

# Ανοσοαιματολογία Ι

Τυποποίηση ομάδας αίματος-  
παρουσίαση περιστατικών

Z.Μπεζιργιαννίδου, Αιματολόγος  
Ε.Κοντεκάκη, Βιοπαθολόγος

# Τυποποίηση ομάδας αίματος

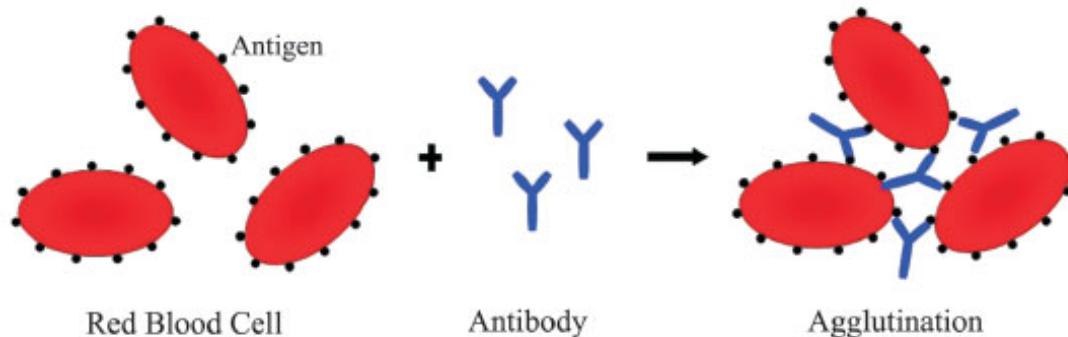


Figure 1 – Representation of the hemagglutination reaction. Blood group antigens and antibodies form a clumping of erythrocytes (modified from Parslow et al., 2004)<sup>(5)</sup>

- Η κυριότερη μέθοδος τυποποίησης είναι η Αιμοσυγκόλληση.
- **Αιμοσυγκόλληση είναι ο σχηματισμός συγκολλήσεων – αθροισμάτων ερυθρών ύστερα από την ειδική αντίδραση ενός **Ab** με ένα **Ag**.**
- Στον καθορισμό της ομάδας, αντιδρούν τα **αντιγόνα των ερυθρών με αντιορό εμπορίου**.
- Εφαρμόζεται στον καθορισμό ABO, Rh, και των υπολοίπων αντιγονικών συστημάτων.



# Αντιοροί

## Μονοκλωνικοί

Αποτελούνται από **ένα αντίσωμα**  
Παράγονται από ένα κλώνο  
Στρέφονται έναντι ενός επιτόπου.

### Πλεονεκτήματα:

- μεγάλη ειδικότητα
- διακρίνουν ποικιλίες

### Μειονεκτήματα:

- ψευδώς αρνητικό

## Πολυκλωνικοί

**μείγμα μονοκλωνικών** αντισωμάτων άρα  
αντιδρούν με πολλούς επιτόπους  
παράγονται από πολλούς κλώνους

### Πλεονεκτήματα:

- ανιχνεύσουν πολλούς επιτόπους

### Μειονεκτήματα:

- Ψευδώς θετικές αντιδράσεις
- Δεν διακρίνουν ποικιλίες

Μονοκλωνικοί και πολυκλωνικοί που προέρχονται από μείγμα μονοκλωνικών αντιδρούν πολύ καλύτερα με ασθενή αντιγόνα σε σύγκριση με αντιορούς που παράγονται από ανοσοποίηση πχ Ανθρώπειο(Human) ή rabbit, mouse κλπ.

# Τεχνικές προσδιορισμού Ομάδων αίματος

## Αιμοσυγκόλληση

- ❖ Επί πλακός
- ❖ Σε σωληνάριο
- ❖ Σε μικροστήλες
- ❖ Συστήματα μικροπλακών

## Μοριακή τυποποίηση

- PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)
- SSP(Site Specific Primer) ALLELE SPECIFIC PCR
- REAL-TIME PCR
- DNA SEQUENCING
- Microarray Genotyping

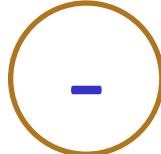
# Τεχνική επί πλακός (Αιμοσυγκόλληση)

Εφαρμόζεται για την ταυτοποίηση:

- ABO
- Rh
- Kell



• Κατάλληλη για επείγοντα και εξωτερικούς χώρους

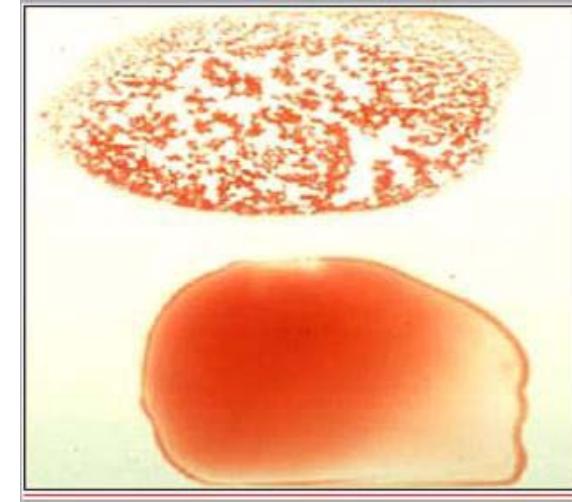


• Λιγότερο ευαίσθητη τεχνική

• Δεν είναι πολύ ευαίσθητη για ασθενή αντιγόνα (υποομάδες)

• Δεν είναι κατάλληλη για ασθενή αντι-A και αντι-B

• Δεν φαίνεται η αιμόλυση



# Τεχνική Σωληναρίων

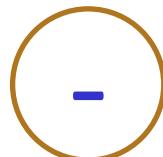
Εφαρμόζεται για την ταυτοποίηση:

- ABO
- Rh
- **kell, Duffy, Kidd, MNS, P, Lewis, Lutheran**



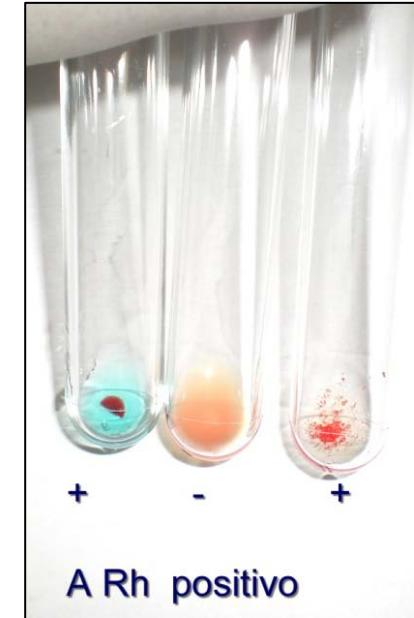
Μεγαλύτερη ευαισθησία από την πλάκα

- Δυνατότητα επώασης
- Φυγοκέντρηση αυξάνει τις συγκολλήσεις
- Η αιμόλυση γίνεται εμφανής ενώ στην πλάκα όχι



Χρονοβόρα

Αυξημένο κόστος



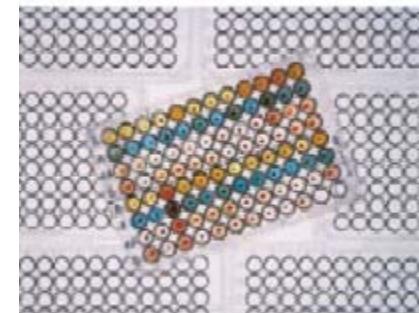
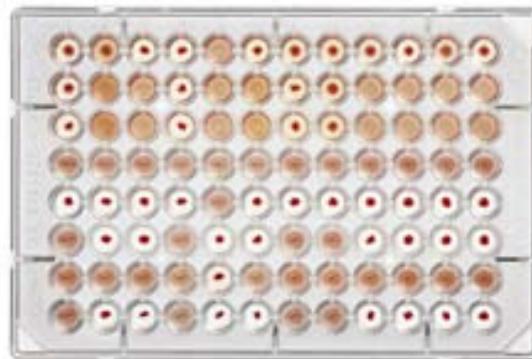
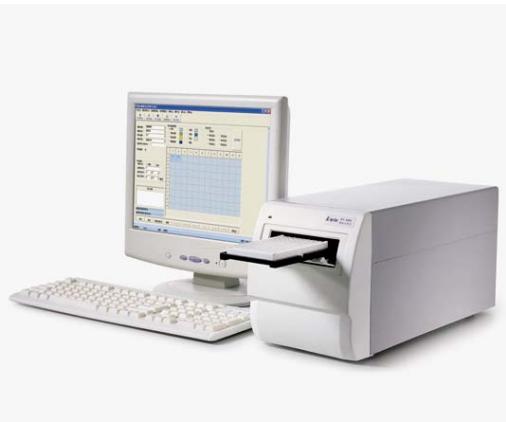
# Αυτόματα και ημιαυτόματα συστήματα μικροπλακών (Αιμοσυγκόλληση)

- Χρησιμοποιούνται πλάκες με 96 θέσεις χαμηλών σωληναρίων,
- Εάν υπάρχουν συμπλέγματα Ag-Ab, τότε τα ερυθρά παραμένουν στα τοιχώματα,
- Εάν δεν υπάρχει αντίδραση τα ερυθρά κυλούνε προς τον πυθμένα σχηματίζοντας μια κουκίδα στο κέντρο.



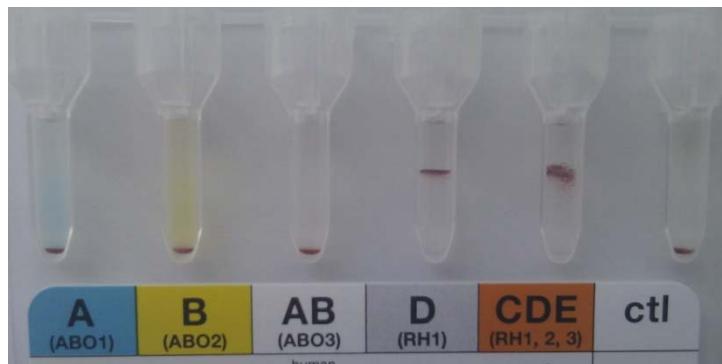
# Συστήματα μικροπλακών

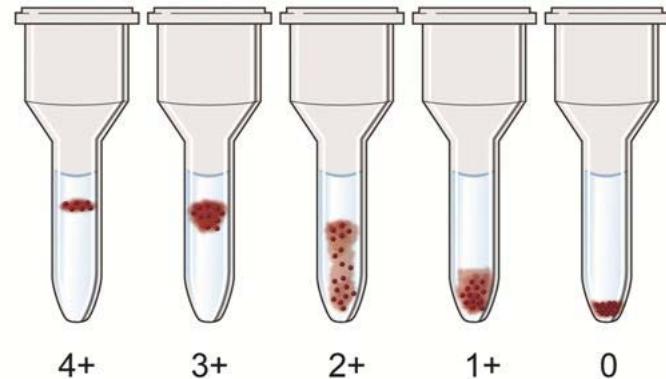
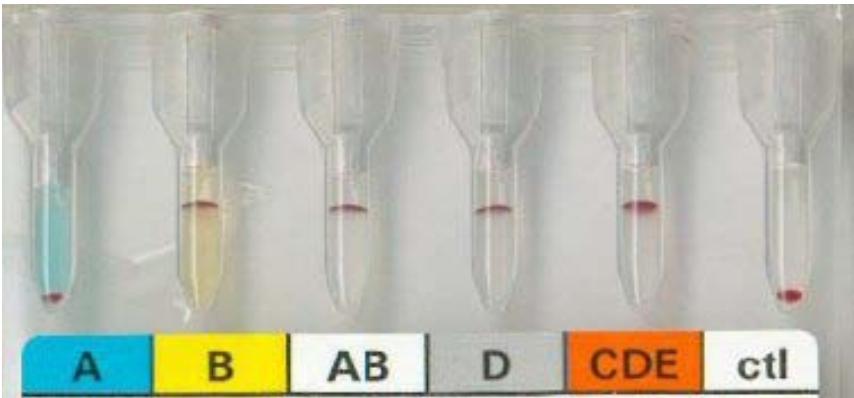
- Ένα φωτόμετρο μετρά την απορρόφηση των ακτίνων φωτός σε κάθε μικροπλάκα, και η τιμή εξαρτάται από το βαθμό ή όχι των συγκολλήσεων.
- Τα δεδομένα μεταφέρονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή και ερμηνεύονται.



# Τεχνικές μικροσωληναρίων με gel ή μικροσφαιρίδια

- ❖ Εφαρμόζονται σήμερα ευρέως
- ❖ Γρήγορες και αξιόπιστες.
- ❖ Υλικό από gel ή μικροσφαιρίδια.
- ❖ Η φιλοσοφία αυτής της τεχνικής είναι ότι υπάρχουν οπές μέσα στο υλικό του σωληναρίου που κατά τη φυγοκέντρηση επιτρέπουν το πέρασμα των μεμονωμένων ερυθρών προς τον πυθμένα **ενώ όταν σχηματισθούν συμπλέγματα ερυθρών, αυτά λόγω μεγέθους, παραμένουν στην επιφάνεια του gel ή των μικροσφαιριδίων.**

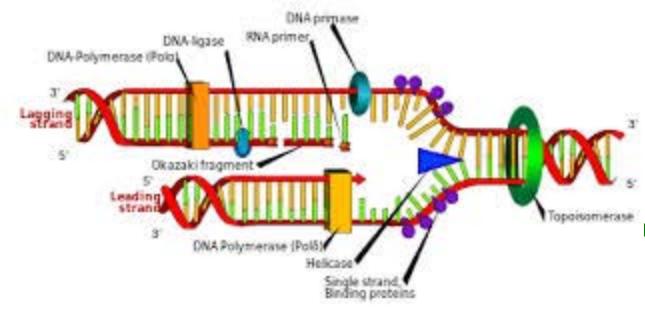




▪ **αρνητικό** όταν όλα τα ερυθρά βρίσκονται στον πυθμένα.

▪ **Θετικό** θεωρείται το αποτέλεσμα όταν τα ερυθρά δεν βρίσκονται στον πυθμένα μετά τη φυγοκέντρηση

Δυνατότητα εύκολης βαθμονόμησης της αντίδρασης



# Μοριακή υποποίηση



## Πλεονεκτήματα

- Είναι κατάλληλη σε μεταγγισμένους ασθενείς
- Κατάλληλη για εκτεταμένο φαινότυπο
- Δεν επηρεάζεται από DAT Θετική(+)
- Μπορεί να γίνει αυτοματοποιημένα
- Μπορεί να εφαρμοστεί για προγεννητικό έλεγχο RhD

## Μειονεκτήματα

- Χρειάζεται ειδικό εξοπλισμό
- Εφαρμόζεται σε εξειδικευμένα κέντρα, για ερευνητικούς σκοπούς, σε τράπεζες σπανίων δοτών.
- Είναι χρονοβόρα διαδικασία
- Δεν χρησιμοποιείται στην καθημερινή πρακτική ακόμη
- Ο γονότυπος δε συμβαδίζει πάντα με το φαινότυπο

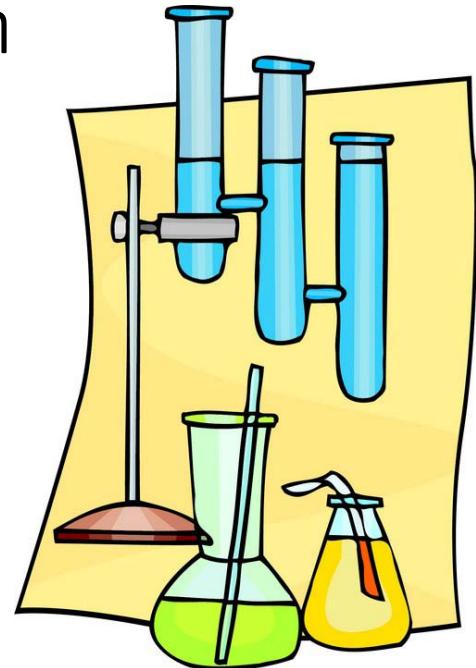
# Προβλήματα τυποποίησης

## Ψευδώς θετικά

- AAA
- Υπερσφαιριναιμία
- Ενδοφλέβια  
Ανοσοσφαιρίνη
- Φάρμακα
- Μεταγγισμένοι προσφάτως  
ασθενείς
- Μεταμοσχευμένοι ασθενείς
- Τεχνικά λάθη

## Ψευδώς αρνητικά

- Ασθενής έκφραση αντιγόνων  
(νεογνά ή κάποιες ασθένειες  
πχ. Λευχαιμίες)
- Τεχνικά λάθη

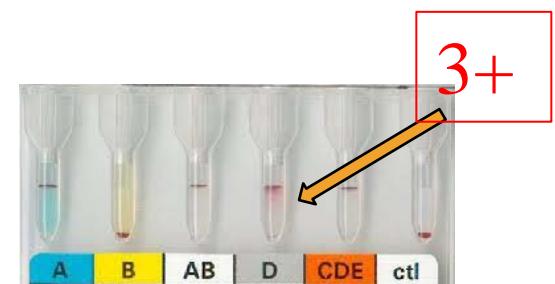


**Σύστημα Rh**

# Τυποποίηση Rh

D(+) ορίζονται τα ερυθρά που αντιδρούν

- με άμεση συγκόλληση με ειδικούς αντι-D αντιορούς στην πλάκα και στα σωληνάρια
- είναι θετικά 3-4 + στις μικροστήλες

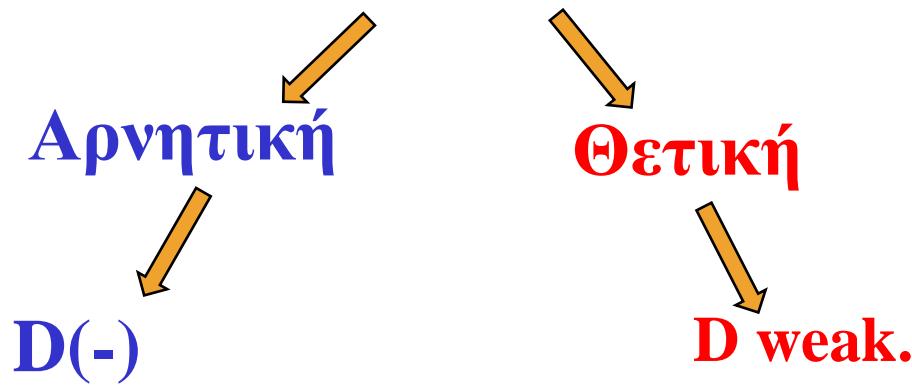


- Ο καθορισμός Rh D μαζί με το ABO είναι υποχρεωτικός και για ασθενείς και για μονάδες αίματος.
- Τα υπόλοιπα αντιγόνα C, c, E, e ελέγχονται σε μονάδες αίματος και σε περιπτώσεις πολυμεταγγιζόμενων ασθενών ανάλογα με την τακτική του κάθε Κέντρου.

# Έλεγχος D weak

Ολες οι D(-) μονάδες και D(-) νεογνά που ελέγχονται σε πλάκα ή σωληνάρια πρέπει να ελέγχονται για Dweak με τεχνική έμμεσης Coombs

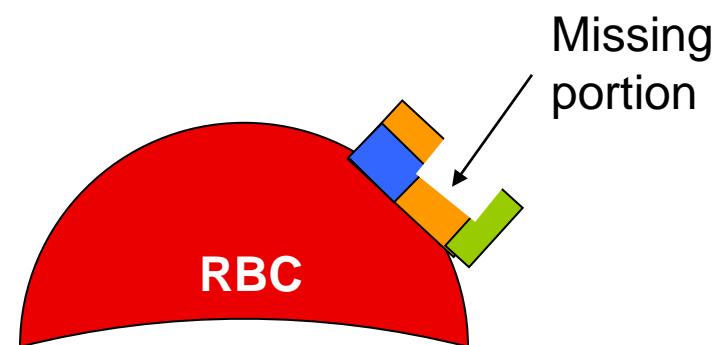
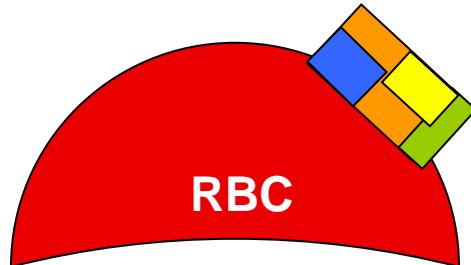
## Έμμεση Coombs



Για τις μικροστήλες οι κατασκευαστές δεν συνιστούν έμμεση Coombs καθώς τα D weak φαίνονται ως ασθενείς αντιδράσεις 1-2+

# D Mosaic/Variants(Ποικιλίες) D

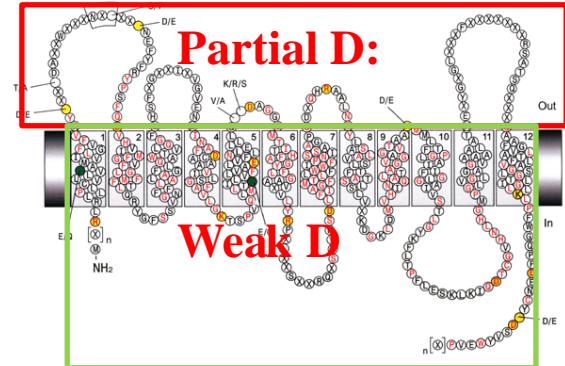
Το αντιγόνο D θεωρείται σαν ένα μωσαϊκό με πολλούς αντιγονικούς επιτόπους, που όταν λείπει ένα μέρος του, αποκτά διαφορετική αντιγονικότητα, με αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων μετά από έκθεση σε άλλη ποικιλία D



**Οι D Variant (Ποικιλίες D) κατατάσσονται σε 3 κατηγορίες:**

## Partial D:

- Ευθύνονται μεταλλάξεις που κωδικοποιούν εξωκυττάριες διαδρομές
  - Δημιουργούν συχνότερα αντισώματα λόγω έκθεσης.
  - Ανιχνεύονται ορολογικά με ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα.
  - Η πιο σημαντική ποικιλία είναι η **DVI** η οποία μπορεί να προκαλέσει ανοσοποίηση σε D(-) ασθενείς

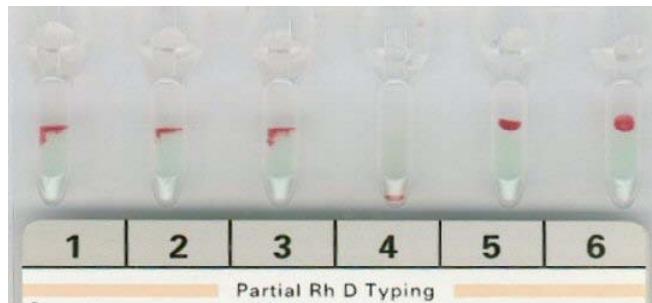


## Weak D:

Ευθύνονται μεταλλάξεις που τροποποιούν το μόριο στην ενδοκυττάρια ή διαμεμβρανική διαδρομή. Δεν ανιχνεύονται ορολογικά αλλά μόνο μοριακά.

**Del alleles:** Πρόκειται για πολύ ασθενή έκφραση του D αντιγόνου που δεν ανιχνεύεται ορολογικά αλλά μόνο με προσρόφηση και έκλουση.

# Έλεγχος για D partial επιτυγχάνεται με μονοκλωνικούς αντιορούς



## Έλεγχος DVI



# **Σημασία των ποικιλιών στη μετάγγιση**

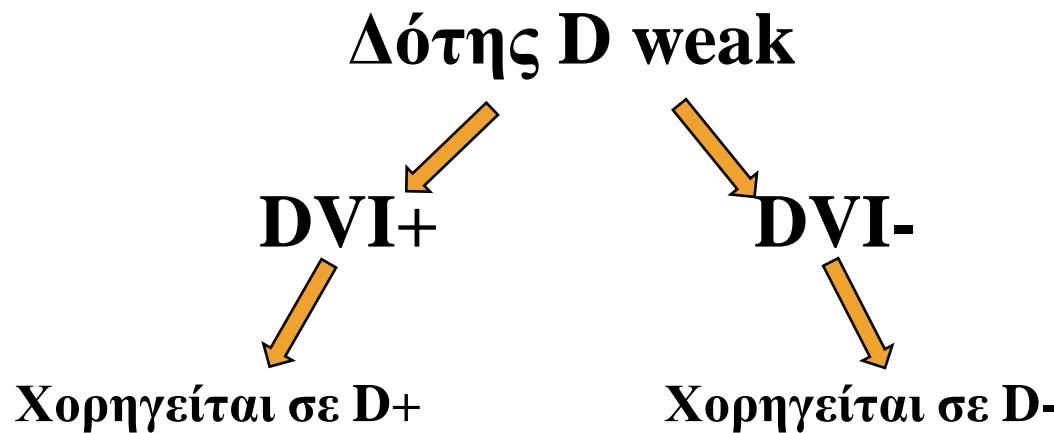
Οι D variant θεωρούνται

**(+)θετικοί ως δότες και**

**(-)αρνητικοί ως λήπτες**

# Οικονομία στα D(-) αρνητικά μπορεί να γίνει αν τα Dweak ελέγχονται ως προς την ποικιλία DVI

- Οι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται με αντιορούς που δεν αντιδρούν με DVI ώστε να χαρακτηρίζονται αρνητικοί
  - Οι δότες πρέπει να ελέγχονται με αντιορούς που ανιχνεύουν το DVI ώστε να χαρακτηρίζονται ως θετικοί
- 

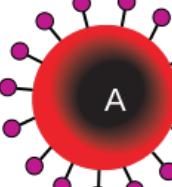
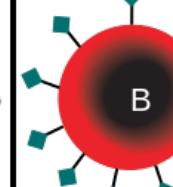
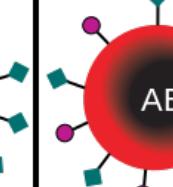
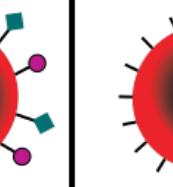


Δηλαδή ένα μέρος των D weak μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε D(-) ασθενείς

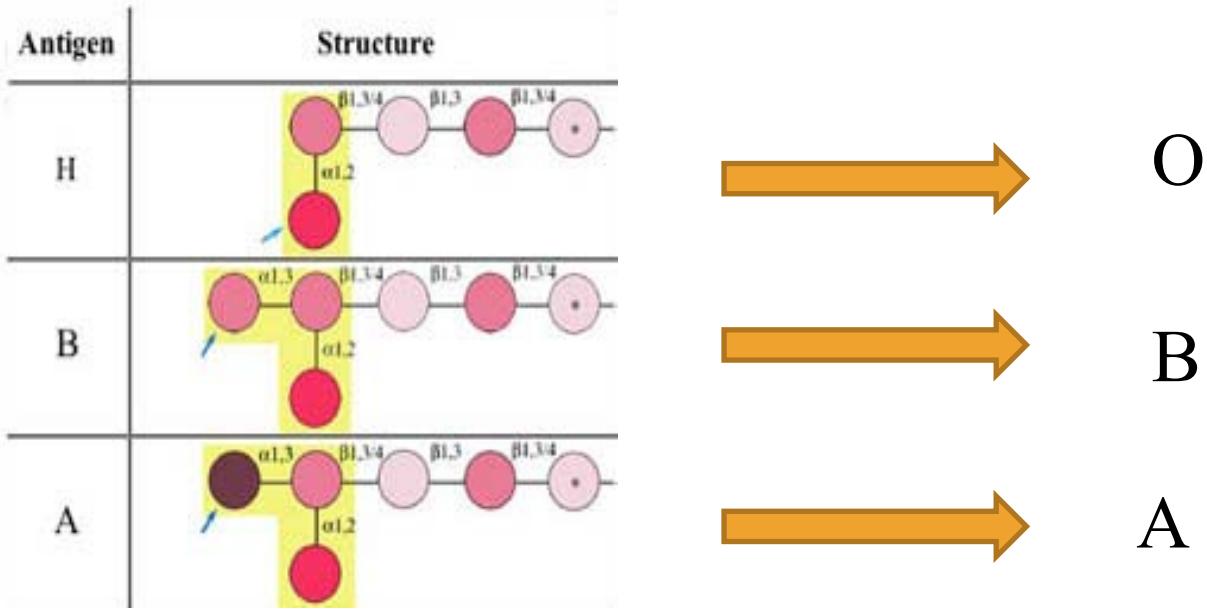
# Σύστημα ABO

# Αντιγόνα και αντισώματα ABO

- Αντιγόνα H, A, B
- Φυσικά αντισώματα ισοσυγκολλητίνες για τα αντιγόνα που λείπουν από τον ασθενή
- Αναπτύσσονται μετά τον 5<sup>ο</sup>-6<sup>ο</sup> μήνα της ζωής πιθανότατα λόγω φυσικής έκθεσης σε παρόμοια αντιγόνα που υπάρχουν στη φύση.
- Στην Α και Β ομάδα τα αντισώματα είναι IgM ενώ στην ομάδα Ο είναι κυρίως IgG

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies in Plasma			None	
Antigens in Red Blood Cell	A antigen	B antigen	A and B antigens	None

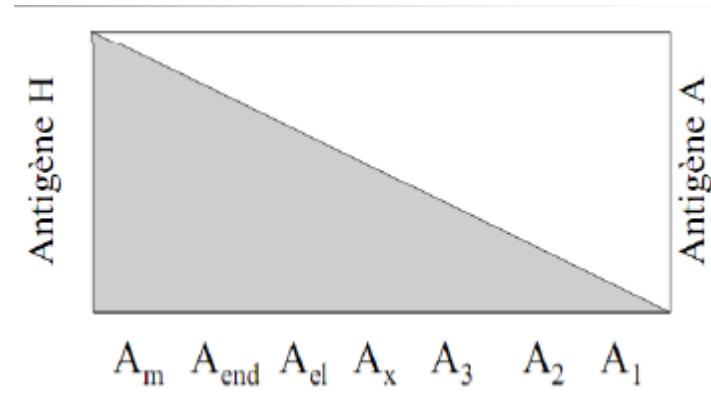
# Αντιγόνα H, A και B



- Το αντιγόνο H υπάρχει στην ομάδα O
- Τα αντιγόνα A και B σχηματίζονται με προσθήκη ενός σακχάρου πάνω στον ολιγοσακχαρίτη H

# Σχέση Ag H & Ag A, B

- ❑ Η ποσότητα του H αντιγόνου είναι μεγαλύτερη στην ομάδα O
- ❑ Όσο περισσότερο Ag H μετατρέπεται σε A ή B, τόσο ισχυρότερη είναι η ομάδα A ή B
- ❑ Όσο ασθενεστερη είναι η ομάδα τόσο περισσότερο H αντιγόνο υπάρχει



O>A2>B>A1>A1B

# Καθορισμός ομάδος ABO

## Υποχρεωτικός έλεγχος ευθείας και ανάστροφης ομάδας με οποιαδήποτε μέθοδο αιμοσυγκόλλησης

Ευθεία ομάδα

Ανάστροφη

	Anti-A	Anti-B	Anti-AB		A cells	B cells	O cells
A							
B							
AB							
O							

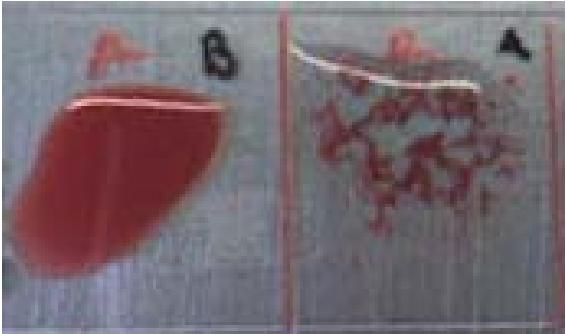
### ❖ Ευθεία ομάδα:

Ανίχνευση αντιγόνων ABO  
επί των ερυθρών

### ❖ Ανάστροφη:

ανίχνευση φυσικών  
ισοσυγκολλητινών αντι-A  
και αντι-B στον ορό του  
ασθενούς.

Τα ευρήματα από την ευθεία και την ανάστροφη  
πρέπει να ταυτίζονται



# Ευθεία Ομάδα επί πλακός

- Μονοκλωνικός ή πολυκλωνικός αντιορός Anti-A, Anti-B και Anti-AB
- Τα αντι-Α, αντι-Β, αντι-ΑΒ **δεν τα βλέπουμε σε διαφανοσκόπιο** διότι εκπέμπει θερμότητα και μπορεί να διαλυθούν οι συγκολλήσεις
- **Τα αμφίβολα πρέπει να ελέγχονται και με άλλη μέθοδο πχ μέθοδο σωληναρίων ή κάρτα.**

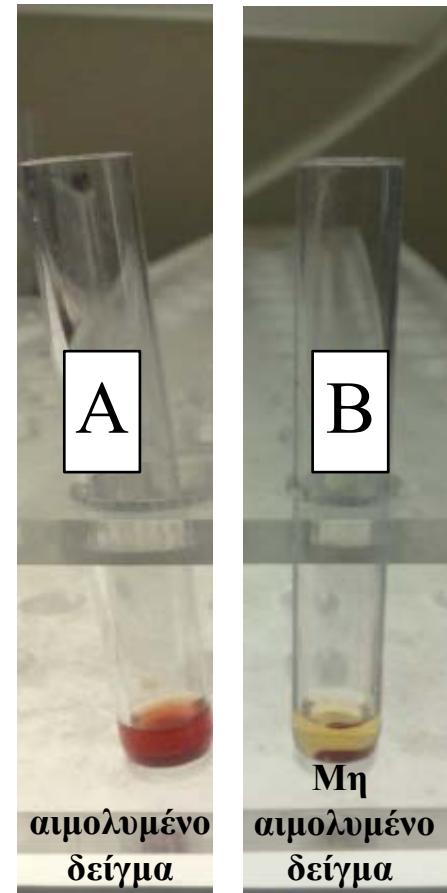
# Ευθεία Ομάδα σε σωληνάριο

Βοηθά στην επίλυση αμφιβολιών από την τεχνική επί πλακός

- ❖ Το εναιώρημα μπορεί να γίνει με φυσιολογικό ορό ή ουδέτερο πλάσμα ή ορό ή μπορεί να πλυθούν και να παρασκευαστεί εναιώρημα με πλυμένα ερυθρά
- ❖ Καλύτερα εναιώρημα με φυσιολογικό ορό διότι στο πλάσμα ή στον ορό του ασθενούς, αν υπάρχει **υψηλή συγκέντρωση διαλυτών αντιγόνων**, μπορεί να εξουδετερώσουν τον αντιορό και να έχουμε **ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα**

# Ανάστροφη Ομάδα

- Είναι επιβεβαιωτική εξέταση για την ομάδα ABO
- Πάντα πρέπει να ελέγχουμε τον ορό και με Ο ερυθρά και όχι μόνο με Α και Β διότι τα Ο χρησιμεύουν ως control σε περιπτώσεις AAA, ΠΜ κλπ και σπάνια για την ομάδα Bombay
- Η παρουσία συγκόλλησης είναι ενδεικτική της ύπαρξης του αντίστοιχου αντισώματος
- Η **παρουσία Αιμόλυσης** επίσης είναι θετική αντίδραση που είναι δύσκολο να φανεί στην πλάκα.



**Discrepancy:**  
**Ασυμφωνία**  
**ευθείας ανάστροφης**

# Τι κάνουμε

όταν η ευθεία και η ανάστροφη δείχνουν  
διαφορετική ομάδα?

- **Δεν δίνουμε αποτέλεσμα μέχρι να λυθεί το πρόβλημα**
- **Αν είναι μονάδα κρατείται μέχρι να διευκρινισθεί**
- **Αν είναι ασθενής δεν δίνουμε την ομάδα αλλά αν χρειάζεται μετάγγιση δεν την καθυστερούμε αλλά δίνουμε Ο με Rh ανάλογα D- ή +.**

# Ασυμφωνίες ευθείας ανάστροφης

Πρέπει να εντοπίσουμε αν το πρόβλημα είναι στην ευθεία ή στην ανάστροφη

Παρατηρούμε

- **Ποια αντίδραση είναι ασθενέστερη**
- **Ποια αντίδραση είναι αρνητική, ενώ αναμενόταν θετική**
- **Αν εμφανίζεται επιπλέον αντίδραση που δεν αναμενόταν**

# Αιτίες ασυμφωνίας

- Τεχνικής φύσεως λάθη
- Ενδογενή προβλήματα ορού ή ερυθρών

# Τεχνικά λάθη

## Ψευδώς αρνητικά

- ❖ Μη προσθήκη αντιδραστηρίου
- ❖ Αιμόλυση του δείγματος που παραβλέπεται
- ❖ Λάθος αναλογία αντιορού-ερυθρών
- ❖ Λιγότερη φυγοκέντρηση (στροφές ή χρόνο)
- ❖ Επώαση σε ψηλές θερμοκρασίες 20-24° C
- ❖ Λάθος ανάγνωση αποτελέσματος
- ❖ Λάθος καταγραφή

## Ψευδώς θετικά

- ❖ Υπερφυγοκέντρηση δείγματος
- ❖ Επιμολυσμένα ερυθρά ή αντιδραστήρια ή φυσιολογικός ορός
- ❖ Λερωμένα σωληνάρια ή πλάκες
- ❖ Λάθος ανάγνωση
- ❖ Λάθος καταγραφή

# Πρώτα αποκλείουμε τα τεχνικά λάθη

- Ελέγχουμε τα στοιχεία στα σωληνάρια
- Επανάληψη του τεστ με τον ίδιο τρόπο
- Επανάληψη με άλλη τεχνική
- Ζητάμε νέο δείγμα του ασθενή ή παίρνουμε δείγμα από τη φιάλη (αν είναι αιμοδότης).
- Ιστορικό ασθενή (Διάγνωση, μεταγγίσεις, μεταμόσχευση, φάρμακα)



Εφόσον αποκλειστούν τα τεχνικά λάθη,  
**Κατηγοριοποιούμε το πρόβλημα της  
Ασυμφωνίας ΑΒΟ**

**Προβλήματα  
Ερυθρών**

- Απόντα  
αντιγόνα ή  
ασθενώς  
αντιδρώντα**
- Επιπλέον  
αντιγόνα**
- Διπλός  
πληθυσμός**

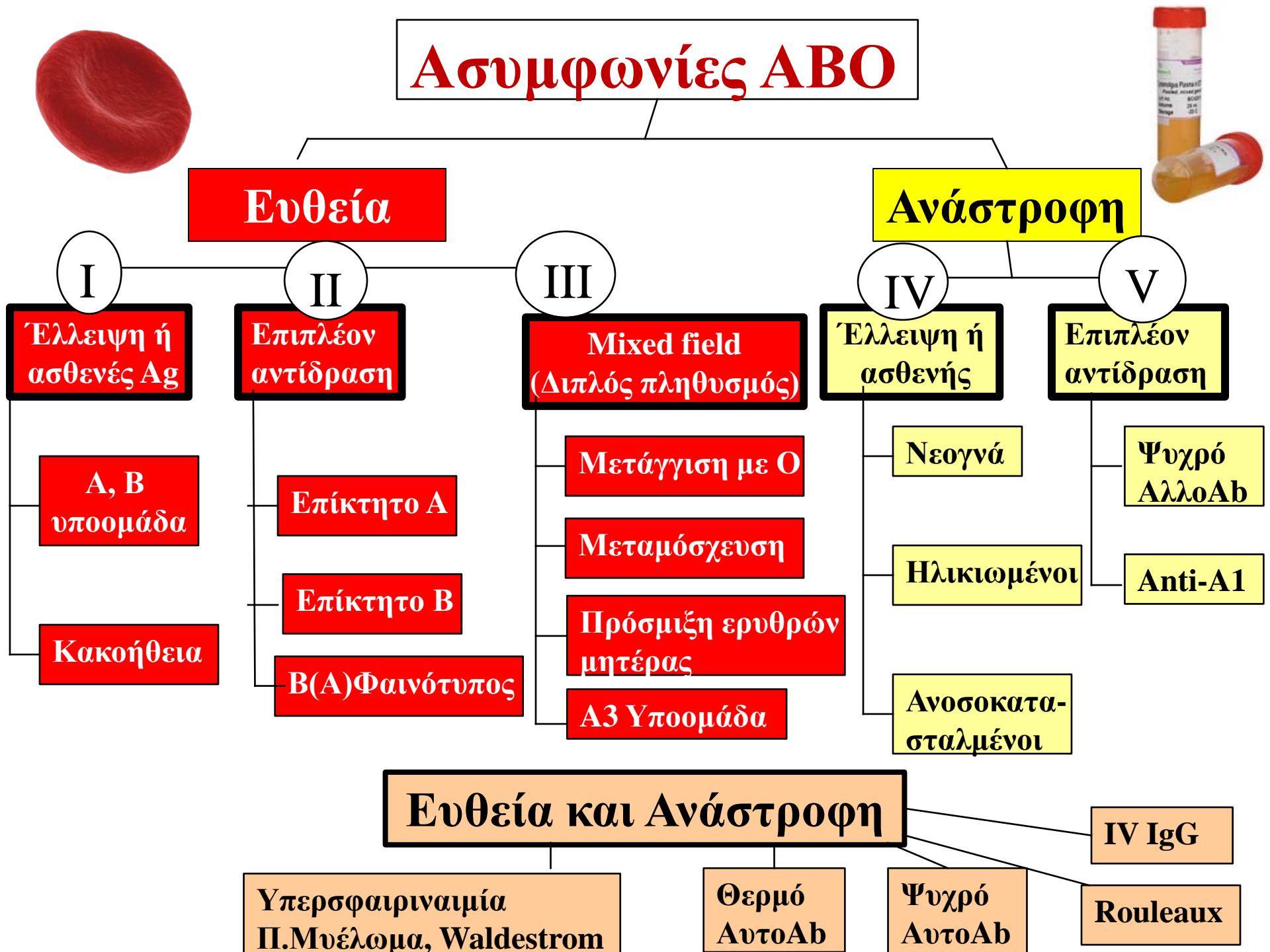
**Προβλήματα  
ορού**

- Απουσία  
αντισωμάτων  
ή ασθενώς  
αντιδρώντα**
- Επιπλέον  
αντισώματα**

**Προβλήματα  
Ορού και ερυθρών**

- Υπερσφαιρική  
ναιμία**
- Rouleaux**
- AAA**
- Wharton  
Jelly**

# Ασυμφωνίες ABO



# Ενθεία: μειωμένη έκφραση αντιγόνων A και B



Anti-A	Anti-B	A <sub>1</sub> cells	B cells
0	0	0	4+

Group 0                                  Group A

A missing antigen in the forward grouping

## Κληρονομούμενα

- Α ή B υποομάδα (λίγα σε αριθμό αντιγόνα A ή/και B

## Επίκτητα

- Λευχαιμίες, Λεμφώματα, άλλες κακοήθειες



# Υποομάδα A2

- Στην υποομάδα A2 παρατηρούνται IgM αντι-A1 φυσικά αντισώματα σε ποσοστό 1-8%, ενώ στην A2B σε ποσοστό 22-35%.
- Η παρουσία αντι-A1 δημιουργεί προβλήματα στην ταυτοποίηση ομάδος
- Η θερμοκρασία δράσης τους είναι αρκετά κάτω των 37°C και δεν θεωρούνται κλινικά σημαντικά εκτός αν δρουν στους 37°C.
- **Ευθεία ομάδα: A2**
- **Ανάστροφη ομάδα: Συγκολλά τα B και πιθανόν και τα A1 ενώ δεν συγκολλά τα A2**



# Υποομάδες ασθενέστερες

Aint(intermediate), A3, Ax,  
Am, Aend, Ael, Abandu

- **Ευθεία ομάδα:** Αντιδρούν πολύ ασθενώς ή καθόλου με αντι-Α ή αντι-Α,Β
- **Ανάστροφη ομάδα:** Ενώ στην ευθεία χαρακτηρίζονται ως Ο δεν συγκολλούν τα Α ή Β ερυθρά όπως αναμένεται.



# Ομάδα Bombay

- Η έλλειψη του H αντιγόνου χαρακτηρίζει την ομάδα Bombay και έχει φυσικά anti-H αντισώματα

## Ευρήματα

- Ευθεία ομάδα: O
- Ανάστροφη ομάδα: Συγκολλά A, B, και O ερυθρά ΔΔ από O
- Τα ερυθρά δεν αντιδρούν ούτε με τον αντι-H αντιορό (ενώ τα O αντιδρούν έντονα)
- Συγκολλά και τα O ερυθρά και οι διασταυρώσεις με O είναι ασύμβατες

Anti-A	Anti-B	Anti-H	A1 Cell	B Cell	O Cell
0	0	0	4+	4+	4+

# Ευθεία: αυξημένη αντίδραση των ερυθρών με Autocontrol(-)



Anti-A	Anti-B	A <sub>1</sub> cells	B cells
4+	1+ (circled)	0	4+

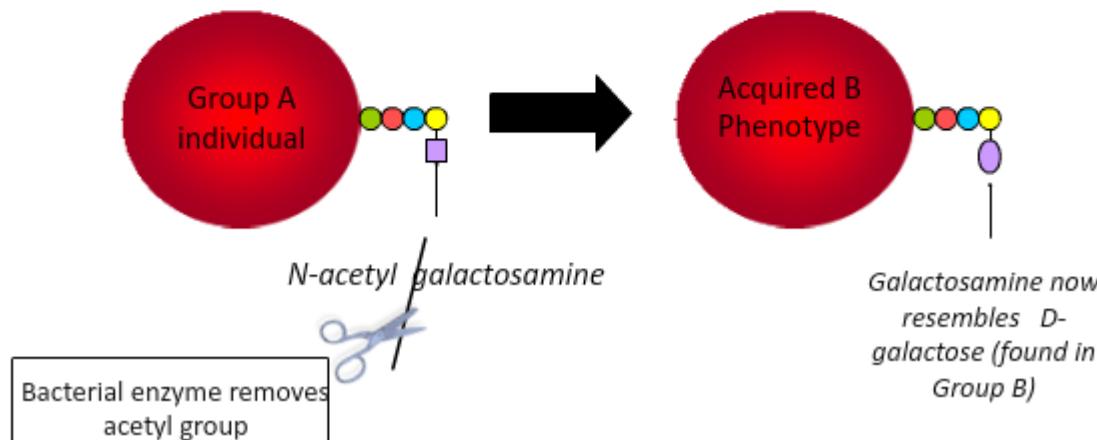
Group AB?                          Group A

- Επίκτητο Β αντιγόνο
- Επίκτητο Α αντιγόνο
- B(A) Φαινότυπος

# Επίκτητο Β

- Ασθενείς με καρκίνο παχέος
- Υποτροπιάζουσες λοιμώξεις ΓΣΣ και κυρίως παχέος εντέρου από gram(-) βακτήρια

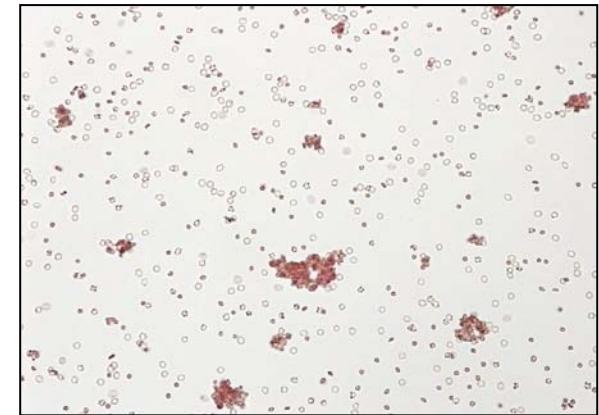
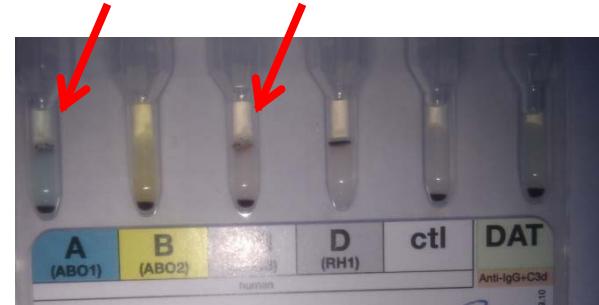
Βακτήρια (*E.coli*) έχουν ένα ένζυμο που αφαιρεί μια ακετυλική ομάδα από το A αντιγόνο, μετατρέποντάς τη N-ακέτυλογαλακτοζαμίνη σε α-γαλακτοζαμίνη που μοιάζει με το B Αντιγόνο.



# Διπλός πληθυσμός ερυθρών



- Μετάγγιση με άλλη ομάδα πχ Ο
- Ενδομήτρια μετάγγιση με O Rh (-)
- Χίμαιρα λόγω μεταμόσχευσης Μυελού
- Νεογνά με πρόσμειξη αίματος της μητέρας
- Υποομάδες αίματος (κυρίως A3)



# Ελαττωμένα anti-A και anti-B στον ορό

(Συχνότερη αιτία ασυμφωνίας)

Anti-A	Anti-B	A <sub>1</sub> cells	B cells
4+	0	0	0

Group A    Group AB



- Νεογνά (δεν παράγουν)
- Ηλικιωμένοι (χαμηλή παραγωγή αντισωμάτων)
- Υπογαμμασφαιριναιμία
- Ανοσοκατασταλή: Συγγενής ή επίκτητη λόγω νοσήματος ή φαρμάκων ή Μεταμοσχευση

## Επίλυση

Ιστορικό ηλικίας, νοσημάτων κλπ

Επώαση ανάστροφης για 15-30 λεπτά στους 40 °C

# Αυξημένη αντίδραση Ορού με autocontrol (-)

- Αντι-A1(σε υποομάδα A2 και A2B)
- Αντι-H (Σε ομάδα Bombay)
- Ψυχρό αλλοαντίσωμα πχ αντι-M, αντι-P, κλπ
- Παθητική μεταφορά λόγω μετάγγισης με προϊόντα πλάσματος ή PLT άλλης ομάδας



## Επίλυση

- Ελέγχουμε τα ερυθρά για υποομάδα A2 και bombay, με αντι-A1 λεκτίνη και αντι-H
- Ελέγχουμε τον ορό του ασθενούς με A1, A2 και O ερυθρά
- Έμμεση Coombs για έλεγχο αλλοαντισωμάτων

# Αυξημένη Συγκολλητικότητα ερυθρών και ορού με Autocontrol(+)



- AAA (Ψυχρό ή Θερμό αυτοαντίσωμα)
- Υπερσφαιριναιμία-Rouleaux(Μυέλωμα ή Waldenstrom)
- Αυξημένες πρωτεΐνες ορού, (ενδοφλέβια χορήγηση στον ασθενή μακρομορίων πχ HES, Dextrane κλπ)
- Δείγματα από ομφάλιο λώρο που περιέχουν την ουσία Wharton's gelly)

**Ευρήματα: DAT(+), Έμμεση (+), Αυτοκοντρόλ(+)**

**Ενθεία ομάδα: AB, Rh(+), Ανάστροφη: O**

# **AAA με Θερμό AutoAb**

## Επίλυση

- Πλύσιμο ερυθρών μπορεί να βοηθήσει
- Χρήση τεχνικής σωληναρίων
- Μονοκλωνικοί αντιοροί
- Εάν οι συγκολλήσεις επιμένουν, χρησιμοποιούμε ένζυμα για να αφαιρέσουμε αυτοαντισώματα [Προσθήκη σουλφυδρυλικών παραγόντων όπως 2-mercaptopethanol(2-ME) ή dithiothreitol(DTT), ZZAP, Glycine-HCL/EDTA]
- Επανεξετάζουμε το δείγμα μετά την επεξεργασία

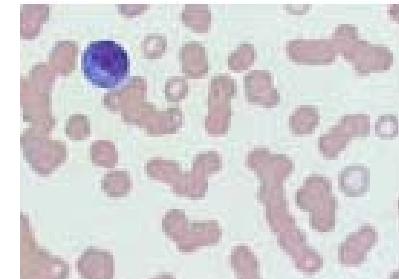
# **AAA από Ψυχρό αυτοAb**

## Επίλυση

**Ψυχρά αυτοαντισώματα προκαλούν αυτόματη συγκόληση  
και επομένως ψευδώς θετικά αποτελέσματα**

- Θερμαίνουμε το δείγμα στους  $37^{\circ}\text{C}$  αμέσως μετά τη λήψη του
- Πλένουμε τα ερυθρά με φυσιολογικό ορό θερμασμένο στους  $37\text{-}45^{\circ}\text{C}$ .
- Υπάρχει όμως σε κάποιους ασθενείς η πιθανότητα τα αντι-Α και Αντι-Β να μη δρούν στους  $37$ , οπότε τότε θα έχουμε **Ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα**

# Υπερσφαιριναιμία, Rouleaux, Ομφάλειο δείγμα, IV χορήγηση μακρομορίων



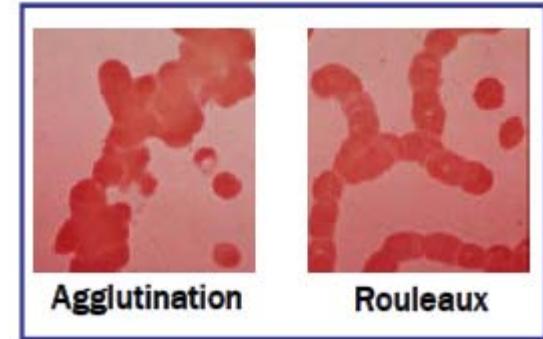
## Επίλυση

### Απομάκρυνση πρωτεΐνών

- Πλύσιμο ερυθρών και επανάληψη του τεστ

### Αντικατάσταση του ορού με φυσιολογικό ορό στην ανάστροφη

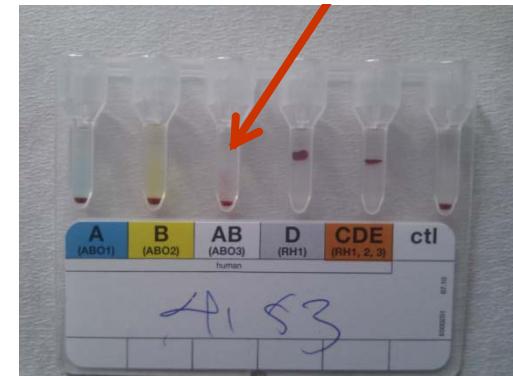
- Ορός ασθενή+ ερυθρά γνωστά
- Επωάζουμε, φυγοκεντρούμε, εκτιμούμε
- Απομακρύνουμε τον υπερκείμενο ορό
- Προσθέτουμε φυσιολογικό ορό
- Ανάδευση, φυγοκέντρηση, επανεξέταση
- Οι πραγματικές συγκολλήσεις θα παραμείνουν ενώ αν οφείλονται σε υπερσφαιριναιμία θα διαλυθούν.



# Παρουσίαση περιστατικών

# Περιστατικό I

- Η ευθεία ομάδα ενός αιμοδότη έγινε σε αυτόματο αναλυτή και χαρακτηρίστηκε ως O(+)
- Η ανάστροφη σε πλάκα, σωληνάριο και κάρτα συγκολλούσε μόνο τα B και χαρακτηριζόταν ως A
- Έγινε επανέλεγχος σε κάρτα στο χέρι και παρατηρήσαμε κάποιες συγκολλήσεις στον αντι-AB, που διέφυγαν από τον αναλυτή
- Ένδειξη ότι υπάρχει ασθενές A ή B αντιγόνο



Ανάστροφη: A

- Εφόσον υπάρχει αντι-Β, προφανώς το ασθενές Ag που δεν φαίνεται είναι το Α
- Έγινε επώαση των ερυθρών με αντι-Α σε σωληνάριο για 30 λεπτά στο ψυγείο

Ευθεία μετά  
επώαση 30min  
στους 4° C

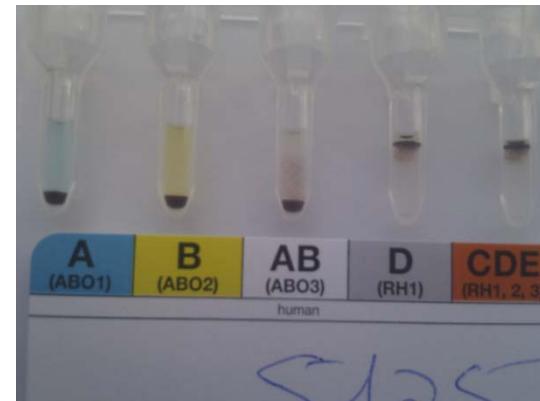
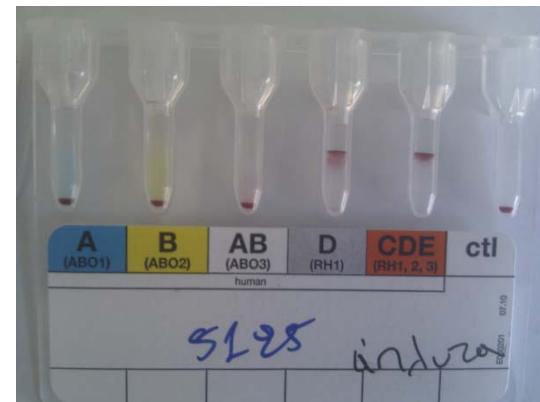


**Συμπέρασμα: Υποομάδα Α**

## Περιστατικό 2

Ομάδα αιμοδότη στον αναλυτή  
χαρακτηρίστηκε ως Ο ενώ  
φαίνεται ασθενώς + στο AB

Η ομάδα με πλυμμένα ερυθρά  
ήταν περισσότερο θετικό στον  
αντι-AB



Η ευθεία στην πλάκα ήταν Ο



Η ανάστροφη στην πλάκα και στην κάρτα συγκολλούσε τα  
B ερυθρά



Η άμεση Coombs της μονάδας ήταν αρνητική (-)



## Επίλυση προβλήματος

Εφόσον έχουμε αντι-ΑΒ (+) → ύπαρξη Α ή Β αντιγόνου

Εφόσον υπάρχει μόνο αντι-Β πιθανόν να υπάρχει ασθενές Α και γι' αυτό δεν υπάρχει και αντι-Α

Πρέπει να γίνει έλεγχος για υποομάδα Α

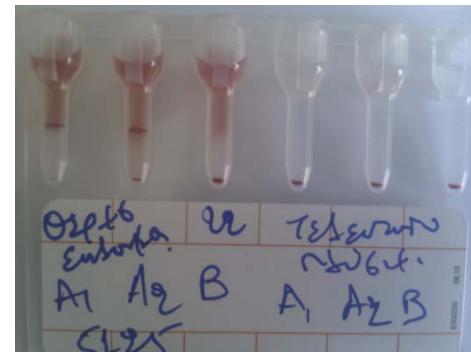
### Υποψία υποομάδας (Τεχνική)

- Πλύσιμο ερυθρών X 3
- Επώαση ερυθρών με αντιορό (πχ αντι-Α, όταν υποψιαζόμαστε υποομάδα Α)
- Πλύσιμο ερυθρών X 8
- Έκλουση του αντι-Α πχ που προσροφήθηκαν εάν υπήρχαν ασθενή Α αντιγόνα

Το έκλουμα ελέγχθηκε με A1, A2, B ερυθρά και συγκολλούσε τα A1 και A2

### Ερμηνεία:

Στα ερυθρά της μονάδας υπήρχαν κάποια A αντιγόνα που προσρόφησαν τον αντι-A και στη συνέχεια εκλούσαμε το αντι-A που προσροφήθηκε οπότε αυτό συγκολλά στη συνέχεια τα A ερυθρά.



# Περίπτωση 3

Anti-A	Anti-B	A1 Cells	B Cells
4+	4+	0	1+

Πρόβλημα: Ευθεία:AB

Ανάστροφη: μη αναμενόμενη αντίδραση στα B.

Επίλυση: Πάνελ ερυθρών: anti-P με autocontrol(-)

Έλεγχος των B ερυθρών: P1 (+)

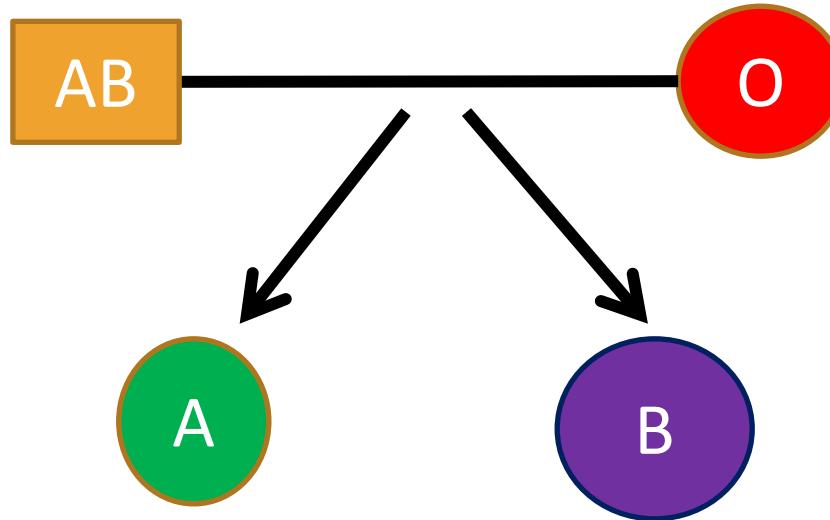
Συμπέρασμα: Η αντίδραση με τα B ερυθρά οφείλεται στο anti-P1 και όχι σε παρουσία αντι-B

# Περιστατικό 4

## Νεογνό ομάδας AB(+) με ασθενή έκφραση στο B

- Γεννήθηκε από μητέρα που με το συνήθη έλεγχο είχε ταυτοποιηθεί ως O(-)
- Ο πατέρας ήταν AB(+)





Μετά τη διαπίστωση ομάδας AB(+) με ασθενή έκφραση στο B,  
το ερώτημα ήταν **από πού προέρχεται το B αντιγόνο?**  
πρώτη σκέψη ήταν ότι το παιδί αυτό δεν μπορεί να είναι της  
συγκεκριμένης μητέρας,

*εκτός και αν*

- επρόκειτο για ασθενή υποομάδα B στη μητέρα

# Έλεγχος ασθενούς υποομάδας B

Το έκλουμα που περιείχε αντι-B που προσροφήθηκε στα B αντιγόνα αντιδρούσε με B ερυθρά.

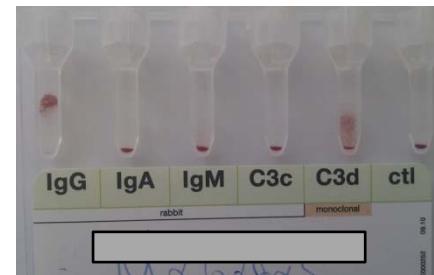
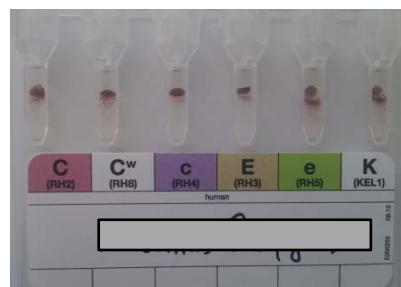
Συμπέρασμα ασθενής υποομάδα Bel στη μητέρα.



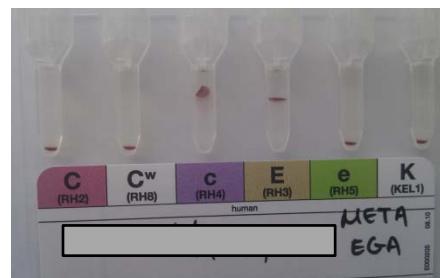
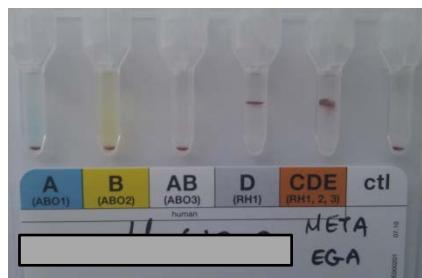
# ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟ 5

## Ασθενής με AAA και αδιευκρίνιστη ομάδα

Όταν όλα είναι θετικά σε AAA από θερμό IgG αυτοαντίσωμα.....



Προσθήκη σουλφυδρυλικών παραγόντων όπως 2-mercaptopethanol(2-ME) ZZAP, Glycine-HCL/EDTA] μπορούν να ξεκαθαρίσουν την ομάδα του ασθενούς αφαιρώντας τα αυτοαντισώματα από τα ερυθρά ‘όπως φαίνεται και από την αρνητικοποίηση της άμεσης Coombs του ασθενούς



# Περιστατικό 6

## Νεογνό με διπλό πληθυσμό

Δείγμα ομφαλίου λώρου

Διπλός Πληθυσμός

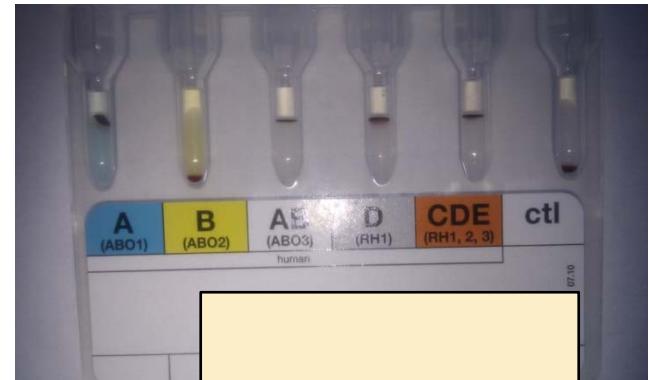
Κυριαρχεί η ομάδα Ο

Έλεγχος ομάδας μητέρας: A



Συμπέρασμα:

Τα λίγα Α ερυθρά  
προέρχονται από τη μητέρα.



# Περιστατικό 7

## Ασθενής με Διπλό πληθυσμό A και O

### Ιστορικό:

- Μεταμόσχευση Μυελού από Δότη A(+)
- Η ομάδα της ασθενούς πριν τη μεταμόσχευση: O(+)

### Επεξήγηση

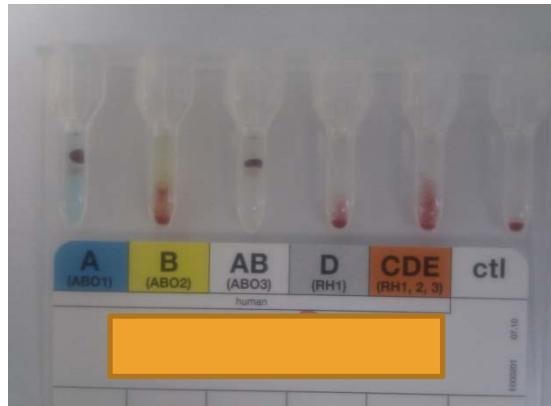
- Το αντι-B της ανάστροφης παράγεται από τα λεμφοκύτταρα του Δότη
- Τα A ερυθρά είναι του Δότη
- Επικρατούν τα O, λόγω μεταγγίσεων με O ερυθρά λόγω της χίμαιρας



## Περιστατικό 8

Γνωστός αιμοδότης ομάδας A σε νέα αιμοληψία,  
χαρακτηριζόταν ως AB με ασθενή έκφραση στο B

Ευθεία: AB



Ανάστροφη: A



Ασυμφωνία: Επιπλέον αντιγόνο B

Ιστορικό: Προηγηθείσα γαστρεντερίτιδα

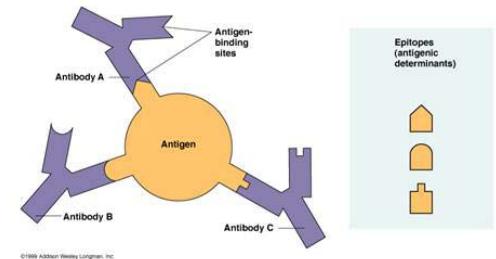
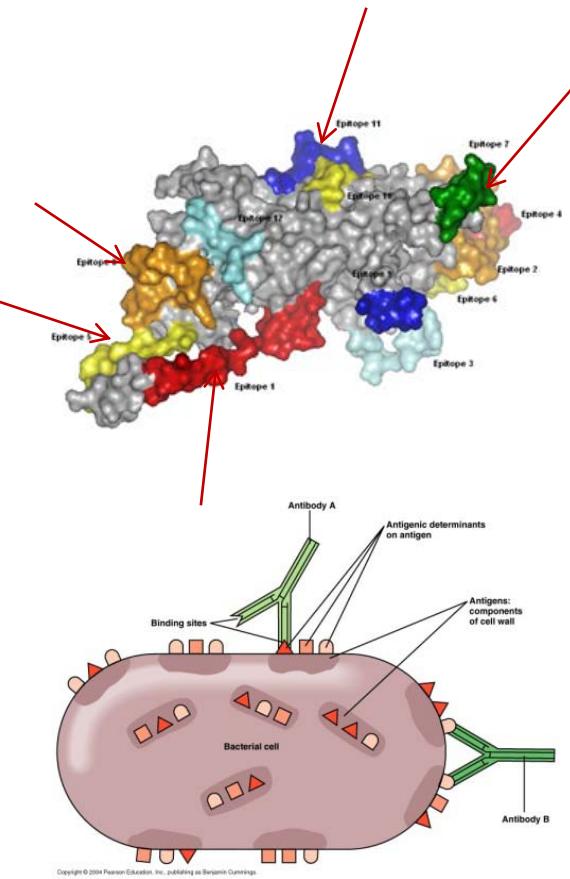
Συμπέρασμα: Επίκτητο B (Η ανάστροφη παραμένει  
ως είχε)



Καλό Φθινόπωρο

# Αντιγονικός Επίτοπος

- Ένα μόριο Ag, μπορεί να έχει πολλές περιοχές που να μπορούν να συνδεθούν με Ab.
- Η κάθε περιοχή που συνδέεται με ένα Ab, λέγεται επίτοπος.
- Σε κάθε μόριο μπορούν να υπάρχουν διαφορετικοί επίτοποι που φυσικά συνδέονται με διαφορετικά Ab
- Κάθε αντίσωμα αντιδρά μόνο με ένα συγκεκριμένο επίτοπο.

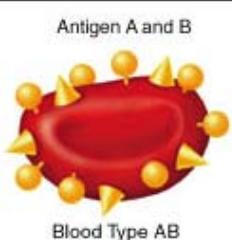


Κάθε αντιγόνο μπορεί να έχει πολλούς επιτόπους

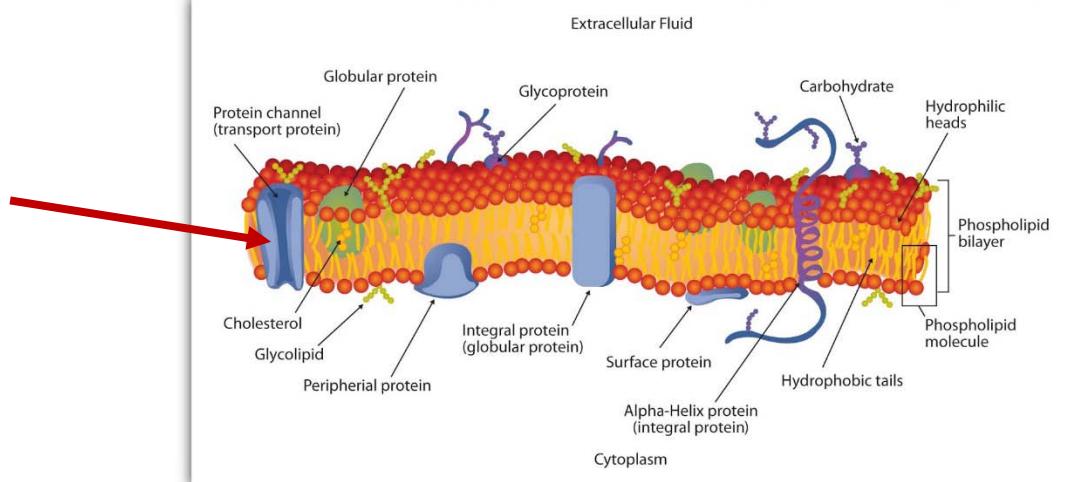
# Επίκτητο Β

## Επίλυση

- Ιστορικό για προβλήματα παχέος εντέρου
- Πλένουμε τα ερυθρά
- Ελέγχουμε autocontrol (Το anti-Β του ασθενή δεν αντιδρά με τα δικά του “ΑΒ” ερυθρά)
- Οξίνιση του αντιορού αντι-Β με ρ.Η. 6 και επανεξέταση των ερυθρών. Το επίκτητο Β αντιγόνο δεν αντιδρά με τον οξινισμένο ορό



# Επίκτητο Α



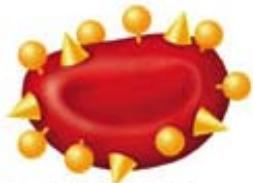
- Υπάρχουν κάποια αντιγόνα, εντός της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης που λέγονται **κρυπτοαντιγόνα Tn** και δεν έχουν αντιγονική δράση.
- Κληρονομικές ή επίκτητες διαταραχές της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης, σε ασθενείς με κακοήθειες, βακτηριακή ή ιογενή λοίμωξη, μπορούν να οδηγήσουν σε **αποκάλυψη των κρυπτοαντιγόνων**.
- Το σάκχαρο που αποκαλύπτεται είναι η **N-ακετυλογαλακτοζαμίνη** που χαρακτηρίζει το **A αντιγόνο**.
- Αποτέλεσμα κάποια άτομα Ο ή Β να εμφανίζουν θετικότητα με αντι-Α αν χρησιμοποιηθούν ανθρώπειοι αντιοροί διότι οι οροί των ανθρώπων > των 6 μηνών περιέχουν **IgM φυσικά anti-Tn αντισώματα**
- Δεν αντιδρούν όμως με αυτόλογο ορό

# Επίκτητο A



## Επίλυση

- Χρήση μονοκλωνικών αντιορών
- Χρήση πρωτεολυτικών ενζύμων, που αποδομούν το κρυπτοαντιγόνο οπότε δεν αντιδρά με το αντι-A
- Χρήση διάφορων λεκτινών για την ταυτοποίηση των κρυπτοαντιγόνων



Blood Type AB

# B(A) Φαινότυπος

- Παρόμοια με επίκτητο B
- Ασθενείς ομάδας B, εμφανίζουν ασθενές A αντιγόνο
- Οι ασθενείς αυτοί έχουν υψηλά επίπεδα γαλακτοσυλτρανσφεράσης παράγοντας μεγάλες ποσότητες B αντιγόνου.
- Ανιχνεύεται με ένα μονοκλωνικό αντιορό από ποντικό, τον κλώνο MHO4.

## Επίλυση

Αν χρησιμοποιηθεί άλλος μονοκλωνικός, το τροποποιημένο A δεν ανιχνεύεται



