

Imunohematologické kazuistiky

identifikace antierytrocytárních protilátek

Miloslava Janoušková

Transfuzní oddělení nemocnice v Karlových Varech KKN a.s.



Screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům se provádí

- **u příjemců transfuzních přípravků, obsahujících erytrocyty**
- **u dárců krve a jejích složek**
- **u žen v těhotenství a po porodu**

Při pozitivním výsledku screeningu protilátek se provádí identifikace nepravidelných protilátek proti erytrocytům. U identifikované protilátky se posuzuje její klinická významnost. Klinicky významná je protilátka, která může způsobit zrychlenou destrukci signifikantního množství transfundovaných erytrocytů, nesoucích příslušný antigen.

Laboratorní metody používané na našem oddělení screening a identifikaci protilátek

- ▶ **Nepřímý antiglobulinový test (NAT) s použitím dg. erytrocytů resuspendovaných v roztoku o nízké ion-tové síle (LISS-NAT)**
- ▶ **Metoda sloupcové aglutinace (LISS-NAT)**
ID-karty LISS/Coombs
(výrobce a distributor f. Bio-Rad spol. s.r.o.)
- ▶ **Enzymový test (jednostupňový)**
- ▶ **Metoda sloupcové aglutinace (NaCl Enzym)**
ID-karty NaCl/Enzym
(výrobce a distributor f. Bio-Rad spol. s.r.o.)

Diagnostika, používaná na našem oddělení pro screening a identifikaci protilátek

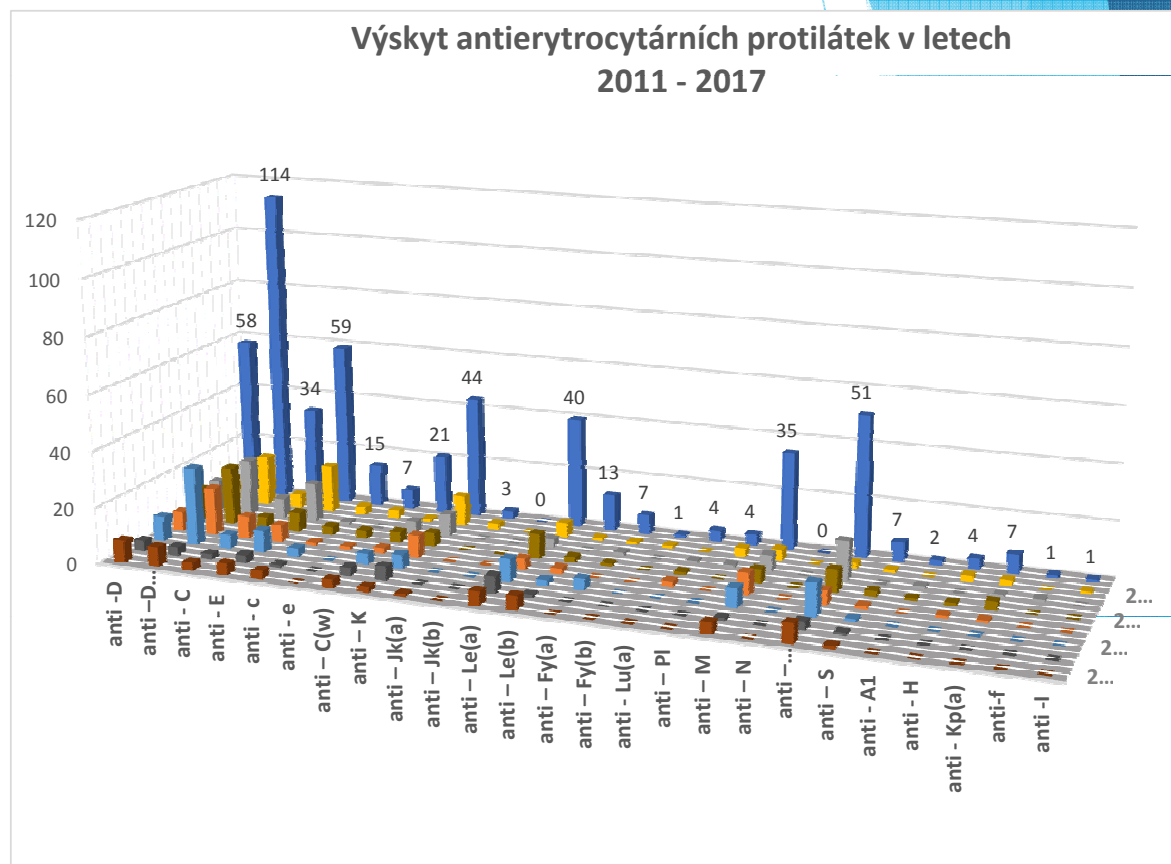
- ▶ **Diagnostické erythrocyty pro screening protilátek**
- ▶ **komerční CE certifikované screeningové panely**
- ▶ **Screening set 1+2, Screeningový panel 123**
(výrobce Sanquin Reagents B.V., distributor f. Exbio Olomouc s.r.o.)
- ▶ **Diagnostické erythrocyty pro identifikaci protilátek**
- ▶ **komerční CE certifikované identifikační panely**
- ▶ **Makropanel 16**
(výrobce Sanquin Reagents B.V., distributor f. Exbio Olomouc s.r.o.)
- ▶ **Set ID-DiaPanell**
(výrobce a distributor f. Bio-Rad spol. s.r.o.)

Diagnostika, používaná na našem oddělení pro screening a identifikaci protilátek



Počet identifikovaných specifických antierytrocytárních protilátek v letech 2011 - 2017

	ROK							Celkem:
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	
anti -D	8	4	9	7	12	11	7	58
anti -D profylaxe	7	3	28	17	21	20	18	114
anti - C	3	2	5	8	4	7	5	34
anti - E	4	3	8	6	7	14	17	59
anti - c	3	1	3	1	3	1	3	15
anti - e	0	0	0	1	3	0	3	7
anti - C(w)	3	3	4	2	4	4	1	21
anti - K	2	5	5	8	5	8	11	44
anti - Jk(a)	1	0	0	0	0	0	2	3
anti - Jk(b)	0	0	0	0	0	0	0	0
anti - Le(a)	5	6	8	4	9	3	5	40
anti - Le(b)	5	1	2	2	2	0	1	13
anti - Fy(a)	0	0	4	0	1	1	1	7
anti - Fy(b)	0	0	0	0	0	0	1	1
anti - Lu(a)	0	0	0	2	1	1	0	4
anti - Pl	0	0	0	0	0	1	3	4
anti - M	4	1	7	8	5	6	4	35
anti - N	0	0	0	0	0	0	0	0
anti - Wr(a)	7	3	12	5	8	14	2	51
anti - S	1	1	1	1	2	0	1	7
anti - A1	0	0	0	0	1	1	0	2
anti - H	0	0	0	1	1	0	2	4
anti - Kp(a)	0	0	0	1	3	1	2	7
anti-f	0	0	0	0	0	1	0	1
anti - I	0	0	0	0	0	0	1	1
celkem:	53	33	96	74	92	94	90	



1. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti - f

f antigen - patří mezi složené antigeny
(vyvolávají společně imunizaci a vedou k tvorbě protilátek, pouze když jsou v poloze cis (na společném autozomu daného páru),

Terminologie:

ISBT klasifikace: RH6 (004,006) Jiný název: ce,hr

Historie: Hlášený v roce 1956

Výskyt v populaci:

Kavkazská 65 %

Černoši 92 %

Asiaté 12 %

Haplotyp: Dce (R_o), dce (r), D^uce v cis poloze

Např. CDE/cde = f +

In vitro charakteristika : allo - anti – f

Třída imunoglobulinu: většinou IgG, občas IgM

Optimální technika:

zkumavkový test, test sloupcové aglutinace při t 37 °C, NAT, ET

Typ protilátky: přirozená – nepravděpodobné

imunní – ano

u osob, kde je Ag c a Ag e v trans poloze (na protilehlém autozomu Cde/cDE = f-)

Klinický význam :

HTR mírná, pozdní, hemoglobinurie

HON mírná

1. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti - f

**Pacient: muž 60 let, Asiat,
Dg: DM 2. typu na inzulinoterapii a PAD, směřován k TURP dne 19.9.2016,**

Imunohematologická anamneza:

8/2015 podány 2 TU ERY anemie při amputaci LDK pod kol. kloubem /screen. Ab neg., testy komp. neg./

7/2016 podány 3 TU ERY anemie urosepse při perm. močovém katétru

18.9.2016 žádáno předtransfuzní vyšetření a 2 TU EBR k dispozici

Výsledky žádanky :

01. 201744465	Příjem vzorku		: provedeno	
02. 201744511	Krev.skup.	KS zkumavkový test-STATIM	: A1+	
03. 201744512	Př.Coombs	PAT	: negativní	
04. 201744513	Scr.prot.	SCR protilátek gel NAT STATIM	: pozitivní	
05. 201744514	Scr.prot.	SCR protilátek gel enzym STATI	: pozitivní	
06. 201744515	Kříž.pok.	KP gel + enzym STATIM	(C20751620222310): test kompat. neg.	
07. 201744516	Kříž.pok.	KP gel + enzym STATIM	(C20751620224310): test kompat. neg.	

1. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti - f

Vyšetření imunohematologické ÚHKT 23.9.2016

KS: A1

Rh D: pozit.

Fenotyp Rh -Kell,Cw:

CCee Cw - Kell –

Typování erytrocytárních antigenů:

Jka + Jkb m. f.

Jk^a + Jk^{b+}

Fenotyp erytrocytů potvrzen genotypovou predikcí:

Rh(D) + Rh(C) + Rh(c) - Rh(E) - Rh(e) + Rh(Cw) - Kell – k +

M+ N - S - s+ Jk^a + Jk^{b+} Doa + Dob –

(P1- Le^a- Le^{b+} Lu^a- Lu^{b+} Fy^a + Fy^b - M+ N +/ N - S - s+)

Přímý antiglobulinový test:

PAT **sl. pozitivní (negativní)**

rozšířený PAT - IgG (++)

1. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti - f

Vyšetření imunohematologické ÚHKT 23.9.2016

Screening protilátek:

1. chladové

test s pupečnickovými erytrocyty	negativní
test sloupcové aglutinace	negativní

2. tepelné

LISS-NAT (Scr. prot Dg gel)	pozitivní
enzym (Scr. prot Dg gel)	pozitivní

AUTOPROTILÁTKOVÁ REAKCE:

autoreakce v NAT	pozitivní
autoreakce v enzymu	pozitivní

Závěr:

Sensibilizace erytrocytů IgG.

V séru průkaz aloprotilátky anti - f (ce v cis)

Doporučení pro transfuze: Erytrocyty f - (ce-), v tomto případě R1/R1 (CDe/CDe),

Cw -, Kell -, komp. v NAT.

1. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti - f

ERY
A 1 Rh +
CCD.ee | **K+** k
A 1 Rh +
CCD.ee | K- k+
A 1 Rh +
CCD.ee | K- k+
Cw-
A 2 Rh +
CCD.ee | K- k+
Fyb+ Cw-
A 1 Rh +
CCD.ee | K- k+
Fyb+ Wra- Cw
TP nebyly pož



Fya- Fyb+ Cw-
Fya- Fyb+ **Cw+**
Ja- Lub+ Fya+ Fyb+
Lua- Lub+ Fya+
ua- Lub+ Fya+

2 . kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti – P1

Pacient: muž 35 let,
Dg: Oboustranné srdeční selhání při FiS s rychlou komorovou odpovědi nejasného trvání,
Anemický syndrom

24.10.2017 žádáno předtransfuzní vyšetření a 2 TU k dispozici

Výsledky žádanky :

- | | |
|--|-------------|
| 01. 201744465 Příjem vzorku | : provedeno |
| 02. 201744511 Krev.skup. KS zkumavkový test-STATIM | : 0+ |
| 03. 201744512 Př.Coombs PAT | : negativní |
| 04. 201744513 Scr.prot. SCR protilátek gel NAT STATIM | : pozitivní |
| 05. 201744514 Scr.prot. SCR protilátek gel enzym STATI | : pozitivní |
| 06.201869304 Ident.prot. ID protilátek gel | : - P1 |

2 . kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti – P1

P1PK systém: 3 antigeny - P1,P^k,PIP4

Historie: Hlášený v roce 1927

Výskyt v populaci: antigen P 1

Kavkazská 79 %

Černoši 94 %

Asiaté 30 %

Síla antigenu se liší u jednotlivých jedinců.

In vitro charakteristika :

Třída imunoglobulinu: většinou IgM

Optimální technika:

Solný test, ET, RT

**Typ protilátky: přirozená nepravidelné
imunní – vzácně**

Klinický význam :

HTR velmi vzácně

HON ne

2 . kazuistika Identifikace protilátky alo – anti – P1

Vyšetření imunohematologické

KS: 0

Rh D: pozit.

Fenotyp Rh -Kell, Cw:

Ccee Cw - Kell –

Typování erytrocytárních antigenů:

Metoda sloupcové aglutinace:

ID-karta „Antigen Profil I,II“

ID- testovací serum M,N,S,s,Fya,Fyb f. Bio-Rad spol. s.r.o

P1 - Le^a - Le^b+ Lu^a +/- Lu^b -

M+ N + S + s - Fy^a + Fy^b +

Zkumavková metoda :

Anti-Lu^a (human) Anti-Lu^b(human) Bio-Rad spol. s.r.o

Lu^a - Lu^b -

2. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti – P1

Lutheran system - v současnosti je známo 22 antigenů tohoto systému, většina antigenů se vyskytuje v populaci ve velmi vysoké frekvenci. U různých jedinců je velmi variabilní síla antigenů.

Terminologie:

ISBT klasifikace: 005

Historie: Hlášený v roce 1945

Výskyt v populaci:

Genotyp	Fenotyp	Frekvence u kavkazské populace (%)	Frekvence u černošské populace (%)
Lu ^a Lu ^a Lu ^a Lu	Lu (a+ b-)	0,2	0,2
Lu ^a Lu ^b Lu ^b Lu ^b	Lu (a+ b+)	7,4	5,2
Lu ^b Lu ^b Lu ^b Lu	Lu (a - b+)	92,4	94,8
LuLu	Lu (a- b-)	< 0,01	< 0,01

In vitro charakteristika : anti – Lu^a a anti –Lu^b

Třída imunoglobulinu: IgG, IgM

Optimální technika:

Zkumavkový test, test sloupcové aglutinace při t 37 °C i při 20 °C NAT, ET

Typ protilátky: přirozená nepravidelná – VZÁCNĚ anti – Lu^a a anti – Lu^a Lu^b (anti – Lu³)
imunní – ano

Klinický význam: nejsou klinicky významné

HTR mírná, opožděná, anti – Lu^a zkrácené přežívání erytrocytů

HON nejsou klinicky významné

2. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti – P1

Vyšetření imunohematologické ÚHKT 22.11.2017

KS: 0

Rh D: pozit.

Fenotyp Rh -Kell, Cw:

Ccee Cw - Kell -

Typování erytrocytárních antigenů:

P + Lea – Leb+ Lua + Lub sl.+

Fenotyp erytrocytů potvrzen genotypovou predikcí:

Rh(C) + Rh(c) + Rh(E) - Rh(e) + Rh(Cw) - Kell – k +

Lu^a -+ Lu^b + M+ N + S + s - Fy^a + Fy^b + Jk^a - Jk^b+ Doa + Dob + Dia – Dib+ Coa+ Cob – Yta +Ytb-

Kpa – Kpb+

2. kazuistika

Identifikace protilátky alo – anti – P1

Vyšetření imunohematologické ÚHKT 22.11.2017

Screenink protilátek:

1. chladové

test sloupcové aglutinace

pozitivní

2. tepelné

LISS-NAT (scr. prot. DG gel)

sl. pozitivní

Identifikace protilátky: alo –anti –P1

Závěr:

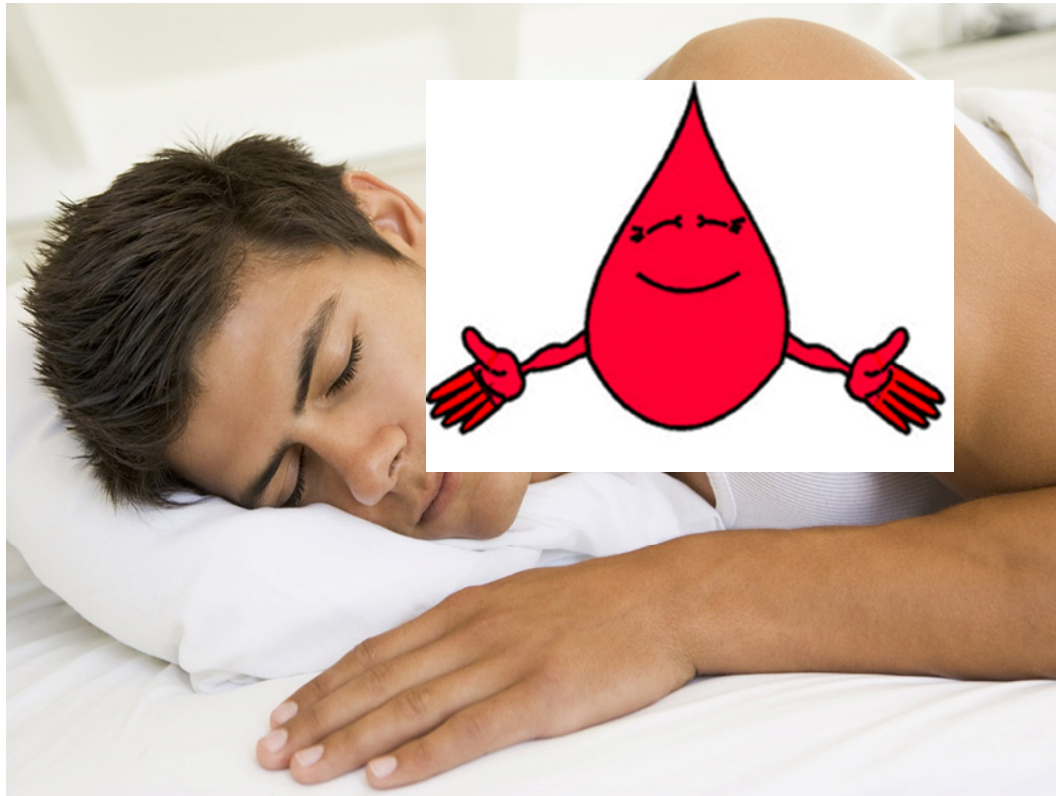
Prokazujeme aloprotilátku anti –P1, reagující v chlad. testech (v gel –NAT pouze stopy) a s rozdílnou silou podle exprese P1 antigenu.

Genotyp metodou Id CORE XT prokazuje přítomnost polymorfismů LU*A i LU*B. případná mutace způsobující pozorovanou zeslabenou expresi obou Lu antigenů / Lu(b) téměř nedetekovatelný/leží mimo oblast primerů tohoto kitu.

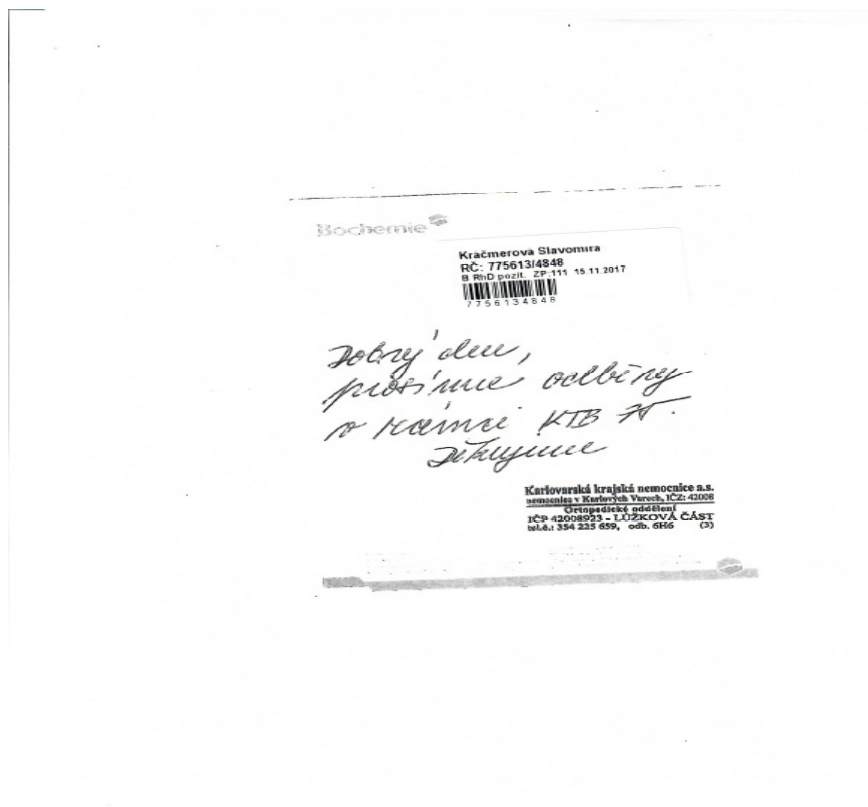
Doporučení pro transfuse: Erytrocyty P1- a dle Rh –Kell fenotypu, komp. v NAT.




Závěr:

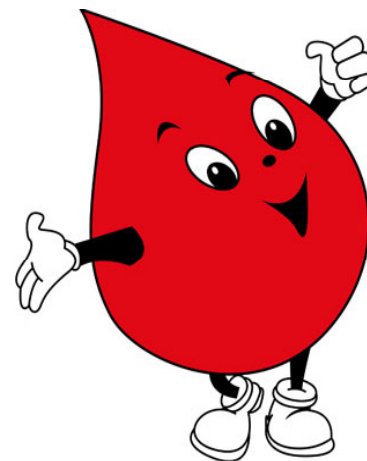


O správně vyplněné žádance?

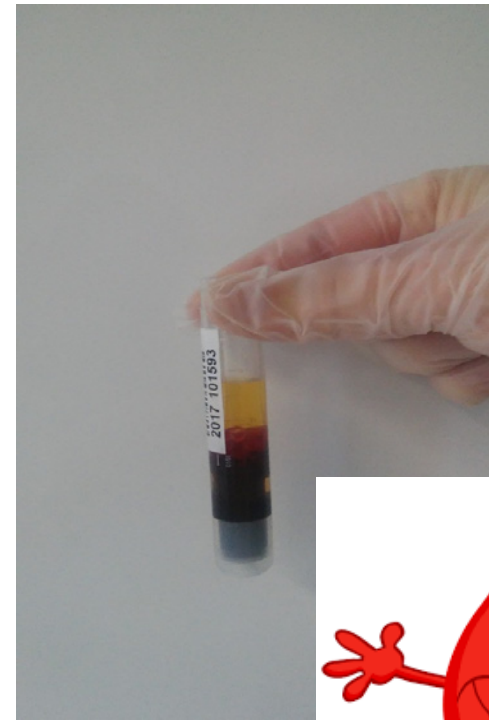


O správně vyplněné žádance !

 Karlovarská krajská nemocnice	KKN a.s. nemocnice v Karlových Varech Transfuzní oddělení Vítězná 10, 360 01 Karlovy Vary IČP: 42008992 odb.: 222 tel.: 354 225 453
ŽÁDANKA O LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ	
PACIENT (Ize nalepit identifikační štítek) JMÉNO, PŘÍJMENÍ: Slavomíra Kráčmerová ČÍSLO POJIŠTĚNCE: 7756134848 POJIŠŤOVNA: 111 DIAGNÓZA: D49.9	Žádanka číslo: (vyplní laboratoř)
MATERIÁL: <input checked="" type="checkbox"/> KREV <input type="checkbox"/> PUPEČNÍKOVÁ KREV	
ANAMNÉZA PACIENTA Krevní skupina: B Rh pozit. opis z dokumentace Počet porodů: 1 potratů: 0 Těhotenství (počet, týden gravidity) 2/40.týden Anti-D profylaxe: ano / ne (kdy): 15.9.2017 Počet předchozích transfuzí: 0 Potransfuzní reakce: ano / ne (kdy): Antierytrocytární protilátky: ano / ne (specifita): <input type="checkbox"/> VITÁLNÍ INDIKACE (pouze u TP) <input checked="" type="checkbox"/> STATIM (pouze u imunohematologie a TP) <input type="checkbox"/> RUTINA	
IMUNOHEMATOLOGIE <ul style="list-style-type: none"><input checked="" type="checkbox"/> Krevní skupina ABO RhD<input checked="" type="checkbox"/> Screening nepravidelných protilátek<input type="checkbox"/> Přímý antiglobulinový test<input type="checkbox"/> Vyšetření erytrocytárních antigenů<input checked="" type="checkbox"/> Test kompatibility<input type="checkbox"/> Vyšetření potransfuzní reakce<input type="checkbox"/> Opis krevní skupiny<input type="checkbox"/> Identifikace antierytrocytárních protilátek<input type="checkbox"/> Titrace antierytrocytárních protilátek<input type="checkbox"/> Vyšetření volných protilátek (anti-A, anti-B)<input type="checkbox"/> Vyšetření chladových protilátek *<input type="checkbox"/> Titrace chladových protilátek *<input type="checkbox"/> HLA B27 *	



O správně kvalitě odebraného vzorku ?



O imuno hematologickém vyšetření bez komplikací?!

TRANSFÚZNÍ STANICE Karlovarská krajská nemocnice a.s.
Výsledek imuno hematologického / předtransfúzního vyšetření

Číslo Žádanky: 201703212
Datum a čas odběru vzorku: 15.11.2017, 06:00

Datum Žádanky: 15.11.2017
Datum a čas příjmu vzorku: 15.11.2017-09:45

Pro pacienta: **775613/4848**

Kračmerová Slavomíra

B RhD pozit.

ZP: 111

DG: D400

Pro oddělení: 1/TO/Transfúzní odd.

Metoda	Výsledek
Krevní skupina ABO	B RhD pozit.
Screening protilátek	negativní
Screening protilátek	negativní
Křížový pokus	
C2075 17 202817 10 EBR B RhD pozit.	test kompat. neg. Platnost: 18.11.2017-09:51
Provedl: MUDr. Janoušková Miloslava	Uvolnil:
Razítko laboratoře:	



O imunohepatologickém vyšetření bez komplikací !

TRANSFÚZNÍ STANICE Karlovarská krajská nemocnice a.s.
Výsledek imunohepatologického / předtransfúzního vyšetření

Číslo žádanky: 201703212 Datum žádanky: 15.11.2017
Datum a čas odběru vzorku: 15.11.2017, 06:00 Datum a čas příjmu vzorku: 15.11.2017-09:45

Pro pacienta: **775613/4848 Kráčmerová Slavomíra B RhD pozit.**
ZP: 111 DG: D400

Pro oddělení: 1/TO/Transfúzní odd.

Metoda	Výsledek
Krevní skupina ABO	B RhD pozit.
Screening protilátek	pozitivní
Screening protilátek	pozitivní
Identifikace protilátek	anti - E
Typ. antigenu pacienta C	negativní
Typ. antigenu pacienta c	pozitivní +++
Typ. antigenu pacienta E	negativní
Typ. antigenu pacienta e	pozitivní ++++
Typ. antigenu pacienta Cw	negativní
Typ. antigenu pacienta K	negativní

Klíčový pokus C2075-17 202B17 10 EBR B RhD pozit. test kompat. neg. Platnost: 18.11.2017-09:59

Provedl: MUDr. Janoušková Miloslava

Uvolnil:

Razítko laboratoře:



Děkuji za pozornost.

