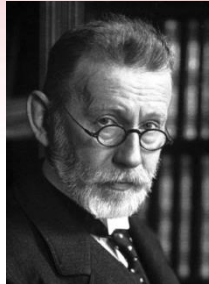


Autoimunitní hemolytické anémie z pohledu imunohematologa

Alena Pejchalová, Hana Zemanová
TTO FN Brno

Autoimunitní hemolytické anémie (AIHA)



- Vzácná získaná autoimunitní onemocnění
 - Prevalence 1-2 lidé na 100 000 obyvatel
- Příčina extrakorpuskulární - protilátky proti epitopům (proteiny nebo sacharidy) autologních erytrocytů s předčasnou destrukcí erytrocytů
 - První popis příznaků Galén r.150
 - První koncept destrukce erytrocytů r.1871
 - Definice mechanismu hemolýzy (imunizace) Ehrlich r.1899
 - Přesný popis PCH r.1900 (D-L test u 90 % syfilitiků)
 - Studie patofyziologie nemoci pokračují doposud

Diagnostikování

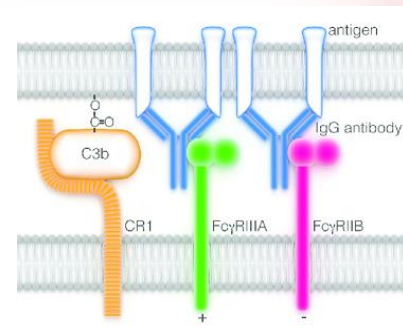
- Suspicion na nemoc na základě klinického nálezu
 - Odlišný fyzikální nález dle mechanismu hemolýzy (obvykle ikterus, splenomegalie u anemického pacienta)
 - Obvykle u pacienta bez předchozí anemie
- Komplex laboratorních vyšetření
 - Hematologická, biochemická, imuno hematologická aj.
 - Jejich interpretace v kontextu s klinickým nálezem
 - Zvýšený transfuzní režim jako možný indikátor hemolýzy
- Idiopatické vs. získané onemocnění
 - Infekce, toxiny, systémové, onkologické, kožní nemoci aj.

Klasifikace dle typu protilátky

- AIHA s tepelnými protilátkami (WAIHA, optimum 37°C)
 - Izotyp IgG důležitý pro aktivaci komplementu
 - IgG1+IgG3 vs. IgG2+IgA vs. IgG4
 - Většinou nekompletní aktivace C po degradaci na fragmenty C3c/C3d
- AIHA s chladovými protilátkami (CAD, optimum 4°C)
 - Monoklonální IgM u primární nemoci
 - Polyklonální IgM u sekundární nemoci
 - Častá kompletní aktivace C s C6-9 lytickým komplexem
- Paroxysmální chladová hemoglobinurie (PCH)
 - IgG hemolyzin působící dvoukrokově při 0°C a 37°C
- AIHA poléková (DIHA)
 - Protilátky proti léku nebo jeho metabolitům a/nebo klasické tepelné autoprotiátky

Patofyziologie

- Destrukce/hemolýza erytrocytů v důsledku vazby protilátky a/nebo komplementu na antigenní determinant
 - Intravaskulárně
 - Dominantně u PCH a CAD, vzácně u WAIHA
 - Přes CR1 erytrocytů /nosič Knops
 - Jen některé protilátky: auto + AB0, Jk, Vel, Le^a, PP₁P^k
 - Extravaskulárně
 - Převážně u WAIHA, také CAD
 - Přes FcγR I-III sleziny – expresi reguluje INF – závislost na ADCC
 - Přes CR1 receptory makrofágů jater
 - IgA FcR působení v destrukci nejasné
 - Vychytávání senzibilizovaných erytrocytů příslušnými receptory
 - Kompletní destrukce erytrocytu/ i.v. hemolýza vs. ztráta části membrány/změna tvaru/ fagocytóza

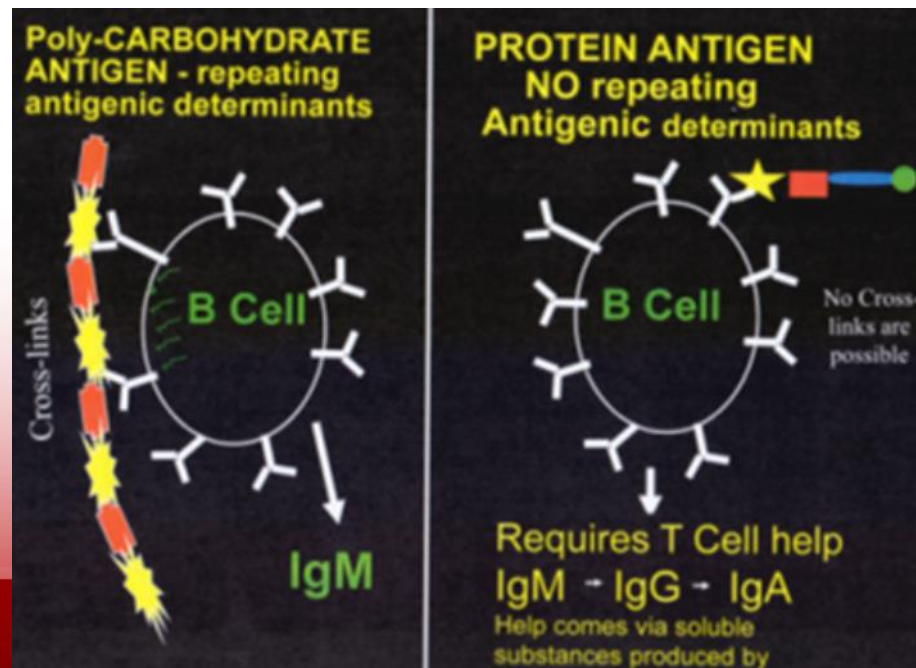


- Antigeny T- independentní

- Polysacharidové sloučeniny, polymery, polyklonálně aktivují B bb.
- Stimulují imunitní odpověď až ve vysokých dávkách
- Většinou mikrobiální původ
- Aktivují B bb. bez MHC-T pomoci

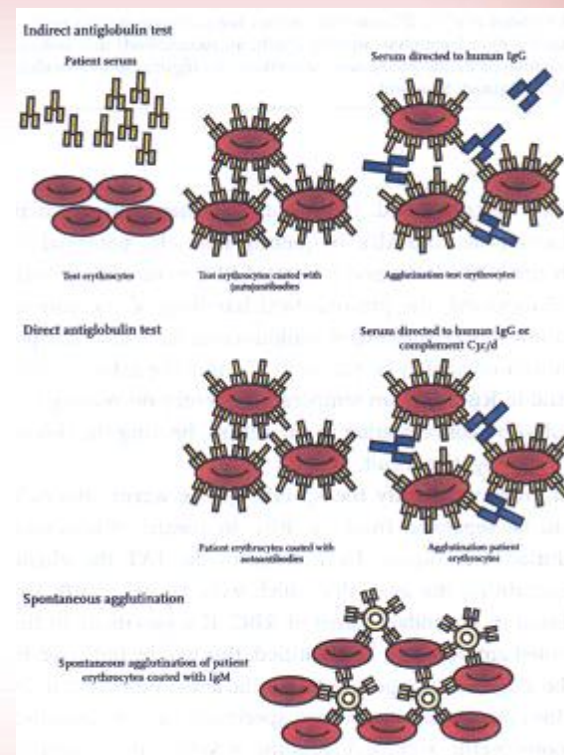
- Antigeny T- dependentní

- V komplexní struktuře obsahují proteiny
- Stimulují imunitní odpověď již v nízkých dávkách
- Cizí nebo alterované autologní proteiny
- Prezentace antigenu vyžaduje pro aktivaci B bb. pomoc T_h bb.



Imunohematologická vyšetření

- Cíl: Průkaz autoprotilátky
 - na erytrocytech
 - v plazmě
 - v eluátu
- 1. PAT /protilátky senzibilizují erytrocyty in vivo
- 2. NAT /volné protilátky v plazmě nebo eluátu
 - Hodnotí se aglutinace nebo hemolýza
 - Antiglobulin s anti-IgG, -C3d/povinné složení
 - Běžné screeningové testy
 - Při 37°C /tělesné teplotě
 - Včetně enzymových testů



Imunohematologická vyšetření

- Při pozitivitě screeningového testu identifikace protilátky pro objasnění její specifiity
 - Panspecifické - Panspecifické+Rh specifické (anti-e,-Ce) - Rh specifické (anti-f, -Ce, -e)

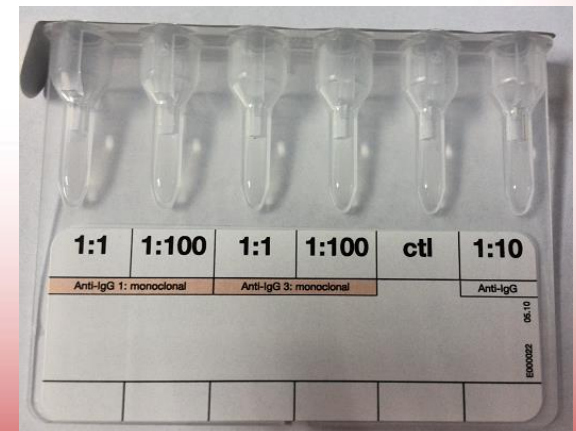
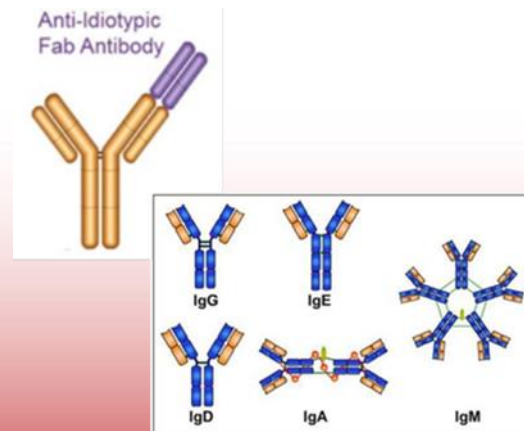
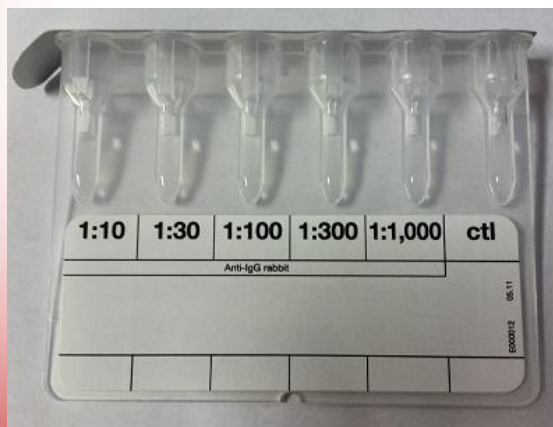
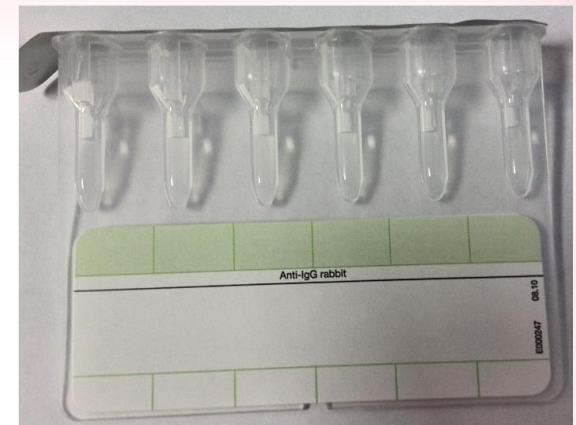
3. Test pro detekci chladové protilátky

- Screeningový solný test při 20°C /pool erytrocytů
 - Při pozitivním výsledku odlišit patologickou chladovou protilátku od benigního chladového aglutininu
 1. Titr ≥ 512 zkumavkový test 4°C (proti alogenním i autologním erytrocytům)
 2. Teplotní reaktivita protilátky dosahuje 30°C
 - Současně průkaz anti-I (pupečnickové erytrocyty /solný test při 20°C)
- ! Nemusí se jednat o protilátky v rámci CAD (booster efekt tepelných protilátek - negativní reakce v testu 20°C po jejich odstranění tepelnou adsorpcí)

- Stanovit význam protilátky – typ probíhající hemolýzy, předpokládaná odezva na transfuze
 - Chladový typ
 - Tepelný typ
 - Kombinace obou typů
- Určit množství protilátky vázané na erytrocytech i volné v plazmě
 - Titr/ředění AGH + určení titračního skóre (vs. FCM)
 - × Ze síly 1. reakce nelze získat validní informace
 - × Nepřeceňovat kvantifikaci, ne vždy je přímá souvislost množství protilátky s hemolýzou
- Odlišit imunologický typ protilátky
 - Auto vs. aloprotilátky /transfuziologický význam /adsorpce-eluce
 - IgM vs. IgG /diagnostický význam/ redukční činidla DTT, termodestrukce

Správná diagnóza = vyšetření zhodnotit v kontextu klinických i laboratorních nálezů. Senzitivita PAT 99 %, specifita 92 %.

Další specifikace protilátek pomocí antiizotypových, antiidiotypových, antikomplementových protilátek



Stručná sérologická charakteristika AIHA

	Abs v plazmě	PAT	Abs v eluátu	Specifita Ab
WAIHA	IgG (+A/M)	IgG/C3	IgG	panreaktivní (+ anti-e)
CAD	IgM	C3	nereaktivní	I-i-Pr
PCH	IgG	C3	nereaktivní	P
Kombinovaná	IgG,M	IgG/C3	IgG	panreaktivní
Léky	IgG	IgG/C3	IgG	často odvozené od Rh

PROTILÁTKY PROTI ERY. TYPU											<i>Solving test 40°C</i>				
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512					
<i>Vkroš! inf</i>			###	###	###	##	##	#	#	#	#	+	+	+	+
Bromelin															
<i>lysoz.</i>			##	##	#	#	+	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-

1258 12 S 1258 12 S

1406 B 1406 B

19G - 19G -

19A - 19A -

19M - 19M -

19C - 19C -

19D - 19D -

19H - 19H -

20°C Hum. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813,

20°C Hum. 1, 2, 3, 4
Profilový profilový skup. 0
solný test: # + # #
popelnový test:
bromolínový test:
USS/MAJ
cordings =

37°C 2 hr 20 min 1, 2, 3
Profilový profil. skup. 0
solný test:
populový test!
bramolinový test: H H H
USS/NAT - - H 195

Pos	Volumen in Liter	
1	1404 B	—
2	1404 B	—
3	1404 B	—
4	1404 B	—
5	1404 B	—
6	1404 B	—
7	1404 B	—
8	1404 B	—
9	1404 B	—
10	1404 B	—
11	1404 B	—
12	1404 B	—

180 31-05-2011

1320 11 S

RIGOP1

21.04. 30°C

Prokřídky proti erys. skup. 1, 2, 3

solný test: # # #

popelnový test:

bromelinový test:

USS/NAT

21.04. 28°C

Prokřídky proti erys. skup. 1, 2, 3

solný test: # # #

popelnový test:

bromelinový test:

USS/NAT

15G. 15A 15H. C3d. C3e 4L

10°C 21.04.

15G. 15A 15H. C3d. C3e 4L

10°C 21.04.

Vyšetření WAIHA

Profil	Vyslání protibátak	USSR	NAT
posl. vys. 0	DP	DP	NAT
1. C #	DP	#	
2. T #	DP	#	
3. F -	DP	#	
4. Z #	DP	#	
5. K -	DP	#	
6.	DP	#	
7. 196 #	DP	#	
8. C #	DP	#	
9. C #	DP	#	
10.	DP	#	
11.	DP	#	
12.		#	

Profilátky proti arys. stup. 0 20°C suchy
solný test: 1 2 3 4
papainový test: — — — —
bromelinový test: — — — —
USS/NAZ

3007 14S

F2N

Eggs by elect

1, 2, 3

Profilicity post arys. ship. 0

acty test

proctory test

transitory test

USS/NAT

1406 JIR

Eggs by elect

1, 2, 3

Profilicity post arys. ship. 0

acty test

proctory test

transitory test

USS/NAT

3007 14S

7AT. 1

1gG1

1.1 1.100

1gG3

1.1 1.100

chl

1gG

1.10

1gG

1.10

PAT

1gG

1.10 1.30 1.100 1.300 1.1000

chl

NAT

hemaggl. by E. 2

3x propinquo

+ plasma Thellier

1gG

1.10 1.30 1.100 1.300 1.1000

chl

Transfuzní léčba

- Komplikovaná situace, vyžaduje čas na došetření
 - Problémy při stanovení krevní skupiny aj. antigenů
 - Hlásí je i při ověření skupiny u lůžka pacienta
 - Vyžadují zařazení promývacích kroků
 - Genotypizační vyšetření při alteraci antigenů
 - Problémy při vyšetření nepravidelných protilátek
 - Adsorpční techniky /auto vs. aloadsorpce/zvláště transfundovaní pacienti
 - Eluční testy
 - Většinou inkompatibilní transfuze
 - Alespoň v základních antigenech shodné s pacientem
 - Bez antigenu odpovídajícího aloprotilátce (15-43 % pacientů aloimunizovaných)
 - Respektovat hemolyzující auto-anti-e /R2R2 dárce
 - ? Testy kompatibility po adsorpci autoprotilátky
 - ? Tolerance transfuze pacientem a potransfuzní hemolýza / hyperhemolýza
 - ? Riziko potransfuzní imunizace

Indicie pro „AIHA problém“

CAD

- Spontánní aglutinace erytrocytů při 20° nebo 30°C
- Hemolýza v testu s enzymovanými erys při 20°+30°C
- Komplikace při typizaci antigenů
- Klinicky hemolytická anemie + protilátky 20°+37°C negativní + PAT pozitivní (PCH)
- Cave kvalita vzorku – udržet teplotu 37°C, neponížit protilátku

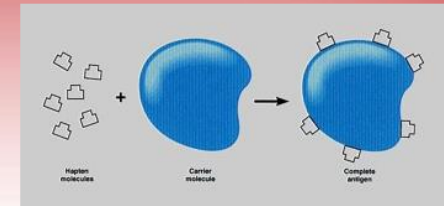
• WAIHA

- Komplikace při vyšetření protilátek + v testech kompatibility
- Komplikace při vyšetření antigenů
- Klinicky hemolytická anemie + PAT negativní (eluát?)

Poléková AIHA

- Heterogenní skupina nemocí (autoimunita + alo-like imunita)
- 1 : 1 000 AIHA
- 1 : 1 000 000 lidí
- Známých přes 150 provokujících léků
 - Lék jako pravděpodobná příčina (po vysazení příznaky mizí)
- Dif. dg. složitá = verifikace léku jako příčiny hemolýzy/ průkaz protilátek
 1. Lék-dependentních (přidání léku je nutné k průkazu v in vitro reakci)
 2. Lék-independentních (autoproti látky jsou sice navozené lékem, ale k prokázání reaktivity nevyžadují přidání léku)
 - Průkaz v praxi obtížný: často kombinace nálezů, neimunitní vazba léku, přítomnost koincidentní AIHA; testy in vivo nelze provádět

Imunitní odpověď na léky



Závisí na faktorech ovlivňujících vznik konjugátu lék + protein

- Charakter nosičské molekuly (lék = hapten pro proteinové struktury)
- Stupeň konjugace protilátky s makromolekulou (epitopová denzita proteinu)
- Typ chemických vazeb mezi nimi (nízkoafinitní = slabé kovalentní)

? Jak tedy léky fungují při vzniku protilátek

- Několik původních hypotéz - rigidní ilustrativní schéma
 1. Typ adsorpce léku (PNC typ, protilátky jen proti léku)
 2. Typ nonpenicilinový (imunokomplexový, protilátky proti části léku i proti membráně erytrocytu)
 3. Typ pravých autoprotiátek (methyldopový, protilátky proti membráně erytrocytu)
 4. Typ nonimunitní (antialbuminový, pasivní adsorpce)

Imunitní odpověď na léky

– Později jednotný koncept

pro typy 1.- 3. / zachován samostatný 4. nonimunitní typ

1. krok: Komplex lék nebo jeho metabolit + nosičská makromolekula

→ konjugát **lék + membránový protein**



2. krok: Změna složení membrány → vznik nového epitopu

„neoantigen“



3. krok: Proti tomuto cizímu imunogenu se tvoří protilátky

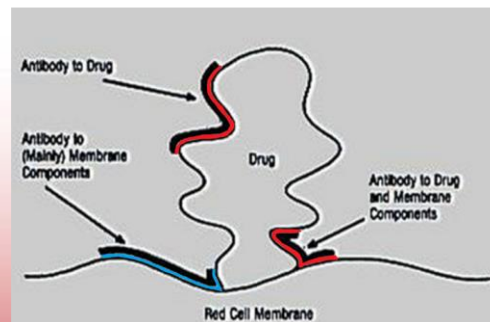
- Lék-dependentní (adsorpce + nonpenicilinový typ)
- Lék-independentní (typ pravých AIHA autoprotilátek)

- Lék-dependentní protilátky

- Specifita určená částí léku nebo společnou částí léku i membrány
- Vazba protilátky na samotný lék nebo na membránu nefunguje
- Hemolýza po velké i malé dávce léku
- PAT IgG+ a/n C3+
- Reagují v přítomnosti léku, jen vzácně je in vitro lze navázat na erytrocyty, s enzymy zesílení reakcí

- Lék-independentní protilátky

- Navozené alterací membrány lékem-vazebná místa se však nemění
- Epitopem jsou proteiny membrány
- Podobné pravým autoprotiátkám
- Vazba protilátky na pacientovy i na normální erytrocyty, neodliší se od WAIHA
- PAT IgG+
- Reakce nevyžaduje přítomnost léku



Obvykle se u jednoho pacienta kombinuje více mechanismů

Diagnóza polékové AIHA

- Opírá se o anamnestickou informaci o požití léku
- Po vysazení léku zlepšení klinického i laboratorního nálezu
- Rekurentní nemoc po opakovaném nasazení léku
- Chybí typický imunohematologický nález
 - Většinou tepelný typ autoprotilátek
- Testy s použitím léku – sérum reaguje v přítomnosti léku nebo s erytrocyty konjugovanými s lékem
 - Pro in vitro průkaz obvykle nelze navázat lék na erytrocyty
 - Průkaz při reakci lék + erytrocyty + protilátka (sérum pacienta)
- Transfuze jako u AIHA s tepelnými protilátkami

Kazuistika



Kazuistika

- Donošený, zdravý 2,5 měsíční chlapec
- Doma spavý, žluté zbarvení kůže a sklér
- Laboratorní parametry
 - Hb 56 g/l, ery 1,40 T/l, HTK 0,15 %, MCV 105 fl, rtc 740 x10⁹/l, LFR 58 MFR 19 HFR 22 %, anisocytóza
 - bilirubin 65 umol/l, LD 20 ukat/l
- Klinicky málo vyjádřený anemický syndrom
- Pracovní diagnóza hemolytické anemie
- Anamnéza negativní?
 - Absolvoval 2. dávku povinného očkování hexavakcinou před 14 dny
 - záškrť, tetanus, dávivý kašel, hepatitida B, haemophilus influenzae, dětská obrna



Imunohematologické vyšetření

= statimové předtransfuzní vyšetření /180 ml ERDO

- Problémy s určením erytrocytárních antigenů
 - Problémy při stanovení PAT
 - Problémy s určením antierytrocytárních protilátek
 - Problémy při testech kompatibility
-
- Jediný benefit: dítě doposud netransfundované

RC:		
26. gel barfa 20°C		
Výslední KS		
anti - A	+	erys. 0 A ₁ A ₂ B
anti - B	0	
anti - AB	+	
anti - D	+	
anti - D	+	
Rh cII	+	
anti - A ₁		
anti - B ₁		
ZÁVĚR		

RC:		
rhumarky 20°C		
Výslední KS		
anti - A	0	erys. 0 - A ₁ - A ₂ - B - end -
anti - B	0	
anti - AB	NT	
anti - D	-	
anti - D	-	
Rh cII	-	
anti - A ₁		
anti - B ₁		
ZÁVĚR		

RC:		
rhumarky 37°C		
Výslední KS		
anti - A	+	erys. 0 + A ₁ + A ₂ + B + end -
anti - B	+	
anti - AB	NT	
anti - D	+	
anti - D	+	
Rh cII	+	
anti - A ₁		
anti - B ₁		
ZÁVĚR		

další antigeny D - C⁺ C - C⁺? E - E⁺? K -

serologický EIT jk^a - jk^b - S - A - cII +

genotypizace D - Fy^a - Fy^b + jk^a + jk^b + M + N + S + A +

microarray ccc C⁺ kb

PAT

1D gel

PAT ##

JG ##

C3 ##

cII ##

rhumarky - proušky erys

PAT ##

JG ##

C3 c + d +

cII -

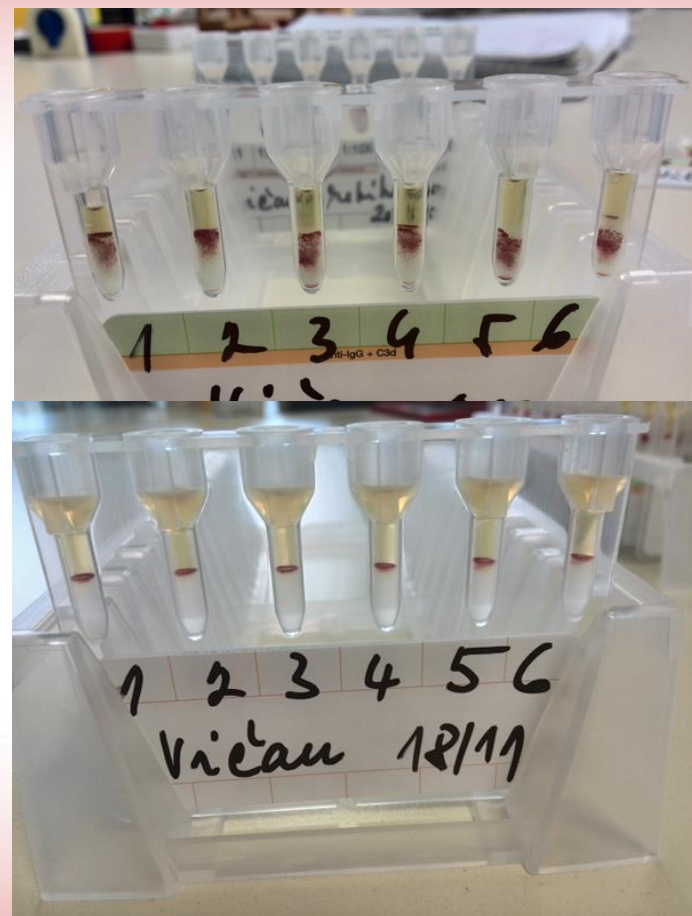
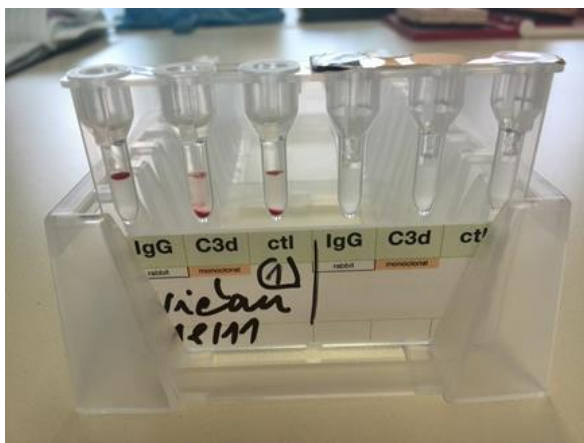
PAT JG - bilicim'

1:10 1:30 1:100 1:300 1:1000 cII
#^u #^u #^u

PAT JG1/JG3

JG1 JG3 JG
1:1 1:100 1:1 1:100 cII 1:10
#^u

retikulocyty

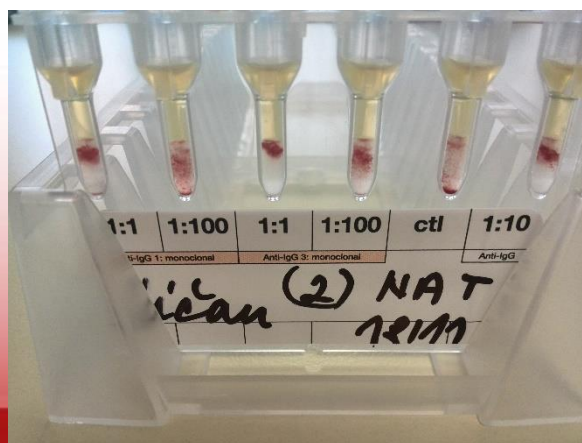
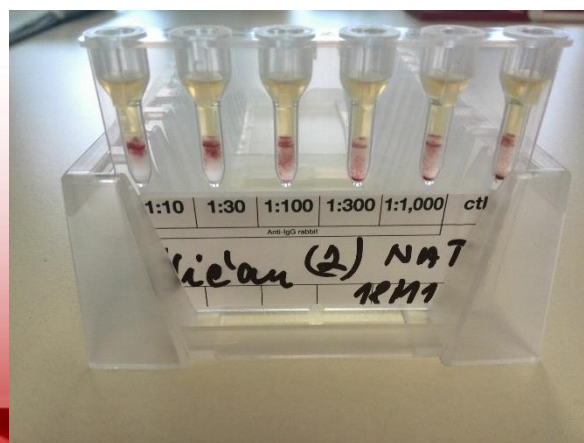




Retikulyocyty
periferní krev



Erytrocyty
periferní krev



Plazma

Vyšetření retikulocytů: Diferenciace/separace erytrocytů dle jejich specifické hmotnosti

- Jednoduchá centrifugace erytrocytů ve skleněných mikrohematokritových kapilárách
- Diferenciace novotvořených retikulocytů od starších erytrocytů (specifická hmotnost rbc 1,078 vs. ery 1,114)
 - Časté použití pro odlišení autologních a transfundovaných erys
 - Čerstvý EDTA vzorek, centrifuga, mikrohematokritové kapiláry, plastelina, jehla, pilník
 - Sedimentem promytých erytrocytů naplnit kapiláry-zatavit konec-centrifugovat-odříznout konec kapilár-vypláchnout horní vrstvu



Další vyšetření

- Chladové aglutininy nezjištěny
- Nepravidelné protilátky 37°C papain/NAT vše 3+/ erys cord 3+
37°C solný test vše 1+ / erys cord negativní
- Testy kompatibility 0 D-ccee K-Jka-S- reakce 3+
- Vyšetření eluátů
 - Mražená eluce - průkaz AB0 protilátky proti A,B,0 erys/NAT: vše reakce 1+
 - Kyselá eluce - průkaz nepravidelné protilátky proti screening. erys: reakce 4+
 - identifikace autoproti látky: panspecifické/nescifické reakce
- Plazma po adsorpci /WAIHA autoadsorpce na erytrocyty PAT-získané elucí
 - Proti erytrocytům screeningovým + cord /papain + NAT: negativní
 - Použita pro další testy k vysycení lék-independentních autoproti látek

Rozvaha

- Jednoznačně WAIHA
 - Tepelné panspecifické autoprotilátky + anti-I
- Postvakcinační?
 - Lék dostupný – ale mimo seznam inkriminovaných léků – proto testování na polékovou AIHA
 - Vyšetření časově náročné a zatěžující v rutinním provozu
 - × Nepřipravovány erytrocyty konjugované s lékem – nejistý výsledek
 - Málo léku, jaké pH? vazba léku? jaká pozitivní ctl?
 - ✓ Testování séra na lék-dependentní protilátky (reagují v přítomnosti léku)
 - Sérum po adsorpci lék-independentních autoprotilátek (WAIHA autoadsorpce)
 - + erytrocyty + lék
 - Relevantní kontroly

Poléková AIHA

Sérum po WAIHA adsorpci + erytrocyty v přítomnosti léku

	Interpretace výsledků		
		NAT	hodnocení
»	sérum pac. + lék + erys DK	pozitivní	pozitivní, protilátka proti léku
	sérum pac. + FR + erys DK	negativní	negativní, bez protilátky
»	sérum pac. + lék + C + erys DK	pozitivní	pozitivní, protilátka proti léku
	sérum pac. + FR + C + erys DK	negativní	negativní, bez protilátky
	lék + C + erys DK	negativní	negativní
	FR + C + erys DK	negativní	negativní

Poléková AIHA

Sérum po WAIHA adsorpci + erytrocyty v přítomnosti léku

		NAT 37°C
✓	Sérum pacienta + lék + erys DK	pozitivní
	Sérum dárce + lék + erys DK	negativní
	Sérum pacienta + FR + erys DK	negativní

Průběh

- Chronický při terapii kortikoidy
- Do 2 měsíců
 - Regrese v cti
 - Určení antigenů
 - Změna avidity protilátky
 - Relativně stacionární KO: Hb cca 70 g/l, rtc 700 G/l; bilirubin 50-70 umol/l
- Za 3 měsíce
 - Stále aktivní onemocnění/ produkce protilátky
 - Změna léčby
 - Co dál? Fórum (steroidy, IVIG, Rituximab, Bortezomib, splenektomie)
- Za více jak 4 měsíce stacionární nález, relativně kompenzovaná hemolytická anemie Hb cca 70-80 g/l, bilirubin 50 umol/l
 - Anti-CD20 + kortikoidy

Est rerum omnium magister usus

Praxe je učitelkou všech věcí

Při suspiciu na AIHA

- Diferencovat nálezy
 - Různé „nespecifické“ příčiny PAT+ (NAT+)
 - AIHA „sérologická“ vyžaduje jiný přístup
 - Řada zbytečných a nákladných vyšetření
- Odlišit typ AIHA
 - Nezaměňovat boost efekt tepelné protilátky za kombinovanou AIHA
- Správně určit erytrocytární antigeny
- Rozlišit a specifikovat aloprotilátky
 - Kompatibilita transfuze s ohledem na aloprotilátky
 - Průběžné verifikování nálezu protilátek?

Děkuji za pozornost