

**Кръстосана съвместимост (кросмач реакция);
микроимуноензимен тест; твърдофазов
метод (capture p) ; флоуцитометричен метод**

Д-р Жанина Йорданова Иванова дм,

Кросмач реакция

Чрез тромбоцитната кросмач реакция се определя съвместимостта с прилаганите тромбоцитни концентрати. Това е особено необходимо при пациенти с алоимунизация и неефективност на тромбоцитните трансфузии. Кросмачът с единични неподбрани донори на тромбоцити е от значение за осигуряване на трансфузии за алоимунизирани пациенти, които не са HLA типизирани ии при спешни случаи, докато се намери подходящ донор.

Микроимуноензимен метод

Методът е като този за определяне на тромбоцитни алоантитела, с малки модификации. Към микротитърната плака се прикрепят изследваните тромбоцити, с последващо добавяне на блокиращ буфер за блокиране на неспецифичната реакция и инкубиране. След добавяне на изследваните серуми следват инкубиране и промивни процедури, добавяне на заешки анти-човешки IgG, конюгиран с алкална фосфатаза и промивания с блокиращ буфер. Добавя се р-нитрофенил фосфат, разтворен в диетаноламинов буфер и след инкубация реакцията се спира с 1N NaOH. Отчита се автоматично на апарат за микроELISA. Използват се 9 отрицателни и една положителна (HRA-1A) контрола за всяка плака.

Твърдофазов метод (Capture p)

Кросмачът се извършва в твърдофазова микросистема, като към всяко гнездо на микротитърната плака се добавят изследваните тромбоцити. След центрофугиране и промивни процедури се отстраняват несвързаните с дъното тромбоцити. Добавя се среда с ниска йонна сила и серум от пациента или контролен серум. След инкубация и промивания се добавят индикаторни клетки (еритроцити), покрити с анти-човешко IgG. Наличието на компактен бутон от еритроцити на дъното на гнездото означава отрицателна реакция. Положителният серум означава хомогенно свързване на еритроцитите към гнездата. Изследването на кросмач за подбор на съвместими тромбоцитни концентрати чрез този метод е бърз и се извършва за 1-2 часа.

Флоуцитометричен метод

Флоуцитометричният метод на изследване може да бъде използван освен за определяне на тромбоцитни антитела при алоимунизирани пациенти и за тромбоцитни повърхностни клетъчни маркери, но и за тромбоцитен кросмач. Принципът се основава на откриване на имуноглобулините, абсорбирани/свързани към тромбоцитната повърхност, като се счита, че повече алоантигенни или донор-несъвместими тромбоцити свързват повече имуноглобулини от плазмата на реципиента.

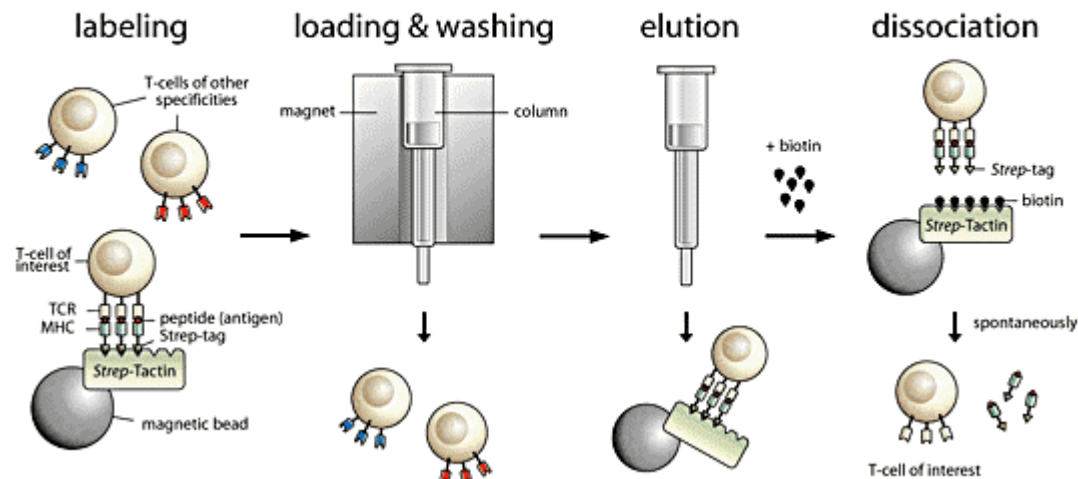
Пробите се инкубират с флуоресцентно маркирани (FITC маркирани F(ab)2) антитела, насочени срещу IgG, абсорбирани върху тромбоцитната повърхност. Високата степен на несъвместимост между донорските тромбоцити и плазмата на пациента се отчита като усилено свързване на F(ab)2-FITC антителата към донорските тромбоцити и сочи за неуспешна последваща трансфузия. Методът е бърз, точен и лесен за изпълнение, въпреки че има и някои ограничения.

Кръстосана проба за съвместимост

- ▶ **Crossmatch** тест - серологичен, флоуцитометричен, имуноензимен (ELISA)
 - ▶ В-клетъчен crossmatch - HLA клас I антитела
 - ▶ Т-клетъчен crossmatch - HLA клас II антитела

Streptamer Magnetic Beads

❄ 4 °C



БЛАГОДАРЯ ЗА ВНИМАНИЕТО

Д-Л Жанина Йорданова Иванова дм

