията и търсене на донор по регистър

15.2.1. За пациенти от европеидната популация търсенето на донор във фамилията има значително по-висок шанс за успех (80 %), отколкото разширеното търсене на донор във фамилията (<10 %).="" поради="" това,="" след="" неуспешно="" търсене="" на="" донор="" във="" фамилията,="" търсенето="" на="" донор="" следва="" да="" продължи="" само="" под="" формата="" на="" търсене="" на="" донор="" по="">

15.2.2. Разширено търсене на донор във фамилията и търсене на донор по регистър се предприемат паралелно, в случай че:

15.2.2.1. трансплантацията на хемопоетични стволови клетки е спешна по клинични показатели;

15.2.2.2. шансът за успех на търсенето на донор във фамилия и разширеното търсене на донор във фамилията е почти еднакво ограничен поради много ниската HLA-фенотипна честота (редки алели или хаплотипи) на реципиента.

15.3. Търсене на съвместима единица кръв от пъпна връв

15.3.1. За пациенти с редки алели и хаплотипи, при които вероятността за намиране на

HLA-съвместим донор е малка, както и при клинични показатели за спешна трансплантация, паралелно започва търсене и на съвместима единица/единици кръв от пъпна връв.

16. Значение на HLA съвместимостта за избор на донор

16.1. Основни антигени на тъканната съвместимост

16.1.1. Решаващо за клиничния успех на алогенните трансплантации е донорът и пациентът да са съвместими напълно или в голяма степен по основните антигени на тъканна съвместимост (HLA антигени).

16.2. HLA идентичност

16.2.1. HLA идентичност е пълно съвпадение между донора и реципиента по аминокиселинни секвенции на антигените, кодирани от HLA-A, -B, -C,- DRB1, -DQB1 гените.

16.2.2. HLA идентичност се приема, когато донор и реципиент са кръвни родственици и според сегрегационния анализ са наследили един и същ бащин и майчин HLA хаплотип, т.нар. генотипна HLA идентичност.

16.2.3. Извън случаите по т. 16.2.2 HLA идентичност се доказва чрез секвениране на всички горепосочени гени, т. нар. фенотипна HLA идентичност.

16.3. HLA съвместимост

16.3.1. За изхода на трансплантацията са предиктивни полиморфизмите на гените HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1.

16.3.2. В случай че повече донори са съвместими с пациента по отношение на следните локуси: HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, типизирането на HLA-DPB1 локуса може да доведе до допълнителен подбор на донор.

16.3.3. Като HLA-съвместими се определят двойки от донор и реципиент, които са съвместими по отношение на трансплантационно значимите HLA локуси (-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1).

16.4. Частична HLA съвместимост

16.4.1. Ако за пациент няма HLA-съвместим донор, може при определени клинични обстоятелства (спешна трансплантация, поради непосредствен риск от неблагоприятен изход на основното заболяване) да се приеме частично HLA-съвместим донор, а именно донор, който е различен по един или повече трансплантационно значими HLA алели (-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1) с пациента.

16.4.2. Ако за пациент има на разположение повече от един донор с еднаква степен на съвместимост по отношение на HLA критериите за избор, се вземат под внимание следните допълнителни критерии за избор на окончателен донор:

16.4.2.1. пол - ако е възможно за пациент мъж да се избегне донор от женски пол;

16.4.2.2. възраст - по-млади донори са за предпочитане пред по-възрастни;

16.4.2.3. CMV статус - ако е възможно за CMV-негативен пациент да се избере CMV-негативен донор;

16.4.2.4. AB0 кръвна група: предимство имат донор и реципиент с една и съща AB0 кръвна група.

17. HLA типизиране и търсене на донор

17.1. Търсене на донор във фамилията и разширено търсене на донор във фамилията

17.1.1. Първоначални изследвания

17.1.1.1. Пациентите, техните братя, сестри и родители е задължително да се изследват за HLA-A, -B, -DRB1 локусите. Типизирането на HLA фенотипно идентични братя/сестри трябва да включва съответно тестуване за потвърждаване на HLA идентичността въз основа на унаследяването или клас I и II типизиране с висока разграничителна способност.

17.1.1.2. HLA типизирането на пациента и потенциално съвместим фамилен донор, който не е фенотипно/генотипно HLA идентичен брат/сестра, трябва да включва HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1 генотипизиране с висока разграничителна способност.

17.2. Верифициращо HLA типизиране

17.2.1. След успешни ТДФ/РТДФ е задължително да се извърши HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 изследване на реципиента и неговия потенциален донор с нови кръвни проби преди ТХСК.

17.3. Търсене на донор във фамилията

17.3.1. Първоначални изследвания

Потенциалните донори, включени в базата данни на неродствени донори на костен мозък и/или периферни стволови клетки, трябва задължително да бъдат HLA-типизирани най-малко за HLA-A, -B, -DRB1 локусите в акредитирана от Европейската федерация по имуногенетика структура.

17.3.2. Стволови клетки от кръв от пъпна връв

17.3.2.1. Единиците кръв от пъпна връв трябва да бъдат изследвани първоначално минимално по HLA-A, -B с ниска разграничителна способност и -DRB1 локуса с висока разграничителна способност в акредитирана от Европейската федерация по имуногенетика структура.

17.3.2.2. Типизиране по допълнителни локуси или с друго ниво на разграничимост се извършва при поискване от лечебно заведение, което извършва дейности по трансплантация.

17.3.2.3. Верифициращо типизиране се извършва с нова проба, взета от съчленението с единицата сакче с молекулярно-биологичен метод с висока разграничителна способност по HLA-A, -B, -C, -DRB1 и -DQB1 локусите.

17.3.2.4. Приемливи са различия по 1 или 2 HLA-A, -B антигена/алела.

17.4. HLA верифициращ тест на пациента

17.4.1. Преди започване на търсене на донор по регистър се провежда задължително молекулярно-биологично HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 тестуване на пациента с висока разграничителна способност (на алелно ниво). Ако някои алелни комбинации не могат да бъдат изключени, това се отразява в резултата на пациента.

17.4.2. Преди трансплантация се извършва верифициращо HLA типизиране в акредитирана от Европейската федерация по имуногенетика структура с наново взета кръвна проба от пациента.

17.4.3. HLA верифициращ тест на потенциален донор

17.4.3.1. При наличие на HLA-A,-B,-DRB1-съвместим потенциален донор се извършва разгърнато HLA (-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1) типизиране на алелно ниво. Изискването на кръвна проба от частично HLA-съвместим донор за допълнително разгърнато типизиране се преценява, когато няма подходящ HLA-съвместим донор.

17.4.3.2. Верифициращото типизиране на потенциални донори се извършва с нова кръвна проба по молекулярно-биологични методи в акредитирана от Европейската федерация по имуногенетика структура. Тестуване на HLA-DPB1 локуса може да се извърши в случай, че са на разположение повече HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1-съвместими донори.

18. Изисквана разграничителна способност на HLA типизирането

18.1. Методи за HLA типизиране

18.1.1. Молекулярно-биологично HLA типизиране се извършва чрез полимеразно-верижна реакция (PCR) с праймери, специфични за дадена секвенция (SSP), с олигонуклеотидни проби, специфични за дадена секвенция (SSOP), или чрез секвениране (SBT). Най-прецизната висока разграничителна техника е ДНК секвенирането. Тя позволява да се идентифицират и да се характеризират и нови HLA алели.

18.1.2. При типизирането с висока разграничителна способност се определят HLA алелите, кодиращи дадена белтъчна последователност в антиген свързващия участък на молекулата. Алелите се дефинират чрез първото и второто поле (например DRB1*13:01) съгласно номенклатурата на СЗО и чрез:

18.1.2.1. разграничаване на всички неразграничими комбинации, определени от полиморфизми в екзони 2 и 3 на HLA клас I локусите и екзон 2 на HLA клас II локусите;

18.1.2.2. разграничаване на всички неразграничими комбинации, включващи нулев алел, независимо от това, къде е локализиран полиморфизмът, освен когато е доказано, че антигенът е експресиран върху клетъчната повърхност.

18.1.3. На всяка структура по клинична имунология се препоръчва да извършва типизиране чрез PCR-SSP или PCR-SSOP метод, чрез които да се определят всички публикувани специфичности, както и SBT метод за типизиране с висока разграничителна способност, в случай на неразграничима алелна комбинация или възможно наличие на нов алел.

19. Приемливи HLA различия

19.1. Общи критерии за решение

19.1.1. В случай че няма или в момента не е на разположение HLA-съвместим донор, може да се приеме частично HLA-съвместим донор въз основа на:

19.1.1.1. степен на HLA различието: секвенционна хомоложност на различните HLA гени, посоката на имунологична реакция: на трансплантата срещу реципиента GvH- и/или реакция на реципиента срещу присадката HvG-направление (например налице е констелация: пациент HLA-B*27 хомозиготен / донор HLA-B*27, *44 хетерозиготен за HLA-B локус - няма несъвместимост в GvH-направление, но има 1 несъвместимост в HvG-направление);

19.1.1.2. основно заболяване и клинична спешност на трансплантацията;

19.1.1.3. възраст на пациента;

19.1.1.4. съпровождащи основното заболяване и предхождащата терапия усложнения и други страдания при пациента (коморбидност);

19.1.1.5. достъпен източник на стволови клетки (костен мозък, периферна кръв, пъпна връв);

19.1.1.6. възможности за добиване на трансплантат с висок брой хемопоетични стволови клетки (CD34+);

19.1.1.7. възможности и показания за Т-клетъчна деплеция на трансплантата; интензитет на кондициониращия режим;

19.1.1.8. избрани медицински протоколи за профилактика на реакцията на присадка срещу приемател (GvHD);

19.1.1.9. донорно-реципиентна NK-алореактивност, наличие на активиращи KIR гени у донора.

19.2. Пациенти с малигнени хематологични заболявания (левкемии, миелодиспластичен синдром, малигнени лимфоми, включително плазмоцитом)

19.2.1. Препоръки за приемливи HLA различия могат да се дадат само за пациенти, които след миелоаблативно кондициониране получават неманипулиран трансплантат.

19.2.2. Частично HLA-съвместими родствени донори

19.2.2.1. Частично HLA-съвместим родствен донор може да се предпочете, когато няма на разположение за момента HLA съвместим неродствен донор. Счита се, че в родствена констелация донор/реципиент по принцип е приемливо едно HLA различие (главна група или подгрупа) на локус HLA-A или HLA-B или HLA-C или HLA-DRB1 или HLA-DQB1 в GvH- и/или HvG направление (като A*02 vs.A*03, B*07 vs. B*27, B*40(60) vs. B40 (61), DRB1*01 vs. DRB1*03, DRB1*15 vs. DRB1*16 или DQB1*02 vs. DQB1*03).

19.2.2.2. Предварителните данни по т. 19.2.2.1 не изключват възможността при индивидуални случаи да се привлекат донори с несъвпадение по повече локуси.

19.2.3. Частично HLA-съвместими неродствени донори

19.2.3.1. Ако при клинични показания за неотложна трансплантация няма на разположение подходящ родствен и/или HLA-съвместим неродствен донор, за всеки пациент

индивидуално лекуващият лекар заедно със специалистите - трансплантолози и имунолози, преценяват дали е приемлив частично HLA-съвместим неродствен донор. Препоръчително е само едно различие на HLA-A, -B, -C или -DQB1 локус, при което въпросните HLA алели по възможност трябва да покажат аминокиселинна секвенционна хомоложност на алелните секвенции. Всяко допълнително несъвпадение по следващ локус понижава общата преживяемост (OS) с 10 %. Следва да се има предвид възможността за трансплантация с една или повече единици кръв от пъпна вена като алтернатива.

19.3. Пациенти с вроден тежък комбиниран имунен дефицит

19.3.1. При заболяванията по т. 19.3 рискът от отхвърляне е нисък, а рискът от GvHD е много висок, поради което HLA различията в HvG-направление могат да се игнорират.

19.3.2. Непосредствено след поставяне на диагнозата начинът за търсене на донор се съгласува със структурата, която ще извърши трансплантацията.

19.3.3. Изборът на донор се ръководи и се съобразява с публикуваните данни от проучвания в лечебни заведения, в които се извършват дейности по трансплантация.

19.3.4. При тежък комбиниран имунен дефицит може да се приемат и HLA-хаплоидентични родствени донори.

19.3.5. При донорите по т. 19.3.4 се прави Т- и В-клетъчна деплеция за профилактика на GvHD.

19.4. Пациенти с други немалигнени заболявания с неблагоприятна прогноза (придобита тежка апластична анемия, анемия на Fanconi, кортикорезистентна анемия на Blackfan-Diamond, резистентен на G-CSF синдром на Kostmann, хомозиготна форма на β-таласемичен синдром, пароксизмална нощна хемоглобинурия и някои вродени дефекти в обмяната на веществата).

19.4.1. Предпочита се трансплантация от фамилно съвместим донор с материал от костен мозък. Дори при наличие на напълно съвместим донор рискът от отхвърляне на трансплантата е повишен. За разлика от малигнените заболявания на хемопоезата диапазонът за приемане на HLA различия в HvG- и в GvH-направление е ограничен. Изключение представлява вродената тежка апластична анемия, при която може да се приеме напълно съвместим неродствен донор при млади пациенти (<40 г.)="" с="" много="" неблагоприятна="" прогноза.="" при="" fanconi="" и="" таласемия="" може="" да="" се="" трансплантира="" кръв="" от="" пъпна="" връв="" със="" значително="" повишен="" риск.="" индикациите="" за="" трансплантация="" се="" преценяват="" индивидуално,="" в="" зависимост="" от="" тежестта="" на="" заболяването,="" рисковете="" от="" манипулацията,="" в="" контекста="" на="" очаквания="" дълготраен="" ефект="" (например="" прогностичен="" клас="" по="" pesaro="" при="" таласемия,="" риск="" от="" друго="" малигнено="" заболяване="" при="">

20. Значимост на клетъчните тестове, на серологичната кросмач реакция и на тестуването на второстепенни антигени на тъканната съвместимост, цитокинови гени, техните промотори и KIR гените

20.1. В случай че донор и реципиент са HLA-различни, се препоръчва изследване на алоантитела и кросмач проба с цел да се изключат/докажат при пациента преформирани специфични за донора антитела.

20.2. При положителна кръстосана проба трансплантационният екип преценява най-приемливия сред потенциалните донори.

20.3. Тестуването на второстепенни антигени на тъканна съвместимост (mHAg) не се препоръчва за избор на донор поради това, че повечето от тях не са достатъчно дефинирани при човека.

20.4. Клиничното значение на изследването на вече дефинираните mHAg (например CD31, HA-1 до HA-P) не е с доказано значение при избора на донор.

20.5. Изследването на полиморфизма на цитокиновите гени, техните промотори и KIR гените не се прилага като задължителен критерий при имуногенетичен избор на донор.

20.6. Препоръчва се извършването на KIR генотипизиране при наличие на повече от един HLA-подходящ донор.

21. Изследване на химеризъм

21.1. Химеризъм след трансплантация на хемопоетични стволови клетки е съотношението на клетки на донора и реципиента. Преди трансплантацията трябва да се запази ДНК на донора и реципиента за изследване на химеризъм в следтрансплантационния период, което се извършва на две седмици до 2-рия месец, на 3-тия месец и след това на тримесечни интервали до 18-ия месец. В зависимост от кондициониращия режим клиничното състояние на пациента и резултатите от химеризма се извършват и междинни изследвания.

21.2. Определянето на химеризъм се извършва от акредитирана от Европейската федерация по имуногенетика структура по утвърдени и валидирани методи.

21.3. Полиморфните генетични системи, използвани за определяне на химеризъм, се документират.

21.4. При използване на разработени от структурата по клинична имунология олигонуклеотиди/проби тяхната секвенция и специфичност се документират.

21.5. ДНК пробите от реципиента преди трансплантация и донорът се изследват за определяне на информативните алели.

21.6. Оптимални граници на количеството и чистотата на ДНК се определят и документират. Проби, излизащи извън тези граници, се документират.

21.7. За информативни се приемат тези локуси, за които донорът и реципиентът имат различни (специфични) алелни профили. При използването на STR (къси тандемни повтори) базираният метод е необходимо да има най-малко 3 информативни локуса с оглед получаване на надеждни резултати (при генетично близки индивиди би могло да се приеме резултат с по-малък брой информативни локуси). При използването на SNP (единични нуклеотидни полиморфизми) базиран метод са необходими два информативни локуса, по един за донора и реципиента.