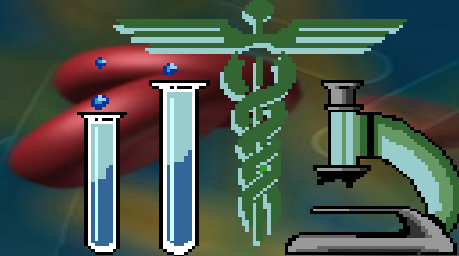


СКРИНИНГ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СПЕЦИФИЧНОСТТА НА АНТИЕРИТРОЦИТНИ АНТИТЕЛА

Д-р Жанина Йорданова Иванова дм,





Правила в Имунохематологията
История и настояще

Imelda M Bromilow
March 2008

Преглед

- От Ландщайнер до
- Ранните препоръки и
- Съвременните упътвания и насоки
 - Европа
 - USA
- ABO/Rh
- Улавяне на антитела
- крос мач

Karl Landsteiner (1868-1943)



- Роден във Виена, живее в Холандия до 1919, работи до 1922 в Ню Йорк.
- А, В + С (О) кр. групи - 1901.
- Награда Нобел - 1930
- Повишен интерес към вируса на полиомиелита!
- Работи в своята лаборатория до смъртта си, 75 г.
- Менделеево унаследяване на кръвните групи 1924 (Bernstein)

Ottenberg 1911

1. При трансфузии кръвните групи трябва да се вземат под внимание.
2. Резултатите от кросмача не са от голямо клинично значение, защото при трансфузии антителата са относително малко количество.



Reuben Ottenberg
J Exp Med 1911;13:425-38

ABO Типизиране - 1920

Използвайте само серуми от II и III група.

Бактериално замърсяване е недопустимо... серумите запазват активността си.



Бърз тест за клинични цели е достатъчен. Хемолизата може да не е от значение, но "rouleaux" реакцията да не се пренебрегва. (не се предвиждат контроли!)

Директен тест за пациент и донор е *разумна предпазна мярка.*

Повторните преливания могат да предизвикат непредвидени реакции. Анафилактичен шок е предполагаемата причина, но не и аглутинини.

Ръководство на "AABB" - 1958

Тест за съвместимост

Кросмач

Големият кросмач... Задължителен.

Малкият кросмач... Желателен.

Най-малко два метода се използват, единият да демонстрира наличие на антитела активни в солев разтвор, и другият да улавя непълните антитела.

Насоки на американската асоциация на Кръвните Банки (AABB 1978)

Неочаквани антигела

Всяка кръвна проба ... трябва да се изследва за НЕОЧАКВАНИ АНТИТЕЛА....

Методите трябва да улавят само значимите, свързани, хемолизиращи и аглутиниращи антигела, активни на 37°C и да се включва АГТ.

Рутинни тестове

Важен е тестът установяващ съвместимост с клетките на донора и серума на пациента (major crossmatch / голям кръсмач)

Не е необходим малък кръсмач (minor cross match).



ABO	Кръвна група-кръстосан метод
Rh	Anti-D, anti-CDE, „Du“ test.
СКРИНИНГ ЗА ВИСОКТИТЪР	IgG anti-A, -B
скрининг за антигела	IAT, ENZ, RT, 4°C, Albumin, LISS/ENZ
ТТИнфекции	Syphilis, Hepatitis B

Progress in Technical Expertise



1900's



1920. Portable!



Electric! 1958



Microsoft Corporation, 1978

Fast progress through word-processors to computers!

Fast progress in immunohematology/transfusion medicine also!

Напредък в Имунохематологията

- Автоматизация на кръвни групи / скрининг
- LISS техника (1970)
- 1988: въвеждане на ID-MTS
 - Стандартизирана техника
 - АГТ без промиване
 - Стабилни резултати
 - Повишена чувствителност
- Съкратени лабораторни процедури



Разумна и практична Имунохематология

- Важна цел при лабораторните тестове е да се осигури доход
 - Кръвопреливания
 - Бременности
- Икономичност
 - Тестове, които покриват разходите
 - Не се назначават излишни проби
 - Повишена употреба на автоматизация (добър стандарт, малко време, безопасност).

Препоръки за скрининг и идентификация на антитела

- Пациенти
 - Минимум ИАТ, никога с тест еритроцити пул
 - Минимум с 2 °O тест ер. (изключваме Ах)
 - По-добре е 3 °O тест ер., за да изключим антигените по инструкция: D, C, E, c, e, M, N, S, s, P1, Le^a, Le^b, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b (няма изискване за C^w, Lu^a, Kp^a в UK, за Kp^a има във Франция)
 - Клетки с двойна доза за D, E, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s.
- Донори
 - Разрешени са тест еритроцити-пул.

Насоки: Англия 2004



6.1. .. Скрининг за антитела трябва да се прави при всички пре-трансфузионни тестове

6.2.1 АГТ е най-подходящи за улавяне на клинично значими антитела, защото е бърз, чувствителен и специфичен.

Колонно аглутинационния метод е лесен, ясен и сигурен.

Методът в епруветка е със същата чувствителност, но изисква внимание при промиване и отчитане на резултатите

Препоръки за скрининг и идентификация на антитела

- Методът трябва да е насочен за потенциално значими антитела
- Да имаме предвид особености при етноси (Mi^a-Азия, Di^a в Япония-12% / China 5% / Южноамериканските индианци-36%)
- Рядко срещани антигени Yt^b
- Винаги да се внимава за променливата сила на антигени като P1, I, Le^a, която не е свързана с генната зиготност.

Скрининг

- Не е необходим за C^w и/или Kp^a?
Англия не е задължителен
Франция - Kp^a.
- Anti-C^w не е често срещан (1 in 1100 бременности)
 - 11 ХБН на 36 години, но никога тежка форма
 - няма описани в мед. литература ХТР
- anti-Kp^a са 'рядки' (1/1800)
 - 1 тежък случай на ХБН в 1994
 - 1 ХТР в 1990

Англия: 74% винаги използват C^w + v
48% Kp^a + еритроцити!

Честота на антителата към по-рядко срещаните антигени

Специфичност	Антигенна честота	Честота на антителата	Честота на несъвместимост
f (ce)	65%	0.02%	0.013%
Lu ^a	8%	0.2%	0.016%
C ^w ⁻	2%	1%	0.02%
Kp ^a	2%	0.17%	0.0034%
Wr ^a	0.1%	2%	0.002%
Js ^a	1%	0.17%	0.0017%

**По-висок за Чехия 5-6% ? За България?



USA: Инструкции за тест еритроцити

- Антигени:
C, D, E, c, e, M, N, S, s, P1, Lea, Leb, K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb.
 - Препоръчва се двойна доза (не се изисква) за C, D, E, c, e, Fya, Jka.
 - Няма наредба за рядките антигени
 - Рискът от значими ХТР, ако не са регистрирани са от 1 на 500,000 до 1 на 1 000 000 хемотрансфузии.

Идентификация на антитела

• Препоръки

- Винаги включвайте **Ензимен тест**
- Изберете панелна конфигурация с която максимално ще увеличите шанса за 'популярните' и смесени антитела
- Когато е възможно включвайте втори панел за потвърждение в помощ на различните варианти от специфичности
 - Или комплект като ID-Panel с 6 вида еритроцити
- Тест еритроцити със специфичности за маскираните антитела

Правила

- **Качествен контрол (КК / QC)**
 - **Ежедневни, нови серии, single tests**
 - стандартни за лабораторията / препоръчани от производителя
 - **Включени в СОП**
 - **Действие при проблем в QC**

DiaMed Quality Control "Basic"

Комплект от 2 проби, които се изследват точно както проби от пациенти.

Контроли АВО, D типизиране (за гр К+ и R1R2), скрининг за антитела (anti-D at 0.05IU/mL и слаб anti-Fy^a).

Може да се използва за мануален или автоматизиран метод на изследване.

Правила

- **Качествен контрол (КК / QC)**
 - **Ежедневни, нови серии, single tests**
 - стандартни за лабораторията / препоръчани от производителя
 - **Включени в СОП**
 - **Действие при проблем в QC**

Инструкции

- Quality Control трябва да се прави: Ежедневно за комбинирани или самостоятелни тестове
- **Всичко необходимо и включено в работните протоколи(СОП)**
- СОП да е ясен, без двусмислени термини
- *Цялата документация за*
- **тестове преди по време и след трансфузия**

WHY?

Обобщение: Какво, кога, защо?

- ◆ Трансфузионна комисия + инструкции.
- ◆ Моноклонални тест серуми
- ◆ Кръвна група и D тип x2 серума при първа проба
- ◆ Препоръки за различни проби
- ◆ Скрининг /идентификация на антитела
- ◆ Автоматизация и спешност
- ◆ Крос мач с ИАТ
- ◆ Документация СОП за всички действия по веригата на ХТ
- ◆ Одит

Скрининг за ирегулярни антитела при пациенти

- използвайте най-малко ИАТ или тест с еквивалентна чувствителност (мануален или автоматичен)
- и така: ИАТ в епруветка или карти, или ензим тест, или "Solidscreen" или ... - всичко възможно, но ИАТ се препоръчва
 - и за всеки един друг метод трябва да доказателства за еквивалентна чувствителност



6.2.1. LISS ИАТ се счита за най-подходящият тест за улавяне на клинично значими антитела, защото е бърз, чувствителен и специфичен.

Аглутинационният колонен метод показва, че е прост, ясен и на него можем да разчитаме. Течната фаза на епруветъчните методи имат еквивалентна чувствителност, но изискват внимателно промиване и отчитане.

Test sensitivity



- AHG test sensitivity by microcolumn card technique:
<100 IgG and 400-1000 C3dg per cell
- acute hemolytic reaction: >1000 IgG1 and >20000 C3bi per cell



sensitivity much below clinical threshold (10-20x)

И така, за скрининг на антитела...

- ИАТ с микроколонна техника трябва днес да е стандарт!

но с какви тест еритроцити?

USA (AABB) etc:

- > **Antigens:** C, D, E, c, e, M, N, S, s, P1, Le^a, Le^b, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b
- > **Preferable double dose** (not a requirement) for C, D, E, c, e, Fy^a, Jk^a

Sweden:

- > **Preferable double dose** for C, D, E, c, e, Fy^a, Jk^a, S, k

Рядко срещани антигени

Необходимост от Cw и / или Кра

- > UK, USA: няма изисквания!
- > France: изисквания за Кр^a
- > Честота на Cw в Чехия > обичайно 2%

А с кои тест еритроцити?

> **пациенти:**

- > 2-cell ID-DiaCell I-II са напълно подходящи ако ще правим крос мач
- > 3-cell ID-DiaCell I-II-III са необходими ако правим типизиране & скрининг (спазваме инструкцията за хомозиготни еритроцити)

Стойност: скрининг за антитела на пациенти

Преди – с тест в епруветка (набор от 2 вида еритроцити)

- > AHG
- > Coombs Control
- > parain
- > saline, tubes, washing...: >20%
- > total: 3 € (+ cells and dilutions)

Днес – гел карти (набор от 2 вида еритроцити)

- > LISS Coombs
- > total: 2.5 € (+ cells and dilutions)

**БЛАГОДАРЯ
ЗА ВНИМАНИЕТО**

