

Genotypizace erytrocytárních antigenů na pozadí jedné kazuistiky

Mgr. Jana Tylečková
TTO FN Brno

Genotypizace non-AB0, non-RhD erytrocytárních antigenů ve FN Brno

► Luminex 200

- anti-HLA I. a II. třídy pro orgánové transplantace
- typizace HLA I. a II. třídy metodou PCR-SSO
- detekce antitrombocytárních protilátek, vč. určení specifity

→ → Blood chip ID Core XT (dg. kit)

- 01-02/2021 zaškolení - ÚHKT, on-line školení firmou
- 04/2021 1. měření + verifikace (známé vzorky)
- 1x ročně účast EHK (Instand)
- 2023...? úprava SW

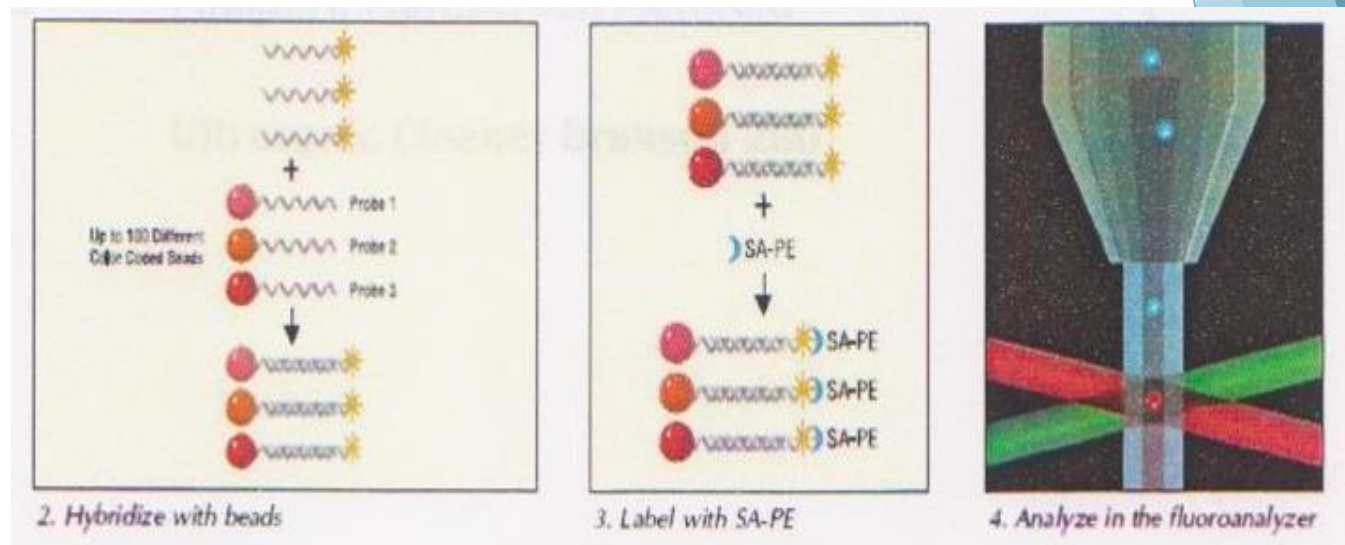
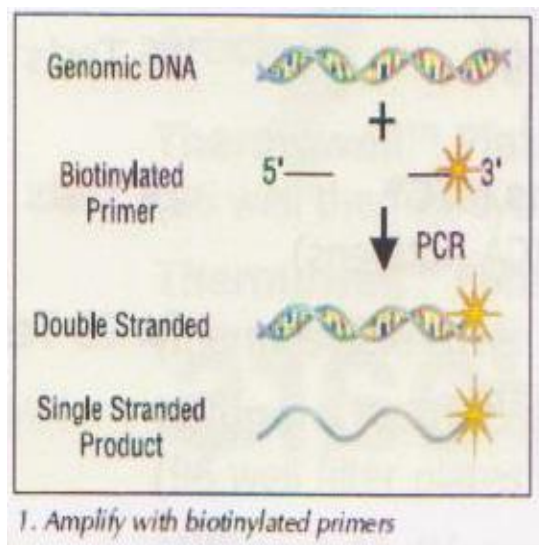
Blood chip ID Core XT

- ▶ Obsahuje 48 testů
- ▶ Analyzuje 29 polymorfismů
- ▶ Detekuje 37 erytrocytárních antigenů
- ▶ Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, Diego, Dombrock, Colton, Cartwright a Lutheran
- ▶ 4 reagencie



Blood chip ID Core XT - princip

- ▶ **xMAP** (multi-analyte profiling) technologie
 - ▶ simultánní analýza více analytů v jednom biologickém vzorku
- ▶ Amplifikace PCR-SSO
 - ▶ Denaturované PCR produkty se navážou na sondy na mikrokuličkách a detekuje se výsledná fluorescence (Luminex - princip flowcytometrie)



Kazuistika

- ▶ 48 letý pac. (M), země původu: Jemen, 0 RhD neg., po transfuzích
- ▶ OA: DM II. typu, chronická renální insuf. (dialýza), chron. srdeční selhání, esenciální hypertenze III. st., cholestatická hepatopatie, hemoragická gastropatie, anémie mikrocytární hypochromní,popáleniny
- ▶ Transfuz. anam. ve FN Brno (celkem 13x ERD + 1x P):
 - ▶ 09/2020 2x ERD
 - ▶ 06/21 screening i TK negat. (během 1t 5x ERD 0 RhD neg.: 4x typu rr K-, 1x r'r K+)
 - ▶ 11/21 screening **pozit.**, TK negat.

Identifikace protilátek 19.11.2021

VIAL	Donor No.	Rh	Rh-hr						Kell				Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS					Luth.	Colt.	Xg	SPECIAL TYPE		RESULTS	
			D	C	E	c	e	C*	K	k	Kp [±]	Js ^a	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	Lu ^a	Co ^b	Xg ^a		PAP	LISS/NAT		
1	2006990	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	+	+	0	nt	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+		1	4+	2+	
2	2006991	Ccddee r'r	0	+	0	+	+	0	0	+	0	nt	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+		2	4+	2+	
3	2006992	ccDee R ₀ R	+	0	0	+	+	0	0	+	0	nt	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	0		3	4+	-	
4	2006993	ccddEe r'r	0	0	+	+	+	0	0	+	0	nt	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+		4	1+	-	
5	2006994	ccDEE R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	0	+	0	nt	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	0		5	4+	1+	
6	2006995	C ^w CDee R ₁ ^w R ₁	+	+	0	0	+	+	0	+	0	nt	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0		6	4+	2+	
7	2006996	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	nt	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	0	0	+		7	1+	st.	
8	2006997	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	nt	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+		8	MF	st.	
9	2001203	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	nt	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+		9	MF	st.	
10	2001504	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	nt	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	0		10	MF	-	
11	2006998	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	0	nt	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	+		11	4+	2+	
EXTEND	12	2006999	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	nt	+	0	+	0	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+		12		
	13	2007000	ccDEE R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	0	+	0	nt	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+		13			
	14	2007001	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	0	nt	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+		14				
	15	2003650	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	0	nt	+	0	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	+		15		
																												AC		st.	

- ▶ reakce jako anti-D+C → v.s. anti-C+G nebo anti-G, + další příměs bez určení specifity (enzym. test a oj. v LISS-NAT)
- ▶ Vyšetřen fenotyp: ccee Cw- K-
- ▶ Dop. pro transfuze: kompatibilní erytrocyty typu rr Cw- K-

VIAL	Donor No.	Rh	Rh-ir						Kell				Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.	Colt.	Xg	SPECIAL TYPE		RESULTS	
			D	C	E	c	e	C ^u	K	k	Kp ^a	Js ^a	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	Lu ^a	Co ^b	Xg ^a			PAP	LISS/NAT
1	2007025	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	+	+	0	nt	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	1	4+	2+	
2	2007026	Ccddee r'r	0	+	0	+	+	0	0	+	0	nt	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	0	+	2	4+	2+	
3	2001137	ccDee R ₀ r	+	0	0	+	+	0	0	+	0	nt	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	3	4+	2+	
4	2007027	ccddEe r ¹ r	0	0	+	+	+	0	0	+	0	nt	+	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	4	MF	1+	
5	2007028	ccDEE R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	0	+	0	nt	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	5	4+	-	
6	2006884	C ^u CDee R ₁ ^u R ₁	+	+	0	0	+	+	0	+	0	nt	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	6	4+	2+	
7	2007029	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	nt	+	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	Bga(+)	7	MF	2+
8	2003747	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	nt	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	8	MF	-	
9	2007030	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	nt	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	+	9	MF	-	
10	2007031	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	nt	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	0	+	10	MF	2+	
11	2007032	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	0	nt	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0		11	4+	2+	
EXTEND	12	2007033	ccddeee rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	nt	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	12			
	13	2007034	ccDEE R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	0	+	0	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	0	+	13		
	14	2007035	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	0	nt	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	14		
	15	2006364	CCDee R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	0	nt	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+	15		
																											AC		1+	

Kazuistika

- 24.1.2022: provedena genotypizace erytrocytárních antigenů

Predikovaný fenotyp:

- Fy(a-b-) ???!!!

Blood Group System	Alleles Assayed	Genotype Result	Antigens (ISBT)	Predicted Phenotype Result
Rh	<i>RHCE*ce</i> <i>RHCE*Ce</i> <i>RHCE*cE</i> <i>RHCE*CE</i> <i>RHCE*CeCW</i> <i>RHCE*ceCW</i> <i>RHCE*CECW</i> <i>RHCE*ceAR</i> <i>RHCE*CeFV</i> <i>RHCE*CeVG</i> <i>RHCE*cEFM</i> <i>RHCE*ce[712G]</i> <i>RHCE*ce[733G]</i> <i>RHCE*Ce[733G]</i> <i>RHCE-D[5, 7]-CE</i> <i>RHCE*ce[733G,1006T]</i> <i>RHCE*cE[712G,733G]</i> <i>RHD*r's-RHCE*ce[733G,1006T]</i>	<i>RHCE*ce</i>	C (RH2)	0
			E (RH3)	0
			c (RH4)	+
			e (RH5)	+
			CW (RH8)	0
			V (RH10)	0
			hrS (RH19)	+
			VS (RH20)	0
			hrB (RH31)	+
Kell	<i>KEL*K_KPB_JSB</i> <i>KEL*k_KPB_JSB</i> <i>KEL*k_KPA_JSB</i> <i>KEL*k_KPB_JSA</i>	<i>KEL*k_KPB_JSB</i>	K (KEL1)	0
			k (KEL2)	+
			Kpa (KEL3)	0
			Kpb (KEL4)	+
			Jsa (KEL6)	0
			Jsb (KEL7)	+
Kidd	<i>JK*A</i> <i>JK*B</i> <i>JK*B_null(871C)</i> <i>JK*B_null(IVS5-1a)</i> <i>JK*A_null(IVS5-1a)</i>	<i>JK*A, JK*B</i>	Jka (JK1)	+
			Jkb (JK2)	+
Duffy	<i>FY*A</i> <i>FY*B</i> <i>FY*B_GATA</i> <i>FY*B[265T]_FY*X</i> <i>FY*A[265T]_FY*X</i> <i>FY*A_GATA</i>	<i>FY*B_GATA</i>	Fya (FY1)	0
			Fyb (FY2)	0
MNS	<i>GYP*A*M</i> <i>GYP*A*N</i>	<i>GYP*A*N</i>	M (MNS1)	0
			N (MNS2)	+
	<i>GYPB*s</i> <i>GYPB*S</i> <i>GYP.Mur</i> <i>GYPB*deletion</i> <i>GYPB*S_null(230T)</i> <i>GYPB*S_null(IVS5+5t)</i>	<i>GYPB*S, GYPB*S_null(IVS5+5t)</i>	S (MNS3)	+
			s (MNS4)	0
			U (MNS5)	+
			Mia (MNS7)	0
Diego	<i>DI*A</i> <i>DI*B</i>	<i>DI*B</i>	Dia (DI1)	0
			Dib (DI2)	+
Dombrock	<i>DO*A</i> <i>DO*B</i> <i>DO*B_HY</i> <i>DO*A_JO</i>	<i>DO*B</i>	Doa (DO1)	0
			Dob (DO2)	+
			Hy (DO4)	+
			Joa (DO5)	+
			Coa (CO1)	+
Colton	<i>CO*A</i> <i>CO*B</i>	<i>CO*A</i>	Cob (CO2)	0
			Yta (YT1)	+
Cartwright	<i>YT*A</i> <i>YT*B</i>	<i>YT*A</i>	Ytb (YT2)	0
Lutheran	<i>LU*A</i> <i>LU*B</i>	<i>LU*B</i>	Lua (LU1)	0
			Lub (LU2)	+



Kazuistika

- 24.1.2022: provedena genotypizace erytrocytárních antigenů

Predikovaný fenotyp:

- Fy(a-b-)

Genotyp:

- *Fy*B GATA homozygot*

- Dop. pro transfuze:

erytrocyty typu rr K- Fya- a také pokud možno s-

Sample comment:

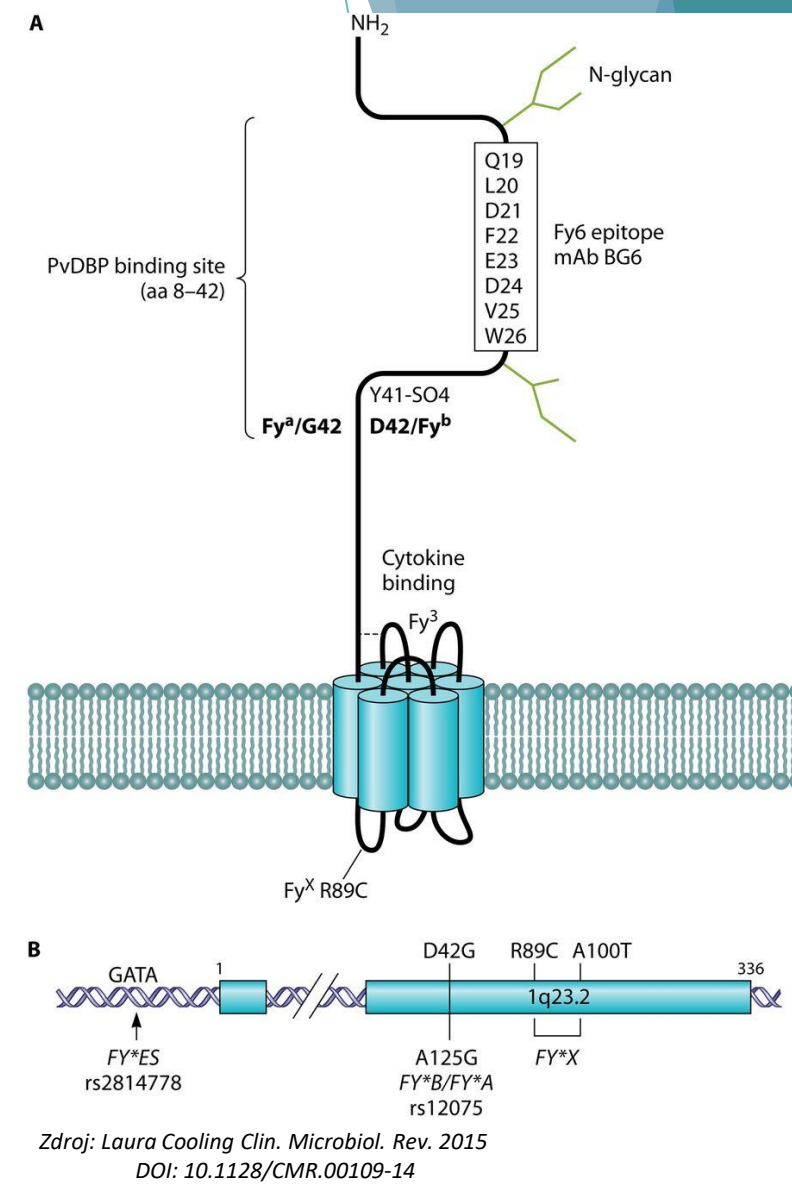
Blood Group System	Alleles Assayed	Genotype Result	Antigens (ISBT)	Predicted Phenotype Result
Rh	RHCE*ce	RHCE*ce	C (RH2)	0
	RHCE*Ce		E (RH3)	0
	RHCE*cE		c (RH4)	+
	RHCE*CE		e (RH5)	+
	RHCE*CeCW		CW (RH8)	0
	RHCE*ceCW		V (RH10)	0
	RHCE*CECW		hrS (RH19)	+
	RHCE*ceAR		VS (RH20)	0
	RHCE*CeFV			
	RHCE*CeVG			
	RHCE*cEFM			
	RHCE*ce[712G]		hrB (RH31)	+
	RHCE*ce[733G]			
	RHCE*Ce[733G]			
Kell	KEL*K_KPB_JSB	KEL*k_KPB_JSB	K (KEL1)	0
	KEL*k_KPB_JSB		k (KEL2)	+
	KEL*k_KPA_JSB		Kpa (KEL3)	0
	KEL*k_KPB_JSA		Kpb (KEL4)	+
			Jsa (KEL6)	0
Kidd	JK*A	JK*A, JK*B	Jsb (KEL7)	+
	JK*B		Jka (JK1)	+
	JK*B_null(871C)		Jkb (JK2)	+
Duffy	JK*B_null(IVS5-1a)	FY*B_GATA		
	JK*A_null(IVS5-1a)		Fya (FY1)	0
	FY*A		Fyb (FY2)	0
	FY*B			
	FY*B_GATA			
	FY*B[265T]_FY*X			
MNS	FY*A[265T]_FY*X	GYPA*N	M (MNS1)	0
	FY*A_GATA		N (MNS2)	+
	GYPA*M		S (MNS3)	+
	GYPA*N		s (MNS4)	0
	GYPB*s		U (MNS5)	+
	GYPB*S		Mia (MNS7)	0
	GYP.Mur			
Diego	GYPB*deletion	GYPB*S, GYPB*S_null(IVS5+5t)		
	GYPB*S_null(230T)			
Dombrock	GYPB*S_null(IVS5+5t)	DI*B	Dia (DI1)	0
			Dib (DI2)	+
	DO*A		Doa (DO1)	0
	DO*B		Dob (DO2)	+
Colton	DO*B_HY	DO*B	Hy (DO4)	+
	DO*A_JO		Joa (DO5)	+
			Coa (CO1)	+
Cartwright	CO*A	CO*A	Cob (CO2)	0
	CO*B		Yta (YT1)	+
Lutheran	YT*A	YT*A	Ytb (YT2)	0
	YT*B		Lua (LU1)	0
	LU*A	LU*B	Lub (LU2)	+
	LU*B			

Krevně skupinový systém Duffy

- ▶ 5 antigenů (dle ISBT)
 - ▶ Fy^a/Fy^b (Gly42Asp), Fy^3 , Fy^5 , Fy^6
- ▶ Transmembránový glykoprotein ACKR 1 (Atypical Chemokine Receptor 1, dříve DARC)
 - ▶ Receptor pro chemokiny
 - ▶ Receptor pro *Plasmodium vivax* a *Plasmodium knowlesi*
- ▶ Výskyt: erytrocyty + další tkáně (endotel, ledviny, plíce, střevo, slezina...)

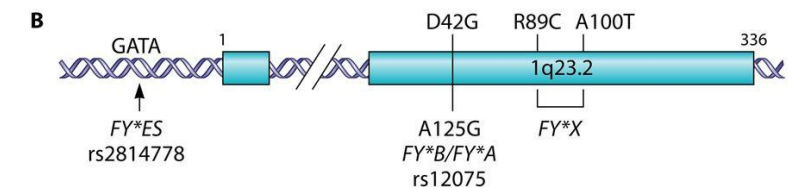
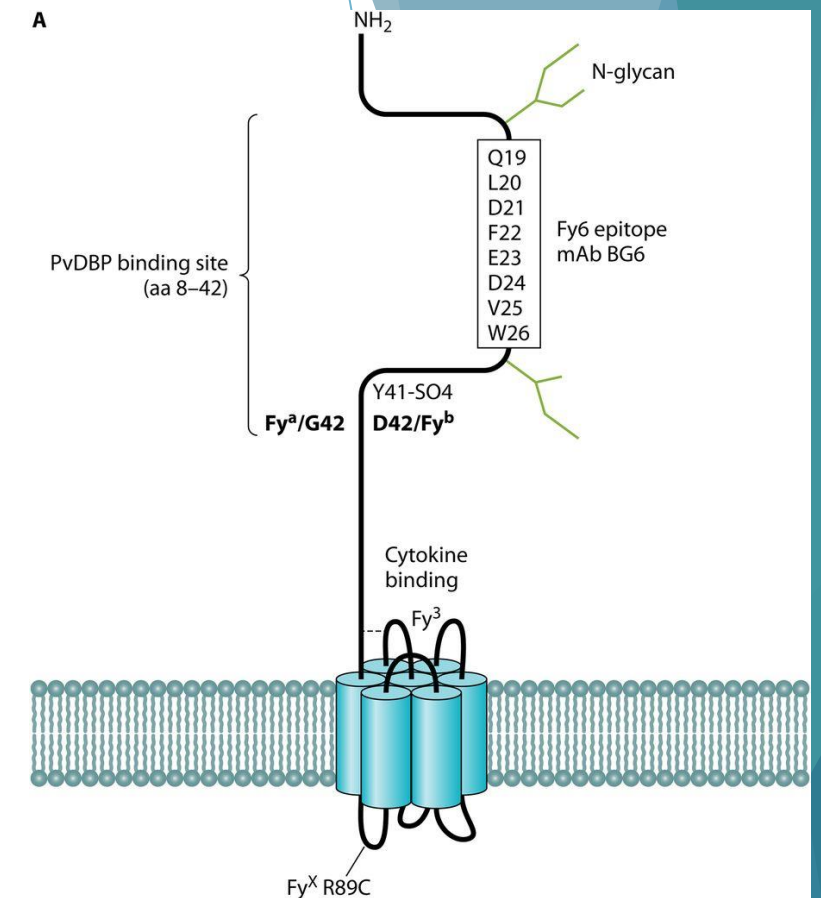
Prevalence %			
Red cell phenotype	Caucasians	Blacks	Alleles
$Fy(a+b-)$	20	10	$FY^{*}01/FY^{*}01$ or $FY^{*}A/FY^{*}A$
$Fy(a-b+)$	32	20	$FY^{*}02/FY^{*}02$ or $FY^{*}B/FY^{*}B$
$Fy(a+b+)$	48	3	$FY^{*}A/FY^{*}B$
$Fy(a-b-)$	Rare	67	$FY^{*}/N.01-05$, $FY^{*}/N.01-02$
Fy^3	100	32	
Fy^5	99.9	32	
Fy^6	100	32	

Zdroj: Duffy Antigens and Malaria: The African Experience
DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.102014>



Krevně skupinový systém Duffy (a jak je to s *Fy*B GATA*)

- ▶ Gen *FY(ACKR1/DARC)* lokalizován na dlouhém raménku chromozomu 1
- ▶ Mutace v oblasti erytroidního promotoru GATA - brání vazbě erytroidně-specifickému transkripčnímu faktoru GATA 1
 - ▶ Na erytrocytech fenotyp *Fy(a-b-)*
- ▶ *Fy*A GATA*
 - výskyt Papua Nová Guinea, Súdán
 - antigen *Fy(a)* exprimován na nonerytroidních tkáních, nevytvoří se protilátka anti-*Fy(a)*
- ▶ *Fy*B GATA*
 - převládá v africké populaci
 - antigen *Fy(b)* exprimován na nonerytroidních tkáních, nevytvoří se protilátka anti-*Fy(b)*



Zdroj: Laura Cooling Clin. Microbiol. Rev. 2015
DOI: 10.1128/CMR.00109-14

Závěr

- ▶ Genotypizace dalších (non AB0, non RhD) erytrocytárních antigenů lze použít v případech:
 - ▶ kde nelze spolehlivě vyšetřit fenotyp
 - ▶ u pac. recentně po transfuzi
 - ▶ silná pozitivita PAT (AIHA, HON)
 - ▶ u nejasností/diskrepancí při serologickém vyšetření
 - ▶ při nedostupnosti serol. diagnostik (např. Colton, Dombrock, Diego...)
 - ▶ Pro zajištění co nejlepší kompatibility pro specifické příjemce - např. u pac. s protilátkou jako prevence tvorby protilátek další specifity, u AIHA, pac. s MM léčení monoklonální protilátkou (DARA, Magrolimab)
- ▶ Pomůže odhalit některé mutace
- ▶ Nerozezná všechny mutace, někdy nutné zaslat vzorek na sekvenaci

Děkuji za pozornost

