ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ -ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ
ΑΜΕΣΗ-ΕΜΜΕΣΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ COOMBS
ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΚΑΛΑΝΤΖΗΣ

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ-ΜΟΝΑΔΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ ΠΓΝ ΑΤΤΙΚΟΝ

ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

- Μέγεθος
- Χημική δομή
- Πολυπλοκότητα
- Διαλυτότητα
- Φορτίο

- ✓ Ένα αντιγόνο αποτελείται από πολλούς επιτόπους
- ✓ Μπορεί να είναι πρωτεΐνη ή γλυκολιπίδιο

- ➢ Όλα τα παραπάνω καθιστούν ένα αντιγόνο περισσότερο ή λιγότερο ανοσογόνο

ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

- **Φυσικά αντισώματα**

  - ανευρίσκονται στον ορό ατόμων, τα οποία δεν έχουν εκτεθεί ποτέ σε ερυθροκυτταρικά αντιγόνα

  - παράγονται ως απάντηση, μετά από έκθεση σε περιβαλλοντικές ουσίες, οι οποίες μιμούνται ερυθροκυτταρικά αντιγόνα

  - συνήθως είναι IgM αντισώματα τα οποία δρούν σε χαμηλές θερμοκρασίες

  - αντι-ABH, -Ii -Lewis,-MN,-P

- **Άνοσα αντισώματα**

  - παράγονται μετά από μετάγγιση ή κύηση

  - συνήθως είναι IgG και δρούν στους 37^{o} C

  - απαιτούν τη χρήση ενισχυτικών μέσων για την ανάδειξή τους

  - αντι-Rh,-Kell,-Duffy,-Kidd,-Ss

- **Αναμενόμενα/ μη αναμενόμενα**

- **Αλλοαντισώματα/αυτοαντισώματα**

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ

- **Αιμοσυγκόλληση**

  - η κύρια τεχνική με την οποία ανιχνεύονται ερυθροκυτταρικά αντιγόνα, αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα καθώς και οι μεταξύ τους αντιδράσεις

- Στην αρχική φάση(ευαισθητοποίηση), επίτοποι αντιγόνων στην επιφάνεια των ερυθρών, συνδέονται με τις αντίστοιχες περιοχές των αντισωμάτων και συγκρατούνται με ειδικούς δεσμούς, ενώ δεν παρατηρείται ορατή συγκόλληση
- Στη δεύτερη φάση, σχηματίζεται ένα πλέγμα από πολλαπλές γέφυρες αντιγόνου/αντισώματος μεταξύ των ερυθρών και προκαλείται ορατή συγκόλληση ερυθροκυττάρων

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ

- **Καθίζηση**

  - σχηματισμός ενός,συνήθως ορατού, αδιάλυτου συμπλέγματος μετά από αντίδραση διαλυτού αντιγόνου με διαλυτό αντίσωμα

  - αποτελεί την κατάληξη τεχνικών όπως, η ανοσοδιάχυση και η ανοσοηλεκτροφόρηση

- **Αιμόλυση**

  - Προκύπτει από αντίδραση αντιγόνου/αντισώματος,η οποία προκαλεί ενεργοποίηση του συμπληρώματος, λύση του ερυθροκυττάρου και απελευθέρωση της ενδοκυττάριας αιμοσφαιρίνης

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗΣ

- **Αναλογία αντιγόνου αντισώματος**

  - επηρεάζει την ταχύτητα της αντίδρασης

  - σπάνια,η περίσσεια αντισώματος μπορεί να προκαλέσει αναστολή της συγκόλλησης(φαινόμενο προζώνης)

  - συνήθης αναλογία αντιγόνου/αντισώματος→ 2 σταγόνες ορού και μία σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών 3-5%

  - ασθενής έκφραση αντιγόνου επηρεάζει την αντίδραση(π.χ ετερόζυγη έκφραση του Jka αντιγόνου)

- **PH**

  - ιδανικό PH αντίδρασης 6.5-7.5

- **Φυγοκέντρηση**

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗΣ

- **Θερμοκρασία**

  - τα IgM αντισώματα δρούν ιδανικά σε θερμοκρασίες 4°-27°C
  - τα IgG αντισώματα δρούν στους 37°C
  - αναλόγως ενδείξεων, οι δοκιμασίες αντίδρασης αντιγόνου /αντισώματος γίνονται σε διαφορετικές θερμοκρασίες

- **Τύπος ανοσοσφαιρίνης**

✓ τα IgM αντισώματα προκαλούν άμεση συγκόλληση ερυθροκυττάρων σε διαλύματα φυσιολογικού ορού(NaCl 0.9%) χωρίς προσθήκη ενισχυτικών μέσων

✓ Η ανίχνευση των κλινικά σημαντικών IgG αντισωμάτων απαιτεί τη χρήση ενισχυτικών μέσων

➢ τα περισσότερα ενισχυτικά μέσα δρούν, μειώνοντας το **zeta-δυναμικό** των ερυθροκυτταρικών μεμβρανών

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗΣ

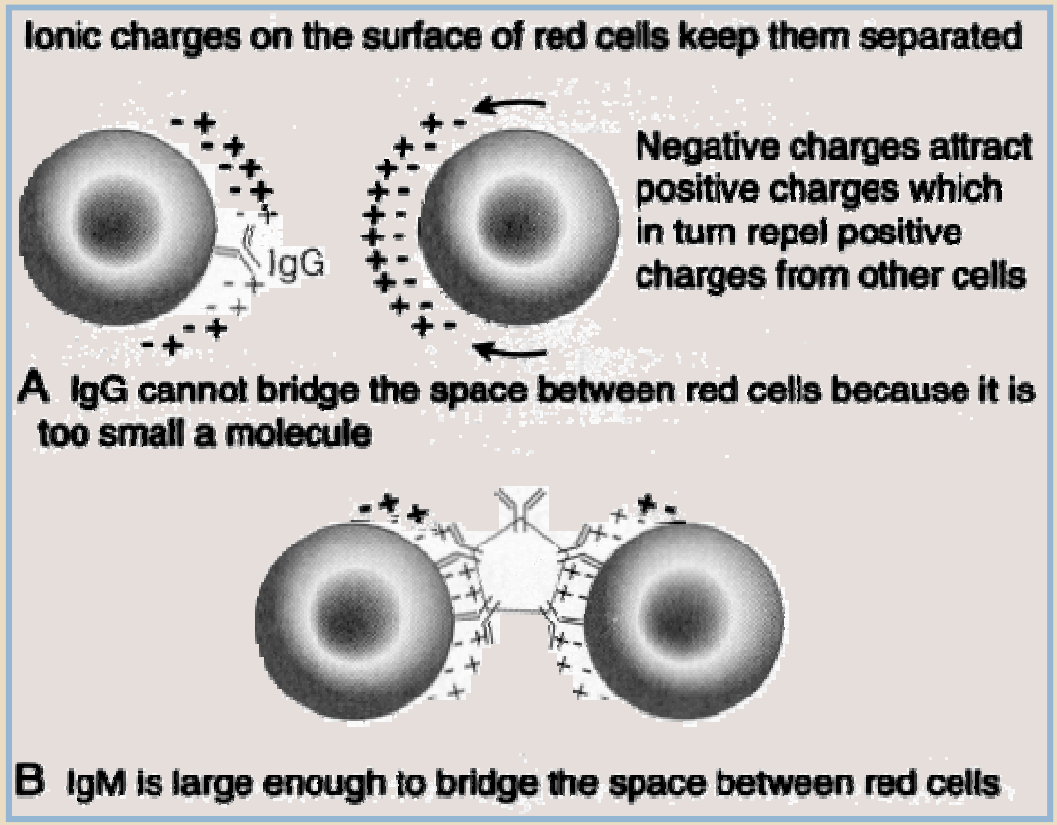
- Τα ερυθροκύτταρα, λόγω της παρουσίας σιαλικών οξέων στη μεμβράνη τους, περιβάλλονται από αρνητικά φορτισμένα ιόντα, απωθούνται μεταξύ τους και παρεμποδίζεται με αυτόν τον τρόπο η συγκόλλησή τους στο περιφερικό αίμα

- Η αρνητικά φορτισμένη ζώνη προσελκύει θετικά φορτισμένα ιόντα και προκύπτει ένα δυναμικό το οποίο καλείται **zeta-δυναμικό**

- Τα IgM και IgG αντισώματα διαφέρουν στον τρόπο αλληλεπίδρασης τους με το zeta-δυναμικό

- Μειώνοντας το zeta-δυναμικό, επιτρέπουμε στα περισσότερο θετικά φορτισμένα αντισώματα να αντιδράσουν με τα αρνητικά φορτισμένα ερυθρά

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗΣ



www.faculty.matcmadison.edu

ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗΣ ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

Αντιδραστήριο	Μηχανισμός δράσης	Τεχνική	Ανίχνευση αντισωμάτων
Φυσιολογικός ορός		4-22° C(IgM)/άμεση φυγοκέντρηση 37° C(IgG) /επώαση 45-60'	IgM IgG
Αντισφαιρινικός ορός(AHG)	Προκαλεί ορατή συγκόλληση ευαισθητοποιημένων με αντισώματα ερυθρών	- Άμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού(DAT) - Έμμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού(IAT)	-Πολυδύναμος(IgG και C3d) - μονοδύναμος(IgG)
Αλβουμίνη 22%	Τροποποίηση zeta δυναμικού	Επώαση στους 37° C για 15-30'/IAT	IgG
LISS	Επιταχύνει την πρόσληψη του αντισώματος από τα ερυθρά	Επώαση στους 37° C για 5-15'/IAT	IgG
PEG	Αφαιρεί νερό από το διάλυμα της αντίδρασης, συμπυκνώνει το αντίσωμα, αυξάνει την αλληλεπίδραση αντιγόνου/αντισώματος	Επώαση στους 37° C για 10-30'/IAT Δεν απαιτείται φυγοκέντρηση	IgG
Ένζυμα ***-παπαίνη*** ***-βρωμελίνη*** ***-φυσίνη*** ***-θρυψίνη***	-Μειώνουν το αρνητικό φορτίο των ερυθρών -Καταστρέφουν ή μειώνουν την έκφραση κάποιων αντιγόνων, ενώ ενισχύουν την έκφραση κάποιων άλλων	-Άμεση προσθήκη ενζύμου στο μείγμα ερυθρών/ορού -Χρήση ερυθρών επεξεργασμένων με ένζυμα	Καταστρέφουν τα αντιγόνα MNS, Duffy Ενισχύουν τα αντιγόνα Rh, Kidd,P,Lewis

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(COOMBS΄TEST)

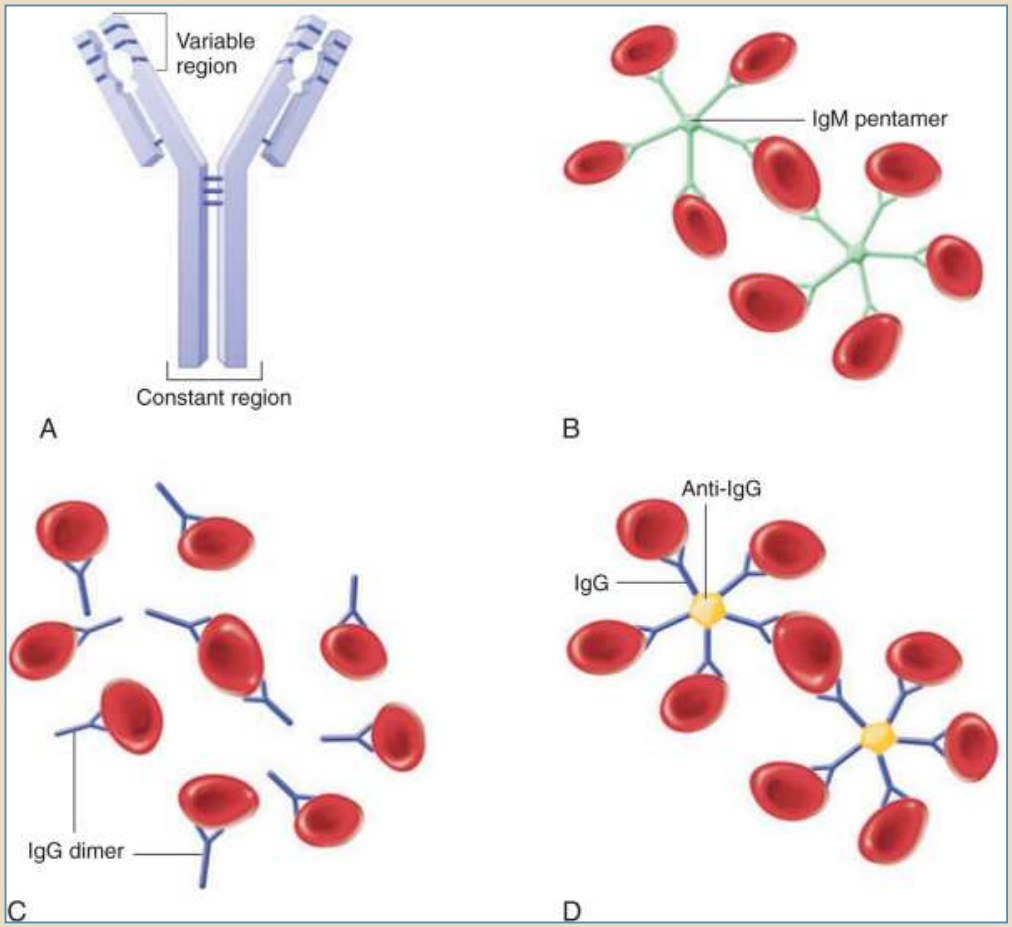
- Η δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού(AHG) στηρίζεται στην αρχή σύμφωνα με την οποία, αντιανθρώπινες σφαιρίνες οι οποίες έχουν παραχθεί από ανοσοποιημένα ζώα, αντιδρούν με ανθρώπινες σφαιρίνες(IgG ή συμπλήρωμα) ελεύθερες στον ορό ή προσκολλημένες στα ερυθροκύτταρα

- Υπάρχουν δύο τύποι αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων: IgM και IgG

- Τα IgM αντισώματα λόγω της πενταμερούς δομής τους συνδέονται με το αντίστοιχο αντιγόνο και προκαλούν άμεση συγκόλληση ερυθροκυττάρων τα οποία εναιωρούνται σε φυσιολογικό ορό

- Τα IgG αντισώματα λόγω της μονομερούς δομής τους αδυνατούν να προκαλέσουν άμεση συγκόλληση. Η προσθήκη AHG (αντι- IgG ή/και αντι-C3d) προάγει τη συγκόλληση ευαισθητοποιημένων με IgG ή/και C3d ερυθροκυττάρων

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(COOMBS'TEST)



ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ-ΙΣΤΟΡΙΑ

- Πριν την ανακάλυψη του AHG, μόνο τα IgM αντισώματα είχαν καταδειχθεί
- Το 1945 ο Coombs και συν. περιέγραψαν τη χρήση του AHG για την ανάδειξη ασθενών Rh αντισωμάτων στον ορό
- Το 1946 περιέγραψαν τη χρήση του AHG για την ανάδειξη ευαισθητοποιημένων με αντισώματα ερυθροκυττάρων, στην αιμολυτική νόσο του νεογνού
- Η χρήση της δοκιμασίας AHG επεκτάθηκε στην ανακάλυψη και άλλων αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων αλλά και των αντίστοιχων αντιγόνων
- Η ανακάλυψη των αντι-Kell αντισωμάτων και των αντιγόνων Kell έγινε λίγες εβδομάδες μετά την περιγραφή της δοκιμασίας AHG
- Αν και ο Coombs εισήγαγε στην πράξη τη δοκιμασία AHG στον ορολογικό έλεγχο των ερυθροκυτταρικών συστημάτων, η αρχή της μεθόδου είχε αναφερθεί το 1908 από τον Moreschi μέσω πειραμάτων σε κουνέλια και κατσίκια

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. **Πολυδύναμος AHG**

- περιέχει αντισώματα για τις ανθρώπινες IgG ανοσοσφαιρίνες και για το C3d κλάσμα του ανθρώπινου συμπληρώματος

- μπορεί να περιέχει ίχνη από αντι-C3b,C4b,C4d

- μπορεί να περιέχει μικρή ποσότητα αντισωμάτων έναντι βαριών αλύσεων των IgA και IgM

- εάν περιέχει ίχνη αντισωμάτων έναντι των κοινών σε όλες τις ανοσοσφαιρίνες κ και λ ελαφρών αλύσεων μπορεί να αντιδρά με IgA και IgM μόρια

2. **Μονοδύναμος AHG**

- περιέχει μόνο αντι- IgG ή αντι- C3d /C3b

- ο αντι- IgG AHG περιέχει αντισώματα έναντι του Fc κλάσματος των βαριών αλύσεων των IgG μορίων

- ο αντι- C3d /C3b δεν παρουσιάζει αντίδραση με τις ανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ-ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

- Η κλασσική μέθοδος παραγωγής AHG ξεκινά με τη χορήγηση ανθρώπινου ορού ή κεκαθαρμένης σφαιρίνης σε πειραματόζωα, κυρίως κουνέλια
- Η ανθρώπινη σφαιρίνη λειτουργεί ως ξένο σώμα και προκαλεί την παραγωγή αντισωμάτων από τα κουνέλια
- Αυτή η τεχνική προκαλεί την παραγωγή **πολυκλωνικού αντισφαιρινικού ορού**, ο οποίος περιέχει μείγμα αντισωμάτων από διαφορετικούς κλώνους Β-λεμφοκυττάρων και αναγνωρίζει διαφορετικούς επιτόπους ενός αντιγόνου ή το ίδιο τμήμα ενός αντιγόνου αλλά με διαφορετικές συγγένειες
- Με την τεχνική της υβριδοποίησης, μπορεί να παραχθεί **μονοκλωνικός αντισφαιρινικός ορός**, ο οποίος προκύπτει από ένα κλώνο Β-λεμφοκυττάρων και αναγνωρίζει μόνο ένα επίτοπο του αντιγόνου

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΗG

1. **ΠΟΛΥΔΥΝΑΜΟΣ**

- Μείγμα πολυκλωνικών αντι-IgG/αντι-C3d
- Μείγμα μονοκλωνικών αντι-IgG/αντι-C3d
- Μείγμα πολυκλωνικών /μονοκλωνικών αντι-IgG/αντι-C3d

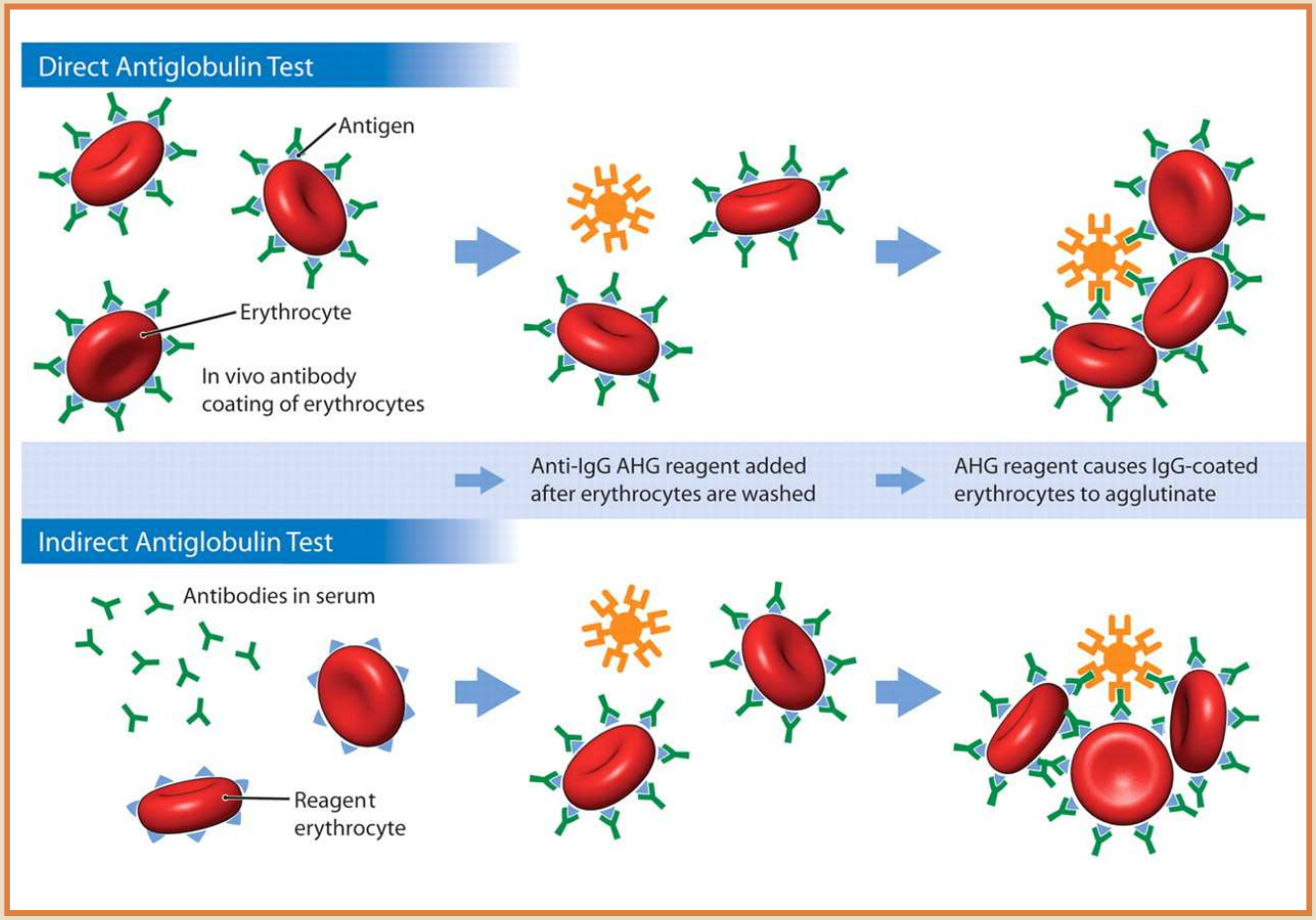
2. **ΜΟΝΟΔΥΝΑΜΟΣ**

- Ο αντι-IgG συνήθως είναι πολυκλωνικής αρχής
- Ο αντι-C3d/C3b συνήθως είναι μείγμα μονοκλωνικών αντιορών

ΑΡΧΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ

- Τα αντισώματα και τα στοιχεία του συμπληρώματος ανήκουν στις σφαιρίνες
- Η χορήγηση ανθρώπινων σφαιρινών σε πειραματόζωα, προκαλεί την παραγωγή αντισωμάτων έναντι των ξένων αντιγόνων(AHG).Οι ορολογικές δοκιμασίες χρησιμοποιούν μία ποικιλία αντιδραστηρίων AHG τα οποία αντιδρούν με διάφορες ανθρώπινες σφαιρίνες και περιλαμβάνουν αντιδραστήρια αντι-IgG,αντι-C3d ή πολυδύναμα με συνδυασμό και των δύο
- Ο AHG αντιδρά με ανθρώπινες σφαιρίνες είτε ελεύθερες στον ορό,είτε συνδεδεμένες με ερυθροκύτταρα
- Ερυθροκύτταρα καλυμμένα με ανθρώπινες σφαιρίνες, συγκολλούνται από τον AHG

ΑΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(DAT)
ΕΜΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(IAT)

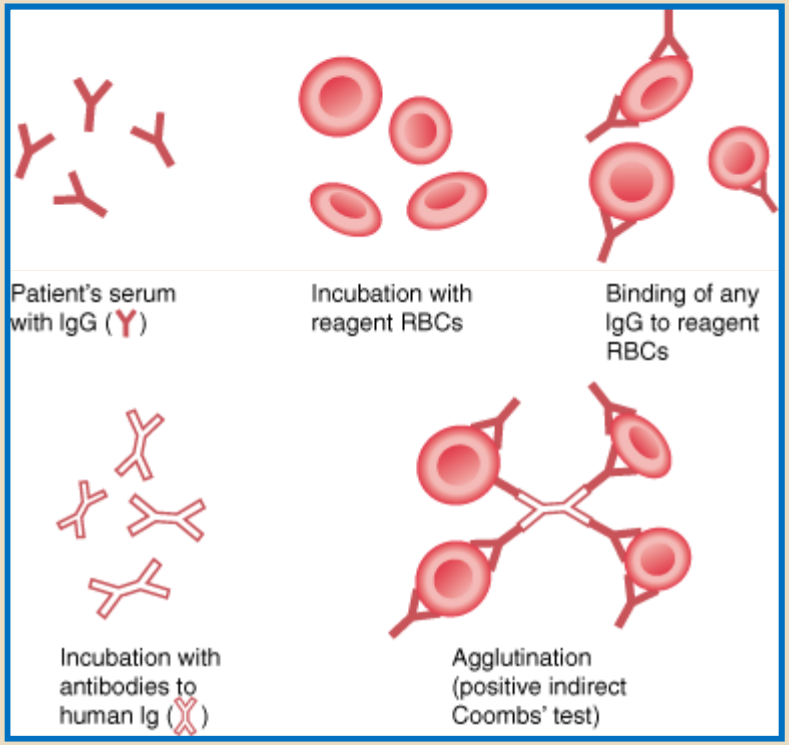


ΕΜΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(IAT)

- Η IAT ανιχνεύει ευαισθητοποίηση ερυθροκυττάρων με αντισώματα, η οποία έχει συμβεί in vitro

- ✓ - ανίχνευση αντιερυθροκυτταρικών αντισωμάτων στον ορό ασθενών, χρησιμοποιώντας ερυθρά γνωστού φαινοτύπου(screening test)
- ✓ - ανίχνευση αντισωμάτων έναντι των προς μετάγγιση ερυθρών του δότη(διασταύρωση)
- ✓ - ταυτοποίηση και τιτλοποίηση αντισωμάτων
- ✓ - πλήρης φαινότυπος ερυθρών χρησιμοποιώντας γνωστούς αντιορούς

ΕΜΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(IAT)



ΕΜΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(IAT)

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ(screening test)

- Κλινικά σημαντικά, θεωρούνται τα αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα(ΑΑ) τα οποία προκαλούν μειωμένη επιβίωση των μεταγγιζομένων ερυθρών ή αιμολυτική νόσο του νεογνού

- Δρούν στους 37◦C και ανιχνεύονται με έμμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού(IAT)

- Η ανίχνευσή τους αποτελεί μέρος του προμεταγγισιακού ελέγχου ή του ελέγχου κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ(screening test) ΤΕΧΝΙΚΕΣ

- **ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ**

- Ορός + ερυθρά ελέγχου(3 κύτταρα)→ άμεση φυγοκέντρηση(ψυχρά ΑΑ)→ επώαση στους 37◦C→ πλύσιμο με φυσ. Ορό→ προσθήκη AHG→ φυγοκέντρηση→ παρατήρηση για ύπαρξη συγκόλλησης ή αιμόλυσης
- Προσθήκη αντιδραστηρίων τα οποία ενισχύουν την αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος ή μειώνουν το χρόνο επώασης

-22% αλβουμίνη

- Liss

- PEG

- Τα ερυθρά ελέγχου είναι ομάδας Ο, συνήθως υπάρχουν σε σετ των 2 ή 3 κυττάρων και συνοδεύονται από έντυπο το οποίο αναφέρει την ακριβή αντιγονική τους σύσταση
- Τα ερυθρά ελέγχου πρέπει να εκφράζουν τα πιο σημαντικά ερυθροκυτταρικά αντιγόνα: D,C,c,E,e,K,k,Fya,Fyb,Jka,Jkb,S,s,M,N,Lea,Leb,P1,Lua,Lub
- Επειδή κάποια αντισώματα αντιδρούν πιο έντονα με τα αντίστοιχα αντιγόνα όταν αυτά βρίσκονται σε ομόζυγη κατάσταση πάνω στα ερυθρά, θα πρέπει κάποια από τα ερυθρά ελέγχου να εκφράζουν και τους εξής φαινότυπους:

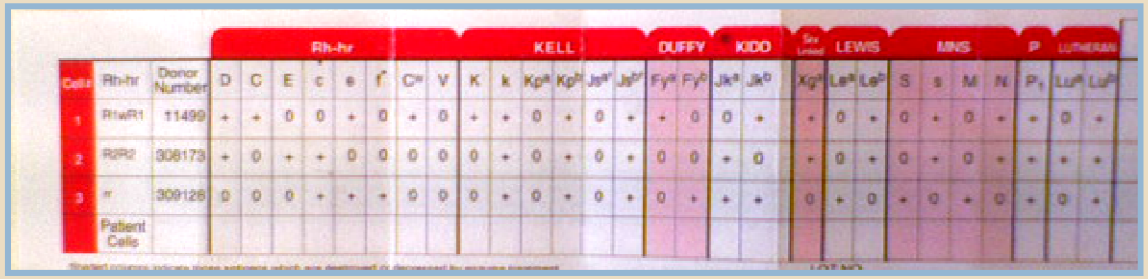
Jk(a+b-), Jk(a-b+),Fy(a+b-),Fy(a-b+),S+s-,S-s+

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ(screening test) ΤΕΧΝΙΚΕΣ

- **ΤΕΧΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΑΡΙΩΝ ΓΕΛΗΣ/ΜΙΚΡΟΣΦΑΙΡΙΔΙΩΝ**

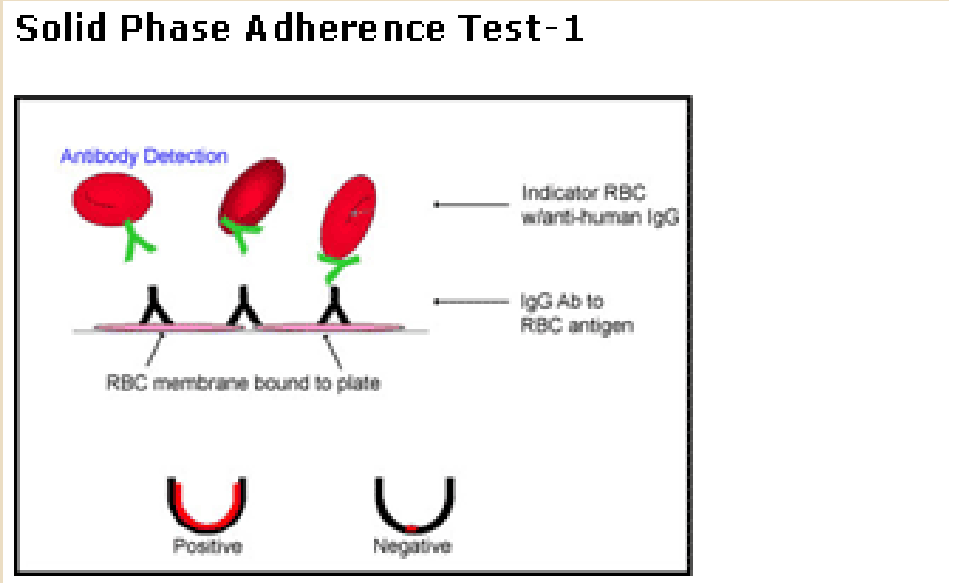
- Ο ορός και τα ερυθρά ελέγχου τοποθετούνται σε ειδικά βυθίσματα σε κάρτες οι οποίες περιέχουν μικροσωληνάρια γέλης/μικροσφαιριδίων και ακολουθεί επώαση στους 37◦C
- Τα ερυθρά ελέγχου εναιωρούνται σε Liss και οι κάρτες έχουν ενσωματωμένο στη γέλη, πολυδύναμο AHG
- Στο τέλος της διαδικασίας ακολουθεί φυγοκέντρηση και ανάγνωση του αποτελέσματος

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ(screening test) ΤΕΧΝΙΚΕΣ



ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ(screening test) ΤΕΧΝΙΚΕΣ

- **ΤΕΧΝΙΚΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ**
- Στη μέθοδο αυτή τα αντιγόνα των ερυθρών ελέγχου είναι καθηλωμένα σε ειδικά βυθίσματα
- Ακολουθεί προσθήκη του ορού καθώς και του διαλύματος Liss
- Επώαση στους 37◦C και πλύσιμο με φυσιολογικό ορό για την απομάκρυνση του ασύνδετου αντισώματος
- Προσθήκη ερυθρών καλυμμένων με αντι-IgG
- Φυγοκέντρηση και ανάγνωση αποτελέσματος



ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΟΥ SCREENING TEST

- Συγκόλληση ή αιμόλυση σε οποιοδήποτε στάδιο του screening test,θεωρείται θετικό αποτέλεσμα και απαιτείται περαιτέρω έλεγχος για την ταυτοποίηση των αντισωμάτων

- Συνιστάται η διενέργεια **αυτόλογου control**, η θετικότητα του οποίου υποδεικνύει παρουσία αυτοαντισωμάτων, αντισωμάτων έναντι φαρμάκων ή κυκλοφορία μεταγγισθέντων ερυθρών τα οποία είναι καλυμμένα με αλλοαντισώματα του δέκτη

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΟΥ SCREENING TEST

- **Σε ποια φάση της διαδικασίας εμφανίζεται θετικότητα?**
  - IgM αντισώματα,αντιδρούν σε χαμηλές θερμοκρασίες και προκαλούν συγκόλληση ερυθροκυττάρων εναιωρημένων σε φυσιολογικό ορό, μετά από άμεση φυγοκέντρηση(M,N,P1,Lewis)
  - IgG αντισώματα αντιδρούν κυρίως στους 37◦C και στη φάση του AHG (Rh,Kell,Kidd,Duffy,Ss)

- **Το αυτόλογο control είναι αρνητικό ή θετικό?**
  - αρνητικό αυτόλογο control με θετικό screening test,υποδηλώνει την ύπαρξη αλλοαντισώματος

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΟΥ SCREENING TEST

- **Εμφανίζεται θετικότητα με ένα ή περισσότερα κύτταρα του screening test? / η ένταση της θετικότητας διαφέρει ή όχι**?
- Θετικότητα με περισσότερα από ένα κύτταρα του screening test εμφανίζεται όταν
- ✓ Υπάρχουν πολλαπλά αντισώματα
- ✓ Το υπεύθυνο αντιγόνο εκφράζεται σε περισσότερα από ένα κύτταρα του screening test
- ✓ Υπάρχουν αυτοαντισώματα(θετικό αυτόλογο control)

- Πολλαπλά αντισώματα είναι πιθανό να υπάρχουν όταν τα κύτταρα ελέγχου αντιδρούν με διαφορετική ένταση και σε διαφορετικές φάσεις

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

ΙΣΤΟΡΙΚΟ

- ✓ Ηλικία,φύλο
- ✓ Φυλή
- ✓ Διάγνωση
- ✓ Ιστορικό μεταγγίσεων/κυήσεων
- ✓ Ιστορικό μεταμόσχευσης
- ✓ Ιστορικό χορήγησης IVIG, RhIG, ALG
- ✓ Φάρμακα

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

- Σε ασθενείς με θετικό screening, για την ταυτοποίηση του αντισώματος χρησιμοποιούνται panels συνήθως 11 ερυθρών ελέγχου, γνωστής αντιγονικής σύστασης και ίδιων χαρακτηριστικών με αυτά που χρησιμοποιούνται και στο screening test

- Ο φαινότυπος των ερυθρών θα πρέπει να είναι κατάλληλα επιλεγμένος ώστε, για το αντίστοιχο αντιγόνο, να υπάρχουν τουλάχιστον 2 ερυθρά θετικά και 2 ερυθρά αρνητικά

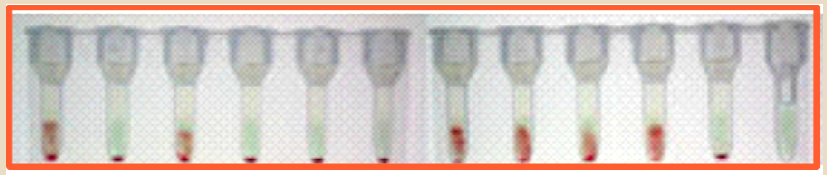
- Τόσο οι θετικές όσο και οι αρνητικές αντιδράσεις με τα κύτταρα του panel είναι σημαντικές για την ταυτοποίηση των αντισωμάτων

- Τα μονήρη αντισώματα συνήθως παρουσιάζουν ξεκάθαρη εικόνα

- Εάν υπάρχουν περισσότερα του ενός αντισώματα, ο ορός μπορεί να παρουσιάζει θετικές και αρνητικές αντιδράσεις στο panel οι οποίες δεν αντιστοιχούν σε συγκεκριμένο αντίσωμα

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

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:																						



ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ
ΘΕΤΙΚΟ PANEL ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΑΥΤΟΚΟΝΤΡΟΛ

1. **Μερικά κύτταρα θετικά με ίδιας έντασης θετικότητα και μερικά κύτταρα αρνητικά**
   - Συνήθως ύπαρξη μονήρους αντισώματος
2. **Όλα ή μερικά κύτταρα θετικά, με διαφορά έντασης στη θετικότητα και κάποια αρνητικά ή όχι**
   - Συνήθως ύπαρξη πολλαπλών αντισωμάτων
3. **Όλα τα κύτταρα θετικά, με ίδια έντασης θετικότητα**
   - Συνήθως ύπαρξη αντισώματος έναντι αντιγόνου υψηλής συχνότητας (k,Lub,Kpb,Chido/Rodgers)
4. **Ασθενής θετικότητα σε μερικά κύτταρα, ενώ δεν ταυτοποιείται αντίσωμα**
   - Συνήθως αντίσωμα δοσοεξαρτώμενο (θετικότητα μόνο με κύτταρα ομόζυγα για το αντίστοιχο αντιγόνο)
5. **Θετικότητα μόνο σε ένα κύτταρο του panel**
   - Συνήθως αντίσωμα έναντι αντιγόνου χαμηλής συχνότητας ή έναντι HLA

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ
ΘΕΤΙΚΟ PANEL ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ ΑΥΤΟΚΟΝΤΡΟΛ

- Η ύπαρξη θετικού αυτοκοντρόλ υποδηλώνει παρουσία αυτοαντισώματος, εφόσον δεν υπάρχουν πρόσφατες μεταγγίσεις
- Εάν η θετικότητα του αυτοκοντρόλ είναι ισχυρότερη των κυττάρων του panel, τότε η ύπαρξη αυτοαντισώματος είναι πιθανή
- Εάν η θετικότητα του αυτοκοντρόλ είναι ασθενέστερη των κυττάρων του panel,τότε υπάρχει πιθανότητα ύπαρξης αυτοαντισώματος ή αντισώματος έναντι αντιγόνου υψηλής συχνότητας

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΠΙΛΥΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

- Έλεγχος του ορού με επιλεγμένα ερυθρά, τα οποία εκφράζουν ισχυρά το αντιγόνο έναντι του οποίου υπάρχει πιθανό αντίσωμα
- Χρήση panels με περισσότερα κύτταρα, τα οποία βοηθούν στο διαχωρισμό πολλαπλών αντισωμάτων
- Χρήση ερυθρών ελέγχου επεξεργασμένων με ένζυμα (παπαΐνη, φυσίνη,βρωμελίνη) τα οποία ενισχύουν(αντιγόνα Rh,Kidd) ή αδρανοποιούν συγκεκριμένα αντιγόνα των ερυθρών(MNS,Duffy)
- Χρησιμοποίηση μεθόδων προσρόφησης/έκλουσης οι οποίες διευκολύνουν το διαχωρισμό πολλαπλών αντισωμάτων
- **Τυποποίηση των κυριότερων ερυθροκυτταρικών αντιγόνων του ασθενούς εφόσον δεν υπάρχει ιστορικό πρόσφατων μεταγγίσεων**

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΟΝΑΔΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ

- Εάν έχουν ταυτοποιηθεί κλινικά σημαντικά αλλοαντισώματα στον ασθενή,θα πρέπει να επιλεγεί για μετάγγιση,μονάδα αίματος αρνητική για το αντίστοιχο αντιγόνο(αντισώματα έναντι των αντιγόνων D,C,c,E,e,K,k,Jka,Jkb,Fya,Fyb,S,s,U,M)

- Η ίδια τακτική ακολουθείται και για τους ασθενείς στους οποίους υπάρχει ιστορικό ύπαρξης αλλοαντισωμάτων στο παρελθόν, ακόμα και αν ο παρών έλεγχος είναι αρνητικός

- Για τους ασθενείς με μη κλινικά σημαντικά αλλοαντισώματα ή αντισώματα έναντι αντιγόνων χαμηλής συχνότητας, αρκεί η συμβατή διασταύρωση στους 37◦C(αντισώματα έναντι των αντιγόνων A1,Cw,Kpa,M,N,P1,Lea,Leb,Lua)

ΑΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(DAT)

- Η DAT ανιχνεύει αντισώματα ή συμπλήρωμα στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων, η προσκόλληση των οποίων έχει συμβεί in vivo

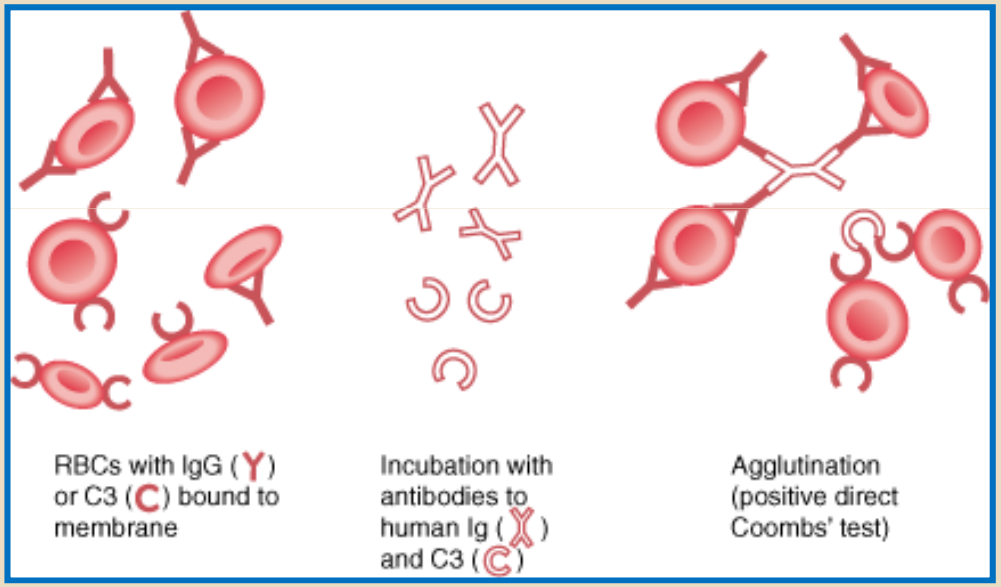
- Κλινικές καταστάσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται από ευαισθητοποίηση των ερυθρών με αντισώματα ή συμπλήρωμα είναι:

✓ - η αιμολυτική νόσος του νεογνού

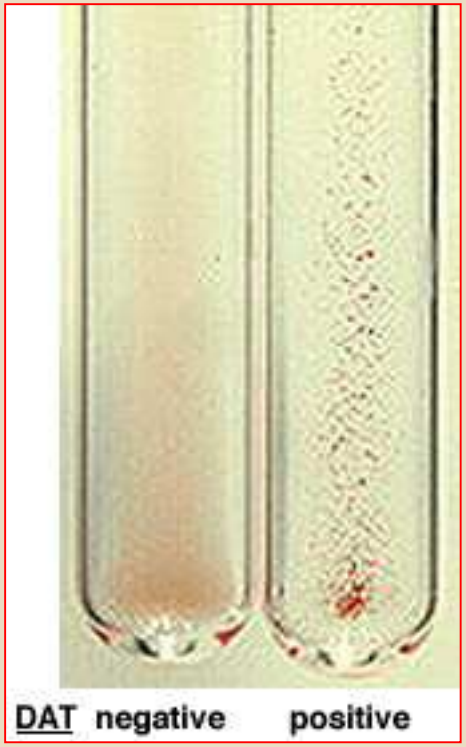
✓ - οι αιμολυτικές αντιδράσεις από μετάγγιση

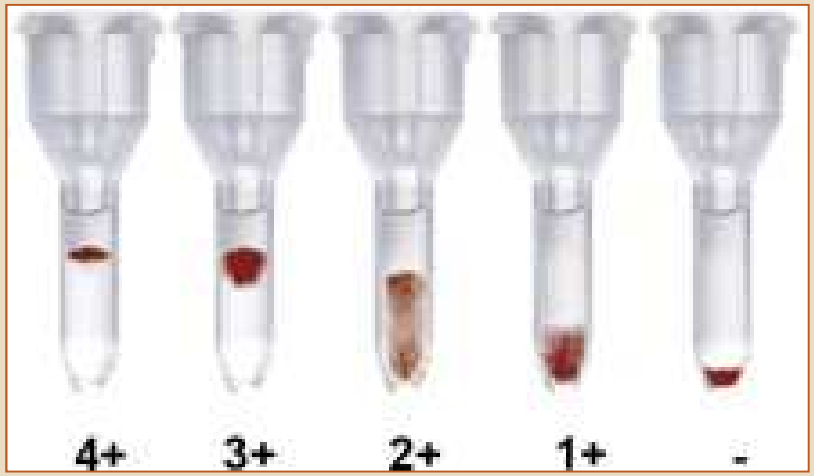
✓ - η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία

ΑΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(DAT)



ΑΜΕΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΦΑΙΡΙΝΙΚΟΥ ΟΡΟΥ(DAT)

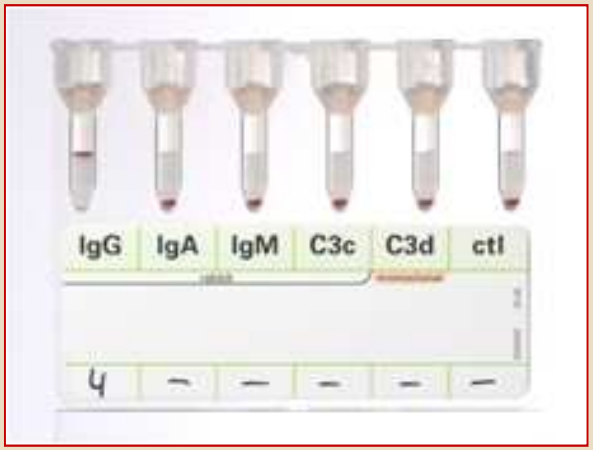




ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- Η θετικότητα της DAT με πολυδύναμο AHG αναλύεται με τη χρήση μονοδύναμων αντιορών,κυρίως αντι-IgG και αντι-C3d
- Η ανάλυση της DAT γίνεται, είτε με την κλασσική τεχνική, είτε συνηθέστερα με κάρτες γέλης/μικροσφαιριδίων
- Οι κάρτες γέλης/ μικροσφαιριδίων μπορεί να περιέχουν και άλλους μονοδύναμους αντι-ορούς, όπως αντι-IgA, αντι-IgM αντι-C3c

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT



ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- **Κλινικές πληροφορίες**

  - ✓ Ηλικία, φύλο
  - ✓ Διάγνωση
  - ✓ Ιστορικό κυήσεων
  - ✓ Ιστορικό μεταγγίσεων
  - ✓ Χρήση φαρμάκων
  - ✓ Ιστορικό μεταμόσχευσης
  - ✓ Χορήγηση ALG/ATG/IVIG/RhIG

- **Εργαστηριακά ευρήματα**

  - ✓ Hb,Hct
  - ✓ ΔΕΚ
  - ✓ Χολερυθρίνη
  - ✓ Απτοσφαιρίνες ορού
  - ✓ LDH
  - ✓ Hb ούρων

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- **Έκλουσμα**
  - Υπάρχουν κλινικές ενδείξεις αιμόλυσης
  - Μετάγγιση ή κύηση τους τελευταίους 3 μήνες
  - Ιστορικό θετικής DAT, με διαφορετικά ευρήματα
- **IAT**
  - Έλεγχος του ορού για την ανίχνευση μη αναμενόμενων αντισωμάτων (άλλο- ή αυτο-αντισώματα)

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- ΟΔΗΓΙΑ AABB

- Εάν ο ασθενής έχει θετική DAT, δεν έχει μεταγγισθεί πρόσφατα, και δεν ανιχνεύονται αλλοαντισώματα στον ορό του, δεν απαιτείται περαιτέρω έλεγχος αυτοαντισωμάτων

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- **Ψευδώς θετική DAT**
- ✓ Αυτόματη συγκόλληση ερυθρών
- ✓ Επιμόλυνση/κακή φύλαξη αντιδραστηρίων
- ✓ Υπερφυγοκέντρηση
- ✓ Ακατάλληλο δείγμα
- **Θετική DAT χωρίς κλινική σημασία**
- ✓ Παθητική χορήγηση αντισωμάτων
- ✓ 0.3-15% των νοσηλευομένων ασθενών
- ✓ 1:1000-1:14000 αιμοδότες

- **Ψευδώς αρνητική DAT**
- ✓ Κακή τεχνική
- ✓ Ανεπαρκής φυγοκέντρηση
- ✓ Αδρανή αντιδραστήρια(AHG)
- ✓ Κρυοσφαιρίνες
- ✓ < 100-500 μόρια IgG ή < 400-1100 μόρια C3d πάνω στα ερυθρά

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- **Μία θετική DAT δε σημαίνει απαραίτητα άνοσης αιτιολογίας αιμόλυση, ούτε μία αρνητική DAT αποκλείει την παρουσία άνοσης αιμόλυσης**

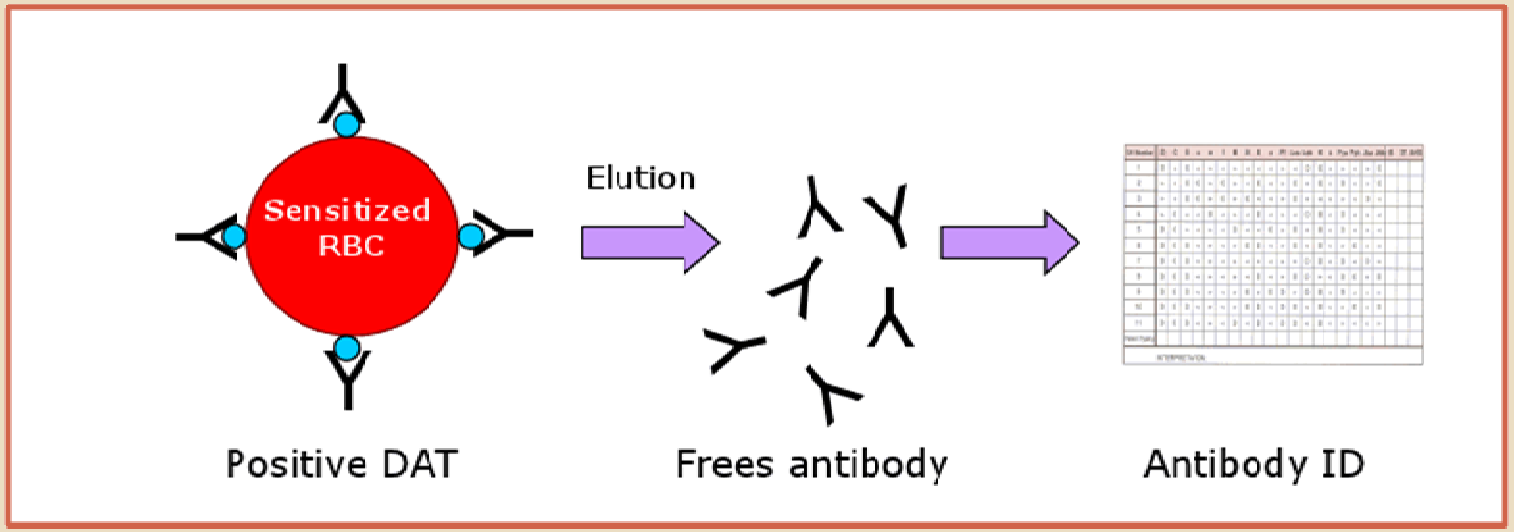
- Ο περαιτέρω έλεγχος θα βασιστεί στα παρακάτω
  - ✓ Ενδείξεις in vivo αιμόλυσης
  - ✓ Βαθμός αναιμίας και ανάγκη μετάγγισης
  - ✓ Πρόσφατες ή παλαιότερες μεταγγίσεις
  - ✓ Παρουσία αλλοαντισωμάτων στον ορό
  - ✓ Φάρμακα
  - ✓ Διάγνωση
  - ✓ Ιστορικό μεταμόσχευσης/χορήγησηATG,ALG

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- **ΕΚΛΟΥΣΜΑ**

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

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT-ΕΚΛΟΥΣΜΑ



ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΘΕΤΙΚΗΣ DAT

- **ΕΚΛΟΥΣΜΑ**

- Heat elution, Lui-freeze-thaw elution → κατάλληλα για ΑΒΟ αντισώματα
- Όξινο έκλουσμα / αιθέρας → κατάλληλα για θερμά αυτο- ή αλλοαντισώματα
- Το έκλουσμα χρησιμοποιείται όπως και ο ορός στην έμμεση Coombs (screening test, panel)
- Εάν υποπτευόμαστε αιμολυτική νόσο νεογνού από ΑΒΟ ασυμβατότητα, ή παθητικώς χορηγημένες ισοαιμοσυγκολλητίνες αντι-Α ή αντι-Β, τότε το έκλουσμα πρέπει να ελεγχθεί με ερυθρά Α ή Β

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΟΣΗΣ ΑΙΜΟΛΥΣΗΣ

- Επιβραδυνόμενες αιμολυτικές αντιδράσεις μετά από μετάγγιση (DHTR)
- Αιμολυτική νόσος του νεογνού(HDFN)
- Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία(AAA)

ΕΠΙΒΡΑΔΥΝΟΜΕΝΕΣ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ (DHTR)

- Χαρακτηρίζονται από θετική DAT με ή χωρίς παρουσία αλλοαντισωμάτων σε δείγμα ασθενούς μετά από πρόσφατη μετάγγιση
- Εμφανίζονται σε ασθενείς οι οποίοι έχουν ανοσοποιηθεί στο παρελθόν από μεταγγίσεις ή κυήσεις και τα αλλοαντισώματα τα οποία έχουν αναπτύξει, δεν ανιχνεύονται πλέον με τις συνηθισμένες τεχνικές
- Η μετάγγιση του υπεύθυνου αντιγόνου προκαλεί αναμνηστική απάντηση με αύξηση του τίτλου του αντισώματος σε δύο τουλάχιστον μέρες και με αιχμή στις 10-20 μέρες

ΕΠΙΒΡΑΔΥΝΟΜΕΝΕΣ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ (DHTR)

- Η DAT μπορεί να έχει εικόνα διπλού πληθυσμού ή να είναι αρνητική, εάν τα καλυμμένα με αντισώματα ερυθρά καταστραφούν αμέσως
- Πρέπει να γίνει άμεσα έλεγχος του ορού σε δείγμα μετά τη μετάγγιση και εάν είναι αρνητικός, να γίνει έκλουσμα των ερυθρών
- Συστήνεται η διενέργεια αυτόλογου control, διότι έχει παρατηρηθεί ακόμα και ανάπτυξη αυτοαντισωμάτων μετά από μετάγγιση συμβατών ερυθρών σε ευαισθητοποιημένους με αλλοαντισώματα ασθενείς (δ/δ από αντισώματα έναντι αντιγόνων υψηλής συχνότητας ή πολλαπλά αντισώματα)

ΕΠΙΒΡΑΔΥΝΟΜΕΝΕΣ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΠΟ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ (DHTR)

- Ιστορικό

- Έκλουσμα από ερυθρά καλυμμένα μόνο με συμπλήρωμα συνήθως είναι αρνητικό, εκτός εάν υπάρχουν μη ανιχνεύσιμα με την DAT μόρια IgG, οπότε το έκλουσμα μπορεί να είναι θετικό λόγω συμπύκνωσης του IgG αντισώματος

- Εάν η DAT, το έκλουσμα και ο ορός είναι αρνητικά, ενώ υπάρχει υποψία για DHTR, μπορεί το αλλοαντίσωμα να έχει συνδεθεί στα μεταγγισθέντα ερυθρά και αυτά να έχουν απομακρυνθεί από την κυκλοφορία. Σε αυτή την περίπτωση επαναλαμβάνουμε τις δοκιμασίες καθημερινά ή μετά από λίγες μέρες

ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΝΕΟΓΝΟΥ

- Η συχνότητα της θετικής DAT σε δείγματα ομφαλίου εκτιμάται περίπου στο 4%
- Η συχνότητα HDFN από ασυμβατότητα ABO εκτιμάται σε 0.7%, ενώ από άλλα αντισώματα σε 0.2%
- Από μελέτες έχει προκύψει ότι μόνο το 13% των νεογνών με HDFN από ασυμβατότητα ABO χρειάζονται θεραπεία

ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΝΕΟΓΝΟΥ

- ABO ασυμβατότητα μητέρας και νεογνού

- ✓ Εάν υπάρχει ABO ασυμβατότητα και ο ορός της μητέρας δεν περιέχει αλλοαντισώματα, τότε δεν είναι απαραίτητο το έκλουσμα από τα ερυθρά του νεογνού με θετική DAT

- ✓ Έκλουσμα απαιτείται όταν δεν είναι διαθέσιμο δείγμα ορού της μητέρας

ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΝΕΟΓΝΟΥ

- Εάν υποπτευόμαστε HDFN από παρουσία αλλοαντισωμάτων στη μητέρα, τότε διενεργείται IAT στον ορό της μητέρας, και σε αυτή την περίπτωση δεν είναι απαραίτητο το έκλουσμα από τα ερυθρά του νεογνού με θετική DAT

- Εάν δεν υπάρχει διαθέσιμος ορός της μητέρας, τότε το έκλουσμα από τα ερυθρά του νεογνού κρίνεται απαραίτητο

- Μία λογική προσέγγιση αποτελεί η διενέργεια ABO και DAT σε νεογνά τα οποία γεννήθηκαν από μητέρες ομάδας Ο

ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΝΕΟΓΝΟΥ

- Εάν το νεογνό χρειάζεται μετάγγιση, τότε η διασταύρωση προτιμάται να γίνει με τον ορό της μητέρας
- Εάν αυτό δεν είναι εφικτό, τότε προτιμάται ο ορός του νεογνού ή και έκλουσμα από τα ερυθρά του
- Τα ερυθρά του δότη πρέπει να είναι αρνητικά για το αντιγόνο έναντι του οποίου η μητέρα εμφανίζει αντίσωμα
- **Συμπερασματικά,** μία λογική προσέγγιση για την επίλυση προβλημάτων τα οποία σχετίζονται με HDFN είναι η διενέργεια ABO/DAT σε δείγματα ομφαλίου λώρου όταν
  - Η μητέρα εμφανίζει αλλοαντισώματα
  - Νεογνό μητέρας ομάδας Ο εμφανίζει συμπτώματα HDFN
  - Ζητούνται από το θεράποντα ιατρό

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ(ΑΑΑ)

- Η παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό ενός ασθενούς, μπορεί να ευθύνεται για μειωμένη επιβίωση των ερυθροκυττάρων
- Συνήθως η πρώτη ένδειξη για την παρουσία αυτοαντισωμάτων είναι η θετική DAT, η προγνωστική αξία της οποίας είναι 83%
- Θετική DAT μπορεί να ανιχνεύεται σε υγιή πληθυσμό χωρίς ενδείξεις αιμόλυσης, όπως και εικόνα ΑΑΑ με αρνητική DAT
- **Η διάγνωση ΑΑΑ προκύπτει από συνδυασμό κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων**

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ(ΑΑΑ)

- Η αρχική διερεύνηση της ΑΑΑ είναι όμοια με τη διερεύνηση μιας θετικής DAT
- ✓ Χρήση πολυδύναμου AHG
- ✓ Χρήση μονοδύναμου AHG
- ✓ Διενέργεια IAT
- ✓ Έκλουσμα των ερυθρών

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ(ΑΑΑ)

- Όταν ανιχνεύεται αυτοαντίσωμα στον ορό, προτείνεται η αξιολόγηση των παρακάτω για τη διενέργεια περαιτέρω ελέγχου

  - Εάν ο ασθενής δεν εμφανίζει σημεία αιμόλυσης και δεν απαιτείται μετάγγιση, ο περαιτέρω ορολογικός έλεγχος δεν αποτελεί προτεραιότητα

  - Ιστορικό μεταγγίσεων και κυήσεων διότι

    -Ένα αλλοαντίσωμα μπορεί να καλύπτεται από την παρουσία του αυτοαντισώματος

    -Εάν υπάρχει στο ιστορικό μετάγγιση τους τελευταίους 3 μήνες, μπορεί ο εξειδικευμένος έλεγχος να μην είναι αξιόπιστος(π.χ αυτόλογη προσρόφηση)

    -Μία πρόσφατη μετάγγιση αυξάνει τον κίνδυνο για παρουσία DHTR

    -Η απουσία μετάγγισης/κύησης, μειώνει τον κίνδυνο από μία ενδεχόμενη μετάγγιση

  - Η διάγνωση μπορεί να μας καθοδηγήσει

  - Η χρήση συγκεκριμένων φαρμάκων μπορεί να σχετίζεται με άνοση αιμόλυση

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ

- Αποτελεί την πιο κοινή μορφή ΑΑΑ με ποσοστό εμφάνισης περίπου 70%
- Το αντίσωμα είναι κυρίως IgG με ιδανική θερμοκρασία δράσης τους 37◦C / σπάνια μπορεί να συνυπάρχει IgM ή/και IgA αντίσωμα
- Οι υποτάξεις IgG1 και IgG3 προκαλούν σοβαρότερου βαθμού αιμόλυση

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ

- **Πρωτοπαθής**
- **Δευτεροπαθής**
  - Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα
  - ΧΛΛ
  - Νοσήματα κολλαγόνου /ΣΕΛ/RA
  - Καρκίνοι
  - Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο
  - HIV
  - N.Hodgkin's
  - NHL
  - Πολλαπλούν μυέλωμα
  - Συγγενής μυϊκή δυστροφία
  - Κύηση
  - Σύνδρομα ανοσοανεπάρκειας
  - Θύμωμα
  - Ιογενείς λοιμώξεις

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- Στις περισσότερες περιπτώσεις, η DAT είναι θετική με τη χρήση πολυδύναμου αντισφαιρινικού ορού
- Στο 67% των περιπτώσεων ανευρίσκεται μόνο IgG, ενώ στο 13% μόνο C3d
- 1/3 των περιπτώσεων εμφανίζουν IgG και C3d
- 50% των περιπτώσεων έχουν θετική IAT λόγω παρουσίας αυτοαντισώματος, ενώ το ποσοστό ανεβαίνει στο 90% όταν χρησιμοποιούνται ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμα

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- Η ειδικότητα του αυτοαντισώματος συνήθως είναι η ίδια στον ορό και στο έκλουσμα από τα ερυθρά
- Εάν τα ερυθρά καλύπτονται μόνο με συμπλήρωμα, το έκλουσμα κατά κανόνα είναι αρνητικό
- Μπορεί το έκλουσμα 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 στον ορό

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- Ειδικότητα αυτοαντισώματος

- ✓ Συνήθως δίνει εικόνα πανσυγκολλητίνης
- ✓ Μερικές φορές εμφανίζει Rhesus-like ειδικότητα η οποία αναγνωρίζει κάποια στοιχεία του συστήματος Rhesus(ψευδοφαινόμενο)
- ✓ Τύπου Ι ειδικότητα : στο 80% των περιπτώσεων το αυτοαντίσωμα αντιδρά καλύτερα με τα γηραιότερα ερυθρά
- ✓ Τύπου ΙΙ ειδικότητα : στο 20% των περιπτώσεων το αυτοαντίσωμα αντιδρά τόσο με τα γηραιότερα όσο και με τα νεαρά ,πλούσια σε ΔΕΚ, ερυθρά

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- Ο ορός ασθενών με θερμού τύπου ΑΑΑ εκτός από αυτοαντισώματα, μπορεί να περιέχει και αλλοαντισώματα εάν υπάρχει ιστορικό μετάγγισης ή κύησης
- Σε αυτή την περίπτωση η παρουσία του αλλοαντισώματος πρέπει να αποκλειστεί για να δοθεί μια ασφαλής μετάγγιση
- Σε περιπτώσεις με ισχυρά θετική DAT ο ορός μπορεί να περιέχει μικρή, μη ανιχνεύσιμη ποσότητα αυτοαντισώματος λόγω υψηλής συγγένειάς του με τα ερυθρά
- Στην παραπάνω περίπτωση, η IAT μπορεί να είναι αρνητική και έτσι η ύπαρξη αλλοαντισώματος αποκλείεται εύκολα με αποτέλεσμα την ανεύρεση συμβατών ερυθρών προς μετάγγιση

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- Η απομάκρυνση του αυτοαντισώματος από τον ορό μπορεί να γίνει είτε με αυτόλογη είτε με αλλογενή προσρόφηση

- **Αυτόλογη προσρόφηση**
- Εάν ο ασθενής έχει επαρκή όγκο ερυθρών και δεν έχει μεταγγισθεί πρόσφατα, η αυτόλογη προσρόφηση αποτελεί την κατάλληλη μέθοδο για την απομάκρυνση του αυτοαντισώματος από τον ορό και την ανάδειξη πιθανής ύπαρξης αλλοαντισώματος
- Εάν γίνει αυτόλογη προσρόφηση σε ασθενή με πρόσφατη μετάγγιση, τα μεταγγισθέντα ερυθρά θα προσροφήσουν το αλλοαντίσωμα, δίνοντας έτσι ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα

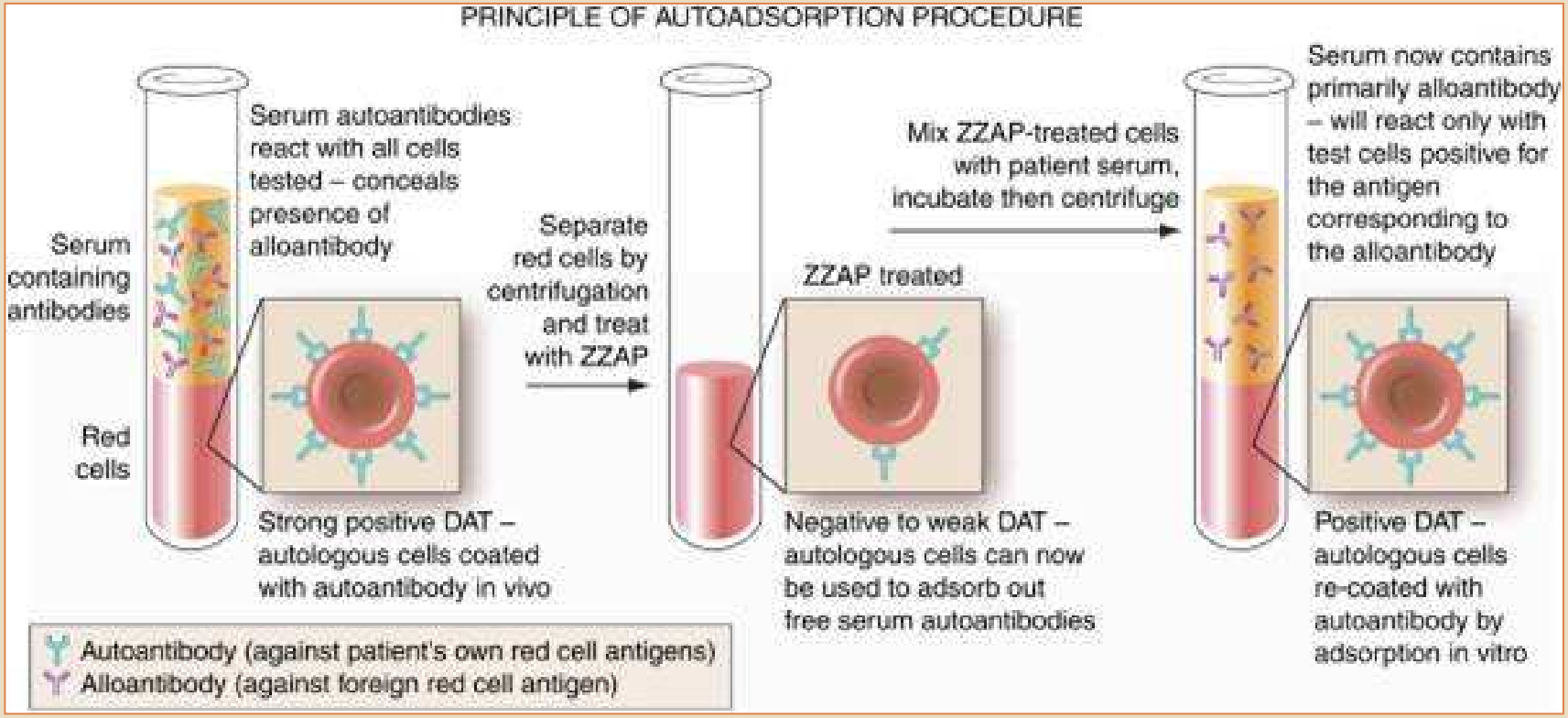
ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- **Αυτόλογη προσρόφηση**
- Επεξεργασία των ερυθρών με ειδικά αντιδραστήρια(ZZAP, χλωροκίνη) τα οποία απομακρύνουν τα αυτοαντισώματα από την επιφάνειά τους, επιτρέποντας, μετά την επώαση με τον ορό του ασθενή, την απομάκρυνση του αυτοαντισώματος από τον ορό και την παραμονή σε αυτόν του αλλοαντισώματος

- Συνήθως απαιτούνται περισσότερες από μία προσροφήσεις για την πλήρη απομάκρυνση του αυτοαντισώματος

- Ο προσροφημένος ορός χρησιμοποιείται για διενέργεια IAT
  - Εάν είναι αρνητική, τότε πιθανώς δεν υπάρχει αλλοαντίσωμα
  - Εάν εμφανίζεται θετικότητα με το αυτόλογο control και με όλα τα κύτταρα του screening test, τότε χρειάζονται και άλλες προσροφήσεις
  - Εάν υπάρχει θετικότητα με ειδικότητα, ακολουθεί ανάλυση με panel ερυθρών για ταυτοποίηση του αλλοαντισώματος

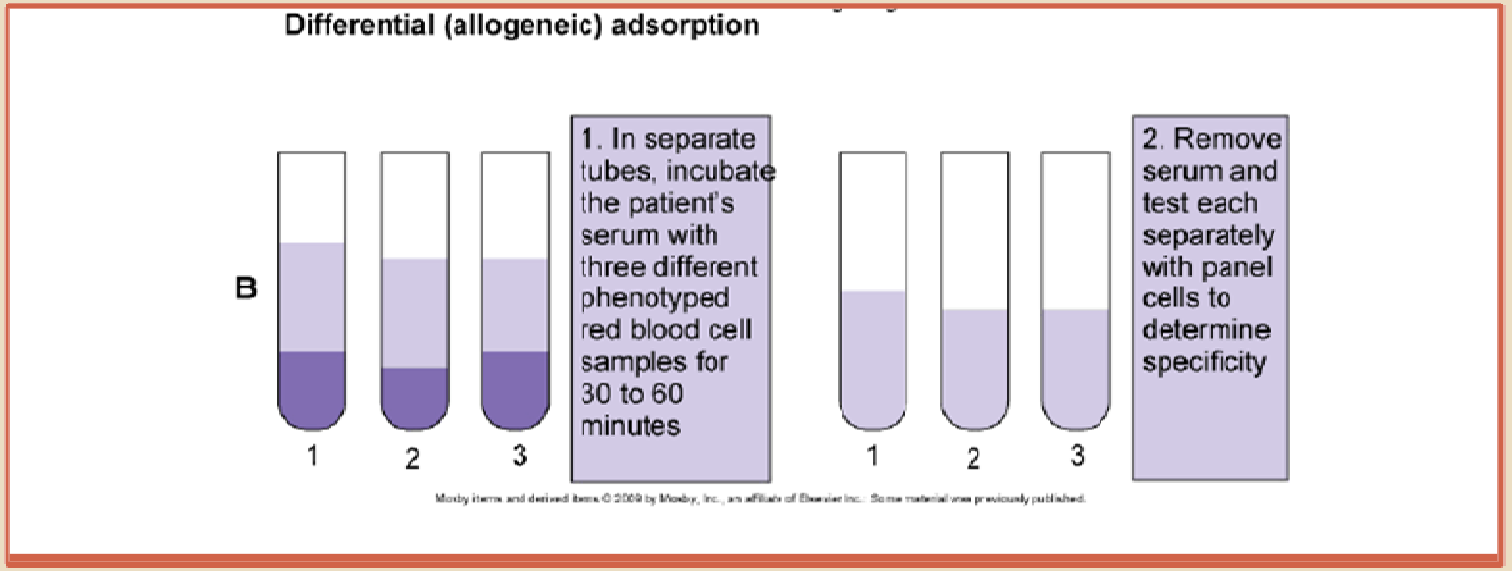
ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ



ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- **Αλλογενή προσρόφηση**
- Γίνεται σε περιπτώσεις ασθενών με βαριά αναιμία ή σε αυτούς που έχουν μεταγγισθεί πρόσφατα ή όταν η αυτόλογη προσρόφηση ήταν ανεπιτυχής
- Εάν είναι γνωστός ο ερυθροκυτταρικός φαινότυπος του ασθενή, τότε προτιμούνται φαινοτυπικά ταυτόσημα ερυθρά για την αλλογενή προσρόφηση
- Επιλέγονται 3 δείγματα Ο ερυθρών με φαινότυπους CCDee, ccDEE, ccdee, εκ των οποίων το ένα κύτταρο δεν εκφράζει το Jka, το δεύτερο δεν εκφράζει το Jkb και το τρίτο το s, ενώ τα αντιγόνα Fya, Fyb και S πρέπει να εκφράζονται σε τουλάχιστον ένα από τα 3 δείγματα αλλογενών ερυθρών
- Μειονέκτημα της αλλογενούς προσρόφησης θεωρείται το γεγονός ότι μπορεί να προσροφηθεί από τα αλλογενή ερυθρά, αντίσωμα έναντι αντιγόνου υψηλής συχνότητας

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΘΕΡΜΟΥ ΤΥΠΟΥ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ



ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ-ΝΟΣΟΣ ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΩΝ

- Περίπου το 16% όλων των ΑΑΑ
- 1/3 των περιπτώσεων είναι **πρωτοπαθής**
- 2/3 των περιπτώσεων είναι **2παθής**
  - ✓ *Χρόνια μορφή*, σε ηλικιωμένους ασθενείς οι οποίοι εμφανίζουν ήπια ή μετρίου βαθμού αιμόλυση(μονοκλωνική)
  - ✓ *Οξεία μορφή*, κυρίως σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα ή λοιμώξεις από Mycoplasma pneumoniae ή EBV(πολυκλωνική)

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ-ΝΟΣΟΣ ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΩΝ

- Το αντίσωμα είναι IgM και συνδέεται με τα ερυθρά στην περιφερική κυκλοφορία όπου η θερμοκρασία του σώματος είναι χαμηλότερη, συνδέοντας το συμπλήρωμα
- Περνώντας το αίμα από θερμότερες περιοχές, το αντίσωμα αποκολλάται, αφήνοντας στην επιφάνεια των ερυθρών μόνο το συμπλήρωμα, το οποίο συνήθως είναι η μοναδική πρωτεΐνη η οποία ανιχνεύεται με την DAT
- Η αιμόλυση συνήθως είναι εξωαγγειακή , με καταστροφή των καλυμμένων με C3b ερυθρών, στα μακροφάγα του ήπατος
- Υπάρχει υποπληθυσμός ερυθρών καλυμμένων με C3d, ο οποίος είναι ανθεκτικός στην αιμόλυση
- Το έκλουσμα είναι αρνητικό

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ-ΝΟΣΟΣ ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΩΝ

- Σε υγιή πληθυσμό, μπορεί να ανιχνεύονται ψυχρά αντισώματα τα οποία

- ✓ Έχουν θερμικό εύρος< 20-24◦C
- ✓ Έχουν χαμηλό τίτλο<64
- ✓ Μπορεί να συνδέουν συμπλήρωμα
- ✓ Ειδικότητα αντι-I
- ✓ Δεν είναι κλινικά σημαντικά
- ✓ Δε σχετίζονται με νοσήματα

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ-ΝΟΣΟΣ ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΩΝ

- Σε παθολογικές καταστάσεις ο τίτλος των ψυχροσυγκολλητινών μπορεί να είναι> 1000 στους 4◦C
- Ο τίτλος δε συμβαδίζει απαραίτητα με τη σοβαρότητα της νόσου, διότι στο 40% των κλινικών περιπτώσεων νόσου ψυχροσυγκολλητινών , ο τίτλος είναι< 1000 ή πολύ μικρότερος, αλλά το αντίσωμα έχει μεγάλο θερμικό εύρος(>30◦C)
- Σε περιπτώσεις συνύπαρξης ψυχροσυγκολλητινών με θερμά αυτοαντισώματα, ο τίτλος των πρώτων μπορεί να είναι <64 αλλά με θερμικό εύρος το οποίο φτάνει τους 37◦C
- Ψυχρά αυτοαντισώματα τα οποία συνδέονται με τα ερυθρά σε θερμοκρασίες > 30-32◦C προκαλούν συνήθως σοβαρή αιμόλυση

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ-ΝΟΣΟΣ ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΩΝ

- Τα ψυχρά αυτοαντισώματα συχνά ανευρίσκονται στον ορό, ειδικά όταν στο screening test χρησιμοποιούνται ερυθρά επεξεργασμένα με ένζυμα
- Συνήθως πρόκειται για καλοήθη αυτοαντισώματα χωρίς κλινική σημασία
- Ειδικότητα αντι-I,-IH, Pr, M, i
- Είτε καλοήθη είτε παθολογικά, μπορεί να δημιουργήσουν προβλήματα στον προμεταγγισιακό έλεγχο(καθορισμός ομάδας αίματος, ανίχνευση αλλοαντισωμάτων, διασταύρωση)

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ-ΝΟΣΟΣ ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΩΝ

- Η ύπαρξη ψυχρών αυτοαντισωμάτων, μπορεί να καλύπτει την ύπαρξη κλινικά σημαντικών αλλοαντισωμάτων
- Στις δοκιμασίες κατά τις οποίες χρησιμοποιείται πολυδύναμος AHG, η ύπαρξη ψυχρών αυτοαντισωμάτων δίνει θετικότητες, οι οποίες οφείλονται στην παρουσία συμπληρώματος πάνω στα ερυθρά
- Η χρήση μονοδύναμου αντι-IgG AHG μπορεί να επιλύσει τα προβλήματα
- Στην περίπτωση κατά την οποία δημιουργούνται προβλήματα στον καθορισμό της ομάδας αίματος ή στη διασταύρωση, τότε η διενέργεια των διαδικασιών εν θερμώ, συνήθως λύνει το πρόβλημα
- Προσοχή απαιτείται στις εν θερμώ διαδικασίες όταν πρόκειται για προσφάτως μεταγγισθέντα ασθενή, διότι έχουν παρατηρηθεί κλινικά σημαντικά αλλοαντισώματα τα οποία στην πρωτογενή ανοσολογική απάντηση είναι IgM και δρουν σε χαμηλές θερμοκρασίες
- Τεχνικές αυτόλογης/αλλογενούς ψυχρής προσρόφησης

ΠΑΡΟΞΥΣΜΙΚΗ ΨΥΧΡΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΥΡΙΑ(PCH)

- Σπάνια, αποτελεί το 2-5% των επίκτητων αιμολυτικών αναιμιών
- Παλαιότερα εμφανίζονταν σε περιπτώσεις σύφιλης χωρίς θεραπεία
- Σήμερα εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά ως μία οξεία και παροδική επιπλοκή ιογενούς λοίμωξης
- Το υπεύθυνο αντίσωμα είναι IgG με αντι-P1 ειδικότητα και περιγράφεται ως διφασική αιμολυσίνη

ΠΑΡΟΞΥΣΜΙΚΗ ΨΥΧΡΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΥΡΙΑ(PCH)

- Το αντίσωμα συνδέεται με τα ερυθρά στις ψυχρές περιοχές του σώματος ενεργοποιώντας το συμπλήρωμα και προκαλεί σοβαρή ενδαγγειακή αιμόλυση όταν τα ερυθρά περνούν από θερμές περιοχές του σώματος στους 37◦C

- Η DAT είναι θετική λόγω της παρουσίας του συμπληρώματος

- Θετική δοκιμασία Donath-Landsteiner

- Γενικά, το αντίσωμα δεν εμποδίζει την ανίχνευση αλλοαντισωμάτων ή τη διαδικασία διασταύρωσης, διότι σπάνια δρα ως συγκολλητίνη σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από αυτή του περιβάλλοντος

ΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΑΠΟ ΦΑΡΜΑΚΑ

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ	ΦΑΡΜΑΚΑ	ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ DAT	ELUATE	ΑΙΜΟΛΥΣΗ
ΑΝΟΣΟΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΑ	Κινιδίνη, φαινακετίνη,κεφαλοσπορίνες	IgM/IgG	Θετική, συχνά C3d μόνο, περιστασιακά και IgG	Συνήθως αρνητικό	Οξεία ενδαγγειακή αιμόλυση
ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΥ	Πενικιλλίνη, στρεπτομυκίνη, κεφαλοσπορίνες	IgG	Έντονα θετική	Συνήθως αρνητικό	3-4% ασθενών με υψηλές δόσεις πενικιλλίνης εμφανίζουν συνήθως εξαγγειακή αιμόλυση
ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ	Κεφαλοσπορίνες, αναστολείς β-λακταμασών, πλατίνα	Πρωτείνες πλάσματος	Θετική λόγω της παρουσίας πολλών πρωτεϊνών	Αρνητικό	Πιθανή αιμόλυση
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ	Methyldopa, fludarabin	IgG	Έντονα θετική	Θετικό όπως στην ΑΑΑ θερμού τύπου	0.8% ΑΑΑ θερμού τύπου, 15% ασθενών που λαμβάνουν Methyldopa, εμφανίζει θετική DAT

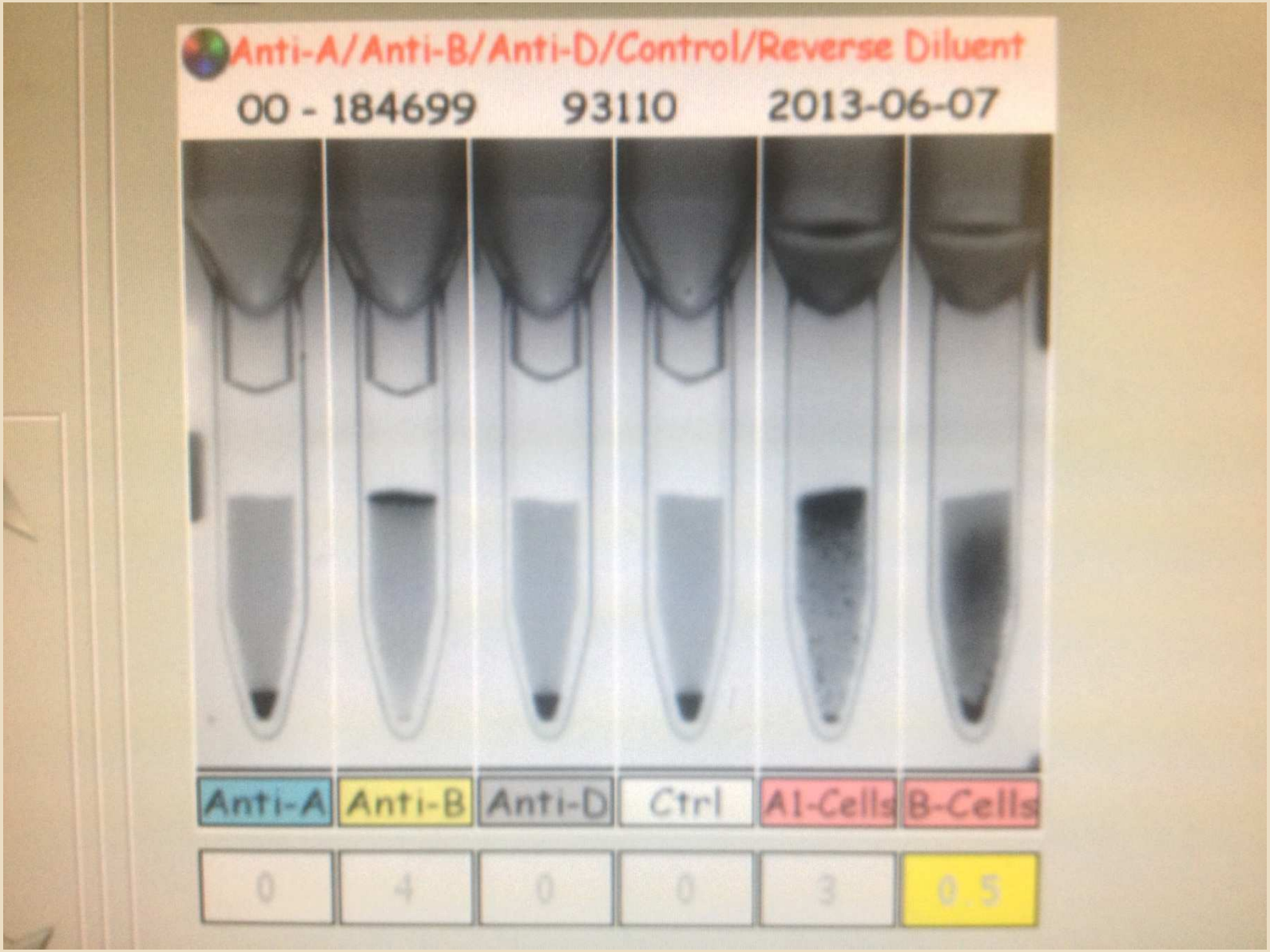
ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ ΣΤΗΝ ΑΑΑ

- Οι ασθενείς με ΑΑΑ είναι υψηλού κινδύνου για εμφάνιση αντιδράσεων μετά από μετάγγιση και δεν πρέπει να μεταγγίζονται εάν δεν υπάρχει απόλυτη ένδειξη
- Η παρουσία αλλοαντισωμάτων μπορεί να καλύπτεται από τη έκφραση του αυτοαντισώματος και η ανεύρεση συμβατού αίματος να είναι δύσκολη
- Συνήθως η επιβίωση των μεταγγιζομένων ερυθρών δεν είναι μεγαλύτερη από αυτή των ερυθρών του ασθενή
- Θεραπεία υποκείμενης διαταραχής

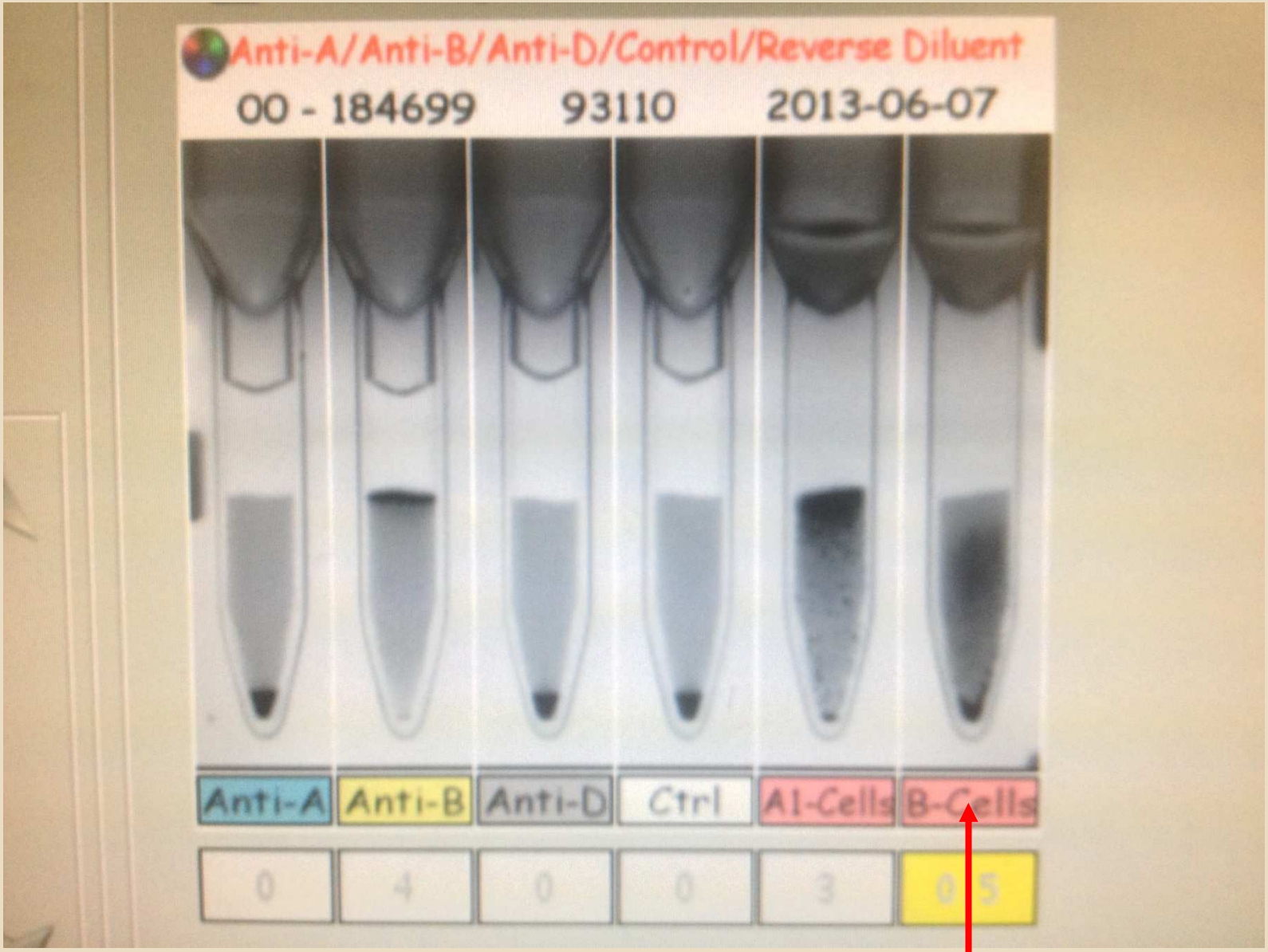
ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ ΣΤΗΝ ΑΑΑ

- Η μετάγγιση δεν πρέπει να καθυστερεί σε περιπτώσεις όπως χαμηλή Hb, κλινικές ενδείξεις υποξίας, καρδιαγγειακές επιπλοκές
- Πρέπει να σεβόμαστε τουλάχιστον το φαινότυπο Rh/Kell
- Εάν έχει γίνει πλήρης φαινότυπος ερυθρών του ασθενή, μπορεί να σεβαστούμε και άλλα σημαντικά αντιγόνα όπως τα Kidd/Duffy
- Στις περιπτώσεις αιμόλυσης από φάρμακα, η διακοπή του φαρμάκου συνήθως αναστρέφει την αιμόλυση και δεν απαιτείται μετάγγιση

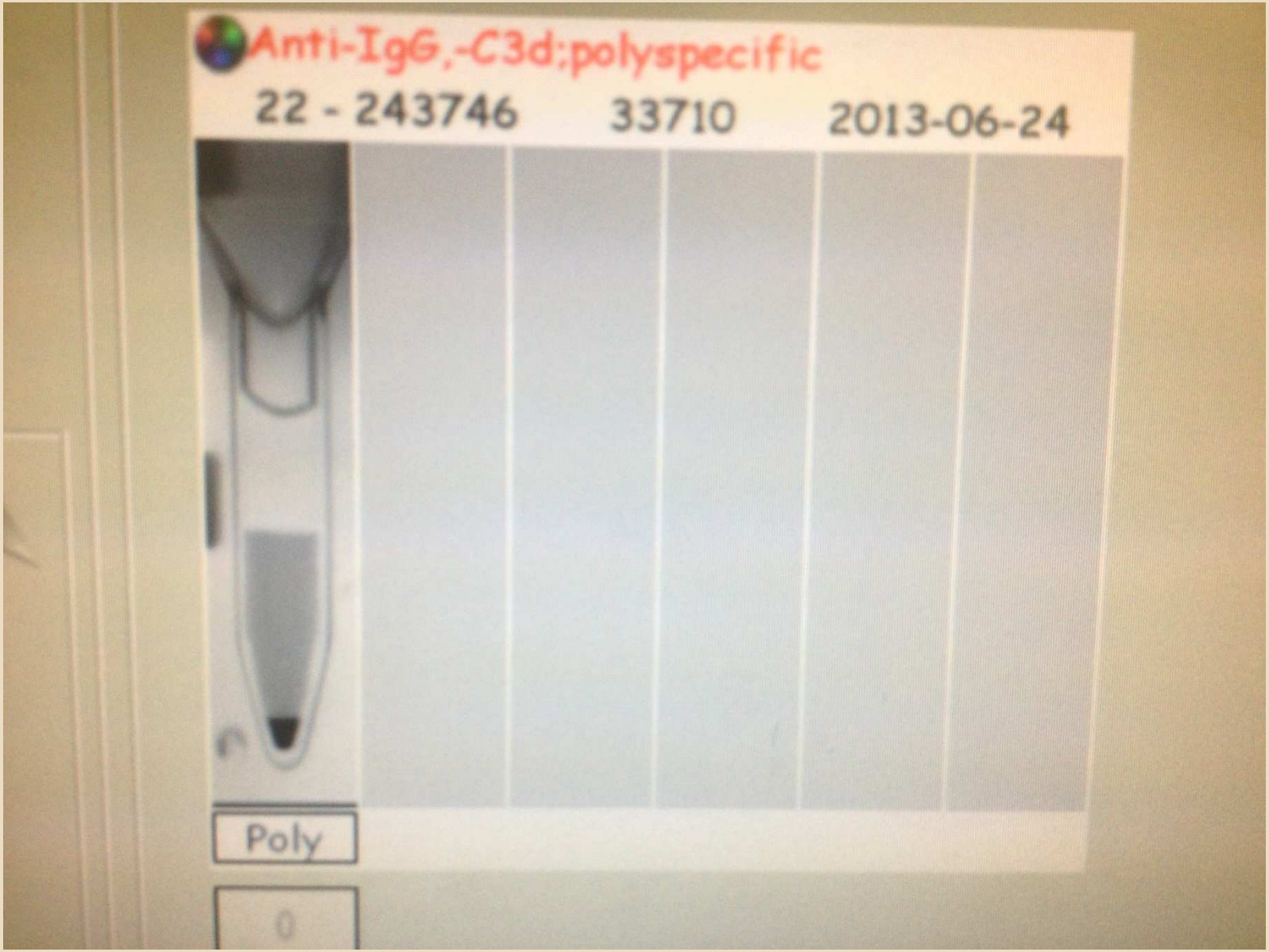
ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟ

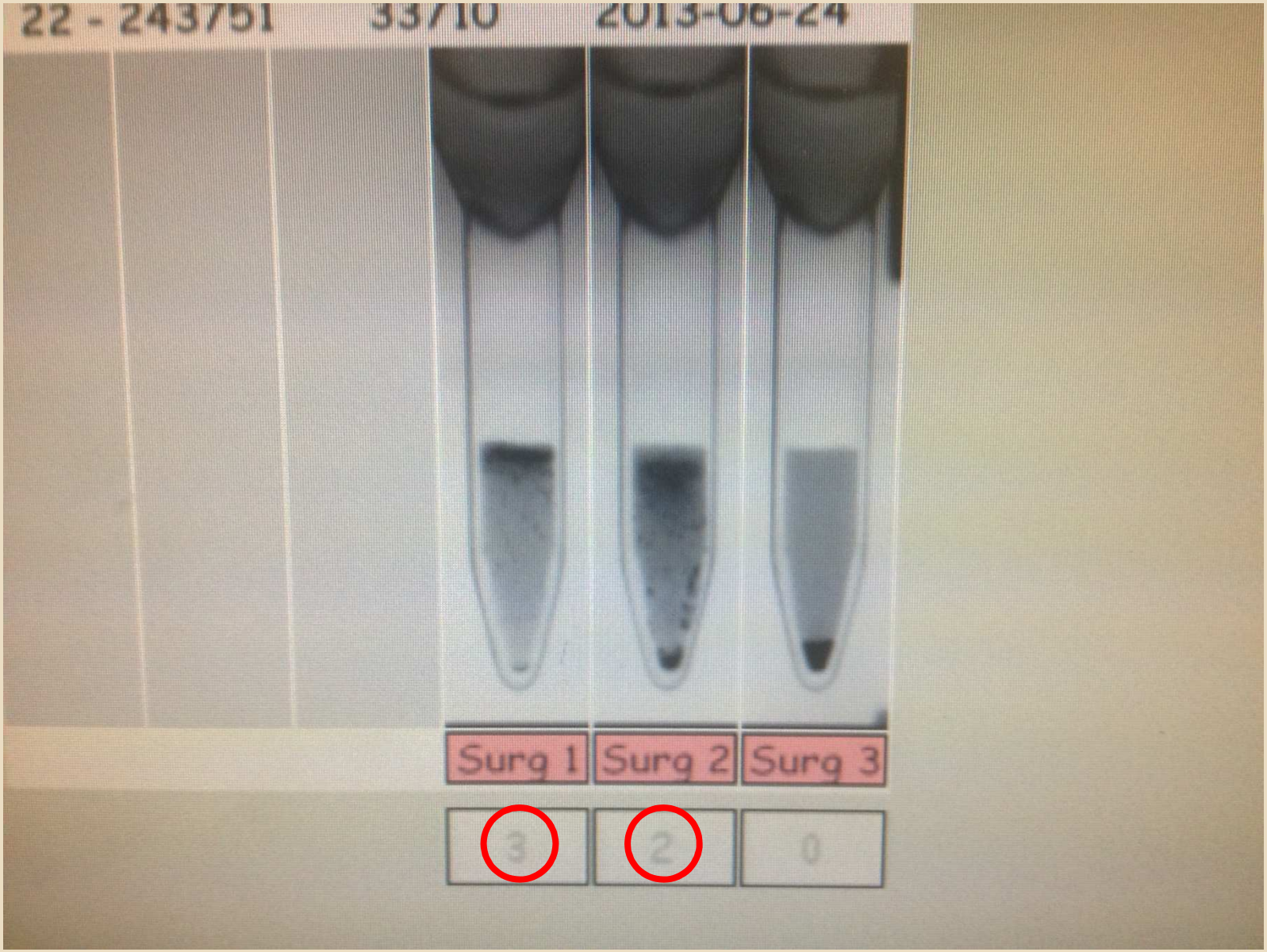

Anti-A/Anti-B/Anti-D/Control/Reverse Diluent
00 - 184699
93110
2013-06-07
Anti-A
Anti-B
Anti-D
Ctrl
A1-Cells
B-Cells
0
4
0
0
3
0.5

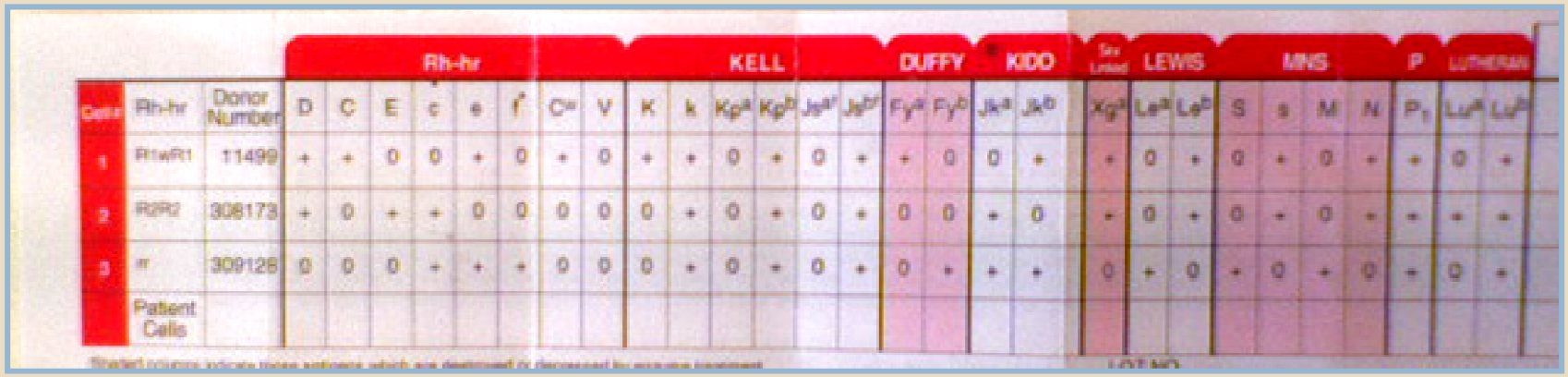
B RhD(αρv) ccee Kell(αρv) ;


Anti-A/Anti-B/Anti-D/Control/Reverse Diluent
00 - 184699
93110
2013-06-07
Anti-A
Anti-B
Anti-D
Ctrl
A1-Cells
B-Cells
0
4
0
0
3
0 5

DAT ;
IAT ;
Ψυχροσυγκολλητίνες ;

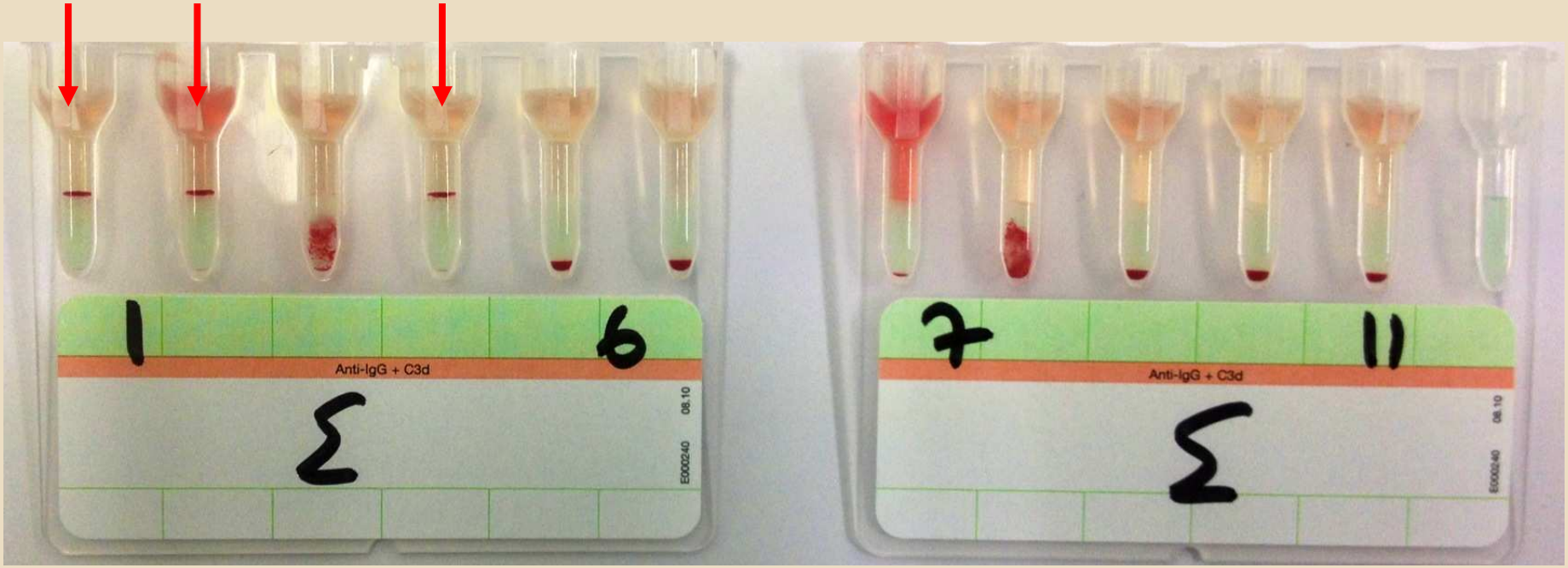

Anti-IgG,-C3d:polyspecific
22 - 243746
33710
2013-06-24
Poly
0


22 - 243751
33710
2013-06-24
Surg 1
Surg 2
Surg 3
3
2
0

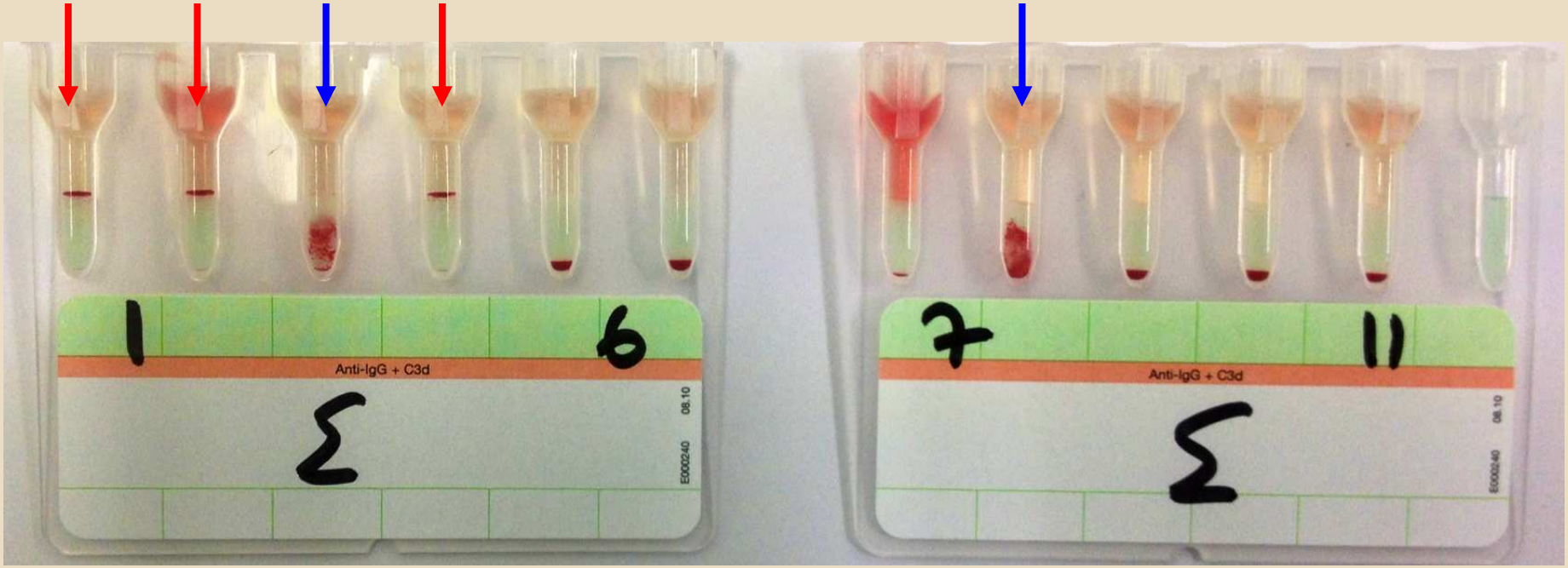


			Rh-hr						KELL						DUFFY		KIDD		Xg	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN	
Cells	Rh-hr	Donor Number	D	C	E	c	e	f	C^w	V	K	k	K_p^a	K_p^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Xg^a	Le^a	Le^b	S	s	M	N	P_1	Lu^a	Lu^b
1	R1wR1	11499	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+
2	R2R2	308173	+	0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+
3	rr	309126	0	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
	Patient Cells																													

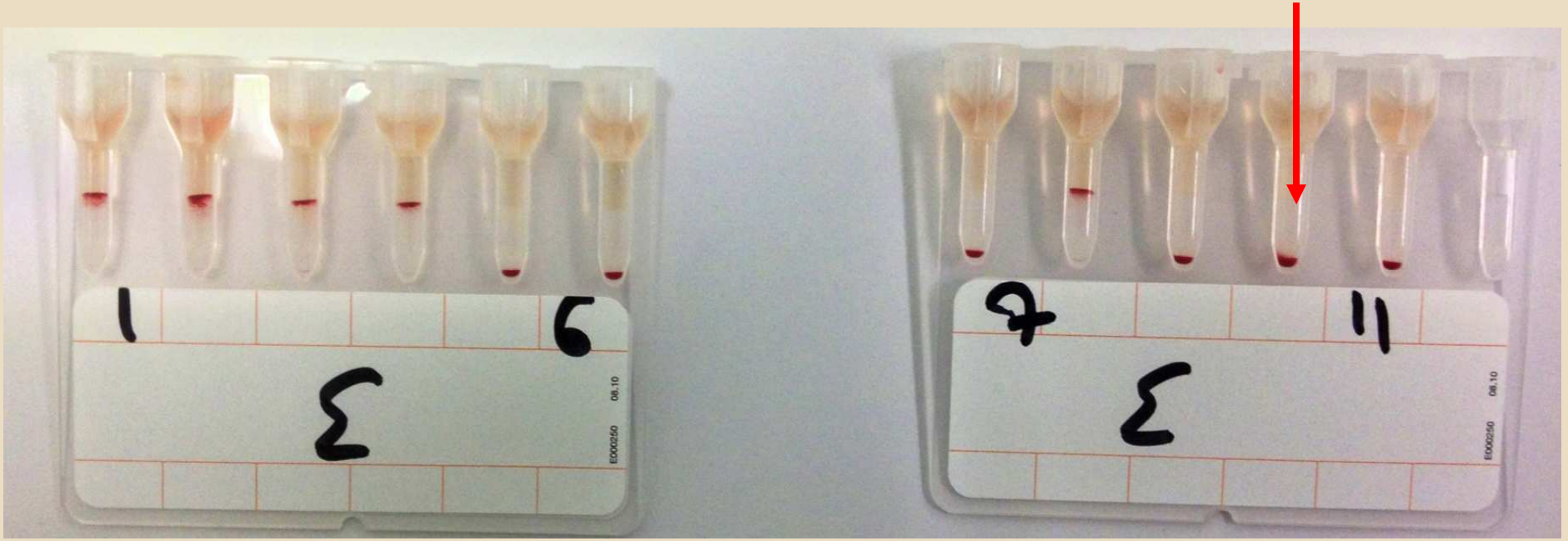
Starlet indicates antigens which are destroyed or decreased by enzyme treatment



		Rhesus						Kell			Duffy		Kidd		Lewis		MNS				P	Lu	Wr	Additional Antigens					Test Results		
Cell No.	Rh Phenotype	D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	M	N	S	s	P_1	Lu^a	Wr^a	U	Co^b	Xg^a	Tj^a	HLA			
1	$R_1^wR_1$	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	+	+				
2	R_1R_1	+	+	0	0	+	0	+	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+S	0	0	NT	NT	0	NT	B7			
3	R_2R_2	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	NT	NT	+	NT	NT			
4	r'r	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	NT	NT	+	NT	A28			
5	r''r	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+				
6	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	B7			
7	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	NT	0	+	+				
8	R_or	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+W	0	0	NT	NT	+	NT	B7			
9	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+W	0	0	NT	NT	+	NT	B7			
10	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+				
11	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	0	0	NT	NT	0	NT				
Patient																															

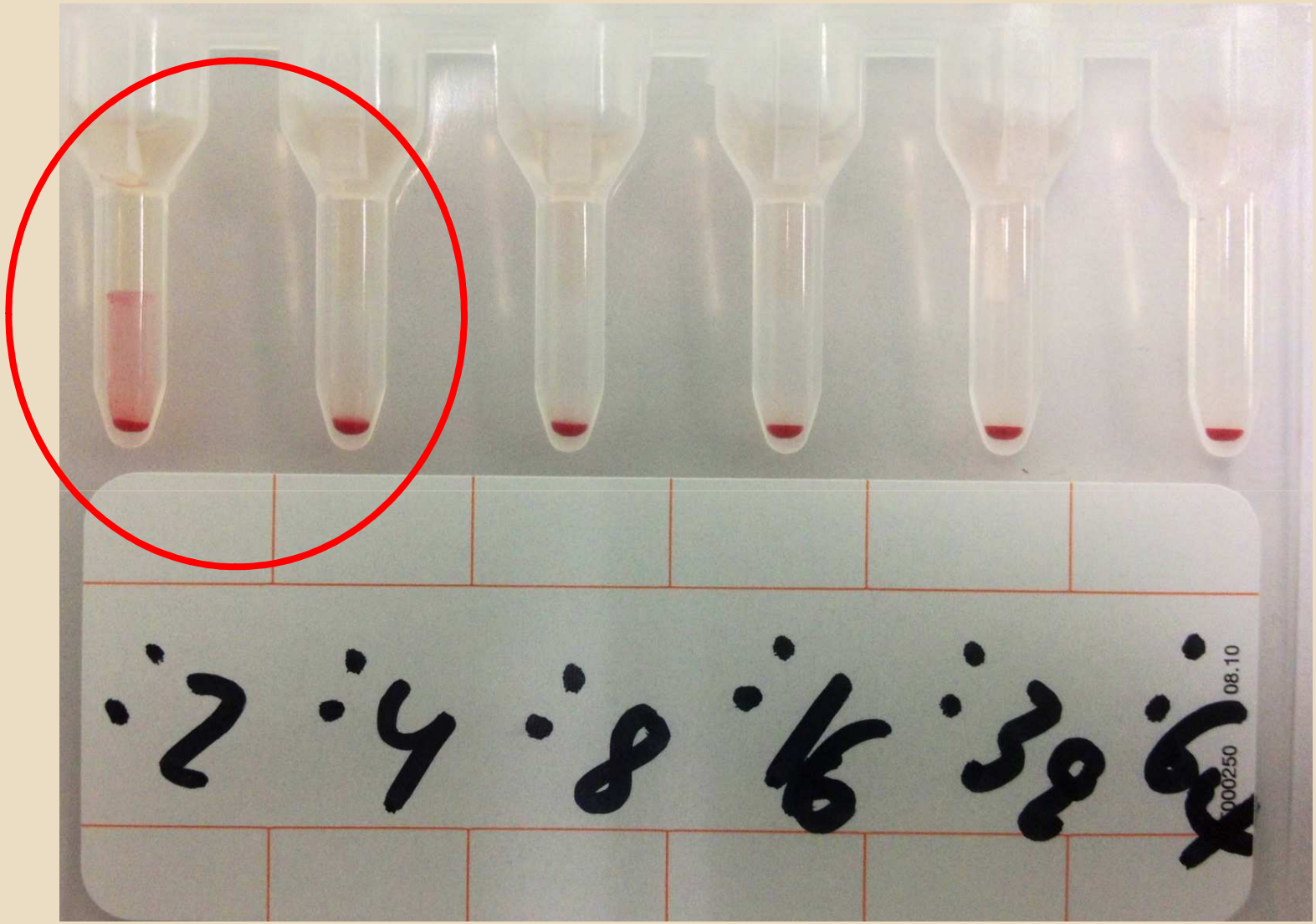


		Rhesus						Kell			Duffy		Kidd		Lewis		MNS				P	Lu	Wr	Additional Antigens					Test Results		
Cell No.	Rh Phenotype	D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	M	N	S	s	P_1	Lu^a	Wr^a	U	Co^b	Xg^a	Tj^a	HLA			
1	$R_1^wR_1$	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	+	+				
2	R_1R_1	+	+	0	0	+	0	+	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+S	0	0	NT	NT	0	NT	B7			
3	R_2R_2	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	NT	NT	+	NT	NT			
4	r'r	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	NT	NT	+	NT	A28			
5	r''r	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+				
6	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	B7			
7	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	NT	0	+	+				
8	R_or	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+W	0	0	NT	NT	+	NT	B7			
9	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+W	0	0	NT	NT	+	NT	B7			
10	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+				
11	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	0	0	NT	NT	0	NT				
Patient																															



		Rhesus						Kell			Duffy		Kidd		Lewis		MNS				P	Lu	Wr	Additional Antigens					Test Results		
Cell No.	Rh Phenotype	D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	M	N	S	s	P_1	Lu^a	Wr^a	U	Co^b	Xg^a	Tj^a	HLA			
1	$R_1^wR_1$	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	+	+				
2	R_1R_1	+	+	0	0	+	0	+	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+S	0	0	NT	NT	0	NT	B7			
3	R_2R_2	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	NT	NT	+	NT	NT			
4	r'r	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	NT	NT	+	NT	A28			
5	r''r	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+				
6	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	B7			
7	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	NT	0	+	+				
8	R_or	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+W	0	0	NT	NT	+	NT	B7			
9	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+W	0	0	NT	NT	+	NT	B7			
10	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+				
11	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	0	0	NT	NT	0	NT				
Patient																															

- ΨΥΧΡΟΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΝΕΣ: ΘΕΤΙΚΕΣ
- ΤΙΤΛΟΣ: 1/4


08.10

Άρα:

- B RhD(αρν) ccee Kell(αρν)
- Ψυχροσυγκολλητίνες (+) με τίτλο 1:4 (που δύνανται να συγκολλούν τα ερυθρά ελέγχου)
- IAT (+) με παρουσία:
  - Anti-D
  - Anti-C
  - Anti-Le^b (IgM-ψυχρό το οποίο δρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και συγκολλά τα B-ερυθρά ελέγχου)

  → Θα μπορούσε να έχει γίνει panel σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στην οποία το Anti-Le^b πιθανώς εκφράζεται εντονότερα

Άρα:

- Τι από τα δύο συγκολλά τα Β-ερυθρά ελέγχου;
  - Θα φαινοτυπηθούν Β-ερυθρά για Le^b και θα επιλεχθούν Le^b(-) για ανάστροφη ομάδα
    - Αν παρατηρηθεί συγκόλληση, το φαινόμενο οφείλεται στις ψυχροσυγκολλητίνες
    - Αν ΔΕΝ παρατηρηθεί συγκόλληση, το φαινόμενο οφείλεται στο anti-Le^b

ΣΑΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ

ΚΑΛΟ ΚΑΛΟΚΑΙΡΙ