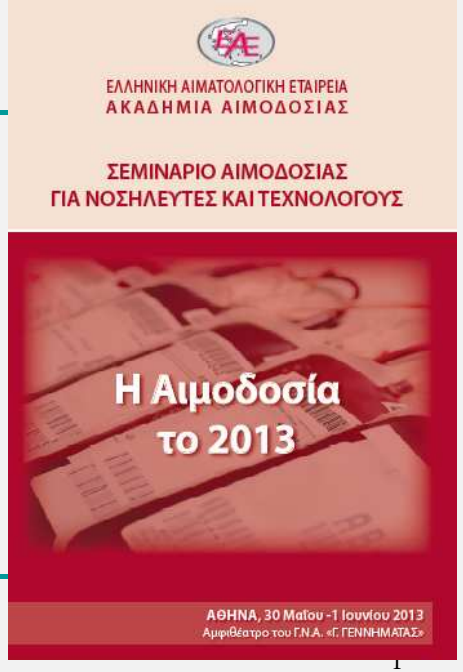
Διασταύρωση και διερεύνηση ασυμβατότητας

Δρ Ελισάβετ Ι. Γρουζή

Αιματολόγος, Συντονίστρια Διευθύντρια Ν. Υ. Αιμοδοσίας

Α.Ο.Ν.Α. «Ο Άγιος Σάββας»



Προμεταγγισιακός έλεγχος RBCs

- Σκοπός

  Η διασφάλιση ότι δεν υπάρχουν στην κυκλοφορία του δέκτη αντισώματα που θα καταστρέψουν τα ερυθρά του δότη

  - ⇨ ABO συμβατότητα μεταξύ δότη και δέκτη
  - ⇨ Ανίχνευση των κλινικά σημαντικών αντιερυθροκυτταρικών αλλοαντισωμάτων στο δέκτη που αντιδρούν με τα αντιγόνα των RBCs

Ασυμβατότητα ή αδυναμία διασταύρωσης

- Για την Αιμοδοσία σημαίνει
  - Την παρουσία στον ορό του ασθενούς κλινικά σημαντικού αντιερυθροκυτταρικού αντισώματος ή αντισωμάτων που **δημιουργεί δυσκολία στην ανεύρεση συμβατού αίματος in vitro**
  - Η ασυμβατότητα μπορεί να εξελιχθεί σε επείγον και πολύπλοκο πρόβλημα σε ασθενή που χρειάζεται επειγόντως μετάγγιση

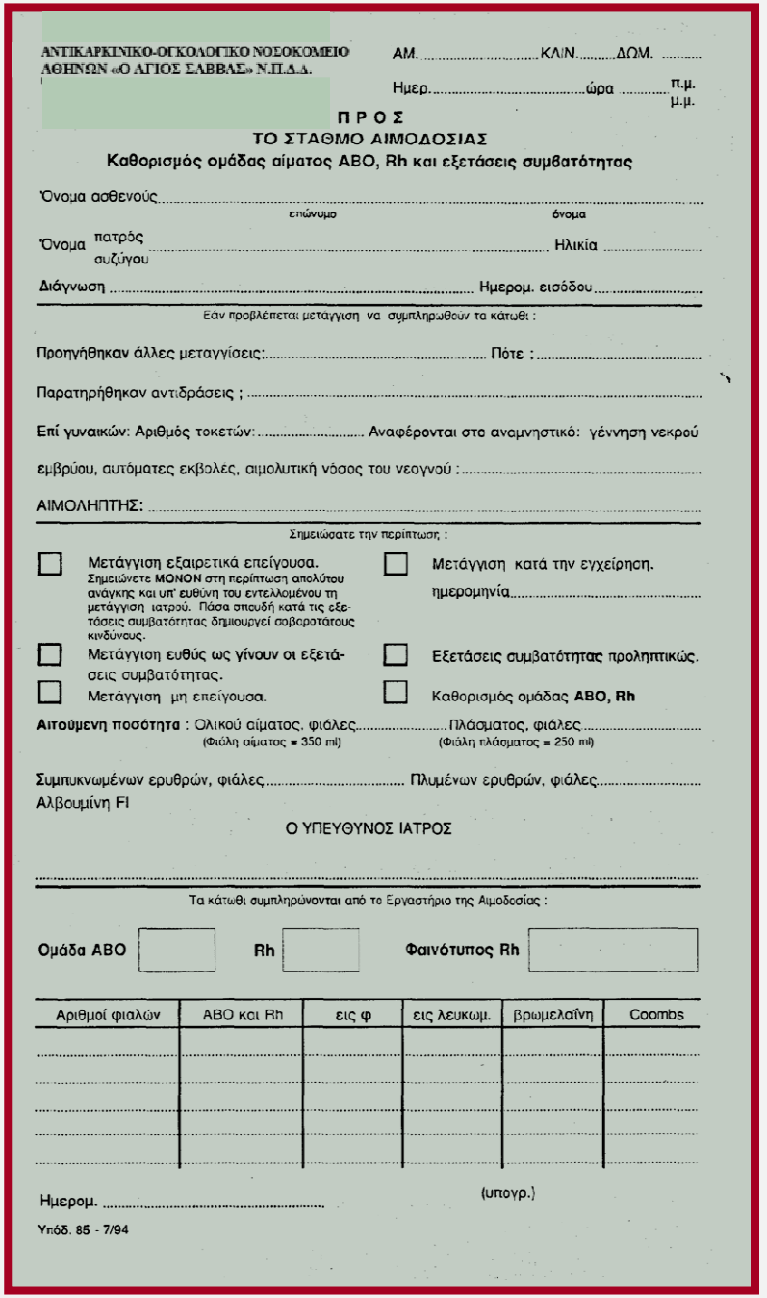
Σφάλματα τεχνικής
Γραφικά λάθη

Διαφυγή ασυμβατότητας

Άμεσες ή Επιβραδυνόμενες
Αιμολυτικές αντιδράσεις

- Αποστολή στην Αιμοδοσία ενυπόγραφου δελτίου αίτησης αίματος από τον **θεράποντα ιατρό ή τον υπεύθυνο αιμολήπτη** στο οποίο θα αναγράφεται:

  - Ονοματεπώνυμο ασθενούς και Όνομα Πατρός
  - Ημερομηνία Γέννησης
  - **Αριθμός Μητρώου (ή ΑΜΚΑ)**
  - Ημερομηνία λήψης του δείγματος
  - Διάγνωση
  - Κλινική και Τμήμα Νοσηλείας
  - Ονοματεπώνυμο και υπογραφή αιμολήπτη
  - Εάν έχουν προηγηθεί μεταγγίσεις ή τυχόν αντιδράσεις
  - Αριθμός κυήσεων στις γυναίκες



ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ «Ο ΑΓΙΟΣ ΣΑΒΒΑΣ» Ν.Π.Δ.Δ.

ΑΜ ..... ΚΛΙΝ..... ΔΩΜ. .....

Ημερ..... ώρα ..... π.μ. μ.μ.

Π Ρ Ο Σ

ΤΟ ΣΤΑΘΜΟ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

Καθορισμός ομάδας αίματος ΑΒΟ, Rh και εξετάσεις συμβατότητας

Όνομα ασθενούς..... επώνυμο ..... όνομα

Όνομα πατρός / συζύγου ..... Ηλικία .....

Διάγνωση ..... Ημερομ. εισόδου .....

Εάν προβλέπεται μετάγγιση να συμπληρωθούν τα κάτωθι :

Προηγήθηκαν άλλες μεταγγίσεις:..... Πότε : .....

Παρατηρήθηκαν αντιδράσεις ; .....

Επί γυναικών: Αριθμός τοκετών: ..... Αναφέρονται στο ανομνηστικό: γέννηση νεκρού εμβρύου, αυτόματες εκβολές, αιμολυτική νόσος του νεογνού : .....

ΑΙΜΟΛΗΠΤΗΣ: .....

Σημειώσατε την περίπτωση :

☐ Μετάγγιση εξαιρετικά επείγουσα. Σημειώνετε **ΜΟΝΟΝ** στη περίπτωση απολύτου ανάγκης και υπ' ευθύνη του εντελλομένου τη μετάγγιση ιατρού. Πάσα σπουδή κατά τις εξετάσεις συμβατότητας δημιουργεί σοβαρότατους κινδύνους.

☐ Μετάγγιση κατά την εγχείρηση. ημερομηνία.....

☐ Μετάγγιση ευθύς ως γίνουν οι εξετάσεις συμβατότητας.

☐ Εξετάσεις συμβατότητας προληπτικώς.

☐ Μετάγγιση μη επείγουσα.

☐ Καθορισμός ομάδας **ΑΒΟ, Rh**

Αιτούμενη ποσότητα : Ολικού αίματος, φιάλες..... Πλάσματος, φιάλες ..... (Φιάλη αίματος = 350 ml) (Φιάλη πλάσματος = 250 ml)

Συμπυκνωμένων ερυθρών, φιάλες..... Πλυμένων ερυθρών, φιάλες.....

Αλβουμίνη FI

Ο ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΙΑΤΡΟΣ

.....

Τα κάτωθι συμπληρώνονται από το Εργαστήριο της Αιμοδοσίας :

Ομάδα ΑΒΟ ☐ **Rh** ☐ **Φαινότυπος Rh** ☐

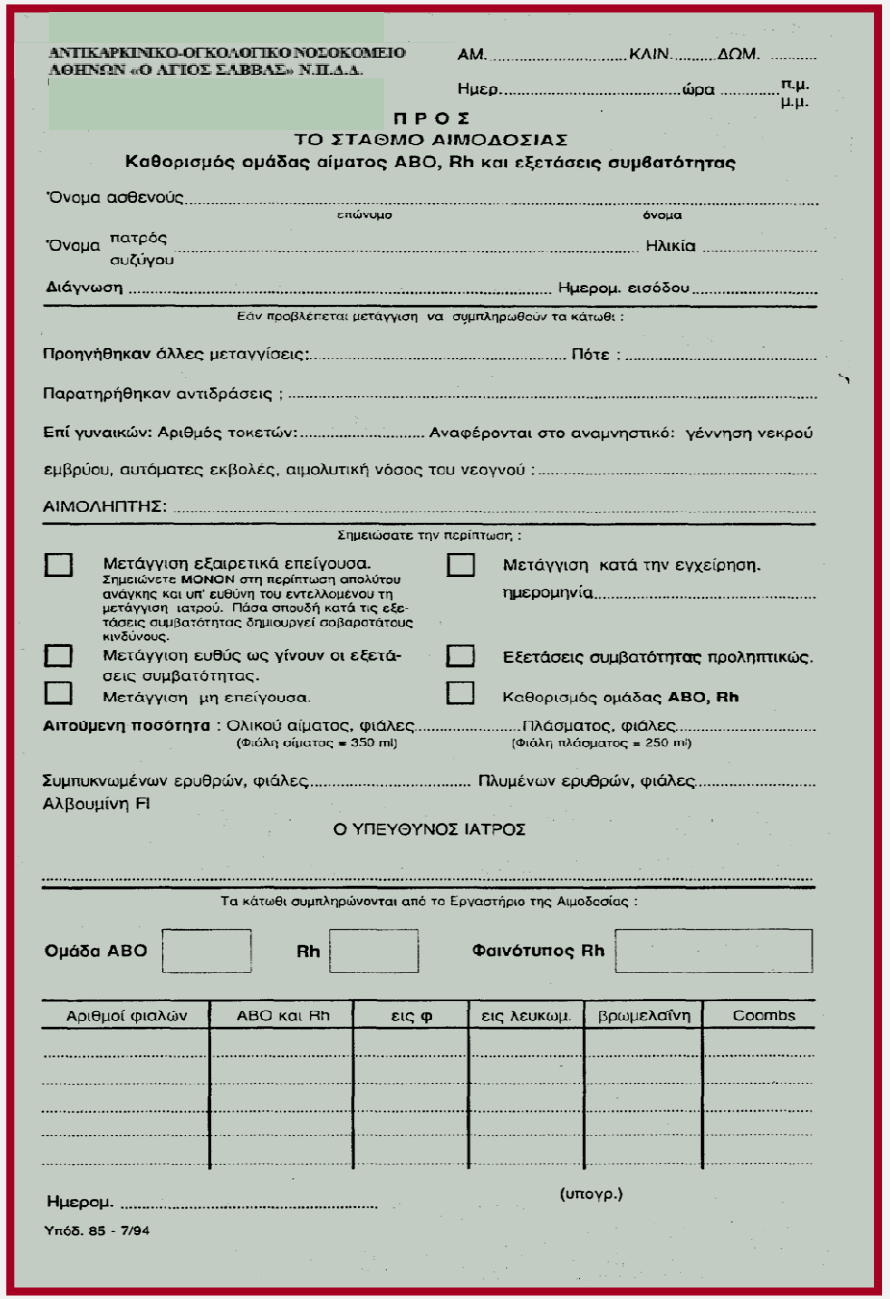
Αριθμοί φιαλών	ΑΒΟ και Rh	εις φ	εις λευκωμ.	βρωμελαΐνη	Coombs

Ημερομ. ..... (υπογρ.)

Υπόδ. 85 - 7/94

- Τα στοιχεία που τεκμηριώνουν την αναγκαιότητα και το επείγον ή όχι της μετάγγισης

- Το είδος του παραγώγου αίματος που ζητείται και η ποσότητα αυτού, καθώς και
  - τα παράγωγα με ειδική επεξεργασία (λευκαφαιρεμένα ή ακτινοβολημένα παράγωγα αίματος ή πλυμένα ερυθρά)



ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΟ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ «Ο ΑΓΙΟΣ ΣΑΒΒΑΣ» Ν.Π.Δ.Δ.

ΑΜ. ..... ΚΛΙΝ. ..... ΔΩΜ. .....

Ημερ. ..... ώρα ..... π.μ. μ.μ.

Π Ρ Ο Σ

ΤΟ ΣΤΑΘΜΟ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ

Καθορισμός ομάδας αίματος ΑΒΟ, Rh και εξετάσεις συμβατότητας

Όνομα ασθενούς ..... (επώνυμο) (όνομα)

Όνομα πατρός / συζύγου ..... Ηλικία .....

Διάγνωση ..... **Ημερομ. εισόδου** .....

Εάν προβλέπεται μετάγγιση να συμπληρωθούν τα κάτωθι :

Προηγήθηκαν άλλες μεταγγίσεις: ..... **Πότε** : .....

Παρατηρήθηκαν αντιδράσεις ; .....

Επί γυναικών: Αριθμός τοκετών: ..... **Αναφέρονται στο αναμνηστικό:** γέννηση νεκρού εμβρύου, αυτόματες εκβολές, αιμολυτική νόσος του νεογνού : .....

ΑΙΜΟΛΗΠΤΗΣ: .....

Σημειώσατε την περίπτωση :

☐ Μετάγγιση εξαιρετικά επείγουσα. Σημειώνετε **ΜΟΝΟΝ** στη περίπτωση απολύτου ανάγκης και υπ' ευθύνη του εντελλομένου τη μετάγγιση ιατρού. Πάσα σπουδή κατά τις εξετάσεις συμβατότητας δημιουργεί σοβαρότατους κινδύνους.

☐ Μετάγγιση κατά την εγχείρηση. ημερομηνία.....

☐ Μετάγγιση ευθύς ως γίνουν οι εξετάσεις συμβατότητας.

☐ Εξετάσεις συμβατότητας προληπτικώς.

☐ Μετάγγιση μη επείγουσα.

☐ Καθορισμός ομάδας **ΑΒΟ, Rh**

Αιτούμενη ποσότητα : Ολικού αίματος, φιάλες..... (Φιάλη αίματος = 350 ml) Πλάσματος, φιάλες..... (Φιάλη πλάσματος = 250 ml)

Συμπυκνωμένων ερυθρών, φιάλες..... Πλυμένων ερυθρών, φιάλες.....

Αλβουμίνη FI

Ο ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΙΑΤΡΟΣ

.....

Τα κάτωθι συμπληρώνονται από το Εργαστήριο της Αιμοδοσίας :

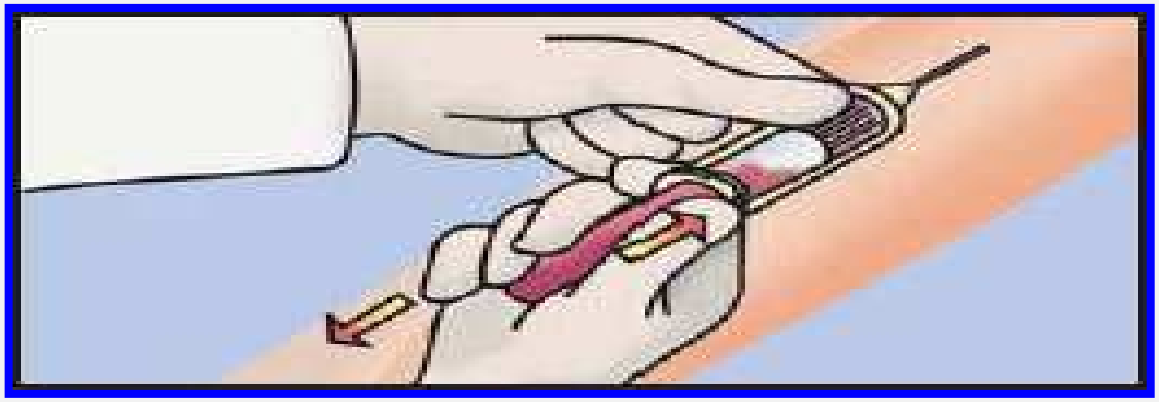
Ομάδα ΑΒΟ ☐ **Rh** ☐ **Φαινότυπος Rh** ☐

Αριθμοί φιαλών	ΑΒΟ και Rh	εις φ	εις λευκωμ.	βρωμελαΐνη	Coombs
.....					
.....					
.....					
.....					
.....					

Ημερομ. ..... (υπογρ.)

Υπόδ. 85 - 7/94

- Με σκοπό την μείωση του κινδύνου των λαθών κατά τη λήψη των δειγμάτων αίματος θα πρέπει:
  - Οι φλεβοκεντήσεις να πραγματοποιούνται από έμπειρο και σωστά εκπαιδευμένο προσωπικό
  - Να λαμβάνονται από θέση στην οποία δεν χορηγούνται διαλύματα



Ηλικία δείγματος ΠΜΕ σε σχέση με προηγούμενες μεταγγίσεις (Ι)

Διάστημα από την τελευταία μετάγγιση	Το δείγμα πρέπει να ληφθεί σε διάστημα όχι μεγαλύτερο από
3-14 ημέρες	24 h πριν τη μετάγγιση
15-28 ημέρες	72 h πριν τη μετάγγιση
29 ημέρες έως 3 μήνες	1 εβδομάδα πριν τη μετάγγιση

Ηλικία δείγματος ΠΜΕ σε σχέση με προηγούμενες μεταγγίσεις (ΙΙ)

- Σε ασθενείς με επαναλαμβανόμενες καθημερινές μεταγγίσεις πρέπει να γίνεται screening ΑΑ κάθε 72 h
- Για χρονίως μεταγγιζόμενους ασθενείς ενδεχομένως απαιτείται διαφορετική πρακτική
- Σε επίτοκες που πρόκειται να υποβληθούν σε καισαρική το δείγμα δεν πρέπει να έχει ληφθεί >7 ημέρες

Συντήρηση του δείγματος ΠΜΕ

- **Προβλήματα που συνδέονται με τη συντήρηση**
  - Αιμόλυση
  - Βακτηριακή επιμόλυνση
  - Έκπτωση του συμπληρώματος
  - Εξασθένηση των ΑΑ (ιδιαίτερα IgM)

Προτεινόμενα χρονικά όρια για τη συντήρηση του δείγματος

	18-25 °C	4 °C	-30 °C
Ολικό αίμα σε EDTA	Έως 48 h	Έως 7 ημέρες	ΝΑ
Ορός ή πλάσμα	ΝΑ	Έως 7 ημέρες	Έως 6 μήνες

Μετά τη μετάγγιση τα δείγματα πρέπει να συντηρούνται **τουλάχιστον 7 ημέρες,** ώστε να είναι δυνατή η διενέργεια συμπληρωματικών εξετάσεων στην περίπτωση αντιδράσεων

Προμεταγγιασιακός έλεγχος

- ✓ Καθορισμός ομάδας αίματος
- ✓ Ανίχνευση και τυποποίηση αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων *(έμμεση Coombs, screening test-panel)*
- ✓ Διαδικασία συμβατότητας *(άμεση 22^{o} C – έμμεση 37^{o} C με AHG)*

➢ Μέθοδος επιλογής είναι η αιμοσυγκόλληση

Αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα

Ο όρος κλινικά σημαντικά αντισώματα περιλαμβάνει αντισώματα κατά των ερυθροκυτταρικών αντιγόνων τα οποία:

Προκαλούν μειωμένη επιβίωση των μεταγγιζόμενων ερυθρών μέσω ενδο- ή έξω- αγγειακής αιμόλυσης

Δρουν στους 37^{o} C

Είναι IgM ή IgG (+/- ενεργοποίηση συμπληρώματος)

Ή έχουν ενοχοποιηθεί για αιμολυτική νόσο του νεογνού

Κλινικά σημαντικά αντιερυθροκυτταρικά αλλοαντισώματα

Αντισώματα που μπορεί να προκαλέσουν αιμολυτικές αντιδράσεις από μετάγγιση ή HDN

Αντισώματα έναντι των αντιγόνων

-του συστήματος Rhesus (anti-C, anti-c, anti-E, anti-e)

-Kell (anti-Kell, anti cellano)

-Kidd (anti-Jka, anti-Jkb)

-Duffy (anti-Fya, anti-Fyb)

-MNS (anti-S, anti-s, anti-M)

Κλινικά σημαντικά αντιερυθροκυτταρικά αλλοαντισώματα

- Συνολικά η συχνότητα των αντισωμάτων ποικίλει από 0,3-42% ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού που ελέγχεται
- Συχνότερα αντισώματα τα: *anti-Kell, anti-c, anti-E, anti-D*
- Σημαντικό ποσοστό ασθενών με ένα αντίσωμα θα αναπτύξει και δεύτερο
- Τα anti-Kidd αντισώματα ενοχοποιούνται συχνά για DHTRs, λόγω εξασθένησής τους και ταχείας απάντησης μετά νέα έκθεση

Έλεγχος αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων

Πριν από την διενέργεια συμβατότητας ώστε αν ο ασθενής χρειαστεί μετάγγιση να μη χαθεί χρόνος στην αναζήτηση κατάλληλου αίματος

Μετά από ανεύρεση ασυμβατότητας εργαστηριακά

Μετά από αιμολυτική αντίδραση που συμβαίνει σε ασθενή μετά μετάγγιση συμβατού εργαστηριακά αίματος

Όταν η DAT είναι θετική

Στις εγκύους για την πρόληψη της HDN

Screening test αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων

- Απλή, γρήγορη, αξιόπιστη δοκιμασία και να ανιχνεύει όσο το δυνατό περισσότερα κλινικώς σημαντικά αντισώματα

- Στο screening test ο ορός του ασθενή ελέγχεται συνήθως με 3 δείγματα ερυθρών ομάδας Ο που έχουν ισχυρή έκφραση των κάτωθι αντιγόνων: D, C, E, c, e, M, N, K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb, Lea, Leb, P1

			Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN		Special Antigen Typing		Test Results	
Cell #	Rh-hr	Donor Number	D	C	E	c	e	f*	C^w	V	K	k	Kp^a	Kp^b	$Js^{a\dagger}$	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Xg^a	Le^a	Le^b	S	s	M	N	P_1	Lu^a	Lu^b		Cell #	
1	R1wR1	306457	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+		1	–
2	R2R2	111711	+	0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+		2	2
3	rr	307040	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+		3	3
	Patient Cells																																

Screening test αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων

- **Συνιστάται να υπάρχουν οι ακόλουθοι φαινότυποι**
  - **R1R1 ή $R1^{W}R1$, Jk(a+b-), Jk(a-b+), S+s-, S-s+ Fy(a+b-) και Fy(a-b+)**
- **Η ύπαρξη Kp(a+) και C^{w}+ δεν θεωρείται απαραίτητη**
- **Το αντιδραστήριο που περιέχει τα RBCs επιτρέπει τη συντήρησή τους υπό κατάλληλες συνθήκες για καθορισμένο χρονικό διάστημα**

			Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN		Special Antigen Typing		Test Results	
Cell #	Rh-hr	Donor Number	D	C	E	c	e	f*	C^{w}	V	K	k	Kp^{a}	Kp^{b}	Js^{a}	Js^{b}	Fy^{a}	Fy^{b}	Jk^{a}	Jk^{b}	Xg^{a}	Le^{a}	Le^{b}	S	s	M	N	P_1	Lu^{a}	Lu^{b}		Cell #	
1	R1wR1	306457	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+		1	–
2	R2R2	111711	+	0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+		2	2
3	rr	307040	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+		3	3
	Patient Cells																																

Επί (+) screening test είναι θετικό ακολουθεί panel με 11 ή περισσότερα δείγματα φαινοτυποιμένων ερυθρών, επεξεργασμένων και μη, με σκοπό την ταυτοποίηση του αντισώματος που μπορεί να γίνει σε διάφορες φάσεις (θερμοκρασίας και ενζύμου)

Για κάθε κλινικά σημαντικό αλλοαντίσωμα υπάρχουν τουλάχιστον 2 ερυθρά ελέγχου που φέρουν το αντιγόνο και 2 τουλάχιστον αρνητικά για αυτό

Cell Number	D	C	E	c	e	f	M	N	S	s	P1	Lea	Leb	K	k	Fya	Fyb	Jka	Jkb	IS	37	AHG
1	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0			
2	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0			
3	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+			
4	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+			
5	0	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+			
6	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+			
7	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+			
8	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0			
9	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+			
10	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0			
11	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+			
Patient Typing																						
INTERPRETATION:																						

- IS
- 37°
- AHG

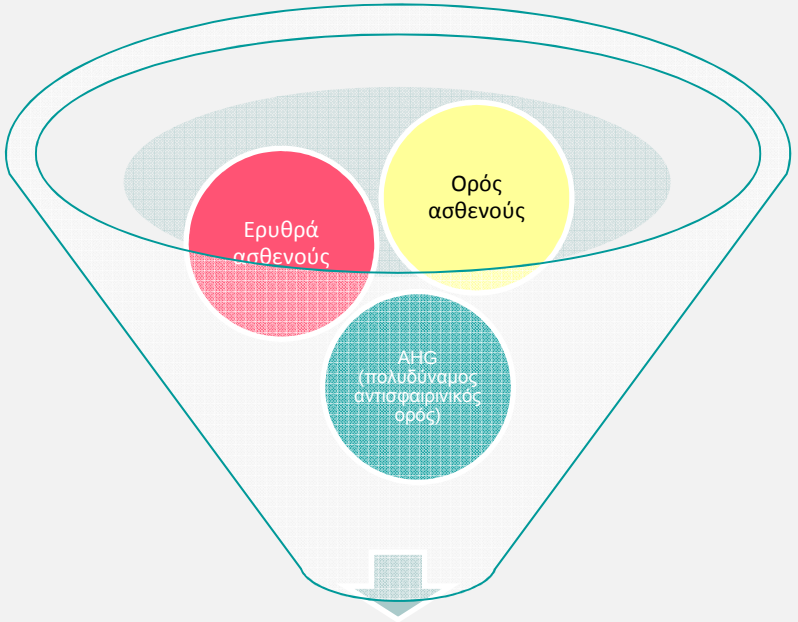
Διασταύρωση (Crossmatching)

- Αποτελεί διαδικασία με την οποία αποκλείεται η ασυμβατότητα μεταξύ δότη και δέκτη (ερυθρά δότη + ορός δέκτη)
- Μέχρι πρόσφατα στη διασταύρωση απαραιτήτως συμπεριλαμβάνετο η IAT (Liss/Coombs)
- Λόγω της αυξημένης ευαισθησίας όμως του screening test, μπορεί να αντικατασταθεί με την άμεση φυγοκέντρηση (ορολογική) και την ηλεκτρονική διασταύρωση (μη-ορολογική)
- Όλες οι τεχνικές πρέπει να αναδεικνύουν οπωσδήποτε την ΑΒΟ-ασυμβατότητα

Αυτοκοντρόλ

- ΔΕΝ αποτελεί υποχρεωτικό βήμα του προμεταγγισιακού ελέγχου
- Πραγματοποιείται στις περιπτώσεις διερεύνησης ασυμβατότητας

- **Screening (+) – αυτοκοντρόλ (-)**
  - Αλλοαντίσωμα
- **Screening (+) – αυτοκοντρόλ (+)**
  - Αυτοαντίσωμα
  - Αυτοαντίσωμα + Αλλοαντίσωμα



Αυτοκοντρόλ

Ασθενής με ασυμβατότητα

- **Η ασυμβατότητα μπορεί να σχετίζεται:**
- **Με το υποκείμενο νόσημα**
  - ΑΑΑ πρωτοπαθής
  - ΑΑΑ δευτεροπαθής (λεμφοϋπερπλαστικό, νεοπλασματικό, αυτοάνοσο νόσημα)
- **Με τις προηγηθείσες μεταγγίσεις**
  - Αιματολογικοί ή ογκολογικοί ασθενείς
  - Κληρονομικές αιμολυτικές αναιμίες (ομόζυγη ή ενδιάμεση β-ΜΑ, Δρεπανοκυτταρικά Σύνδρομα)
  - Μαζική μετάγγιση ή μείζονες επεμβάσεις
  - Με προηγούμενες κυήσεις
- **Με συνδυασμό των παραπάνω**

Ασυμβατότητα άνοσης αιτιολογίας

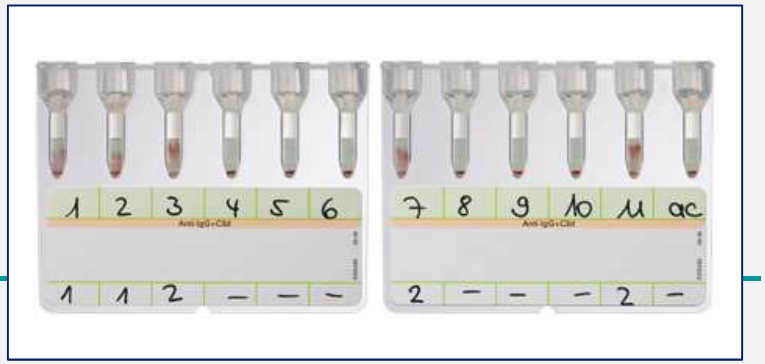
Επίλυση

- IAT (+) / DAT (-)
- IAT (+) / DAT (+)
- IAT (-) / DAT (+) (ABO αιμολυτική νόσος νεογνού)
- IAT (-) / DAT (-)

➢ Η εκτίμηση της έντασης της συγκόλλησης είναι κρίσιμη για τα επακόλουθα βήματα της επίλυσης

Ασυμβατότητα με IAT (+) - DAT (-) - AUTOCONTROL (-) ⇒ PANEL (+)

Κάποια κύτταρα θετικά (ίδια ισχύς σε κάθε φάση) και κάποια κύτταρα αρνητικά	Όλα τα κύτταρα θετικά (διαφορετική ισχύς στην ίδια ή διαφορετική φάση)	Κάποια κύτταρα θετικά (διαφορετική ισχύς στην ίδια ή διαφορετική φάση) και κάποια κύτταρα αρνητικά
Υπόνοια μονήρους αλλοαντισώματος	Υπόνοια πολλαπλών αλλοαντισωμάτων	Υπόνοια πολλαπλών αλλοαντισωμάτων
Φαινοτύπηση των RBCs του ασθενούς και των μονάδων (επιβεβαίωση απουσίας ή παρουσίας του αντίστοιχου αντιγόνου)	➢Πρόσθετες τεχνικές (ενζυμο) ➢Έλεγχος και άλλων επιλεγμένων κυττάρων για αποκλεισμό /επιβεβαίωση ειδικότητας αλλοαντισωμάτων ➢Φαινοτύπηση των ερυθρών του ασθενούς (επιβεβαίωση απουσίας των αντίστοιχων αντιγόνων) ➢Τεχνικές προσρόφησης /έκλουσης	



II

Ασυμβατότητα με IAT (+) - DAT (-) - AUTOCONTROL (-) ⇒ PANEL (+)

Όλα τα κύτταρα θετικά (ίδια ισχύς στην ίδια φάση)	Κάποια κύτταρα πολύ ασθενώς θετικά χωρίς να ταυτοποιείται ειδικότητα	Μόνο ένα κύτταρο θετικό
Υπόνοια αντισώματος έναντι υψηλής συχνότητας αντιγόνου ή πολλαπλών αντισωμάτων	Υπόνοια ασθενούς αντισώματος ή dose effect	Υπόνοια αντισώματος έναντι χαμηλής συχνότητας αντιγόνου ή HLA αντιγόνου
➢Έλεγχος με panel με ερυθρά ελέγχου αρνητικά για αντιγόνα υψηλής συχνότητας ➢Φαινοτύπηση των ερυθρών του ασθενούς ➢Εργαστήριο αναφοράς	➢Εφαρμογή τεχνικών ενίσχυσης (αύξηση του χρόνου επώασης, αυξηση ποσότητας ορού, πάνελ ενζυματισμένων ερυθρών) ➢Φαινοτύπηση των ερυθρών του ασθενούς	➢Έλεγχος με ερυθρά ελέγχου θετικά για αντιγόνα χαμηλής συχνότητας ή με ισχυρή έκφραση των αντιγόνων HLA ➢Εργαστήριο αναφοράς

Ασυμβατότητα με IAT (+) / DAT (+)

- **Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (ΑΑΑ)**
  - Θερμού τύπου (IgG+ αντίσωμα χωρίς ειδικότητα, σπάνια με ειδικότητα από το σύστημα Rh)
  - Ψυχρού τύπου (IgM που δρα σε <37^{o} C και εναποθέτει το συμπλήρωμα επί των ερυθρών)
  - Επί ΑΑΑ μόνο με DAT (+) δεν υπάρχει αδυναμία διασταύρωσης
- **DHTR** λόγω πρόσφατης μετάγγισης (η DAT είναι με λιγότερη ένταση και μόνο 3-15μετά τη μετάγγιση

- ***Διαφορική διάγνωση***
  - Κλινικά από το ιστορικό του ασθενή
  - Εργαστηριακά από την ένταση των συγκολλήσεων και την ειδικότητα του αντισώματος

Διερεύνηση θετικής DAT

- **ΕΚΛΟΥΜΑ**

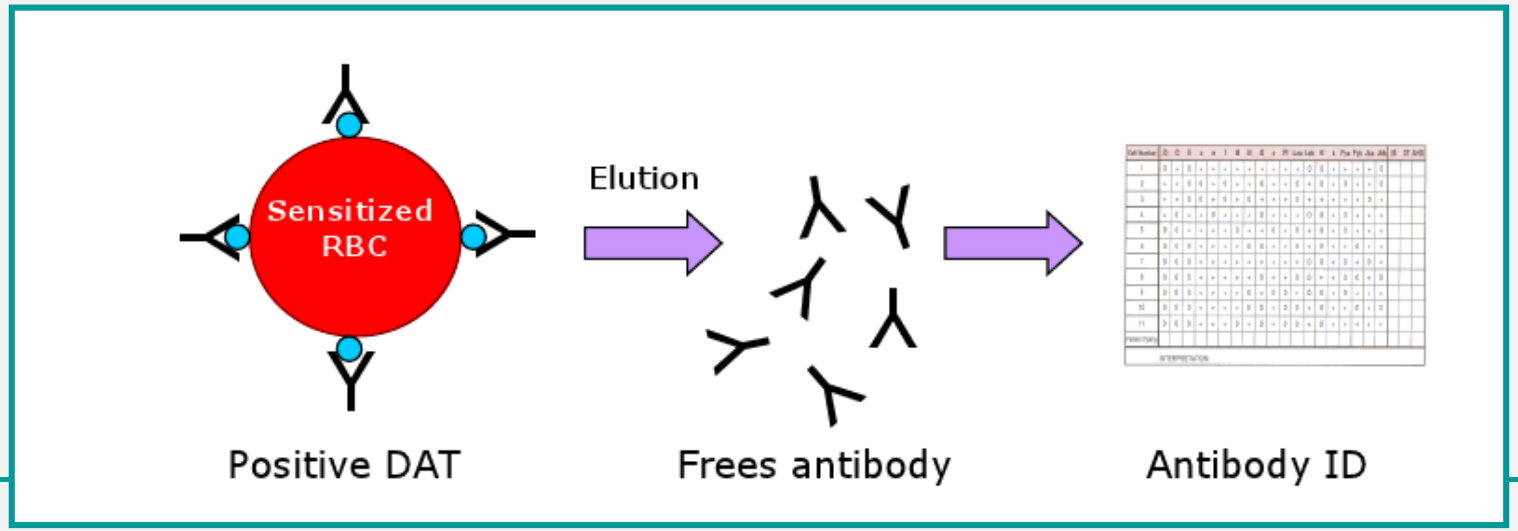
- Αποτελεί διαδικασία με την οποία απομακρύνονται τα προσκολλημένα στα ερυθροκύτταρα αντισώματα και ανακτώνται με σκοπό να ταυτοποιηθούν
- Σε όλες τις τεχνικές, το αντίσωμα απομακρύνεται , είτε αλλάζοντας τις δυνάμεις σύνδεσης Ag/Ab, είτε τροποποιώντας τη δομική συγγένεια Ag/θέση σύνδεσης Ab
- Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες μέθοδοι απομάκρυνσης τους όπως θέρμανση, ψύξη, χρήση οργανικών διαλυτών ή διαλυμάτων υψηλής συγκέντρωσης σε άλατα, αλλαγές του PH

- **Heat elution, Lui-freeze-thaw elution** → κατάλληλα για ABO αντισώματα
- **Όξινο έκλουμα / αιθέρας** → κατάλληλα για θερμά αυτο- ή αλλοαντισώματα

Διερεύνηση θετικής DAT

- **ΕΚΛΟΥΜΑ**

- Το έκλουμα χρησιμοποιείται όπως και ο ορός στην έμμεση Coombs (screening test, panel)
- Εάν υποπτευόμαστε HDN από ABO ασυμβατότητα, ή παθητικώς χορηγημένες ισοαιμοσυγκολλητίνες αντι-Α ή αντι-Β, τότε το έκλουσμα πρέπει να ελεγχθεί με ερυθρά Α ή Β

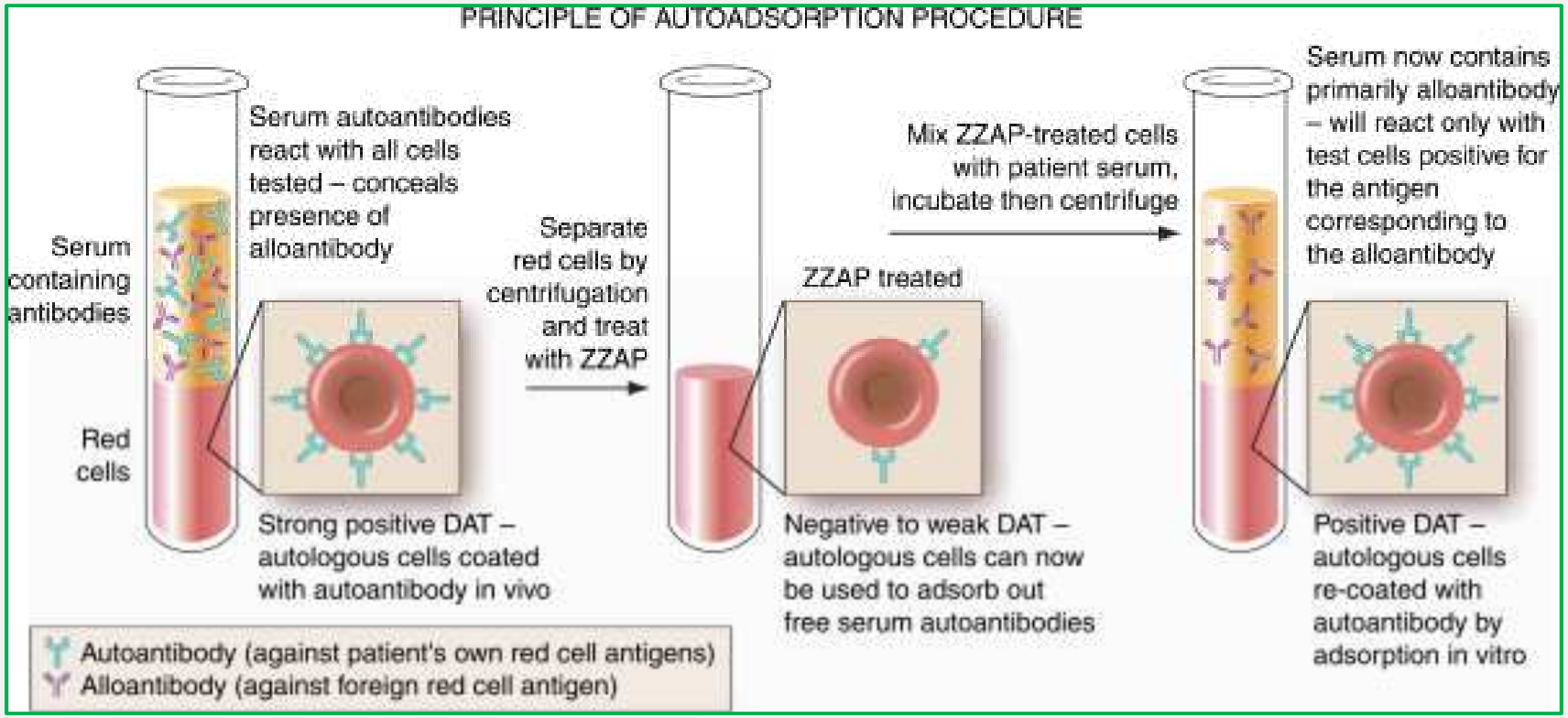


Προσρόφηση

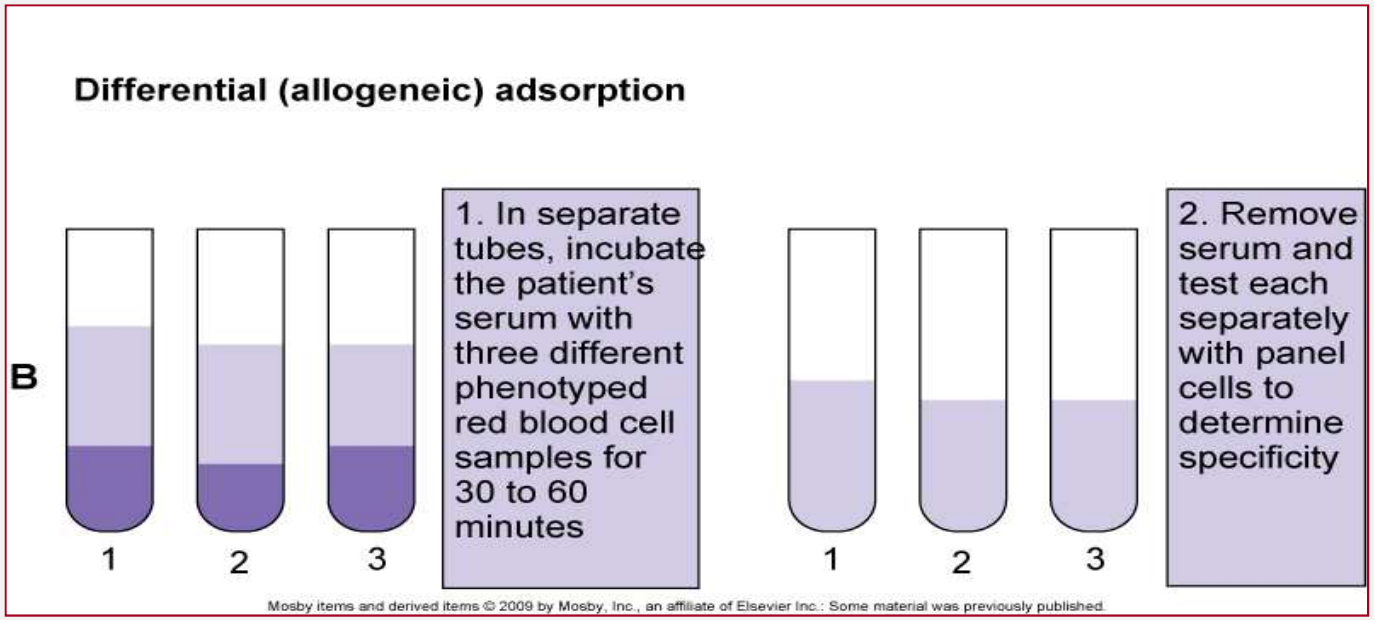
- Χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση του αυτοαντισώματος από τον ορό και την ανίχνευση των αλλοαντισωμάτων

Αυτόλογη προσρόφηση	• Όχι πρόσφατη μετάγγιση • Τα αυτοαντισώματα απομακρύνονται χρησιμοποιώντας τα ερυθροκύτταρα του ίδιου του ασθενούς με αποτέλεσμα να είναι δυνατή η ανίχνευση του αλλοαντισώματος
Αλλογενής προσρόφηση	• Σε πρόσφατη μετάγγιση • Χρησιμοποιούνται διαφορετικά ερυθροκύτταρα γνωστού φαινότυπου και ο ορός του ασθενούς

Αυτόλογη προσρόφηση



Αλλογενής προσρόφηση



- Ο ορός του ασθενούς διαχωρίζεται σε τρια σωληνάρια
- Χρησιμοποιούνται συνήθως R1R1 (DCee), R2R2(DcEE0, rr(ccee)
- Επίσης ένα θα πρέπει να είναι Kell(-), ένα Jka(-) και ένα Jkb(-)
- Επεξεργασία των κυττάρων με ένζυμα
- Μετά την προσρόφηση γίνεται ταυτοποίηση αλλοαντισώματος σε κάθε σωληνάριο

ΑΑΑ θερμού τύπου

- Συνήθως IgG αντίσωμα (37^{o} C)
  - DAT (+) με πολυδύναμο αντιορό και (+) με IgG μονοδύναμο (αραιώσεις, υποτάξεις)
  - IAT (+) όταν υπάρχει περίσσεια αντισώματος

- **Δοκιμασία έκλουσης (eluate):** Στη ΑΑΑ θερμού τύπου το eluate τυπικά είναι θετικό σε όλα τα κύτταρα με ενίσχυση στη φάση ενζύμου (πανσυγκολλητίνη)

- **Ειδικότητα αυτοαντισώματος:** μπορεί να «μιμηθεί» αντίσωμα του συστήματος Rh (D, C, E, c, e – συχνότερα anti-e) και σπανιότερα άλλων συστημάτων

Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία - Διερεύνηση

- Η ειδικότητα του αυτοαντισώματος συνήθως είναι η ίδια στον ορό και στο έκλουμα από τα ερυθρά
- Εάν τα ερυθρά καλύπτονται μόνο με συμπλήρωμα, το έκλουμα κατά κανόνα είναι αρνητικό
- Μπορεί το έκλουμα να έχει εικόνα πανσυγκολλητίνης, ενώ στον ορό το αυτοαντίσωμα να έχει Rh ειδικότητα (π.χ αυτό-αντι-e) κι αυτό διότι η διαδικασία έκλουσης συμπυκνώνει το αυτοαντίσωμα δίνοντας έτσι ισχυρότερες αντιδράσεις από αυτές του ορού

Μετάγγιση ασθενών ΑΑΑ θερμού τύπου

Προβληματισμοί

- Η επιλογή κατάλληλου αίματος είναι πιο δύσκολη (μόνο αυτοαντίσωμα ή και αλλοαντίσωμα ;)
- Πρωταρχικής σημασίας ο αποκλεισμός ύπαρξης αλλοαντισώματος (δοκιμασία έκλουσης- δοκιμασίες προσρόφησης)
- Η μετάγγιση μπορεί να ενισχύσει την δραστικότητα του αυτοαντισώματος
- Η μετάγγιση μπορεί πιο εύκολα να οδηγήσει σε ανάπτυξη αλλοαντισώματος
- ***Η μετάγγιση δεν αναστέλλεται λόγω ορολογικής ασυμβατότητας***
- ***Η απόφαση για μετάγγιση είναι λαμβάνεται από κοινού μεταξύ υπεύθυνου γιατρού Αιμοδοσίας και θεράποντος***
- ***Ωστόσο η Αιμοδοσία είναι «υποχρεωμένη» να προτείνει το καταλληλότερο αίμα***

Επιλογή κατάλληλου αίματος

- **Αν αποκλεισθεί η ύπαρξη <u>αλλοαντισώματος,</u> η αιμόλυση των χορηγούμενων RCCs δεν αναμένεται να είναι μεγαλύτερη από των αυτόλογων RBCs**

- Σωστή τυποποίηση ομάδας αίματος του ασθενή ABO- Rh (επιβεβαίωση- control)

- **Καθορισμός πλήρους φαινότυπου RBCs, μπορεί να απλοποιήσει μελλοντικές μεταγγίσεις**

- Διενέργεια διασταύρωσης με autocontrol (υπό συζήτηση η ασφάλεια χορήγησης του λιγότερου ασύμβατου αίματος σε σχέση με τον AC)
- Προβληματική η επιλογή φαινοτύπου αν το αυτοαντίσωμα έχει ειδικότητα

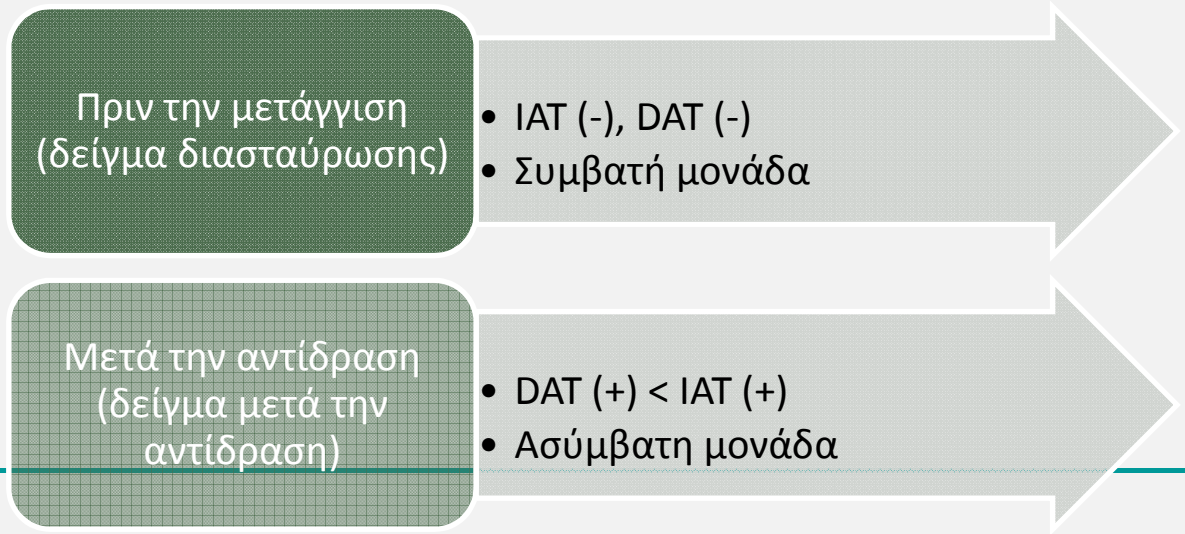
ΑΑΑ ψυχρού τύπου- νόσος ψυχρών συγκολλητινών

- Ψυχρό αυτοαντίσωμα (IgM που δρα σε <37^{o} C και εναποθέτει το συμπλήρωμα επί των ερυθρών)
- Συχνά ορατή συγκόλληση των ερυθρών χωρίς επιπλέον τεχνικές - προβλήματα στον καθορισμό ABO και Rh
- **Συνήθως DAT(+) στο C3d**
- Συνήθως IAT(+) στους 4^{o} C
- Καθορισμός θερμικού εύρους αντισώματος
- Συνήθως eluate δεν χρειάζεται στις προφανείς περιπτώσεις
- Η ειδικότητα του αυτοαντισώματος δεν έχει πρακτικό ενδιαφέρον

- **Ο έλεγχος αλλοαντισωμάτων και η δοκιμασία διασταύρωσης πρέπει να εκτελούνται στους 37^{o} C**
- **Αν απαιτείται μετάγγιση να γίνεται με συσκευή θέρμανσης**

IAT (+) / DAT (+) - DHTR

- **DHTR** λόγω πρόσφατης μετάγγισης εμφανίζεται σε 3-15 ημέρες μετά τη μετάγγιση συμβατής μονάδας με κλινική εικόνα εξωαγγειακής αιμόλυσης
- Οφείλεται σε δευτερογενή ανοσολογική απάντηση λόγω νέας επαφής με το αντιγόνο για το οποίο το αντίσωμα δεν ανιχνεύεται πριν την μετάγγιση
- Η αιμόλυση διαρκεί μέχρι την απομάκρυνση των μεταγγισμένων ερυθρών
- Δυσκολία ταυτοποίησης και ανεύρεσης συμβατής μονάδας αν προϋπήρχαν και άλλα αντισώματα (έκλουση, προσροφήσεις)



Ασυμβατότητα με IAT(+) και autocontrol (+)

- ✓ Θερμά αυτοαντισώματα
- ✓ Ψυχρά αυτοαντισώματα
- ✓ Αλλοαντισώματα κατά τη διάρκεια αιμόλυσης
- ✓ Παθητική μεταφορά αντισωμάτων
- ✓ Δημιουργία rouleaux
- ✓ Προβλήματα σχετιζόμενα με αντιδραστήρια

Ασυμβατότητα με IAT (-) / DAT (-)

- ✓ Θετική άμεση Coombs του δότη
- ✓ Αλλοαντίσωμα στον ορό του ασθενούς που αντιδρά μόνο με ερυθρά με ισχυρή έκφραση του αντιγόνου *(που δεν υπήρχαν στα ερυθρά ελέγχου που χρησιμοποιήσαμε – σπάνιο)*
- ✓ Αντίσωμα έναντι αντιγόνου χαμηλής συχνότητας

IAT (+) και συμβατή διασταύρωση

- ✓ Ύπαρξη αλλοαντισώματος έναντι αντιγόνου που λείπει από τα ερυθρά της διασταύρωσης
- ✓ Αντισώματα με δοσοεξαρτώμενη αντίδραση, όταν τα ερυθρά είναι ετεροζυγωτικά στο αντίστοιχο αντιγόνο
- ✓ Αυτο-αντι-HI
- ✓ Αντι-Le(bH)
- ✓ Αντισώματα που επηρεάζονται από αντιδραστήρια

Transfusion Medicine, 2004, **14**, 59–73

GUIDELINES

Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories

Working Party of the British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force

Table 1. Recommendations for the selection of blood for patients with red cell alloantibodies

System	Antibody	Recommendation
ABO	Anti-A_1	IAT crossmatch compatible at 37 °C
Rh	Anti-D, -C, -c, -E, -e	Antigen negative*
Rh	Anti-C^w	IAT crossmatch compatible†
Kell	Anti-K, -k	Antigen negative*
Kell	Anti-Kp^a	IAT crossmatch compatible†
Kidd	Anti-Jk^a, -Jk^b	Antigen negative*
MNS	Anti-M (active 37 °C)	Antigen negative*
MNS	Anti-M (not active 37 °C)	IAT crossmatch compatible at 37 °C
MNS	Anti-N	IAT crossmatch compatible at 37 °C
MNS	Anti-S, -s, -U	Antigen negative*
Duffy	Anti-Fy^a, -Fy^b	Antigen negative*
P	Anti-P_1	IAT crossmatch compatible at 37 °C
Lewis	Anti-Le^a, -Le^b, -Le^{a+b}	IAT crossmatch compatible at 37 °C
Lutheran	Anti-Lu^a	IAT crossmatch compatible at 37 °C
Diego	Anti-Wr^a (anti-Di3)	IAT crossmatch compatible†
H	Anti-HI (in A_1 and A_1B patients)	IAT crossmatch compatible at 37 °C
All	Others active by IAT at 37 °C	Seek advice from Blood Centre

The above guidance is also suitable for patients undergoing hypothermia during surgery (Mollison *et al.*, 1993).
IAT, indirect antiglobulin test.
*Antigen negative and crossmatch compatible.
†These recommendations apply when the antibody is present as a sole specificity. If present in combination, antigen-negative blood may be provided by the blood centre, to prevent wastage of phenotyped units.

Ερμηνεία αποτελεσμάτων panel

Παραδείγματα

Αποκλεισμός αντισωμάτων

Donor	Cell n	D	C	c	E	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	22° C	L/C	Enz
R1r	1	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+		2+	0
R1R2	2	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	+		0	0
R2R2	3	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+		3+	0
R_or	4	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0		3+	0
r'r	5	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0		0	0
r''r	6	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+		2+	0
rrK	7	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+		2+	0
rr	8	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0		0	0
r'r''	9	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+		0	0
rr	10	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+		3+	0
R1r	11	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+		2+	0
	PC																												0	

- Εντοπισμός αρνητικών δειγμάτων και αποκλεισμός αντισωμάτων (κυρίως ομόζυγα εκτός από τα χαμηλής συχνότητας)
- 2 αποκλείει D, C,e, C^W, K, Kp^b, Js^b, Fy^b, Jk^a, P^1, M, S, Lu^b, και Xg^a
- 5 αποκλείει k, Jk^b, και Le^b
- 8 αποκλείει c, Le^a , Lu^a
- 9 αποκλείει N και s

Anti-Fy^a

Εκτίμηση αποτελεσμάτων panel

- **Σε ποια φάση (-εις) και με τι ένταση εμφανίζονται οι θετικές αντιδράσεις;**
- **Όλα τα θετικά δείγματα αντιδρούν στην ίδια φάση ή και σε άλλη(-ες) φάσεις;**
- **Ταυτοποιείται αντίσωμα;**
- **Αποκλείονται τα πιο συχνά αλλοαντισώματα;**
- **Το αυτόλογο control είναι θετικό ή αρνητικό;**
- **Ο φαινότυπος του ασθενούς συμφωνεί με το ταυτοποιηθέν ατίσωμα;**

Πολλαπλά αλλοαντισώματα

Donor	Cell n	D	C	c	E	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	22° C	L/C	Enz
R1r	1	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+		1+	0
R1R2	2	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	+		3+	2+
R2R2	3	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+		0	0
R$_o$r	4	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0		0	0
r'r	5	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0		0	0
r''r	6	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+		1+	0
rrK	7	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+		2+	2+
rr	8	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0		2+	0
r'r''	9	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+		2+	0
rr	10	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+		0	0
R1r	11	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+		1+	0
	PC																												0	

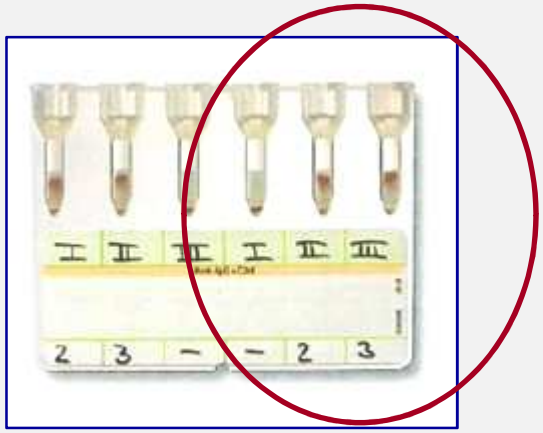
Anti-Kell + anti-Fyb

Αντι-D

1 2 3 4 5 6
Anti-IgG + C3d
7 8 9 10 11 ctrl
Anti-IgG + C3d
1 2 3 4 5 6
7 8 9 10 11 ctrl

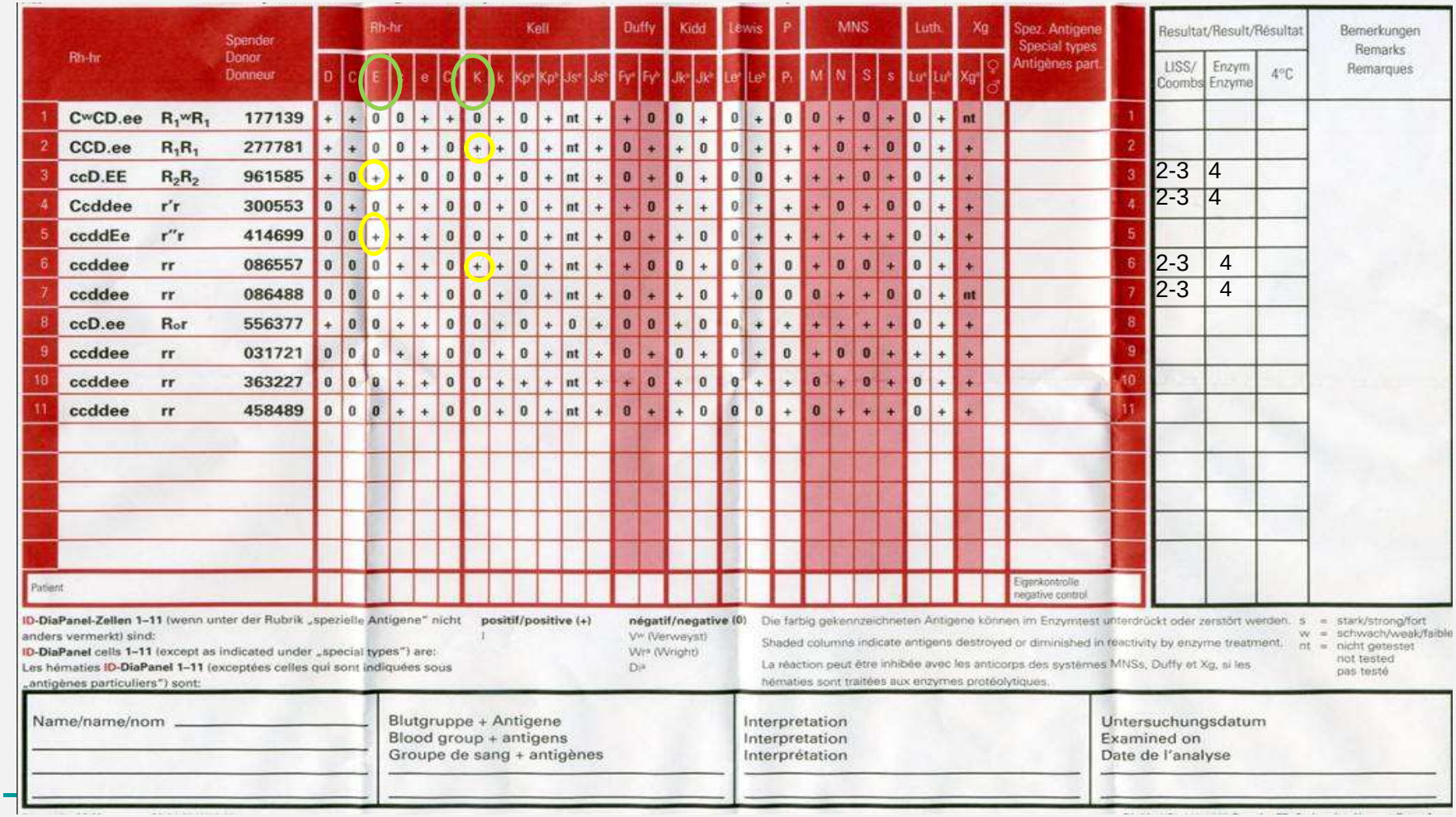
Ανίχνευση αντισώματος

			Rh-hr						KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN		Special Antigen Typing		Test Results	
Cell #	Rh-hr	Donor Number	D	C	E	c	e	f*	C^w	V	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Xg^a	Le^a	Le^b	S	s	M	N	P_1	Lu^a	Lu^b		Cell #	
1	R1wR1	306457	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+		1	–
2	R2R2	111711	+	0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+		2	2
3	rr	307040	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+		3	3
	Patient Cells																															



Ταυτοποίηση αντισώματος

Ταυτοποίηση anti-Kell + anti-E



	Rh-hr		Spender Donor Donneur	Rh-hr D	C	E	c	e	C	Kell K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Duffy Fy^a	Fy^b	Kidd Jk^a	Jk^b	Lewis Le^a	Le^b	P P$_1$	MNS M	N	S	s	Luth. Lu^a	Lu^b	Xg Xg^a	♀ ♂	Spez. Antigene Special types Antigènes part.		Resultat/Result/Résultat LISS/ Coombs	Enzym Enzyme	4°C	Bemerkungen Remarks Remarques
1	C^{w}CD.ee	$R_1^wR_1$	177139	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	nt			1				
2	CCD.ee	R_1R_1	277781	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+			2				
3	ccD.EE	R_2R_2	961585	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+			3	2-3	4		
4	Ccddee	r′r	300553	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+			4	2-3	4		
5	ccddEe	r″r	414699	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+			5				
6	ccddee	rr	086557	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+			6	2-3	4		
7	ccddee	rr	086488	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt			7	2-3	4		
8	ccD.ee	R$_{or}$	556377	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+			8				
9	ccddee	rr	031721	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+			9				
10	ccddee	rr	363227	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+			10				
11	ccddee	rr	458489	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+			11				
	Patient																													Eigenkontrolle negative control						

ID-DiaPanel-Zellen 1–11 (wenn unter der Rubrik „spezielle Antigene" nicht anders vermerkt) sind:
ID-DiaPanel cells 1–11 (except as indicated under „special types") are:
Les hématies ID-DiaPanel 1–11 (exceptées celles qui sont indiquées sous „antigènes particuliers") sont:

positif/positive (+)
négatif/negative (0)
V^w (Verweyst)
Wr^a (Wright)
Di^a

Die farbig gekennzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden.
Shaded columns indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment.
La réaction peut être inhibée avec les anticorps des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées aux enzymes protéolytiques.

s = stark/strong/fort
w = schwach/weak/faible
nt = nicht getestet not tested pas testé

Name/name/nom _____

Blutgruppe + Antigene
Blood group + antigens
Groupe de sang + antigènes

Interpretation
Interpretation
Interprétation

Untersuchungsdatum
Examined on
Date de l'analyse

Διασταύρωση μονάδων ερυθρών

1.Ερυθρά Ε- /Κ-

2.Ερυθρά Ε+/Κ-

3.Ερυθρά Ε-/Κ+

4.Ερυθρά Ε+/Κ+

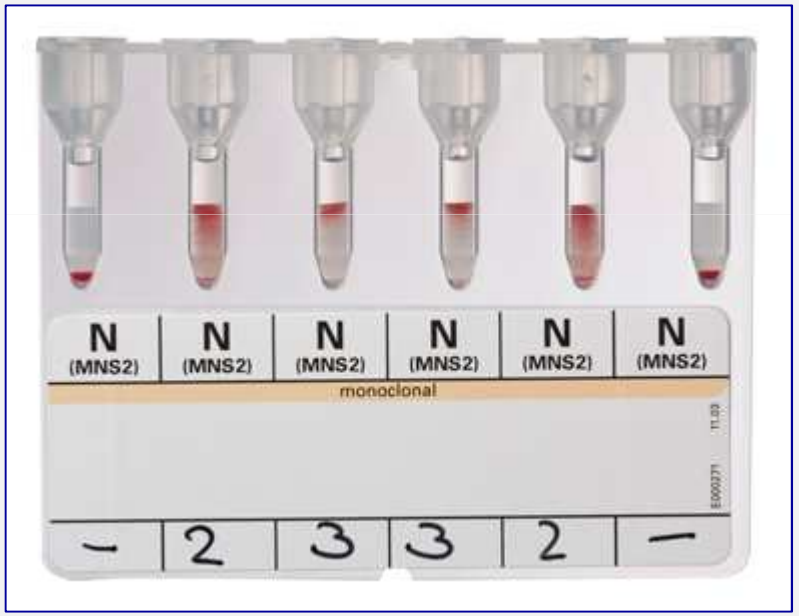
Συγκόλληση που αναστέλλεται παρουσία ενζύμου

Αντι- N

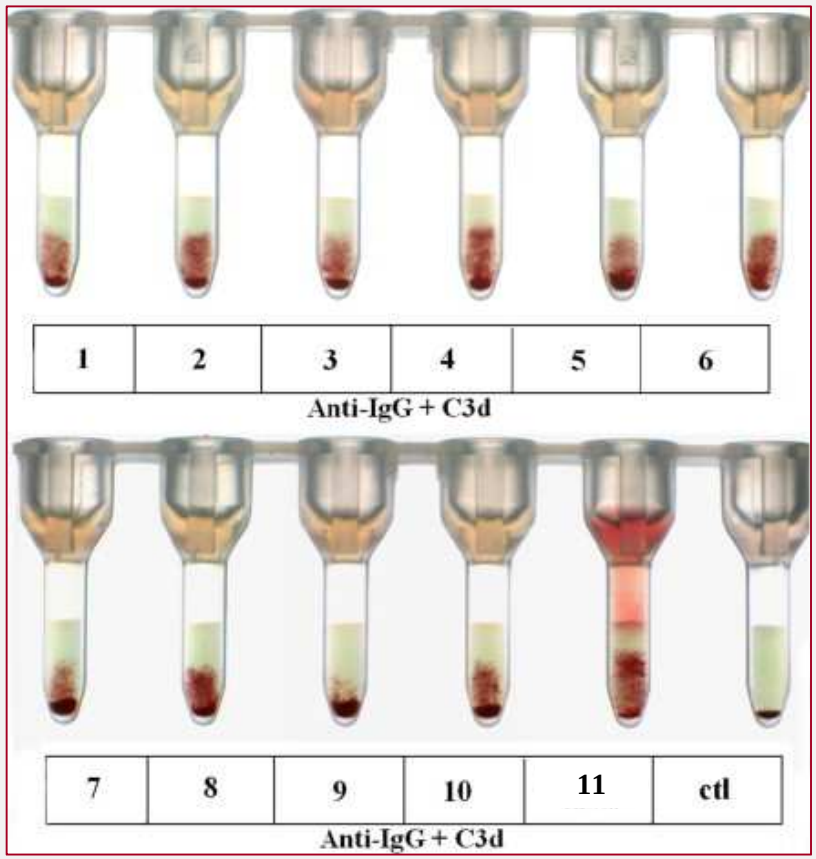
	Rh-hr		Spender Donor Donneur	Rh-hr D	C	E	c	e	Cʷ	Kell K	k	Kpᵃ	Kpᵇ	Jsᵃ	Jsᵇ	Duffy Fyᵃ	Fyᵇ	Kidd Jkᵃ	Jkᵇ	Lewis Leᵃ	Leᵇ	P P₁	MNS M	N	S	s	Luth. Luᵃ	Luᵇ	Xg Xgᵃ	♀♂	Spez. Antigene Special types Antigènes part.	
1	CʷCD.ee	$R_1{}^wR_1$	177139	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	nt			1
2	CCD.ee	R_1R_1	277781	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+			2
3	ccD.EE	R_2R_2	961585	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+			3
4	Ccddee	r′r	300553	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+			4
5	ccddEe	r″r	414699	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+			5
6	ccddee	rr	086557	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+			6
7	ccddee	rr	086488	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	+	nt			7
8	ccD.ee	Ror	556377	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+			8
9	ccddee	rr	031721	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+			9
10	ccddee	rr	363227	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+			10
11	ccddee	rr	458489	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+			11
																														control		
Patient																														Eigenkontrolle negative control		

Resultat/Result/Résultat			Bemerkungen Remarks Remarques
LISS/ Coombs	Enzym Enzyme	37°C	
2	—	—	
—	—	—	
2→	—	—	
—	—	—	
2	—	—	
—	/	—	
2	—	—	
2	—	—	
—	—	—	
2+→	—	—	
2+	—	—	
2→	—	—	
			anti N.

Επιλογή ερυθρών N(-) προς μετάγγιση



Πανσυγκολλήσεις



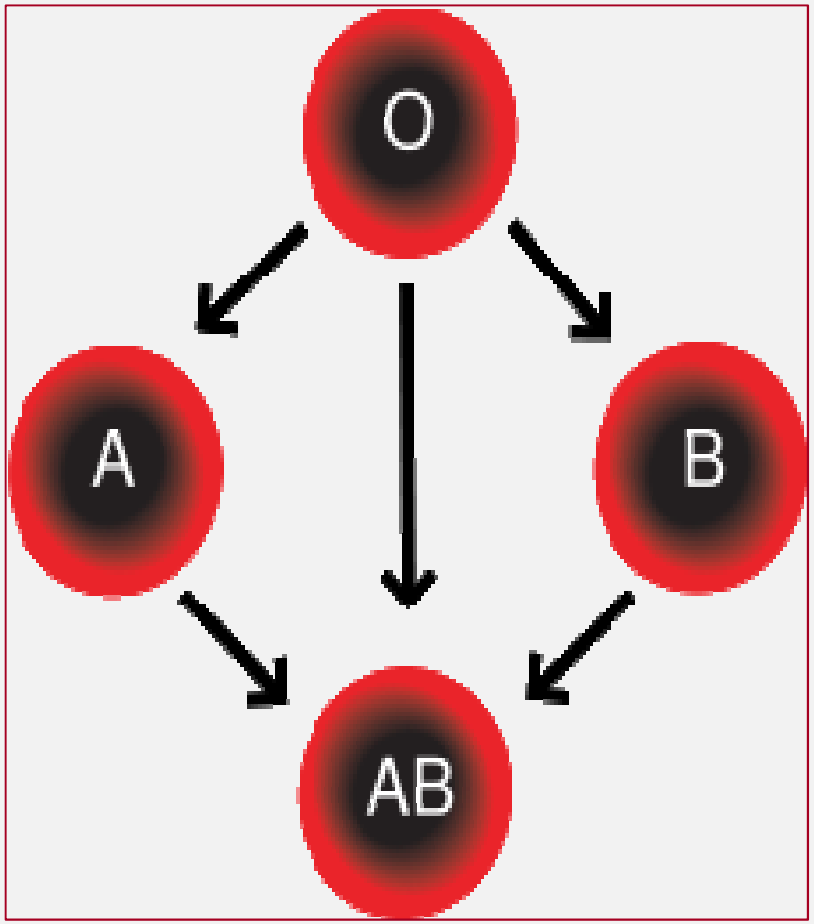
- Αλλοαντισώματα
- Αυτοαντισώματα (πανσυγκολλητίνη)
- Παρουσία rouleaux
- Προβλήματα σχετιζόμενα με τα αντιδραστήρια
- Αλλοαντίσωμα έναντι αντιγόνου υψηλής συχνότητας

Μετάγγιση σε επείγουσες καταστάσεις

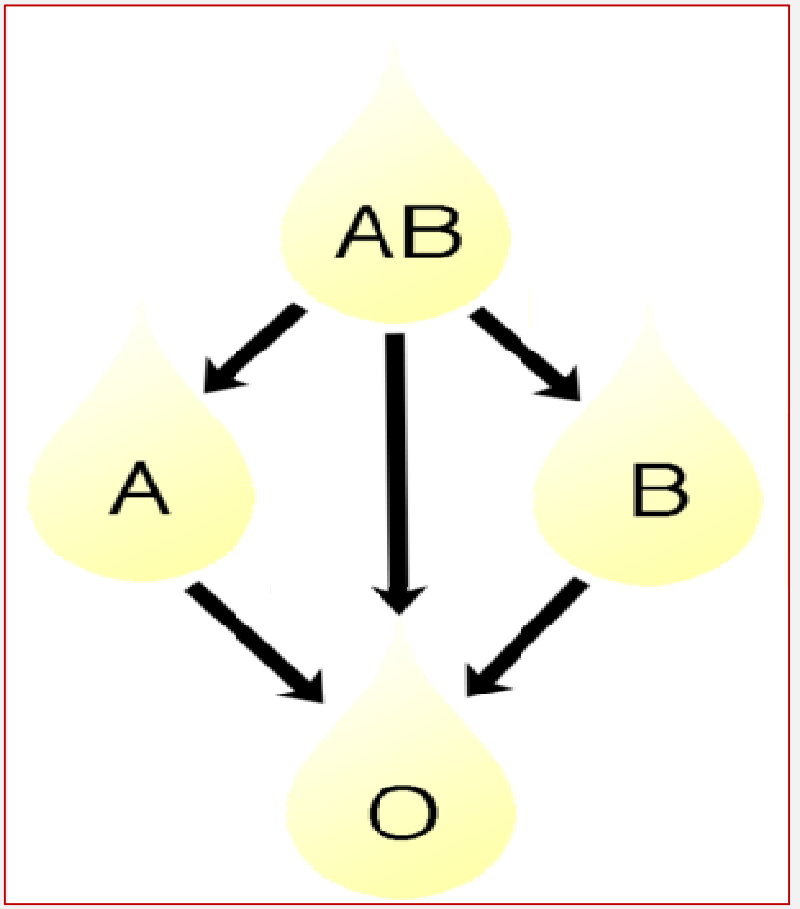
- ✓ Ανάγκη άμεσης μετάγγισης
- ✓ Πρόκειται για νέο ασθενή, μη καταχωρημένο στο αρχείο της Αιμοδοσίας
- ✓ Ο προμεταγγισιακός έλεγχος διαρκεί 45 λεπτά περίπου
- ✓ Χορήγηση Ο- ερυθρών και ΑΒ πλάσματος, μέχρι την ολοκλήρωση των εξετάσεων

Εναλλακτική επιλογή ερυθρών και πλάσματος προς μετάγγιση

- ερυθρά



- πλάσμα



ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

- PCR-RFLP
- PCR-SSP
- Multiplex PCR
- RT-PCR
- Sanger DNA Sequencing
- Pyrosequensing
- Microarray technology
- Fluidic microarray system
- TaqMan Open Array
- MALDI-TOF MS
- Mini-sequencing

Πίνακας 2. Χρωμοσωμικές θέσεις και γονίδια που καθορίζουν τις ομάδες αίματος

ISBT	Ομάδα αίματος	Όνομα γονιδίου	Αριθμός αντιγόνων	Χρωμόσωμα
001	ABO	ABO	4	9q34.2
002	MNS	GYPA, GYPB,GYPE	46	4q31.21
003	P1PK	P1PK	2	22q11.2-qter
004	Rh	RHD,RHCE	59	1p36.11
005	Lutheran, LU	BCAM	22	19q13.32
006	Kell	KEL	35	7q34
007	Lewis, LE	FUT3	6	19p13.3
008	Duffy, Fy	DARC	5	1q23.2
009	Kidd, JK	SLC14A1	3	18q12.3
010	Diego, DI	SLC4A1	22	17q21.31
011	Cartwright, YT	ACHE	2	17q22.1
012	XG	XG,CD99	2	Xp22.33
013	Scianna, SC	ERMAP	7	1p34.2
014	Dombrock, DO	ART4	7	12p12.3
015	Colton CO	AQP1	4	7p14.3
016	Landsteiner-Wiener, LW	ICAM-4	3	19p13.2
017	Chido-Rodgers CH/RG	C4A,C4B	9	6p21.3
018	H	FUT1	1	19q13.33
019	Kx	XK	1	Xp21.1
020	Gerbich, GE	GE	12	2q14.3
021	Cromer, Cr	DAF,CD55	16	1q32.2
022	Knops, Kn	CR1	9	1q32.2
023	Indian, IN	CD44	4	11p13
024	OK	BSG	3	19p13.3
025	Raph	CD151	1	11p15.5
026	John Milton Hagen,JMH	SEMA7A	6	15q24.1
027	I	GCNT2	1	6p24.2
028	Globoside,GLOB	B3GALT3,B3GALNT1	1	3q26.1
029	Gill, GI	AQP3	1	9p13.3
030	RHAG	RHAG	3	6p21

Μ. Γκανίδου.
Haema 2011; 2(1): 14-21

Εφαρμογές των μοριακών τεχνικών στο καθορισμό φαινοτύπου ερυθροκυττάρων

- **Σε ασθενείς**
  - **Εξακρίβωση αν ένα έμβρυο είναι πιθανό να αναπτύξει αιμολυτική νόσο**
  - Στις περιπτώσεις με άμεση Coombs (+)
  - Σε ασθενή που μεταγγίστηκε πρόσφατα και παρουσιάζει πολλαπλά αντισώματα, ώστε να επιλεγούν τα κατάλληλα ερυθρά για προσρόφηση
  - Σε αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων
  - Όταν ένας αντιορός είναι ασθενής ή μη διαθέσιμος (πχ αντι-Doa, -Dob, -Jsa, -V/VS)
  - Διαχωρισμός ενός αυτοαντισώματος από ένα αλλοαντίσωμα (πχ αντι-e)
  - Να τυποποιηθεί το αλλοαντίσωμα όταν ένας ασθενής παράγει αντισώματα έναντι δικού του αντιγόνου, όταν πρόκειται για ποικιλίες του αντιγόνου (π.χ. αντι-D σε D-θετικούς, αντι- e σε e-θετικούς)
  - Να εξακριβωθεί η ύπαρξη ασθενώς εκφρασμένων αντιγόνων, όπου κατά κανόνα δεν προκαλείται ανοσοποίηση
  - Να βρεθεί η μοριακή βάση των ασυνήθιστων ορολογικών αποτελεσμάτων, κυρίως σχετικά με τις ποικιλίες Rh

- **Σε αιμοδότες**
  - Μαζικό έλεγχο ώστε να δημιουργηθούν αντιγόνο-αρνητικά αποθέματα αίματος
  - Ανεύρεση δοτών που στερούνται αντιγόνων μεγάλης συχνότητας
  - Επίλυση προβλημάτων ασυμφωνίας σχετικά με τα αντιγόνα A, B, D, C και e
  - Ανεύρεση και καθορισμός των γονιδίων που προκαλούν την παραγωγή ασθενών αντιγόνων
  - Τυποποίηση δοτών από τους οποίους παράγονται αντιδραστήρια ελέγχου και τυποποίησης αντισωμάτων

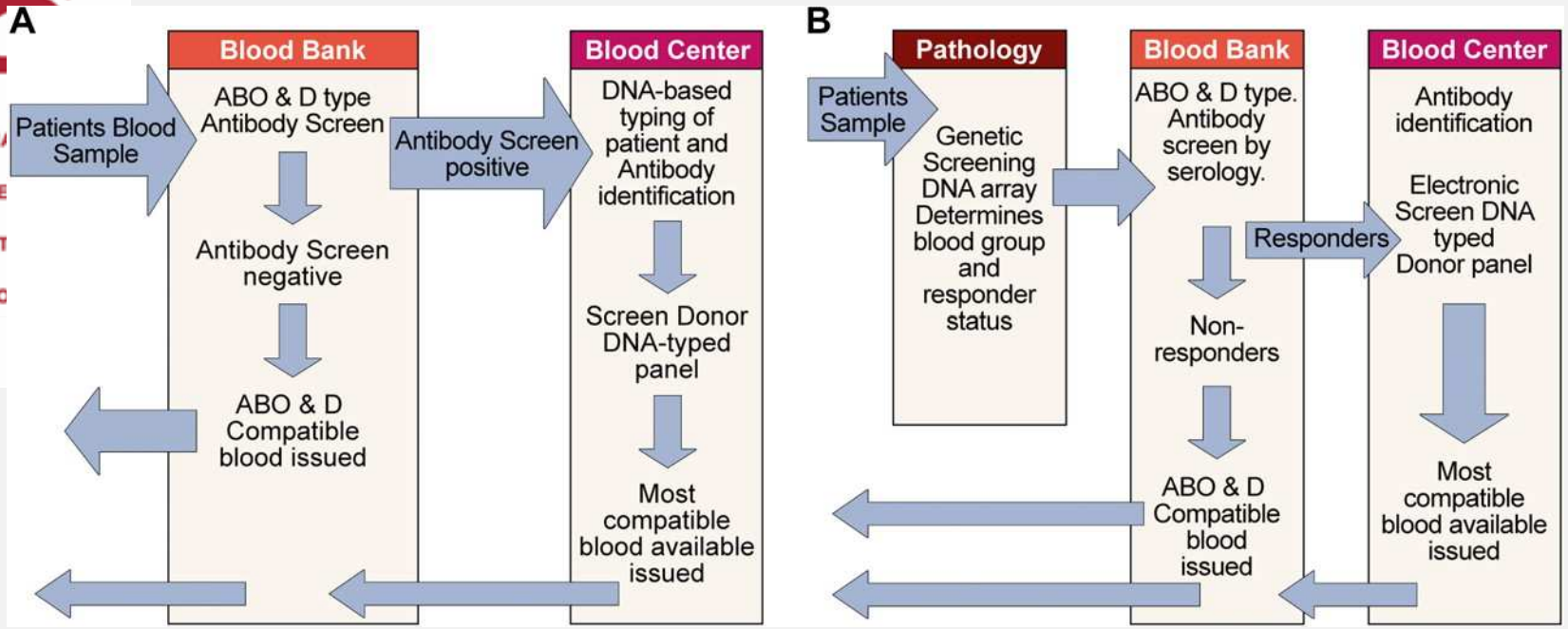
Περιορισμοί της μοριακής τυποποίησης

- Το αποτέλεσμα δυνατόν να μη συμφωνεί με αυτό της αιμοσυγκόλλησης
- Η εκτέλεση της τεχνικής απαιτεί αρκετές ώρες
- Το αποτέλεσμα από σωματικά κύτταρα είναι δυνατόν να είναι διαφορετικό από το αποτέλεσμα από δείγμα αίματος
- Πολλοί γονότυποι μπορεί να αντιστοιχούν στο ίδιο φαινότυπο
- Είναι πολύ πιθανό ότι δεν είναι γνωστά όλα τα αλληλόμορφα γονίδια σε κάθε πληθυσμιακή ομάδα

- Η μοριακή τεχνικής δεν έχει εγκριθεί για ευρεία χρήση, ως η μόνη μέθοδος στην οποία θα βασιστούν αποφάσεις σχετικά με τη θεραπεία ασθενών

blood
JOURNA
THE AME
SOCIET
HEMATO

Assimilation of red cell genotyping into routine practice.



Anstee D J Blood 2009;114:248-256

©2009 by American Society of Hematology

Επιλεγμένη βιβλιογραφία

- Technical Manual of American Association of Blood Banks. Noninfectious complication of blood transfusion. 17th ed, Bethesda, MD: AABB 2011, pp 437-522
- Chapman JF, Elliott C, Knowles SM, et al. Working Party of the British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force. Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories. Transfus Med 2004;14:59-73
- BCSH Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories, 2012. http://www.bcshguidelines.com
- Transfusion and Transplantation Science. Edited by Robin Knight. Oxford University Press 2013, pp 142-161

Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

1. Ο αντικειμενικός και κύριος στόχος της άμεσης φυγοκέντρησης κατά τη διασταύρωση είναι:
   a. Η διασφάλιση της επιβίωσης των μεταγγιζόμενων ερυθρών
   b. Η ανίχνευση ΑΒΟ ασυμβατότητας μεταξύ δότη και δέκτη
   c. Η ανάδειξη της ύπαρξης ψυχρών μη αναμενόμενων αντισωμάτων
   d. Η ανίχνευση αλλοαντισωμάτων

Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

2. Η δοκιμασία διασταύρωσης:
   a. Διασφαλίζει ότι το πλάσμα του δότη δεν έχει μη αναμενόμενα αντισώματα
   b. Διασφαλίζει ότι τα ερυθρά του δέκτη δεν αντιδρούν με αντισώματα του δότη
   c. Διασφαλίζει ότι τα μεταγγιζόμενα ερυθρά δεν αντιδρούν με αντισώματα που υπάρχουν στον ορό του δέκτη
   d. Διασφαλίζει την συνολική ασφάλεια της μετάγγισης

Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

3. Ένας ασθενής ο οποίος χρειάζεται μετάγγιση είναι γνωστό ότι 5 χρόνια πριν είχε αναπτύξει anti-Jka. Στην παρούσα φάση το screening ΑΑ είναι αρνητικό. Ποια τακτική πρέπει να ακολουθηθεί:
   a. Επανέλεγχος του ασθενούς για το αντιγόνο Jka, έλεγχος μονάδων για Jka και στη συνέχεια διασταύρωση αυτών που είναι Jka (-)
   b. Ηλεκτρονική διασταύρωση Jka (-) μονάδων ερυθρών
   c. Διασταύρωση τυχαίων μονάδων ερυθρών και απελευθέρωση προς μετάγγιση αυτών που είναι συμβατές
   d. Μετάγγιση τυχαίων συμβατών λευκαφαιρεμένων μονάδων

Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

4. Ασθενής με αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία θερμού τύπου μεταγγίσθηκε πριν 2 εβδομάδες. Ποια διαδικασία πρέπει να γίνει για να αποκλεισθεί ότι έχει αναπτυχθεί αλλοαντίσωμα:

   a. Όξινο έκλουμα
   b. Αυτόλογη προσρόφηση
   c. Αλλογενής προσρόφηση
   d. Προσρόφηση με ειδικό αντιδραστήριο για την απορρόφηση των ψυχρών αντισωμάτων

Ορθές απαντήσεις ερωτήσεων πολλαπλής επιλογής

- 1 – b
- 2 – c
- 3 – a
- 4 – c