



Krajská nemocnice Liberec, a.s.  
*nemocnice Liberec nemocnice Turnov*

## AIHA, kasuistika

B. Kratochvílová, H. Kamenická, I. Veselá, R. Procházková

5. Hradecká imunohematologická konference, 20.1.2015

Transfuzní oddělení KNL, a.s.  
*umíme pomáhat*



Krajská nemocnice Liberec, a.s.  
*nemocnice Liberec nemocnice Turnov*

AIHA, kasuistika

### Autoimunní hemolytická anémie (AIHA)

#### ÚVOD:

- **AIHA** je patologický stav způsobený výskytem autoprotilátek proti antigenům na vlastních erytrocytech s následkem jejich zrychleného zániku
- nález autoprotilátek proti erytrocytům v rámci předtransfuzního vyšetření představuje komplikaci, zejména v případě urgentního požadavku na výdej a aplikaci transfuzních přípravků
- **klasifikace AIHA:**
  - AIHA s tepelnými protilátkami
  - AIHA s chladovými protilátkami
  - AIHA s protilátkami přímo destabilizující membránu
  - paroxysmální chladová hemoglobinurie
  - léky indukovaná imunitní hemolytická anémie

#### CÍL PŘEDNÁŠKY:

- na vybrané kasuistice ukázat průběh laboratorního vyšetření u pacienta s nálezem chladových autoprotilátek

*umíme pomáhat*



## AIHA

- **AIHA způsobují autoprotilátky tříd IgG, IgM, vzácně IgA**
- **prokazujeme autoprotilátky :**
  - navázané na erytrocyty a/nebo volné
  - aktivující imunitní mechanismy – komplement
  - nález specificky probíhající destrukce krvinek (bifazická hemolýza, narušení stability membrány)
- **protilátkami indukovaná hemolýza může probíhat více mechanismy, které závisí na vlastnostech protilátek** (třída, podtřída, koncentrace, specifita)  
**a makrofágů:**
  - extravaskulární hemolýza – fagocytoza erytrocytů
  - intravaskulární hemolýza – přímá lýza erytrocytové membrány s následnou hemoglobinémií a hemoglobinurií
  - **laboratorní potvrzení diagnózy AIHA:**
    - krevní obraz: snížený hemoglobin, zvýšené retikulocyty
    - biochemie: zvýšený bilirubin - ikterus, snížený haptoglobin, urobilinogen v moči
    - imunohematologie: pozitivní přímý antiglobulinový test (PAT) *umíme pomáhat*



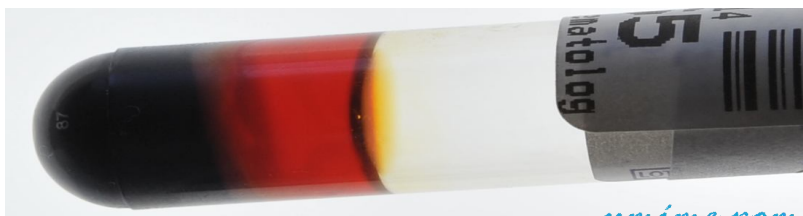
## AIHA S CHLADOVÝMI PROTILÁTKAMI

- **chladové protilátky** jsou příčinou u cca 10% AIHA
- protilátky reagují **při teplotě nižší než 37 °C** a mají schopnost přímo aglutinovat erytrocyty
- jde většinou o protilátky **třídy IgM**
- symptomatické, sekundární formy souvisejí s infekcemi (*Mycoplasma pneumoniae*, *infekční mononukleóza*), nebo s hematologickými i jinými malignitami
- klinické projevy souvisí s termální amplitudou a její schopností aktivovat komplement, méně s koncentrací
- klinický průběh může provázet i těžká hemolýza
- mechanismus hemolýzy závisí na **aktivaci komplementu**
- **PAT je pozitivní** – přítomnost C3d na membráně dosud nehemolyzovaných erytrocytů

*umíme pomáhat*

## Kazuistika

- pacient: muž
- rok narození: 1940
- diagnóza: D649 (anémie)
- vstupní vyšetření: 5. 11. 2014
- na TO byl přijat požadavek na vyšetření krevní skupiny a screeningu antierytrocytárních protilátek v režimu statim z důvodu anémie pacienta
- akutní příjem na interní ambulanci, překlad z nemocnice spádové oblasti
- imuno hematologická anamnéza: bez záznamů
- vzhled primárního vzorku po centrifugaci - vzorek pacienta je ikterický a jeví známky aglutinace (odebrán do KEDTA)



*umíme pomáhat*

## Biochemické a hematologické výsledky - markery hemolýzy

| Datum     | Vyšetřovaný parametr | výsledek   | Referenční meze |
|-----------|----------------------|------------|-----------------|
| 5.11.2014 | hemoglobin           | 63 g/l     | 135 - 175 g/l   |
|           | retikulocyty         | 0,040      | 0,005 – 0,025   |
|           | bilirubin            | 394 µmol/l | < 17 µmol/l     |
|           | haptoglobin          | 0,07 g/l   | 0,30 – 2,00 g/l |
|           | urobilinogen v moči  | 4          | bez průkazu     |

Vzorek pro vyšetření krevního obrazu bylo nutno nahřát.

## Výsledky imuno hematologických vyšetření

- vyšetření krevní skupiny ABO RhD při laboratorní teplotě (vzorek krve v KEDTA)

| zkumavková metoda |    |                |                |                          |            |        |
|-------------------|----|----------------|----------------|--------------------------|------------|--------|
| antigeny v ABO    |    | RhD antigen    |                | Rh monoklonální kontrola | aglutiníny |        |
| A                 | B  | D <sub>1</sub> | D <sub>2</sub> | K                        | anti-A     | anti-B |
| 3+                | 4+ | 3+             | 4+             | 4+                       | 4+         | 4+     |

- vyšetření antieritrocytárních protilátek (vyšetření z plazmy i séra)

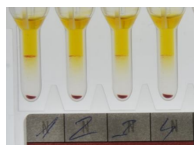


ni na 1+

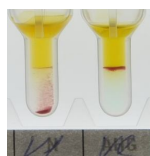
*umíme pomáhat*

## Následná vyšetření I.

- identifikace antieritrocytárních protilátek: enzym pozitivní na 1+, reakce ve všech mikrojamkách vykazují shodné reakce jako na obrázku



- autokontrola: NAT: pozitivní na 4+  
enzym: pozitivní na 1+



- v rámci identifikace protilátek byla provedena zkouška kompatibility s novorozeneckými erytrocyty k vyloučení protilátky anti-I (reakce: NAT negativní, enzym pozitivní na 1+)

- zkouška kompatibility:

- v NAT pozitivní
- po vytemperování vyšetřované plazmy i erytrocytů transfuzního přípravy na 37 °C: NAT negativní

*umíme pomáhat*

## Následná vyšetření II.

Temperace na 37 °C: vzorek, diagnostická séra, karty sloupcové aglutinace DG gel, diluent, fyziologický roztok:

▪ **krvní skupina:** erytrocyty pro vyšetření krevní skupiny AB0 RhD promyty v 37 °C teplém fyziologickém roztoku



krvní skupina uzavřena: **B RhD negativní**

▪ **screening protilátek:** negativní v NAT i enzymatickém testu

▪ **PAT:** kvalitativně pozitivní na 4+, kvantitativně titr 32

▪ **upřesnění typu senzibilizace erytrocytů:**

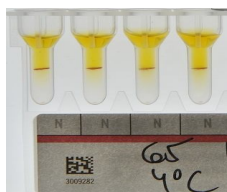
| AGH          | IgG           | C3d          | ctl       |
|--------------|---------------|--------------|-----------|
| Pozitivní 4+ | Pozitivní +/- | Pozitivní 4+ | negativní |

*umíme pomáhat*

## Následná vyšetření III.

▪ **tepelné optimum protilátek:**

při 4 °C: pozitivní na 4+



při 20 °C: pozitivní na 3+



▪ **chladové aglutiníny:**

- striktní dodržení podmínek preanalytické fáze - odběr a transport při 37 °C
- odběr vzorku do zkumavky vytemperované na 37 °C, vyšetření provedeno ze séra pacienta

chladové **autoaglutiníny** pozitivní: titr > 4000

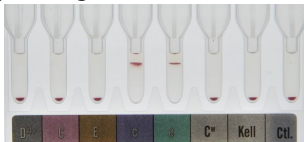
chladové **aloaglutiníny** pozitivní: titr 2048

*umíme pomáhat*



## Následná vyšetření IV.

- Rh a Kell fenotyp: sloupcová aglutinace



- určení dalších antigenů: zkumavková metoda

| vyšetření | Jk <sup>a</sup> | Jk <sup>b</sup> | M | N | S | s | Rh kontrola | autokontrola |
|-----------|-----------------|-----------------|---|---|---|---|-------------|--------------|
| 20 °C     | +               | +               | + | + | + | + | +           | +            |
| 37 °C     | +               | +               | - | + | + | + | -           | -            |
| NRL       | +               | +               | - | + | + | + |             |              |

Vytemperování vyšetřovaných erytrocytů a diagnostických sér na 37 °C - eliminace vlivu chladových protilátek.

Z důvodu positivity komplementu nelze typovat antigeny metodou NAT.

Vzorek byl zaslán na kontrolní typování antigenů do NRL pro imuno hematologii ÚHKT Praha.

*umíme pomáhat*



## Následná vyšetření V.

- Kontroly PAT:

5. den titr 8

9. den titr 1

13. den titr 4

44. den titr 1

- Kontroly chladových aglutinínů:

3. den chladové autoaglutiníny **pozitivní: titr > 4000**

chladové aloaglutiníny **pozitivní: titr 2048**

15. den chladové autoaglutiníny **pozitivní: titr 256**

chladové aloaglutiníny negativní

24. den chladové autoaglutiníny **pozitivní: titr 512**

chladové aloaglutiníny negativní

*umíme pomáhat*



## Diskuse

- **metody standardně prováděné v rámci předtransfuzního vyšetření:**
  - vyšetření krevní skupiny ABO RhD (zkumavková metoda)
  - screening antierytrocytárních protilátek (metoda sloupcové aglutinace v kartách DG Gel)
  - zkouška kompatibility (sloupcová aglutinace v kartách DG Gel -NAT)**Pro vyšetření byla nutná modifikace : temperace na 37°C.**
- **následná vyšetření provedená z důvodu komplikací při vyšetření krevní skupiny v ABO RhD a nálezu antierytrocytárních protilátek při screeningovém vyšetření:**
  - identifikace protilátek (sloupcová aglutinace v kartách DG Gel)
  - autokontrola (sloupcová aglutinace v kartách DG Gel)
  - PAT – kvalitativní vyšetření (sloupcová aglutinace v kartách DG Gel) **temperace na 37°C**
  - PAT - kvantitativní vyšetření (zkumavková metoda) **temperace na 37°C**
  - upřesnění typu senzibilizace erytrocytů (sloupcová aglutinace v kartách DG Gel DC Scan) **temperace na 37°C**
  - tepelné optimum protilátky (sloupcová aglutinace v kartách DG Gel)
  - vyšetření Rh a Kell fenotyp (na kartě DG Gel Rh Pheno + Kell) **temperace na 37°C**
  - vyšetření vzácných erytrocytárních antigenů (zkumavková metoda) **temperace na 37°C**
  - titr chladových aglutininů (zkumavková metoda)

*umíme pomáhat*



## Závěr:

- na základě provedených laboratorních vyšetření jsme prokázali chladovou AIHA
- vyloučili jsme skrytou aloprotilátku a potvrdili pouze nespecifickou chladovou protilátku
- časově náročné vyšetření
- díky charakteru chladové AIHA se objevují komplikace při testování krve při nižší teplotě než 37 °C, zejména při určování krevní skupiny
- pro správnou interpretaci výsledků je třeba zabránit vlivu snížené teploty na vyšetření, testy provádět při 37 °C
- na výsledkovém listu uvedeno: v rámci zajišťovacího testu u lůžka pacienta může dojít k problému při vyšetření krevní skupiny pacienta (bed side test)
- doporučení pro transfuze: nutná aplikace ohřátých erytrocytárních transfuzních přípravků

*umíme pomáhat*



**Děkuji za pozornost.**

*umíme pomáhat*