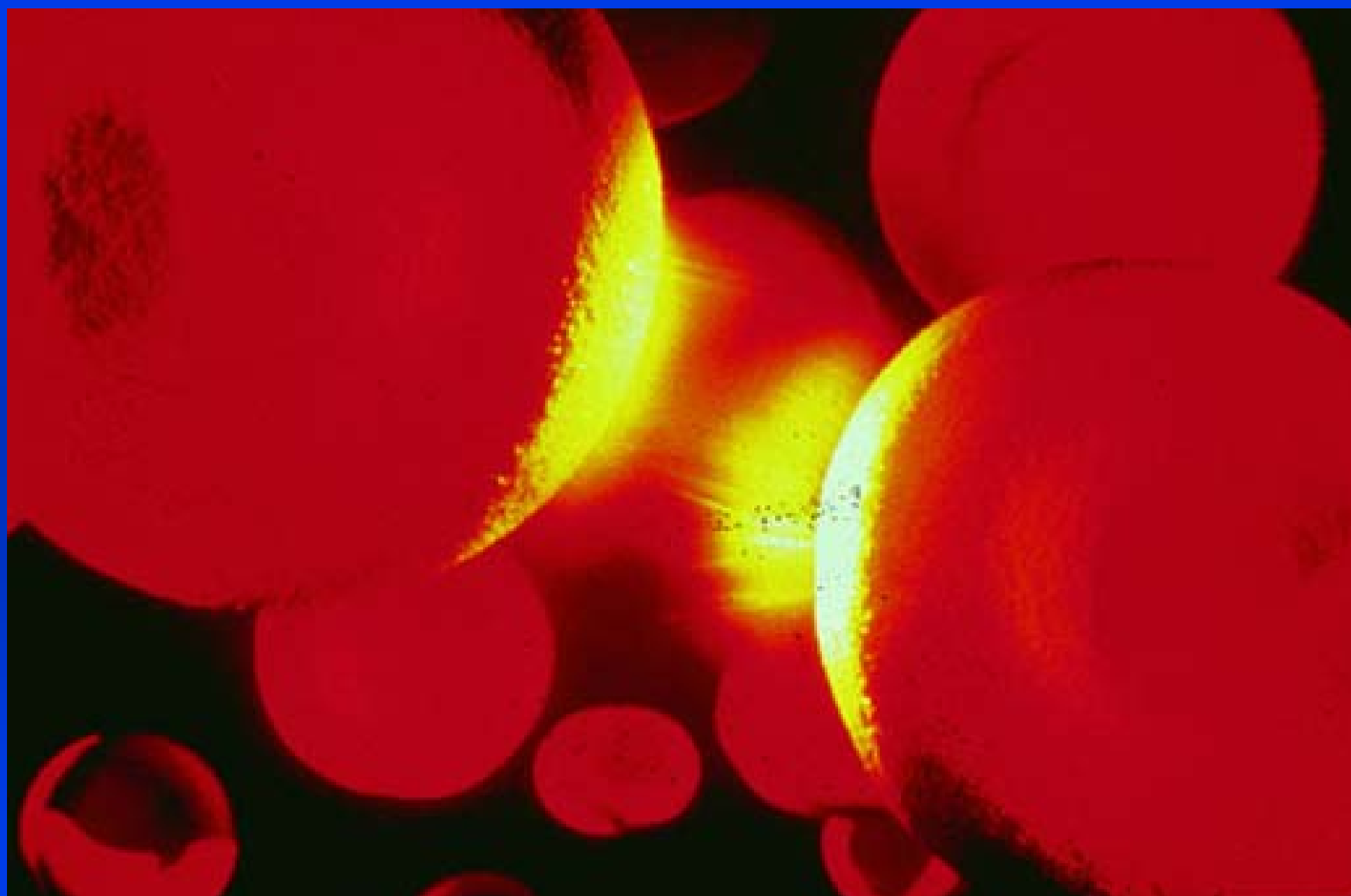




réactions ag-ac

Dr Marie-José Stelling



IgG



IgM



IgA

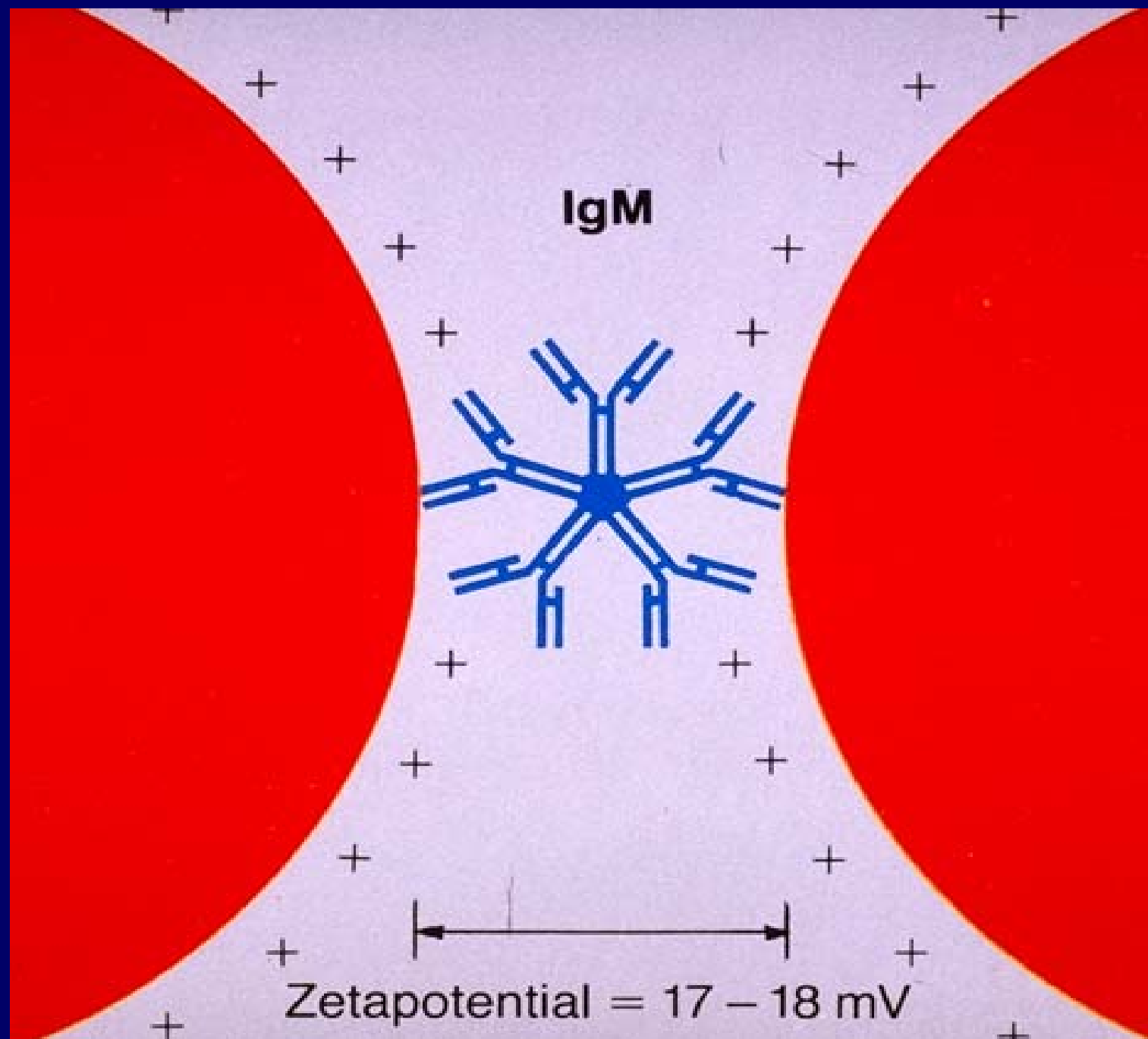


IgD

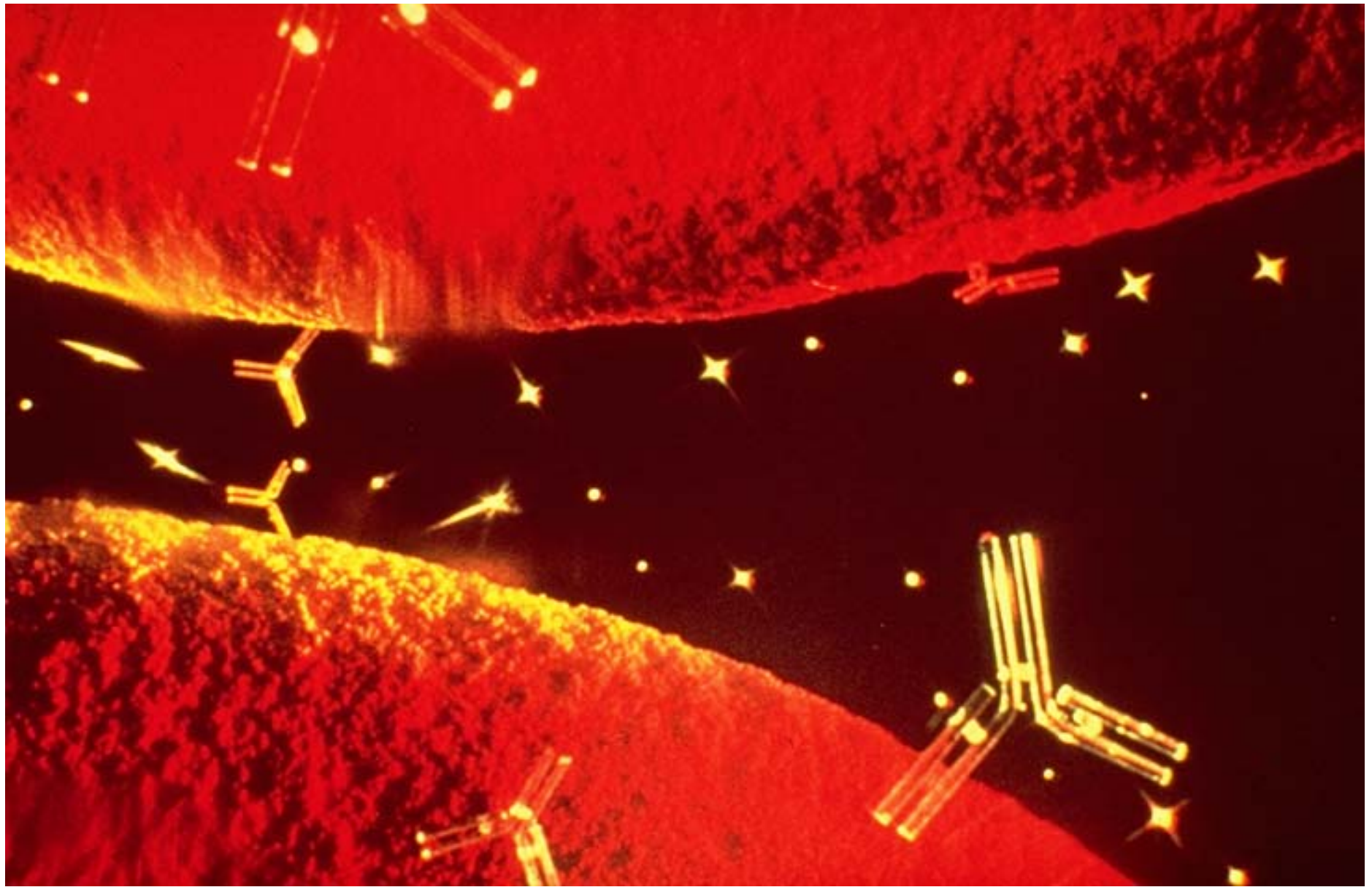


IgE

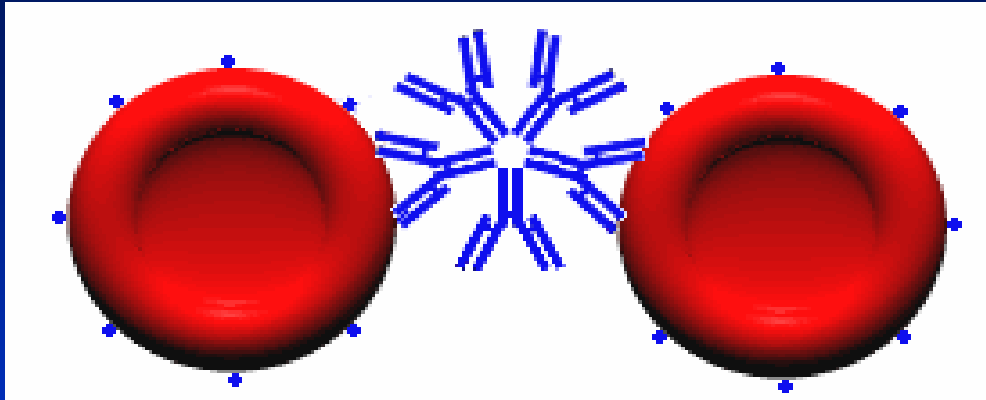




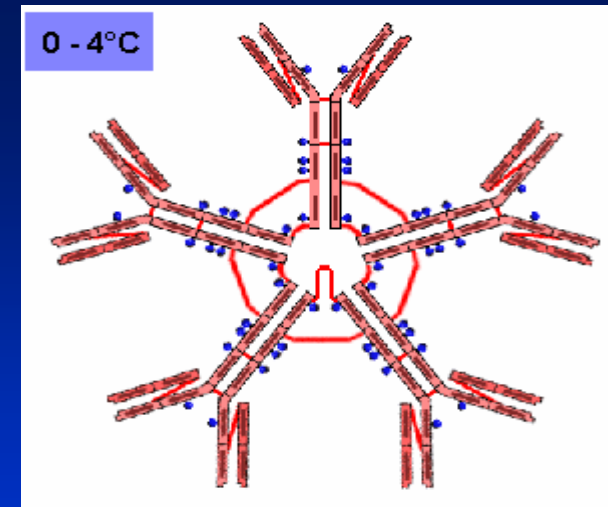




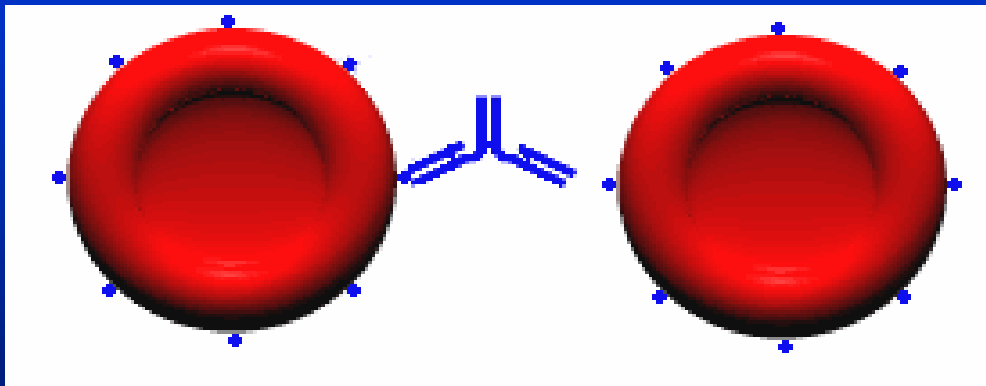




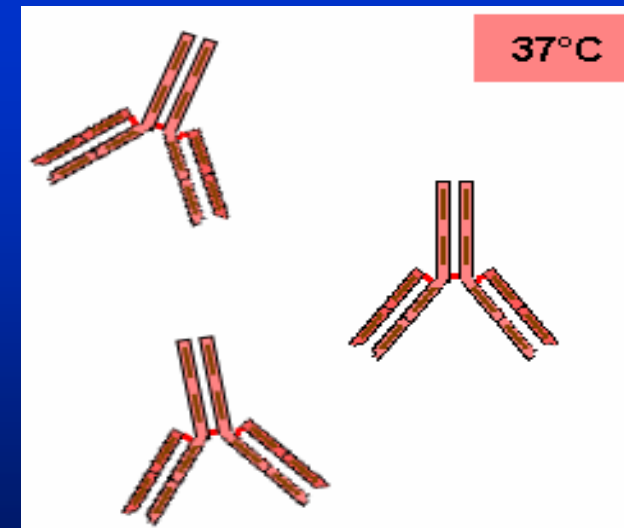
Anticorps complets (surtout IgM)



Anticorps froids (surtout IgM)

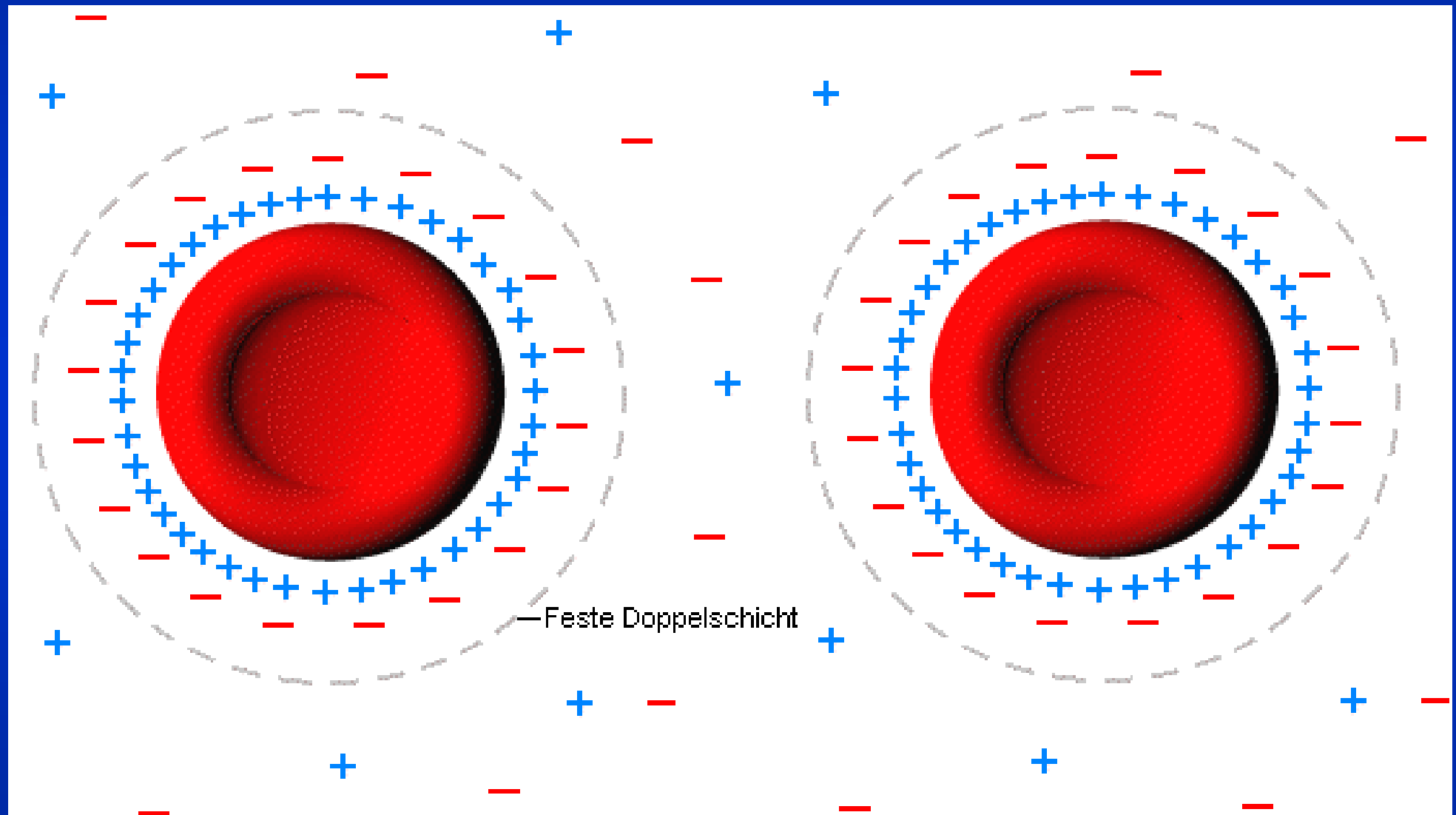


Anticorps incomplets (IgG)



Anticorps chauds (surtout IgG)

Potentiel zèta



Anticorps incomplets

- ⇒ **IgG**
- ⇒ **cliniquement importants (37 °C)**
- ⇒ **se fixent sur la membrane érythrocytaire sans produire une agglutination "in vitro" en milieu NaCl (0,9%)**
- ⇒ **agglutination obtenue "in vitro" à 37 °C grâce à des artifices techniques (albumine, enzyme, réactif de Coombs)**
- ⇒ **produits suite à une transfusion, à une grossesse ou à une transplantation**
- ⇒ **traversent la barrière placentaire**

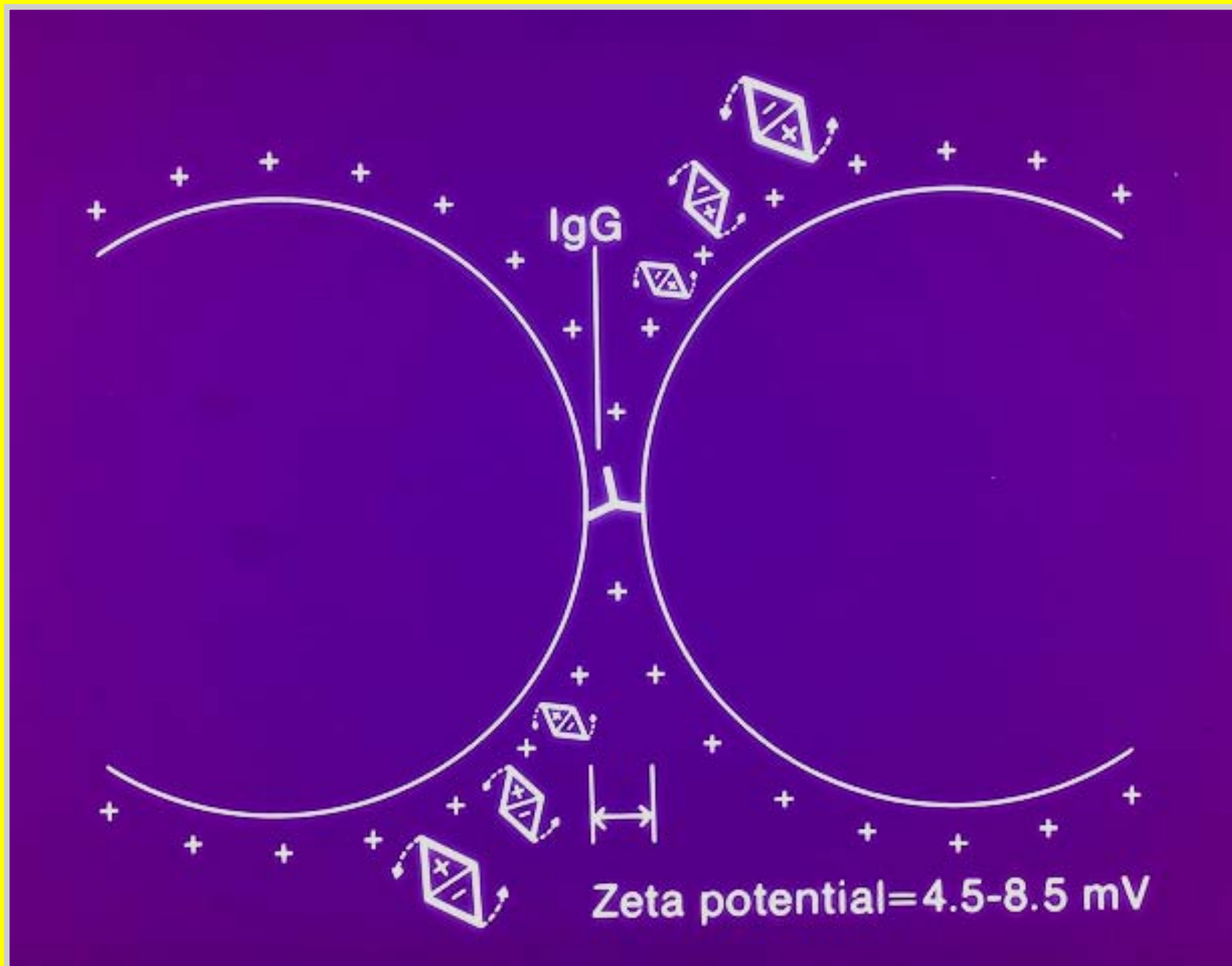
Agglutination artificielle

- ① à l'aide de protéases (Broméline, papaïne, ficine, trypsine)

⇒ **réduction de la charge négative des hématies**

- ② à l'aide de substances (albumine 30%, dextran, PVP)

⇒ **augmentation de la constante diélectrique du milieu**



Agglutination artificielle

③ à l'aide de LISS (Low Ionic Strength Solution)

⇒ **action complexe :**

↘ charge négative des GR

↗ constante diélectrique du milieu

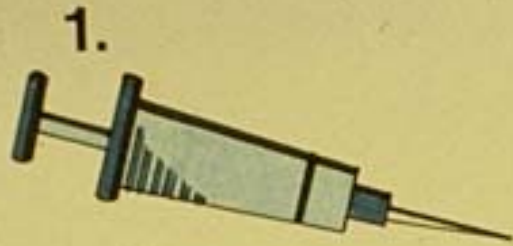
↗ vitesse de réaction ag - ac

↗ VGM des GR

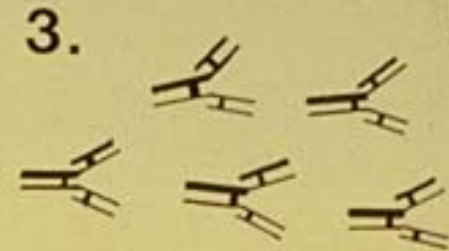
④ réactif de Coombs

⑤ Centrifugation

Production of Anti-Human Serum



Human
Plasma
Components



Antibody
Production

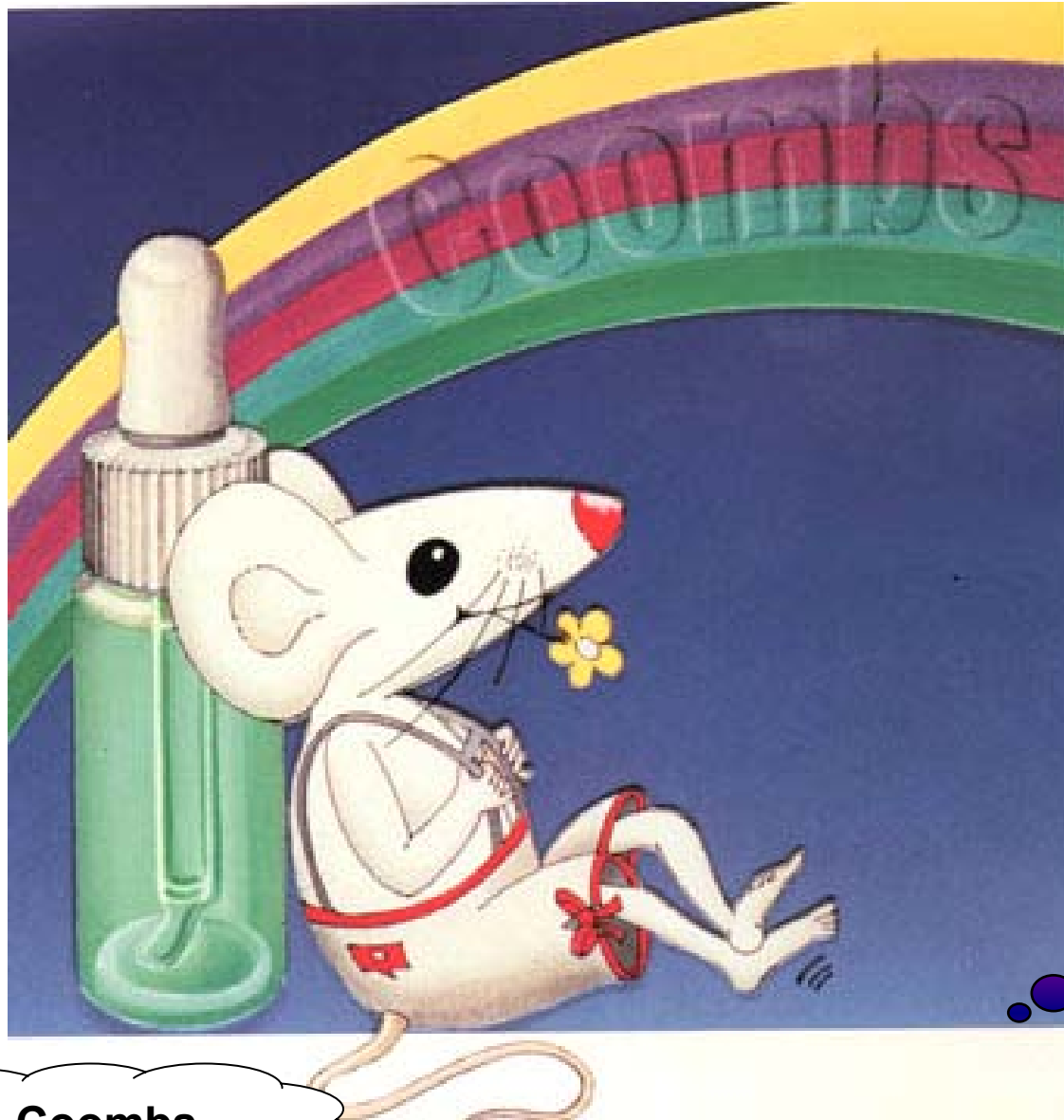
4.

Antibodies
are
harvested.

5.

Antibodies
are
processed.





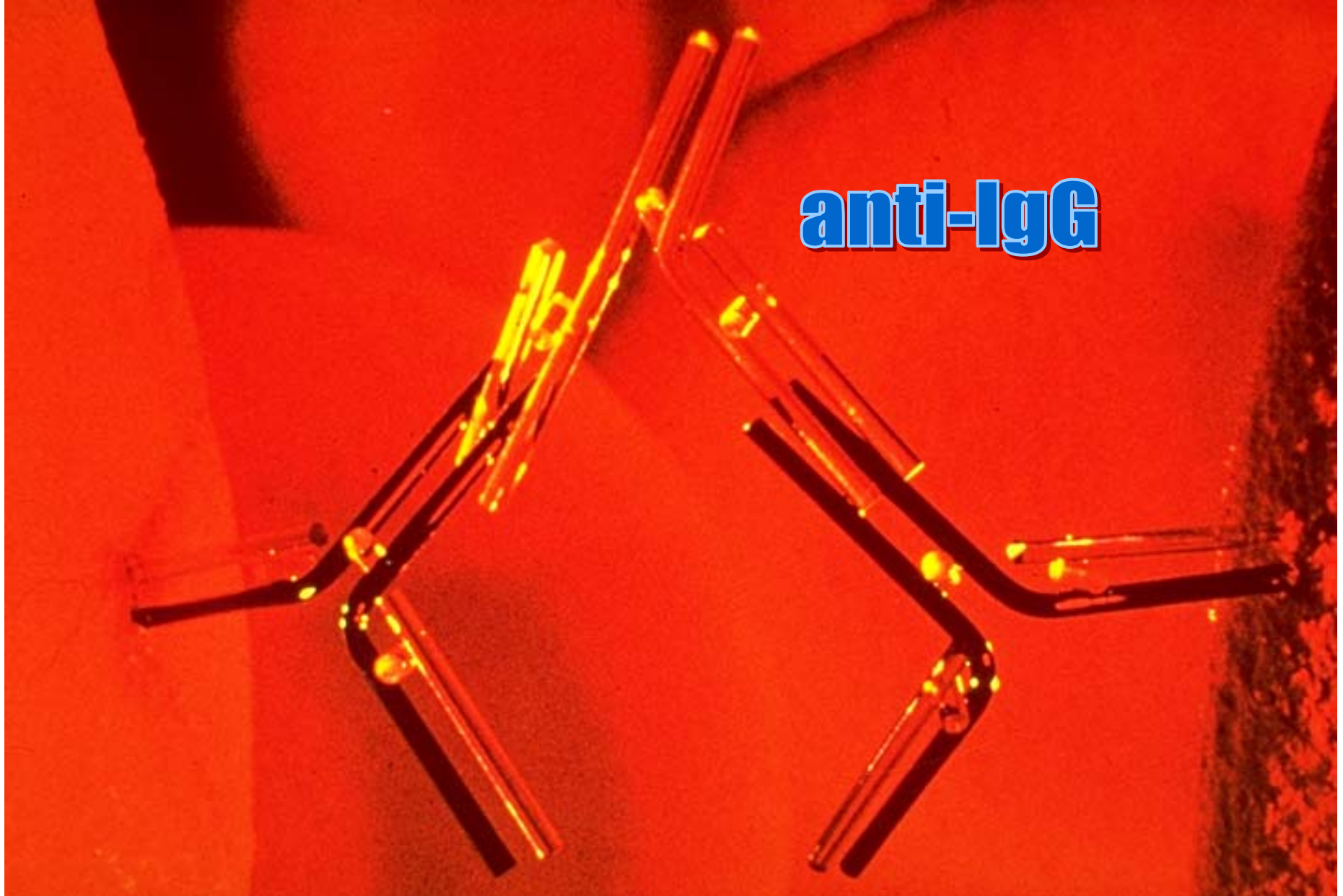
Réactif de Coombs

Anti-IgG
Anti-C3d

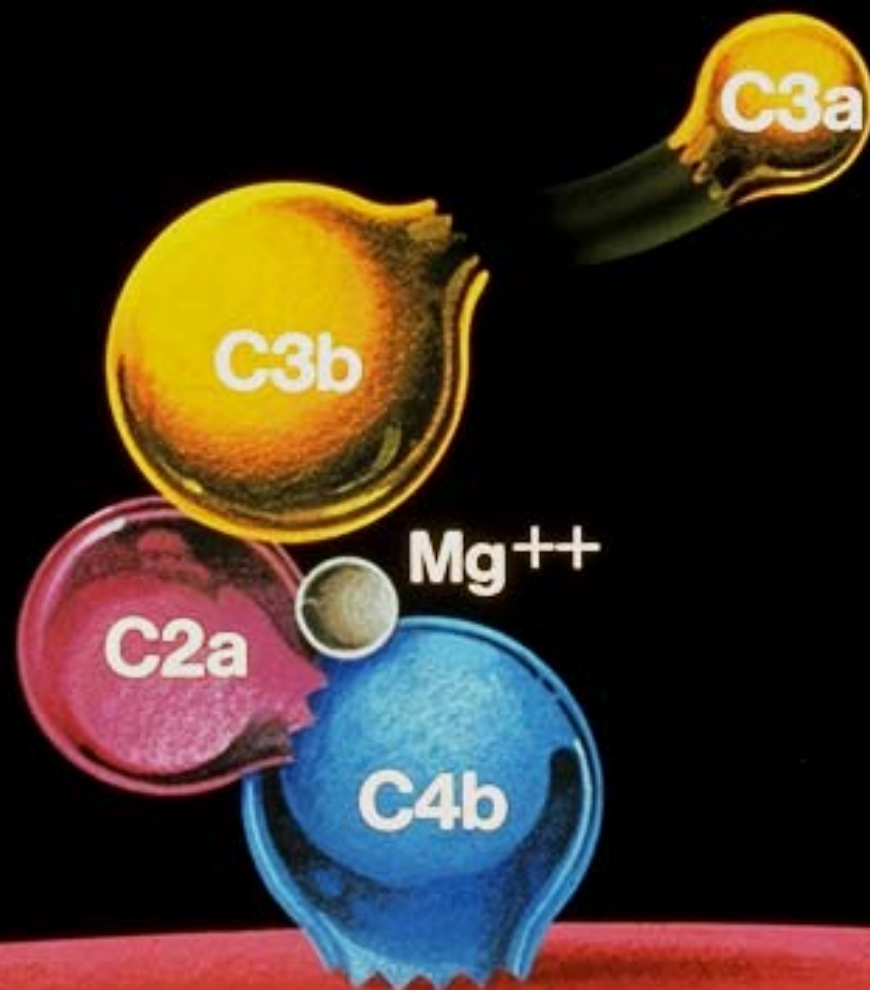


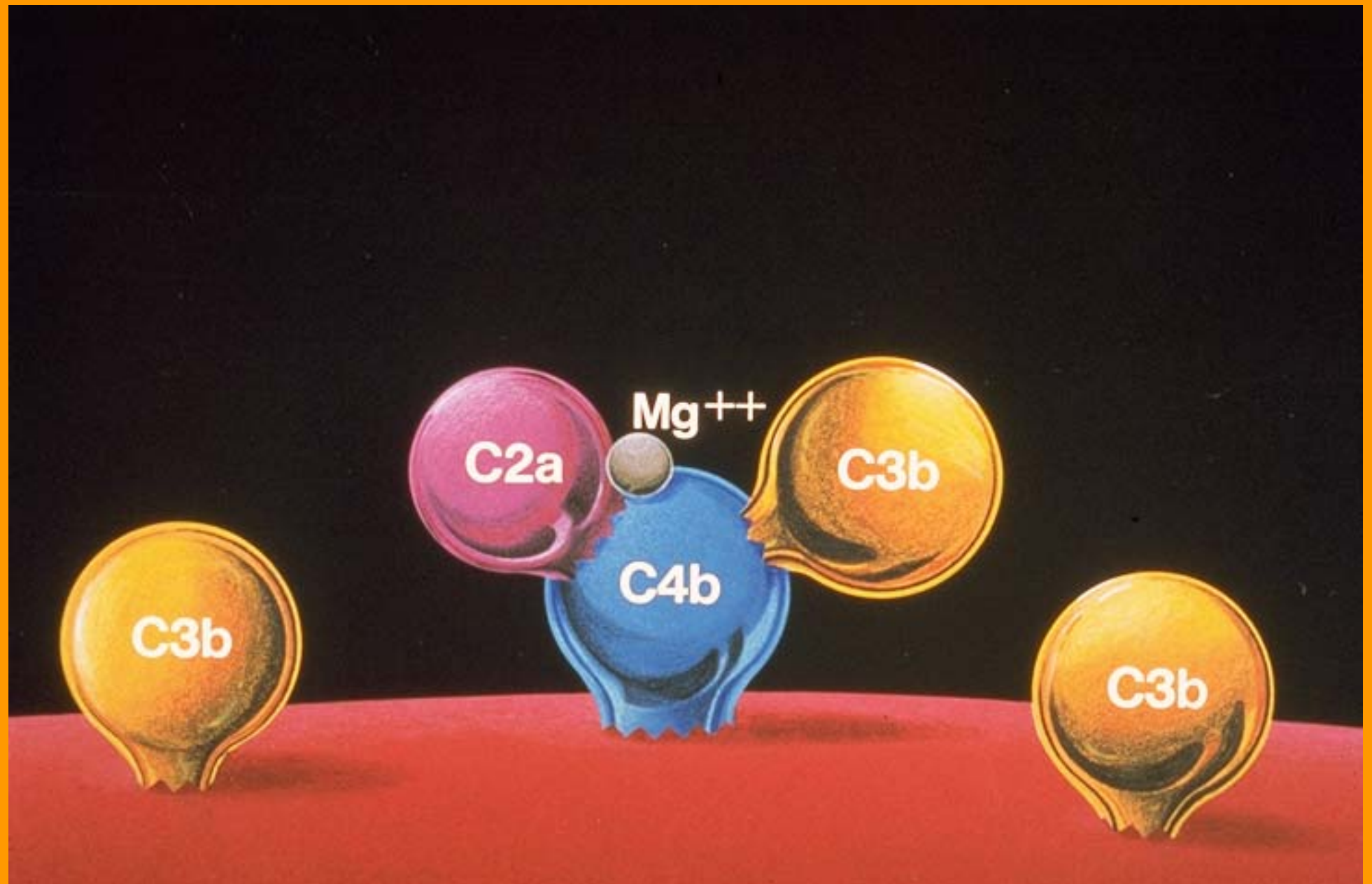


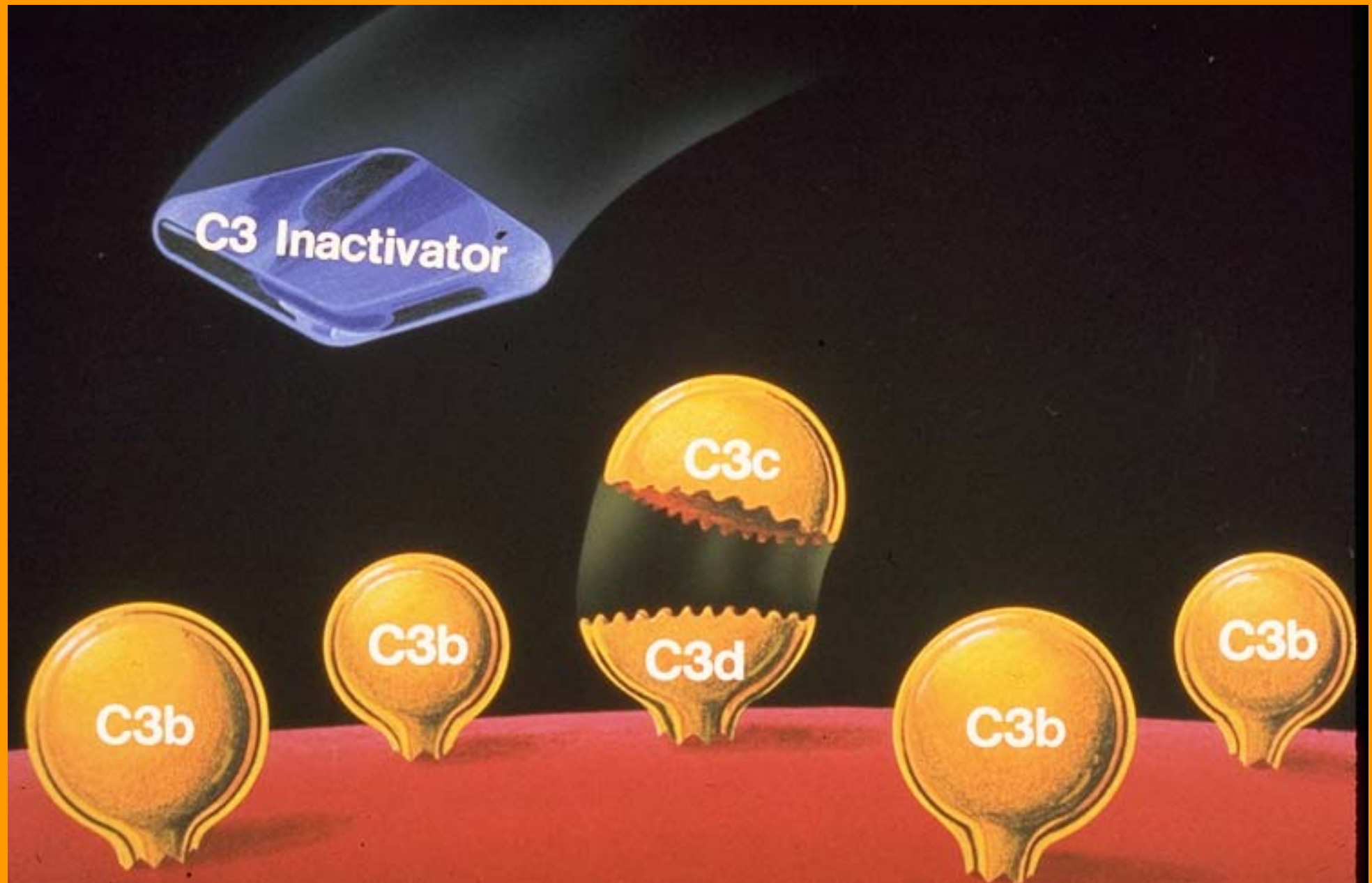
anti-IgG

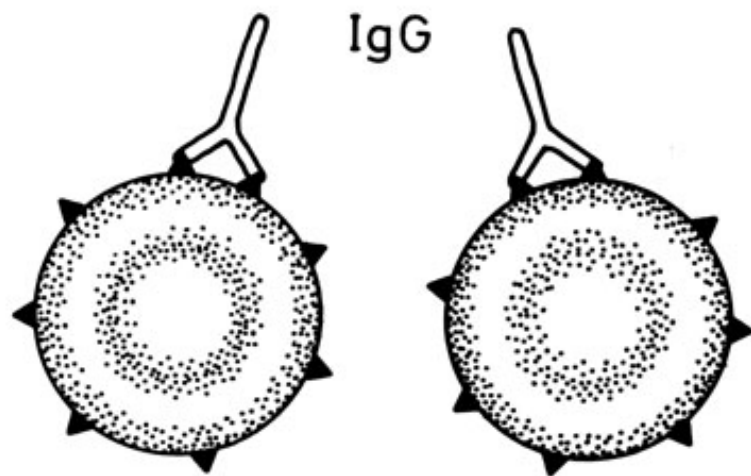








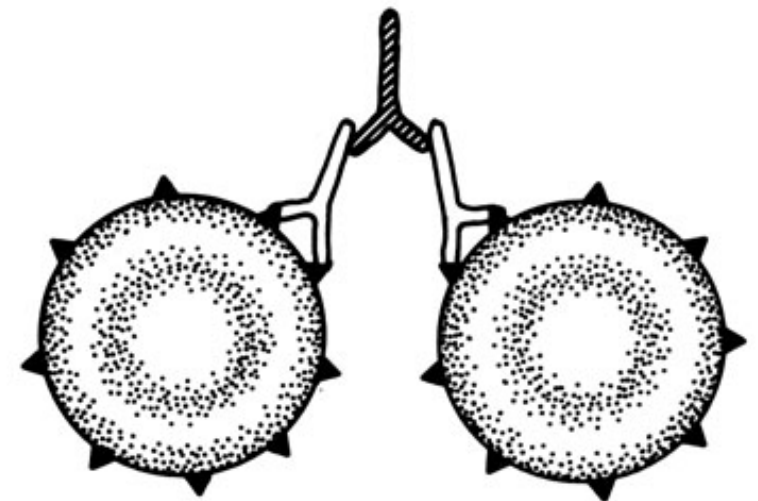




Lavage des GR
sensibilisés in vivo

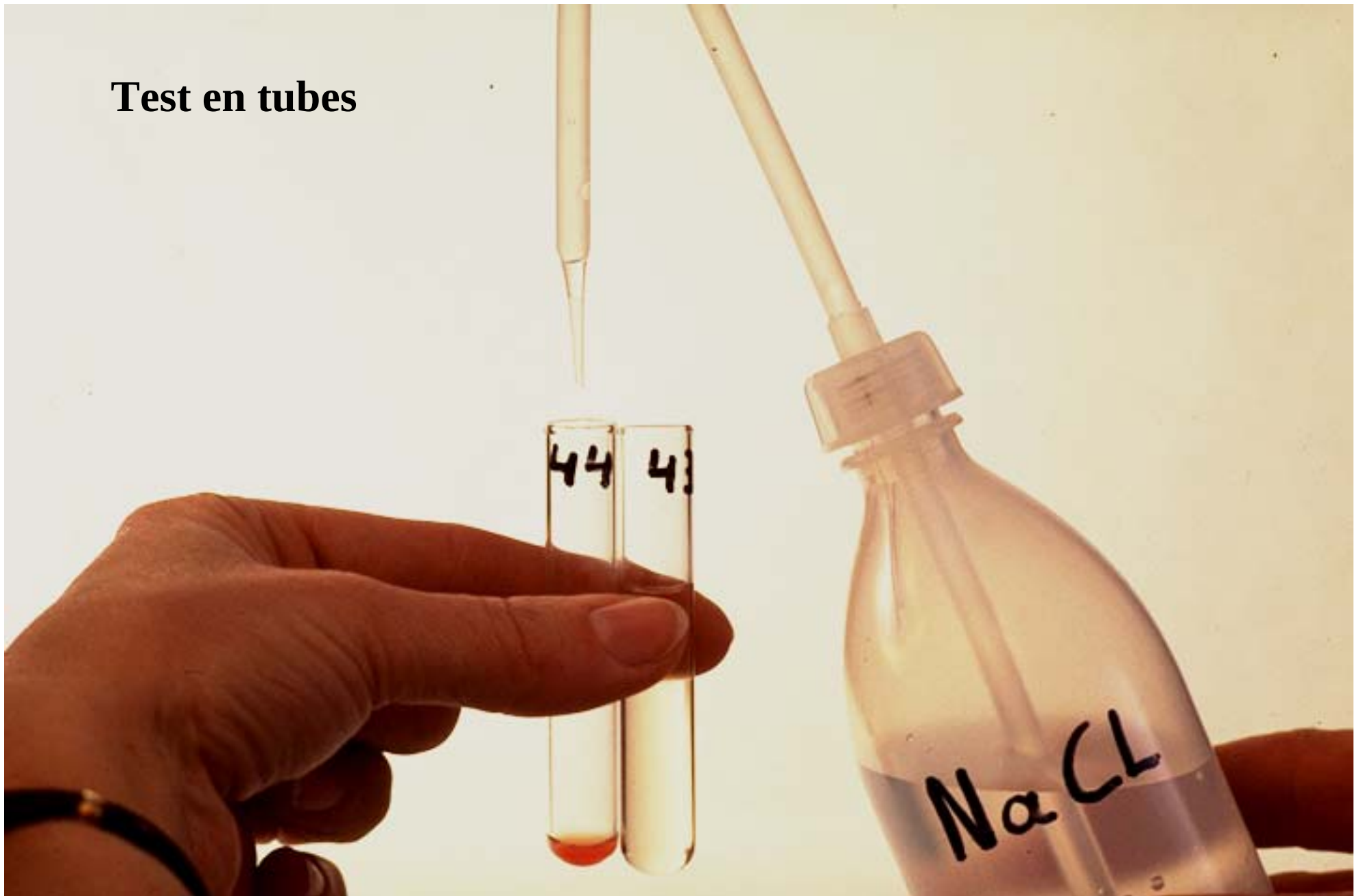


sérum anti-
globuline humaine

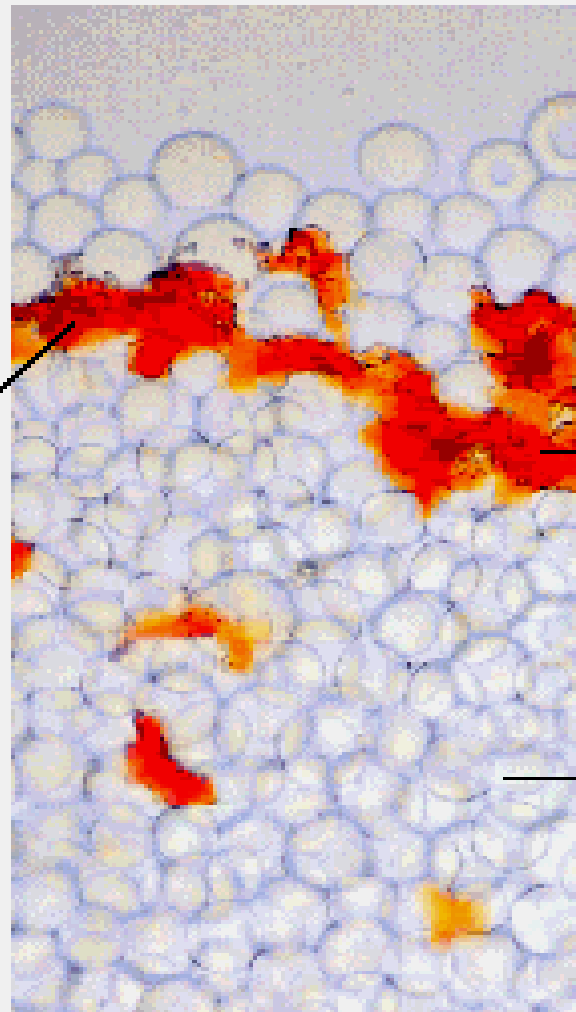
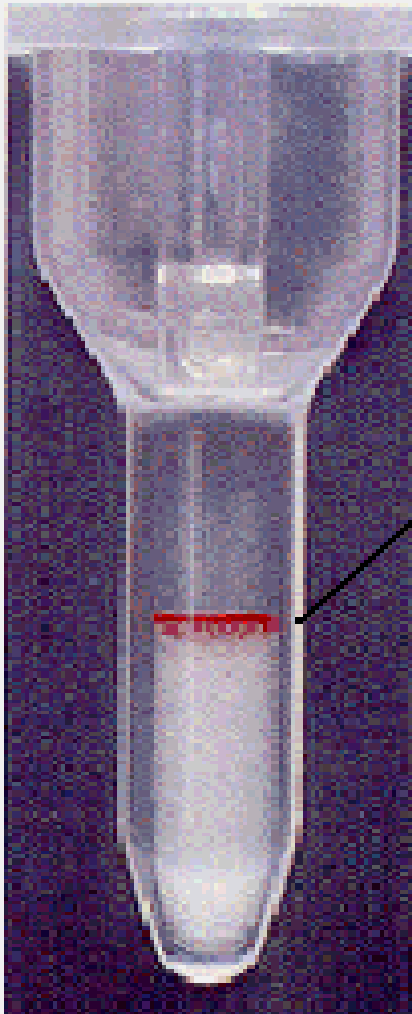


Agglutination

Test en tubes

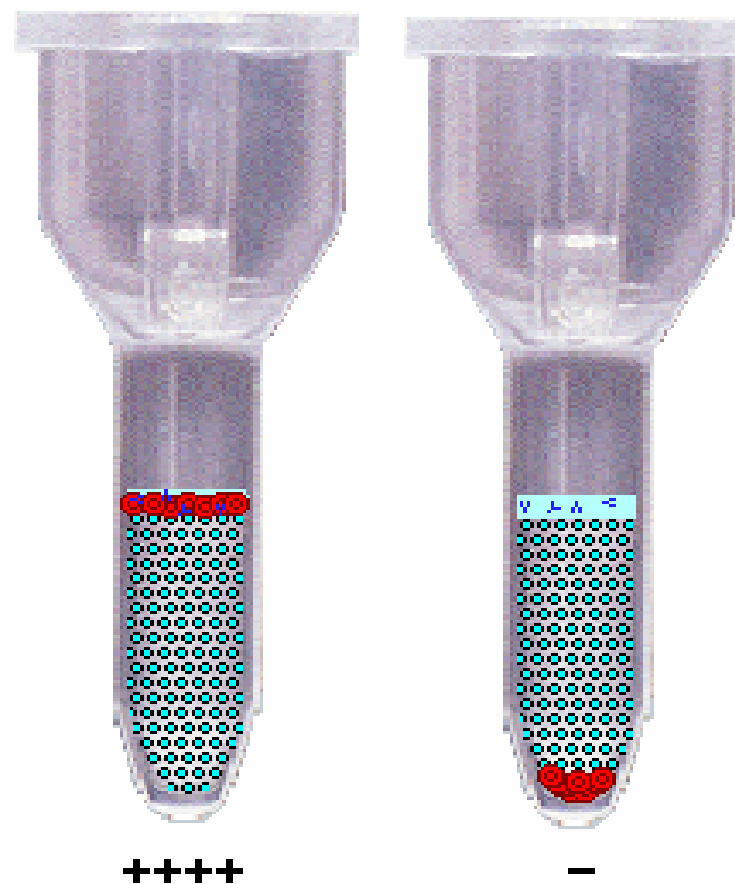
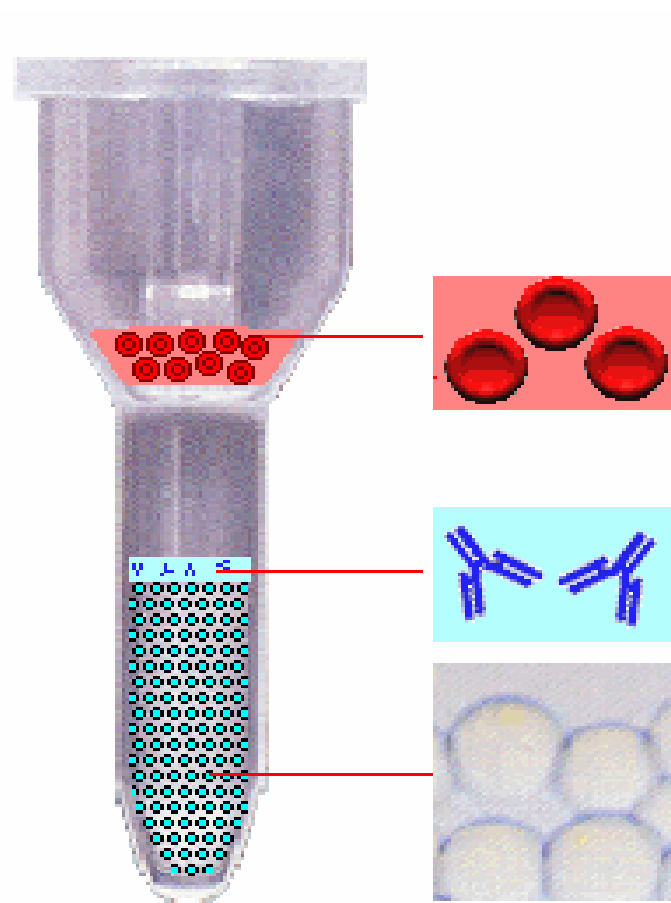


test sur gel

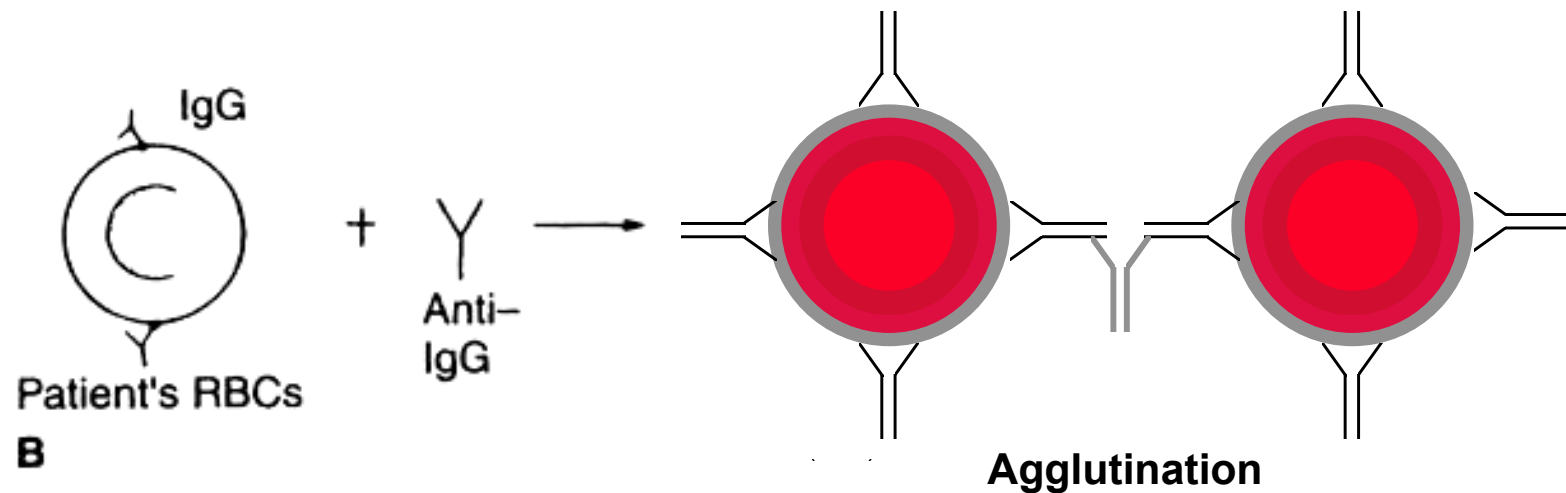
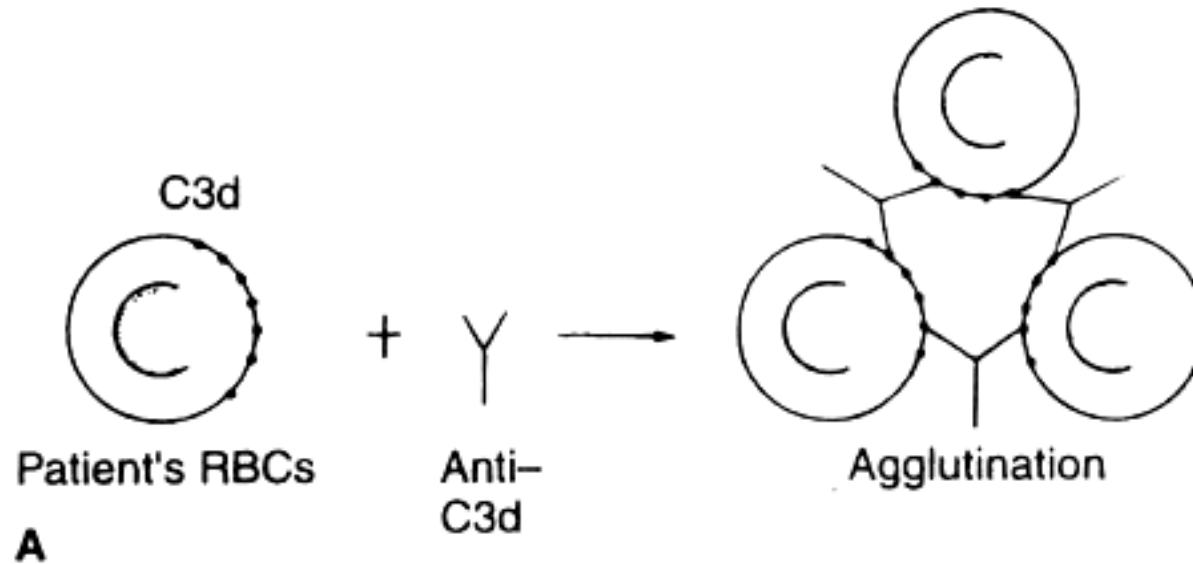


Agglutination

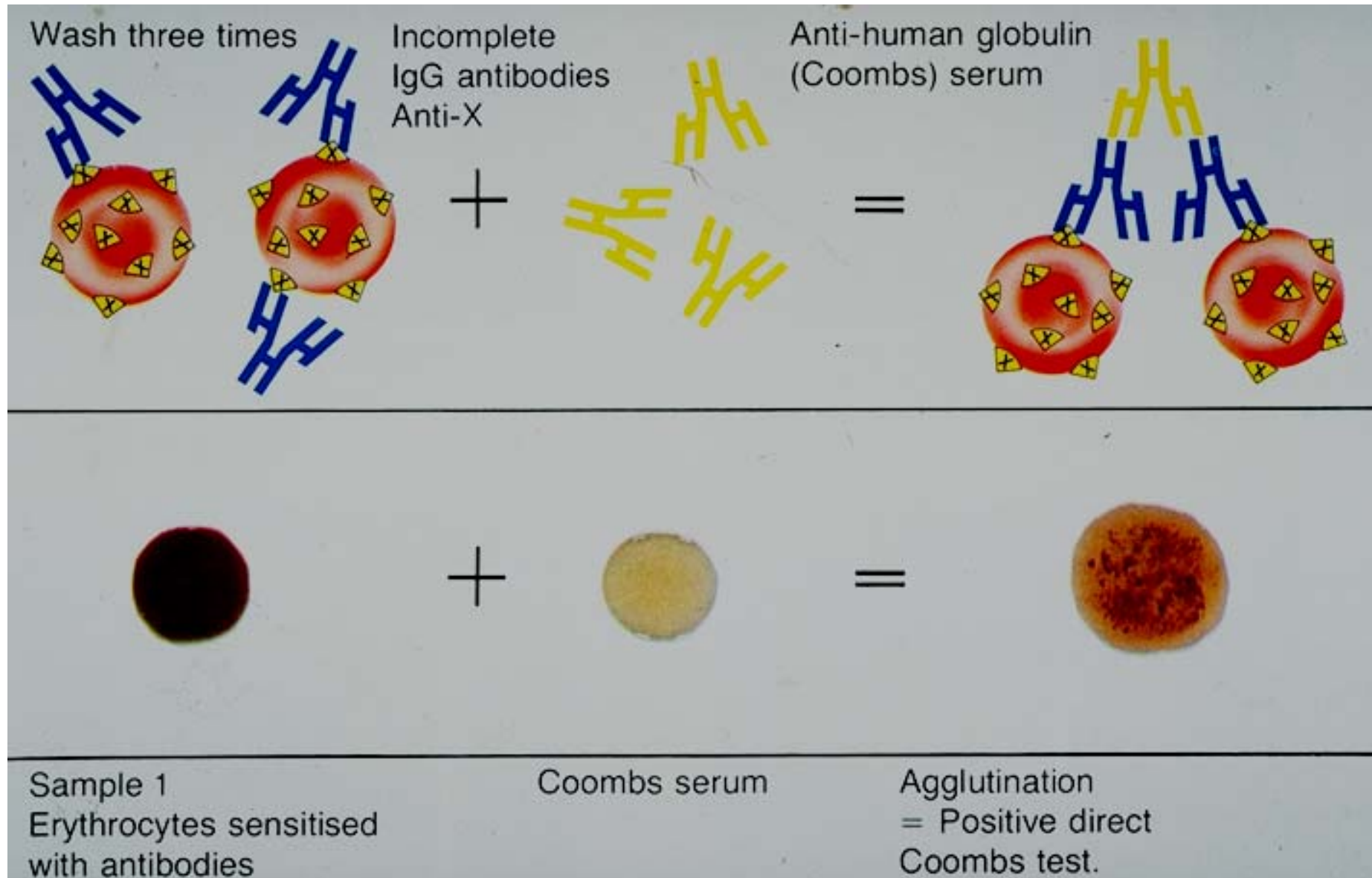
Gel



Coombs direct

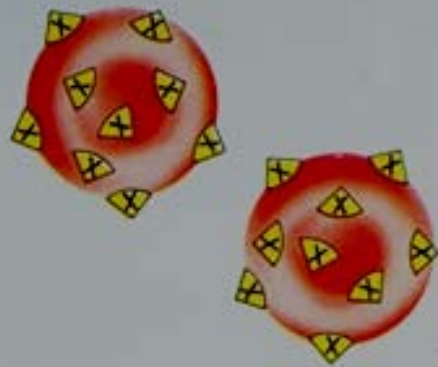


Coombs direct



Coombs direct

Wash three times

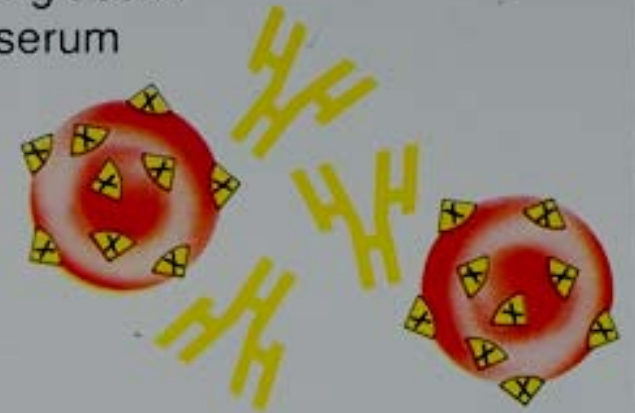


+

Anti-human globulin
(Coombs) serum



=



+



=



Sample 1
Erythrocytes not
coated with antibodies

Coombs serum

No agglutination
= negative direct
Coombs test.



Technique en tubes



Coombs direct

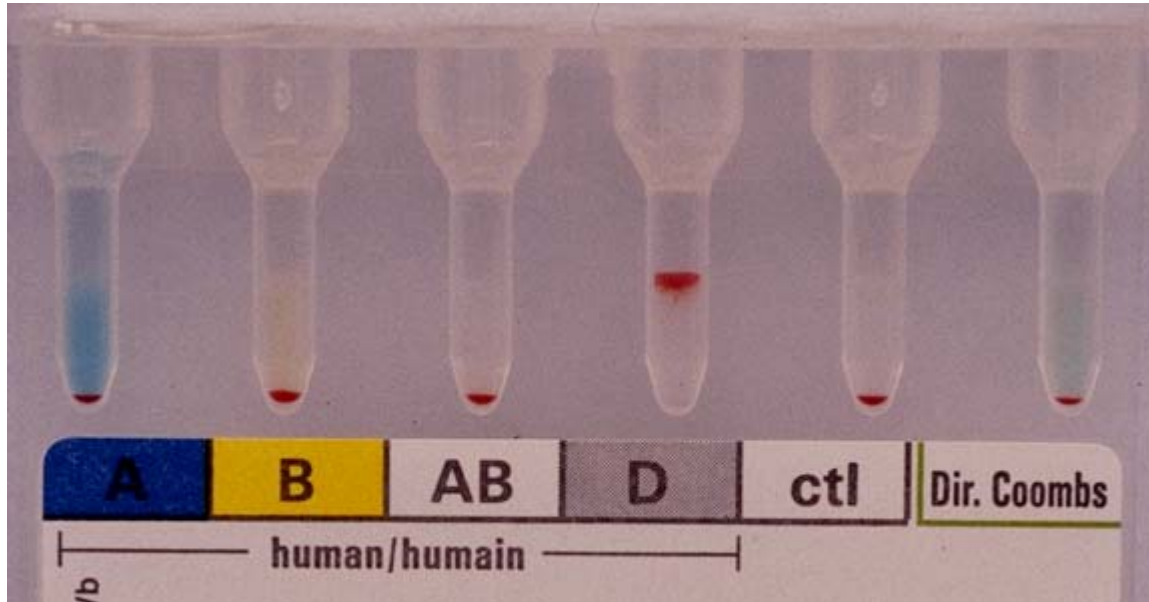
**1. Anémie hémolytique du nouveau-né
(tube EDTA ou sang de cordon)**

☛ **alloac maternel**

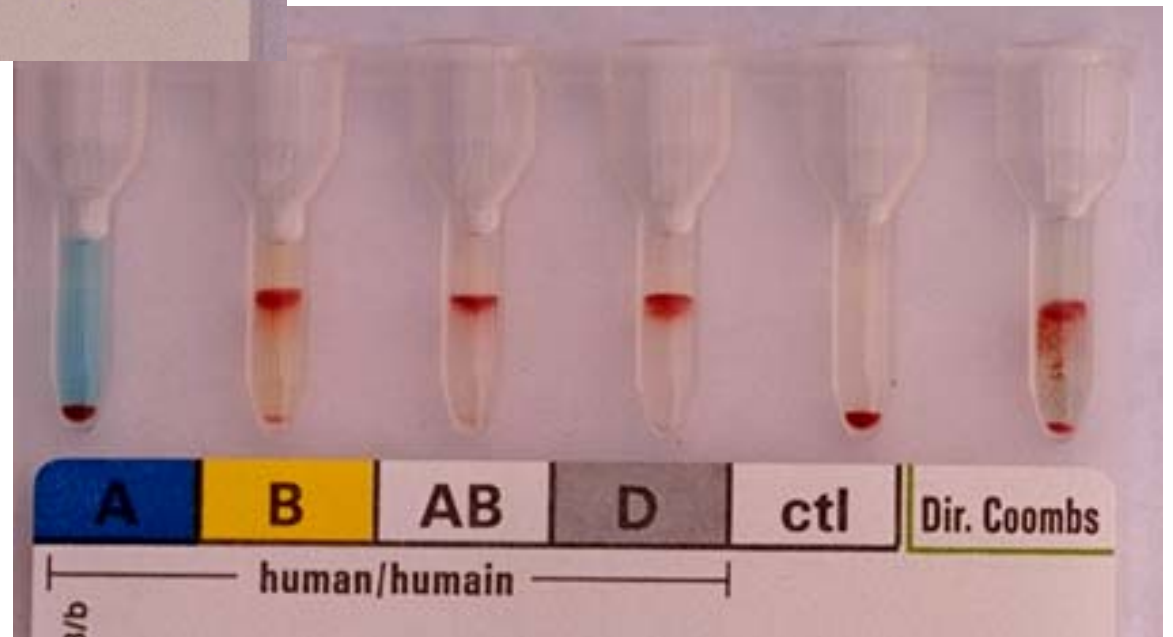
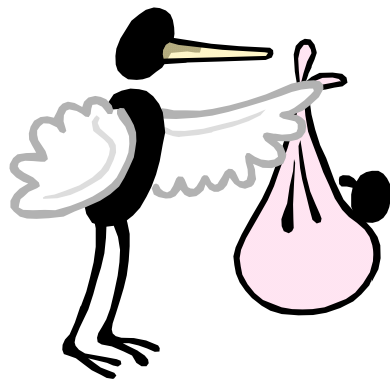
**2. Anémie hémolytique auto-immune
(tube EDTA)**

☛ **autoanticorps**

**3. Après une réaction transfusionnelle
(tube EDTA)**



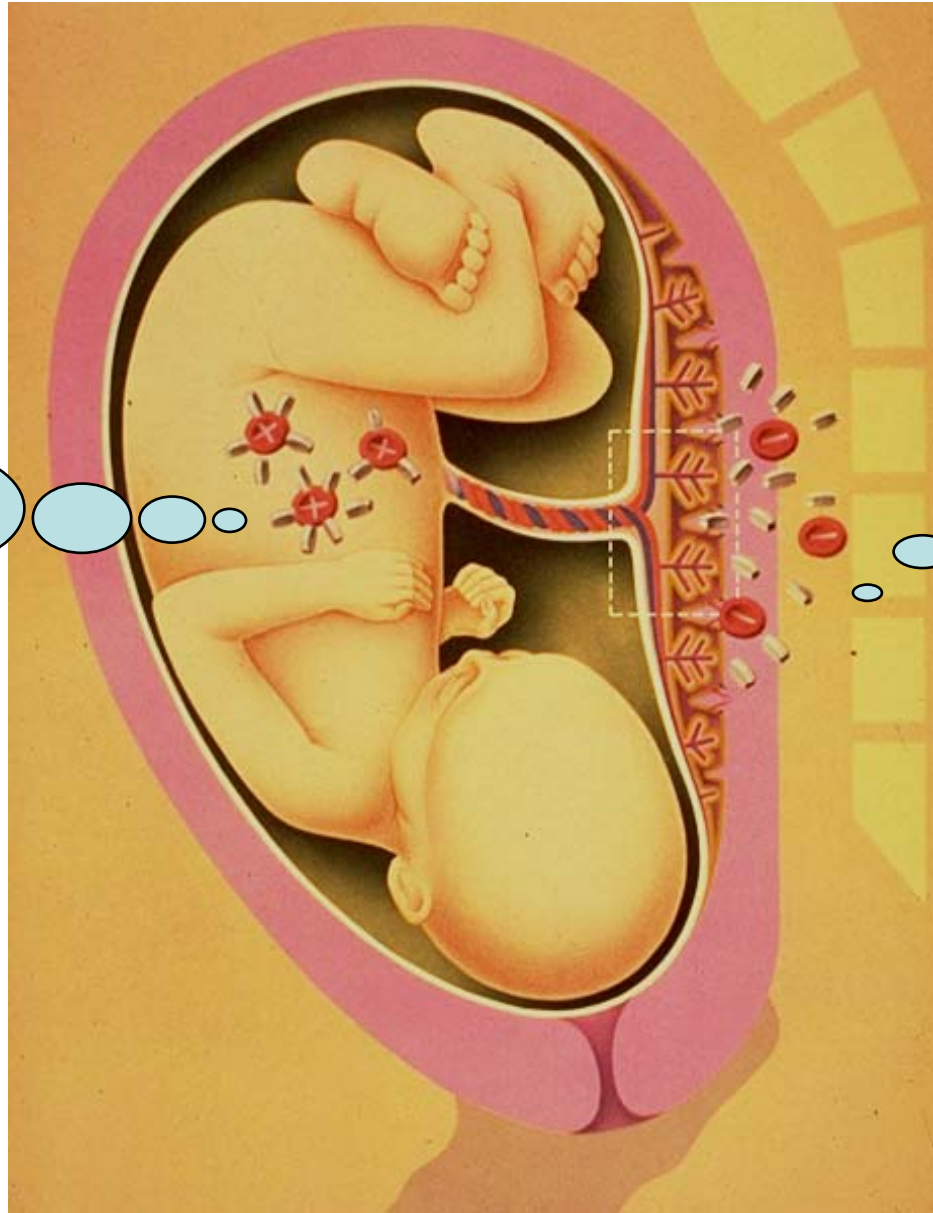
bébé 1



bébé 2

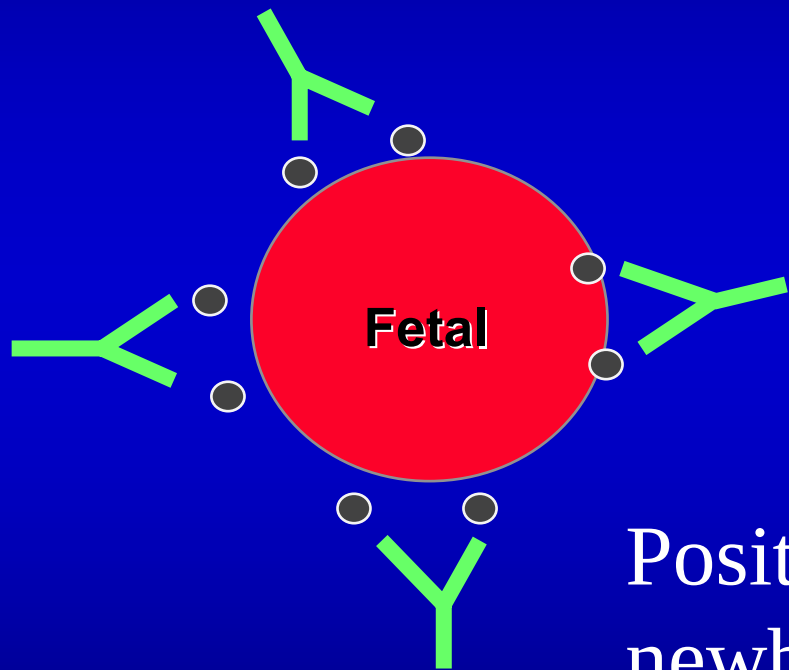


Foetus Rh pos.
anti-D sur ses
hématies



Mère Rh nég.
avec anti-D

IN VIVO RED CELL SENSITIZATION WITH ALLOANTIBODIES

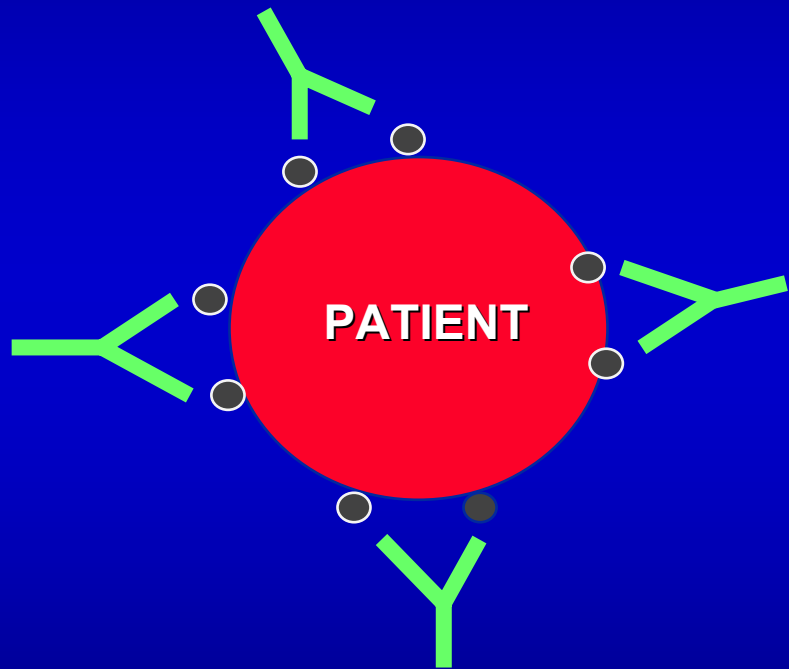


Maternal antibodies (IgG)

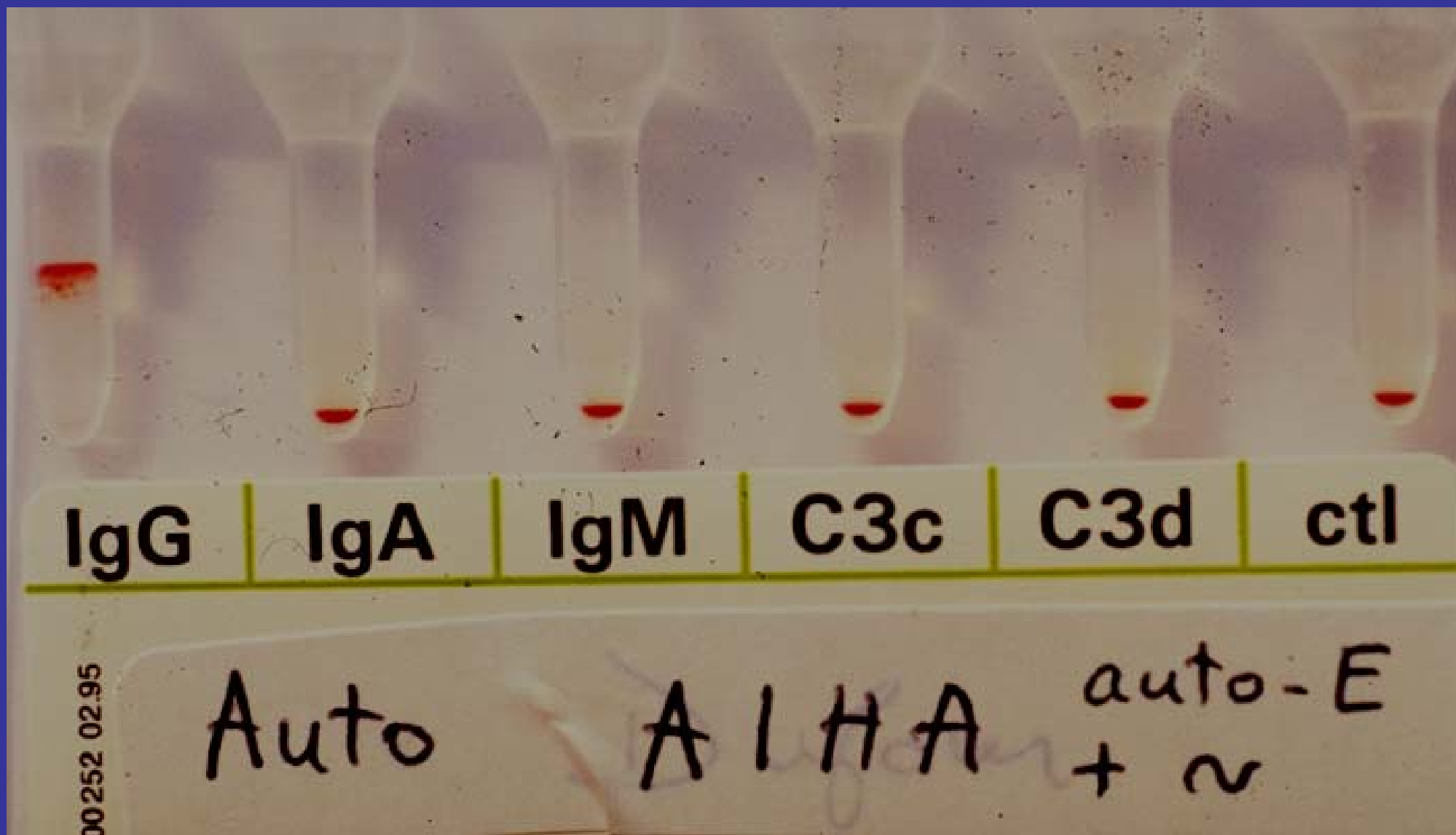
coating fetal or neonatal RBCs

Positive DAT : hemolytic disease of the newborn (HDN)

IN VIVO RED CELL SENSITIZATION WITH WARM AUTOANTIBODIES



Warm autoantibodies
react with patient's RBCs
(IgG₁; IgG₃)



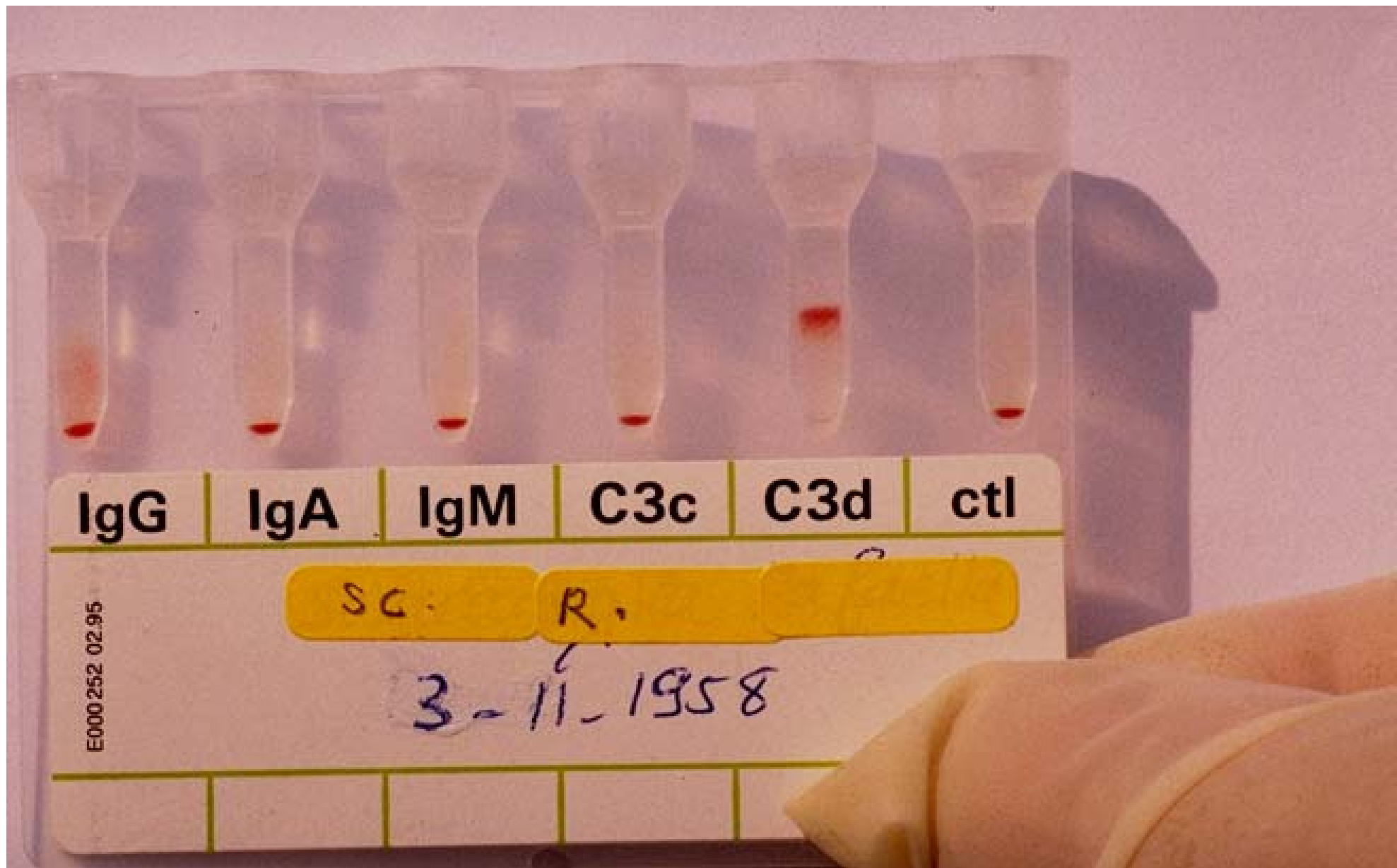
IN VIVO RED CELL SENSITIZATION WITH COLD ANTIBODIES



Cold reactive autoab bind
to RBCs in peripheral
circulation ($< 37^{\circ}\text{C}$)
IgM bind complement

As RBCs return to warmer parts of
circulation, IgM dissociate leaving
RBCs coated with C3d only







Patient CT avec agglutinines froides



IgG

IgA

IgM

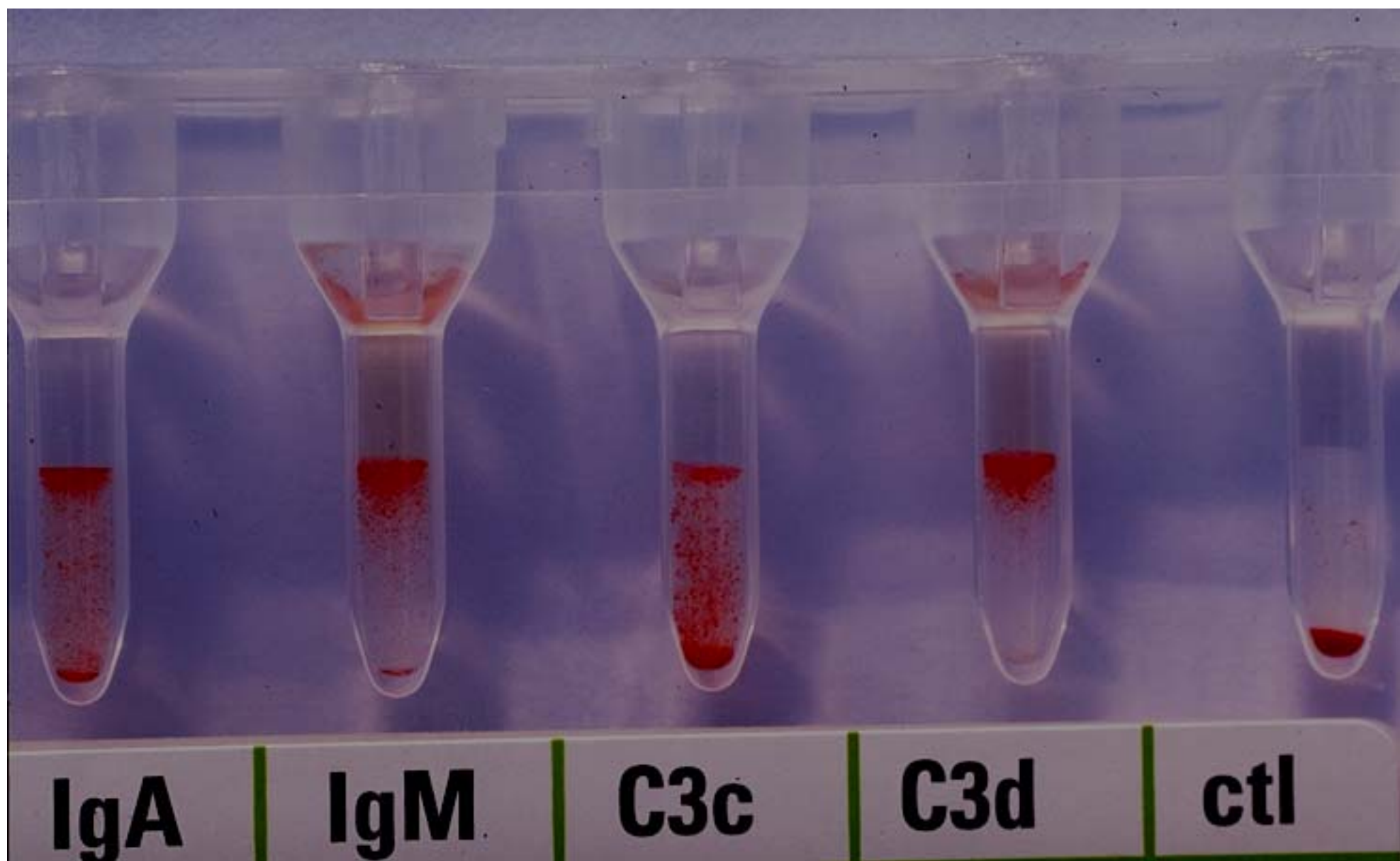
C3c

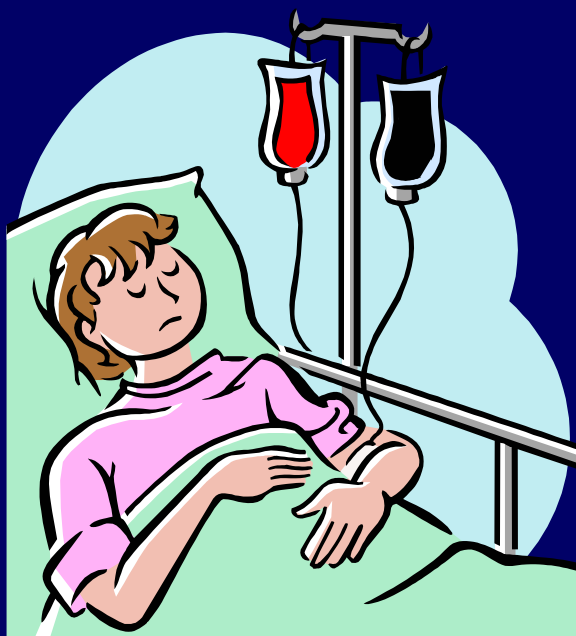
C3d

ctl

E000252 02.96

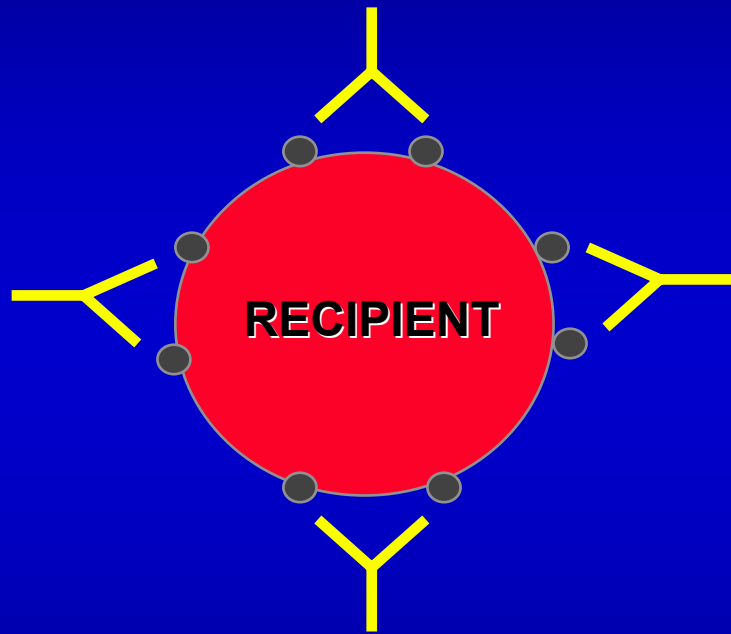
H. Magdalena (1987)
28.06.01





réaction transfusionnelle

IN VIVO RED CELL SENSITIZATION WITH ALLOANTIBODIES

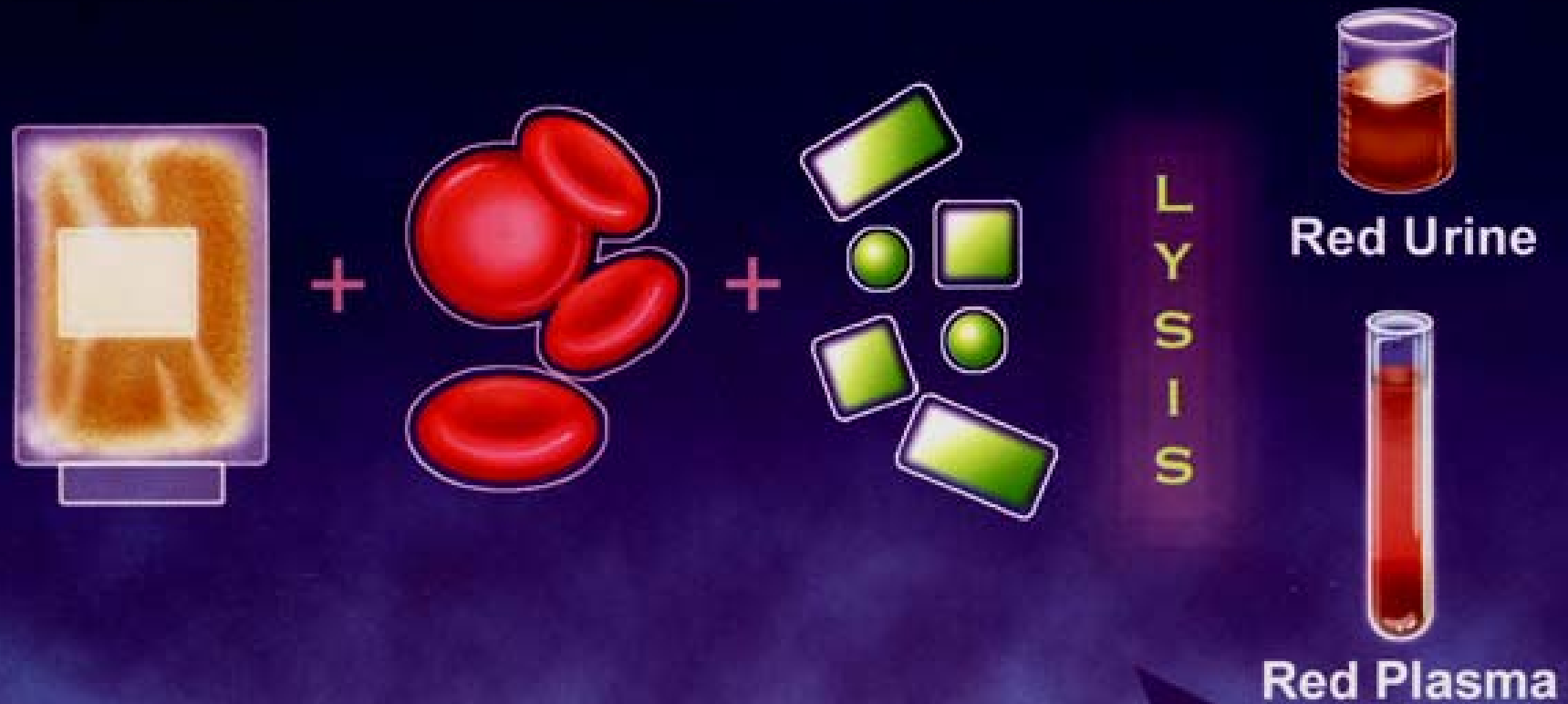


Donor alloantibodies (plasma)

coating recipient's RBCs

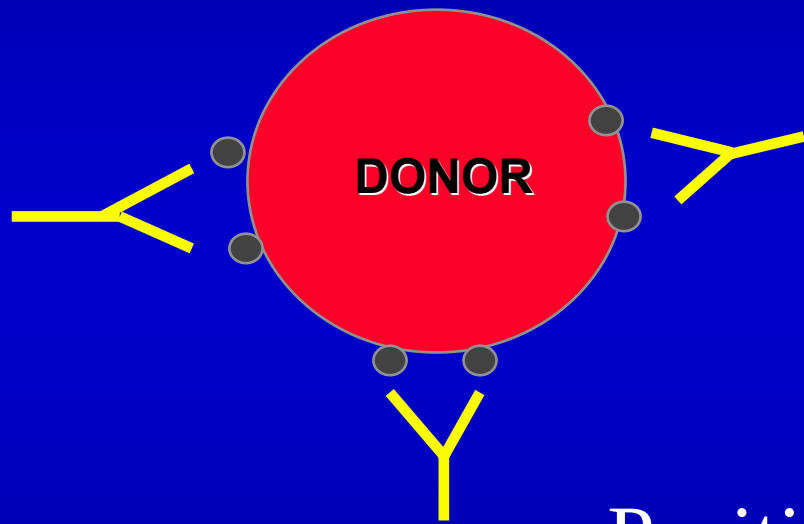
**Positive DAT after transfusion with ABO
incompatible plasma
(fresh frozen plasma, platelet preparations)**

HEMOLYTIC REACTION



Transfusion vol 44 June 2004

IN VIVO RED CELL SENSITIZATION WITH ALLOANTIBODIES



Recipient alloantibodies

**coating donor RBCs recently
transfused**

Positive DAT : hemolytic transfusion
reaction (HTR)

CQI : test de Coombs direct

- * Utiliser *un témoin de Coombs direct faiblement positif* systématiquement lors d'une série d'analyses
- * si technique en tube: valider tout résultat négatif, par un « Coombs Contrôle »



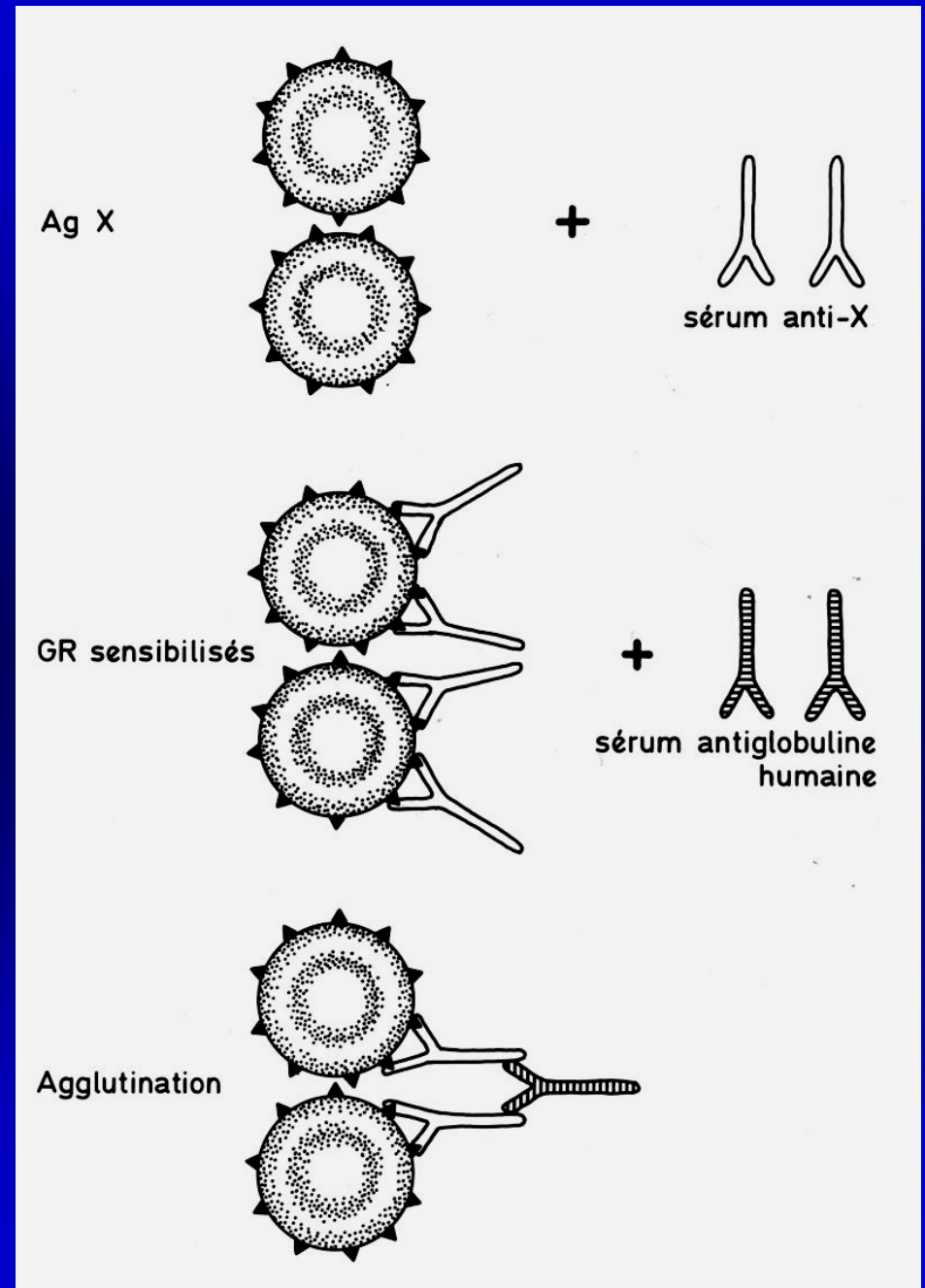
Coombs indirect

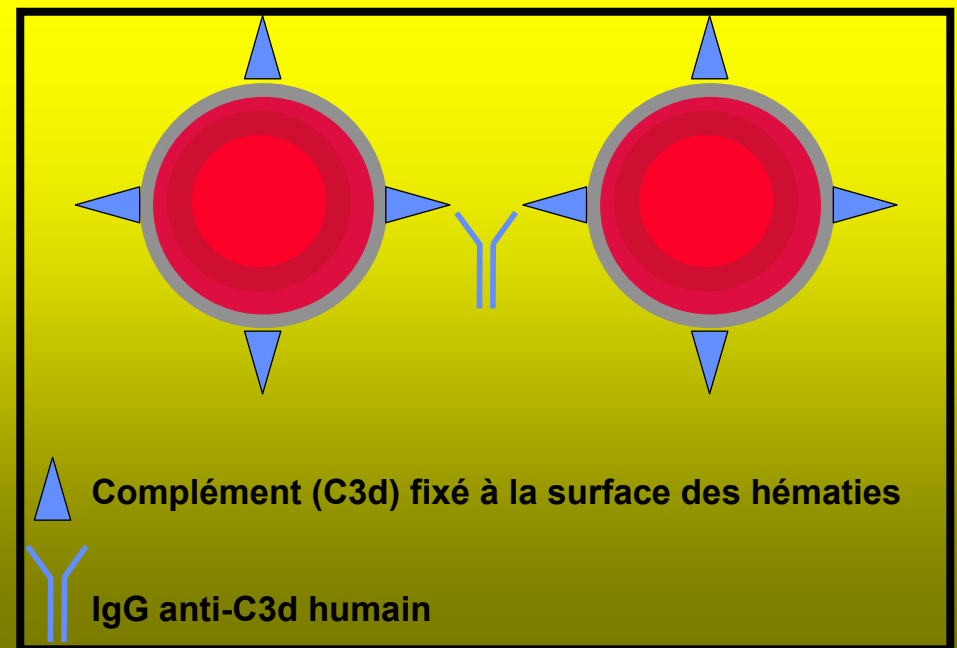
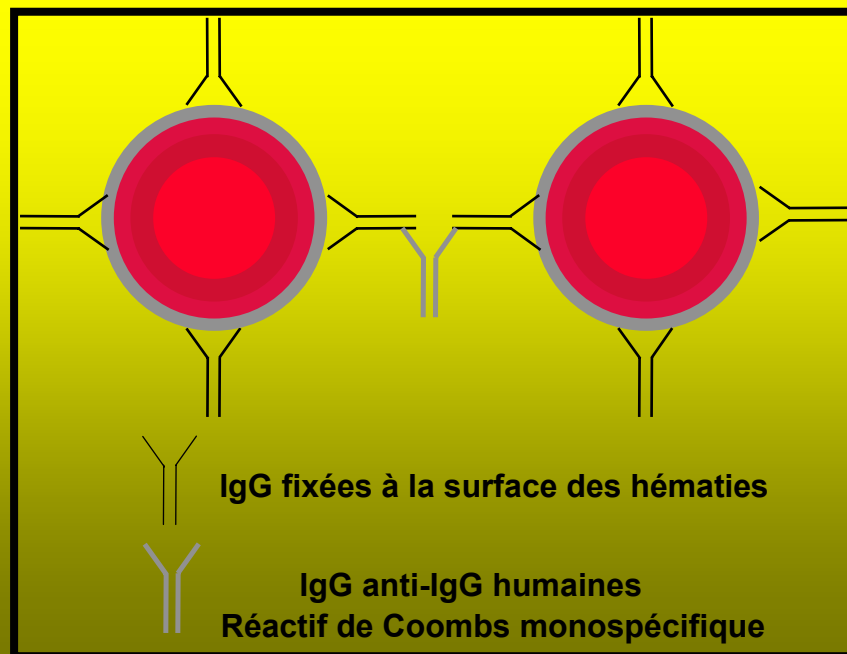
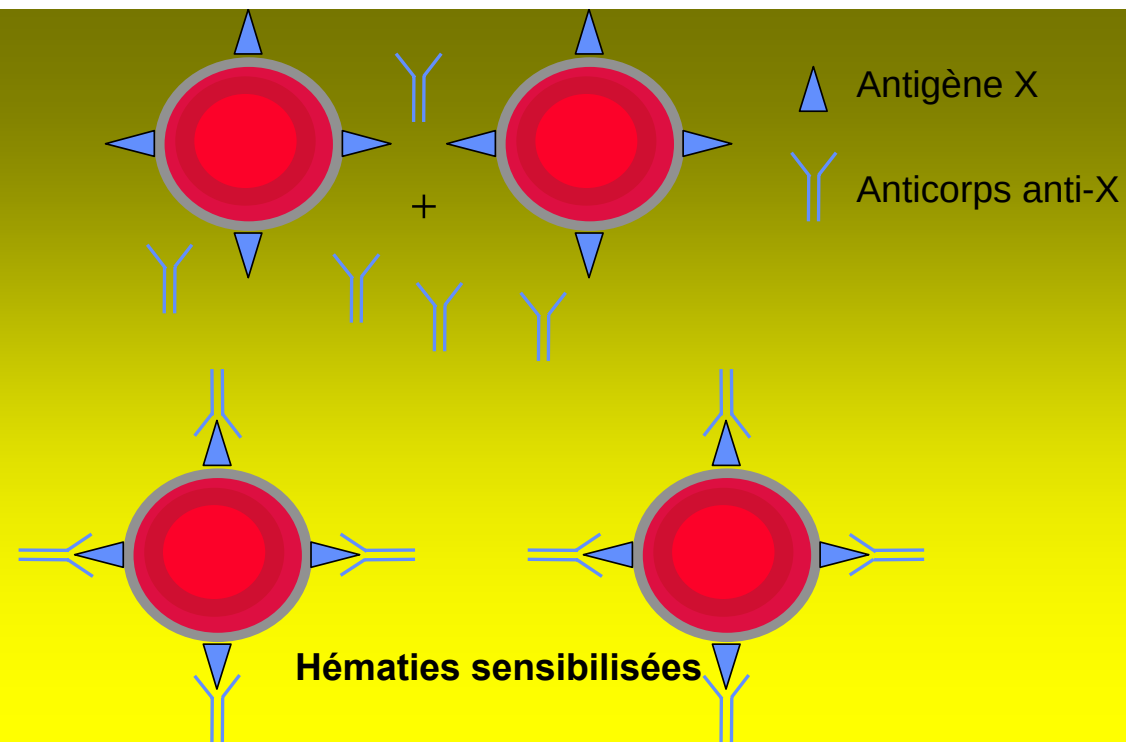
1. incubation

2. lavage des GR

3. adjonction du réactif de Coombs

4. centrifugation et lecture





Coombs indirect

1. **Phénotypes érythrocytaires**
(hématies du patient / donneur + **antisérum spécifique**)
2. **Test de compatibilité majeur**
(plasma / sérum du receveur + **hématies du donneur**)
3. **Détection et identification des anticorps irréguliers**
(plasma / sérum du patient / donneur + **hématies-tests d'un panel**)

Phénotype érythrocytaire et CQI

Tout phénotype érythrocytaire chez un patient est effectué avec des hématies hétérozygotes (contrôle positif) et des hématies exemptes de l'antigène (contrôle négatif)

Si effectué en Coombs indirect faire un Coombs direct ou un autocontrôle



K+ k- Control

K+ k+ Control

K- k+ Control
K+ k- Well

Contrôle négatif
Contrôle positif



Test de compatibilité



**Coombs indirect avec
sérum / plasma du patient et
les hématies du concentré
érythrocytaire**



**Le sang du patient et du
concentré érythrocytaire
(tubulure) doivent être
conservés au labo 7 j après la
transfusion**



Code 40/b
000240 08.93



Xmatch

eu
Cbs

Recherche des anticorps irréguliers (RAI)

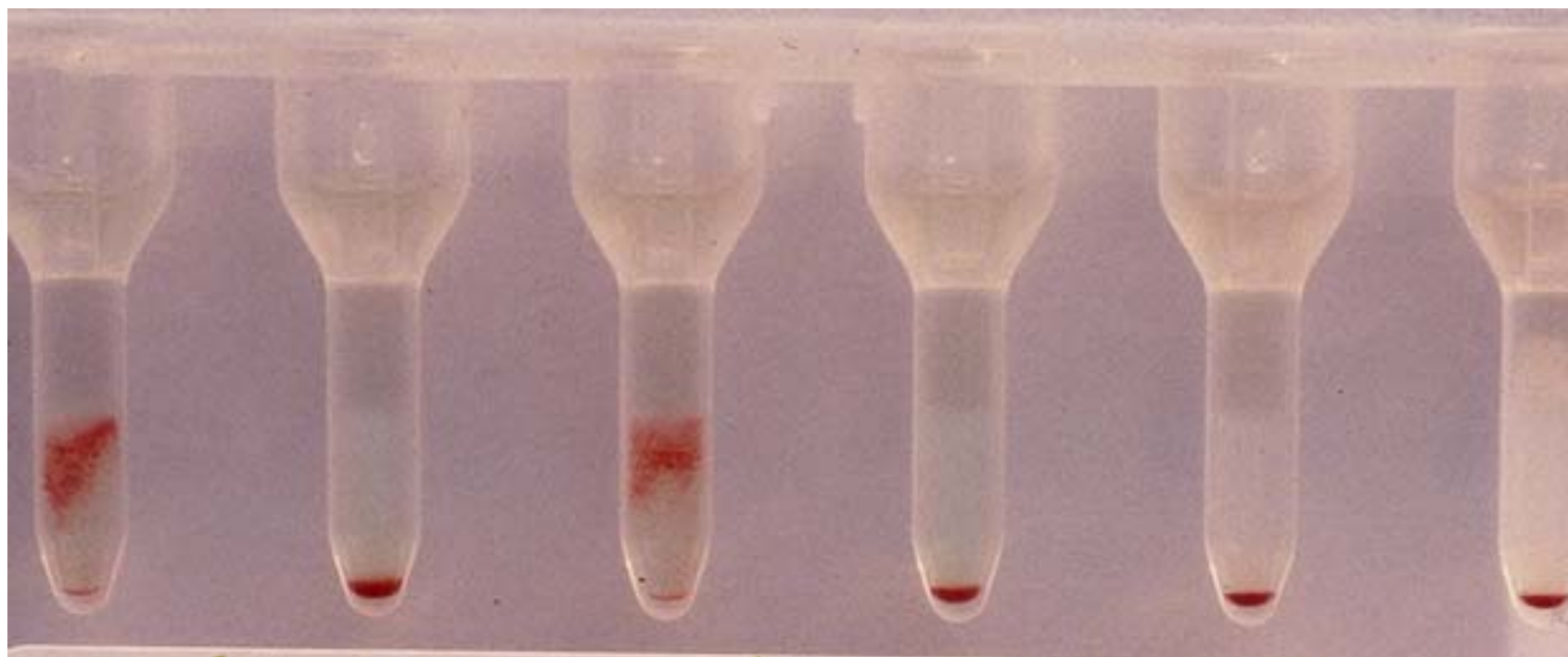
✦ Mettre en évidence des anticorps chauds (37 °C), cliniquement importants

☛ Coombs indirect

[Enzymatique n'est plus obligatoire]

**Si technique en tube, faire un
« Contrôle de Coombs »**





Coombs

Coombs

Coombs

Coombs

Enzyme

Enzyme

Code 41/b
000241 10.93

81

Détection ac. irrég.

+

•

+

•

•

•

CQI: RAI

Hématies-tests pour RAI avec un *anti-D* de faible titre

(limite de détection ≤ 10 ng [0.05 UI]
anti-D / ml)

ou d'autres anticorps à titre faible:

1x par jour o / lors du test



RAI (test en gel) au LCST Genève

Poste de jour:

Chaque lundi, **tester les 3 sérums** du set CQI du fournisseur du gel et noter les résultats sur le formulaire adéquate.

Tous les autres jours, tester **l'anti-D faible** (CQI) avec relevé des résultats.

Poste de nuit:

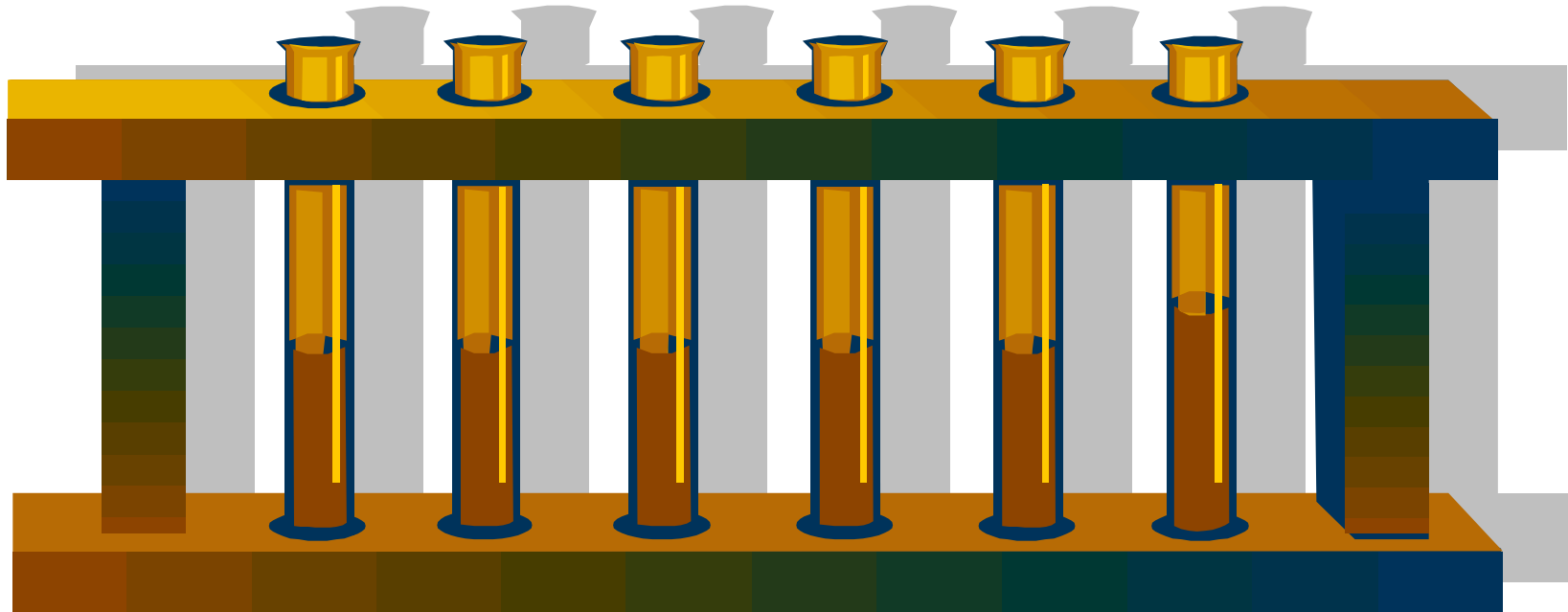
Chaque jeudi, **tester les 3 sérums** du set avec relevé et toutes les autres nuits, faire le CQI avec l'anti-D faible.

Rappel: RAI positif chez parturiente

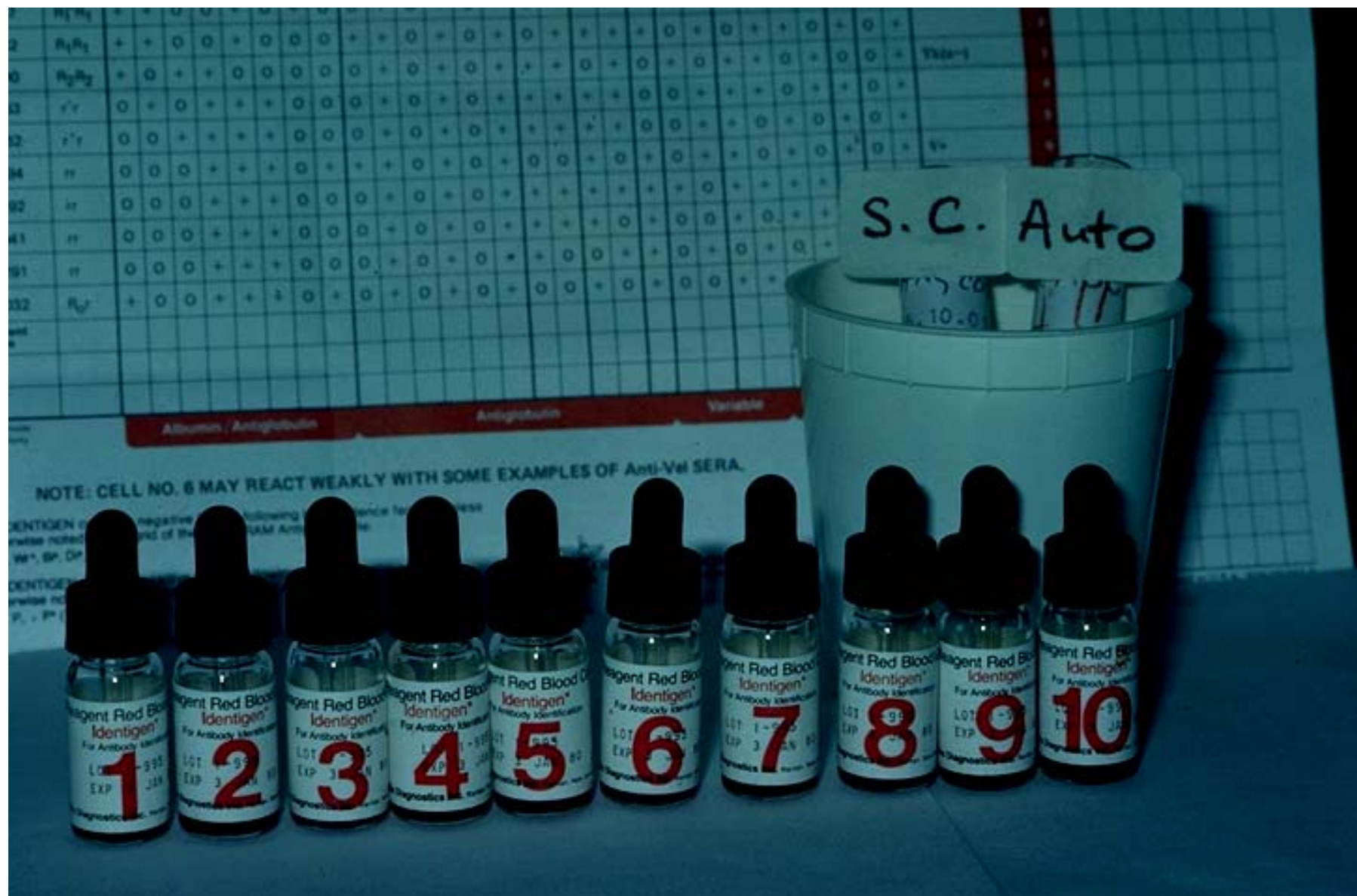
➡ Congeler les échantillons plasmatiques pendant la grossesse

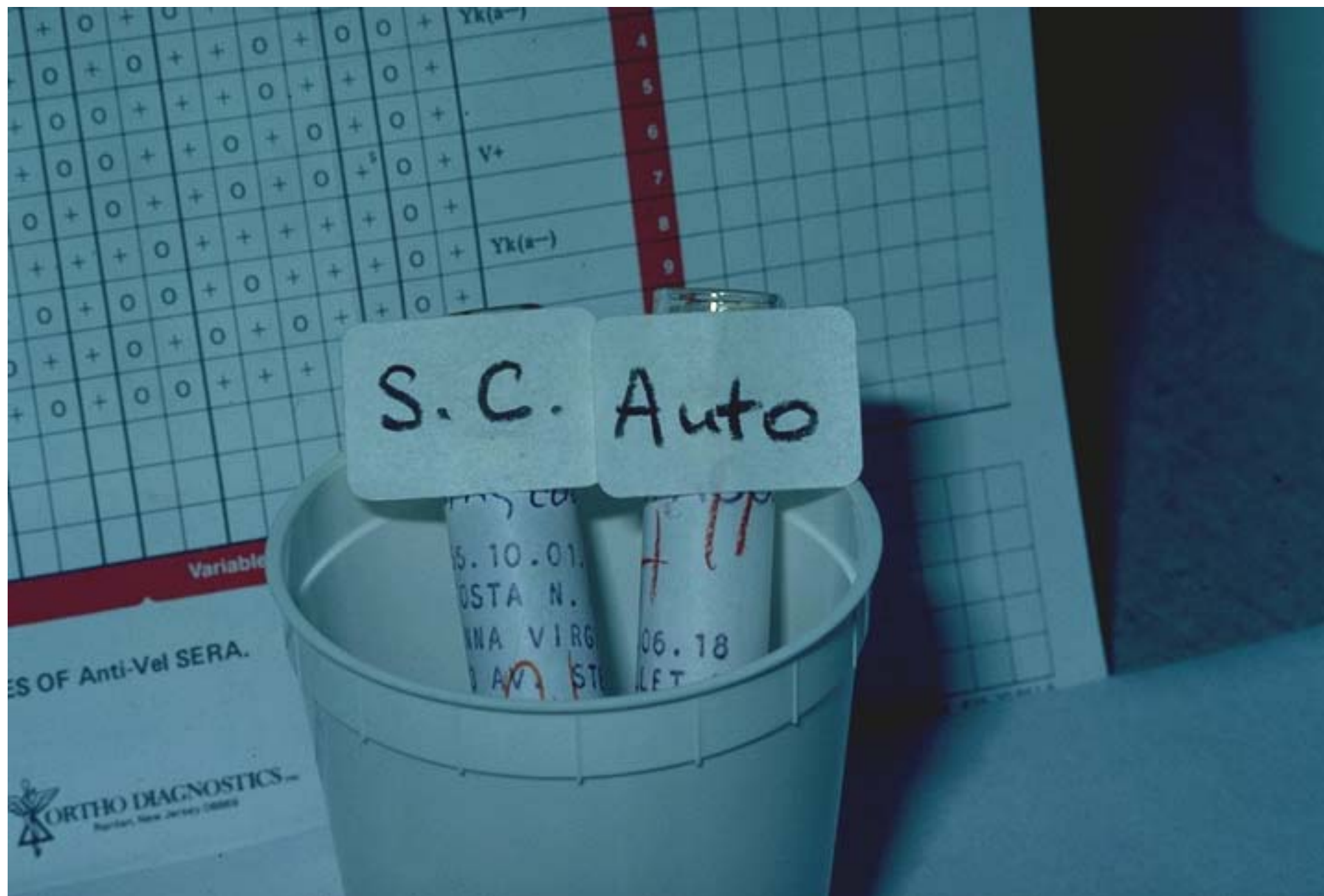
➡ **Titrer** (*de préf. en tubes*) **en parallèle toujours avec l'échantillon précédent**





Panel: série de solutions érythrocytaires de donneurs différents de groupe 0 avec une constellation des divers antigènes érythrocytaires







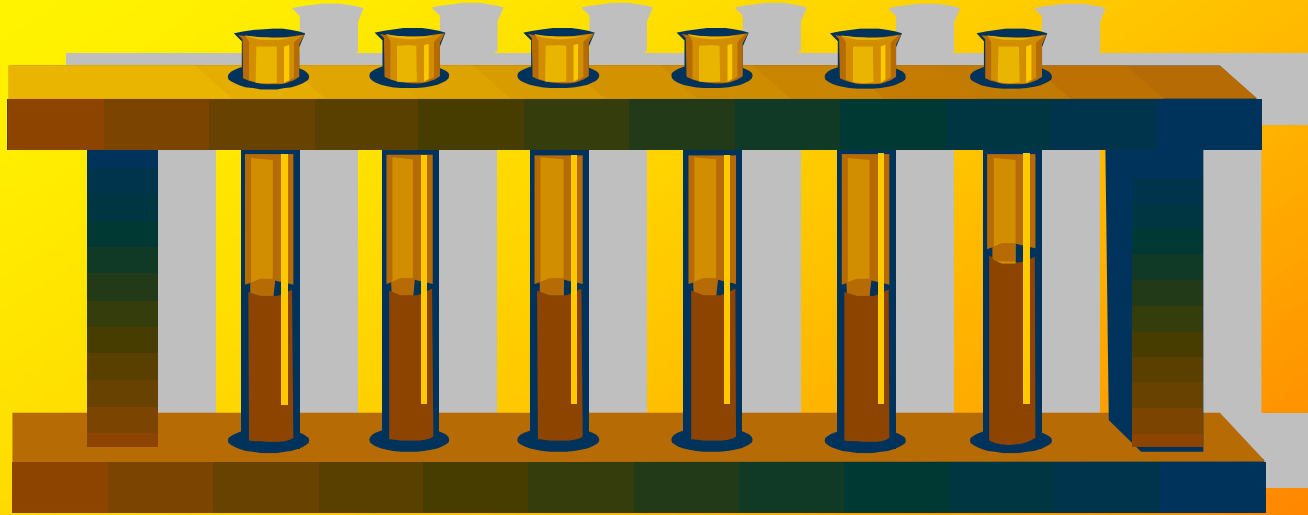
Sélection des donneurs de panel



**Comme dirait De La Palice,
maréchal de France (1470-1525):**

**« Un anticorps irrégulier ne peut être
détecté que si l'antigène correspondant
se trouve sur les hématies du panel »**

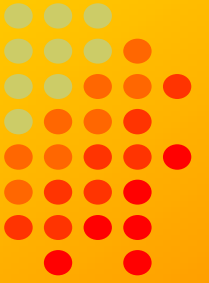
dépistage et identification des patients



Les hématies-tests doivent comporter les antigènes **D, C, C^w, c, E, e, S, s, K, k, Kp^a, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, M, N, Le^a, Le^b et si possible Lu^a.**

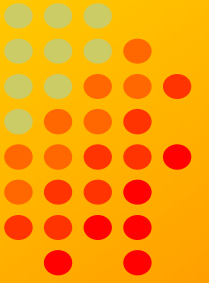
★ **Homozygote**

★ **Absence des antigènes rares M^g, Wr^a et V^w**

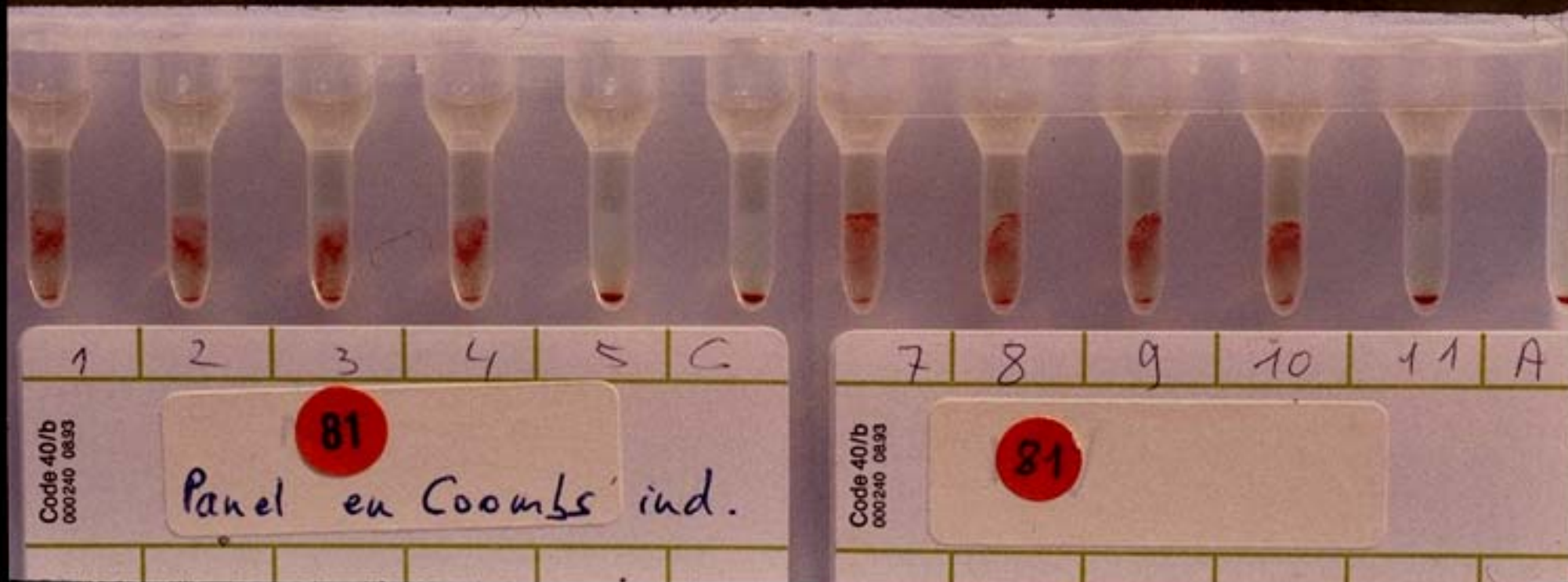


Exigences minimales (GB, 2001)

- groupe 0 (absence de Ax)
- expression homozygote des principaux antigènes
 - ➔ détection des anticorps **de faible titre.**
(difficulté pour les hématies homozygotes KEL1)
- **si possible Lu^a, Kp^a et C^w**
- exclusion des antigènes HLA:
 - HLA - B7 (Bg^a),
 - HLA - B17 (Bg^b)
 - HLA - A28 (Bg^c)



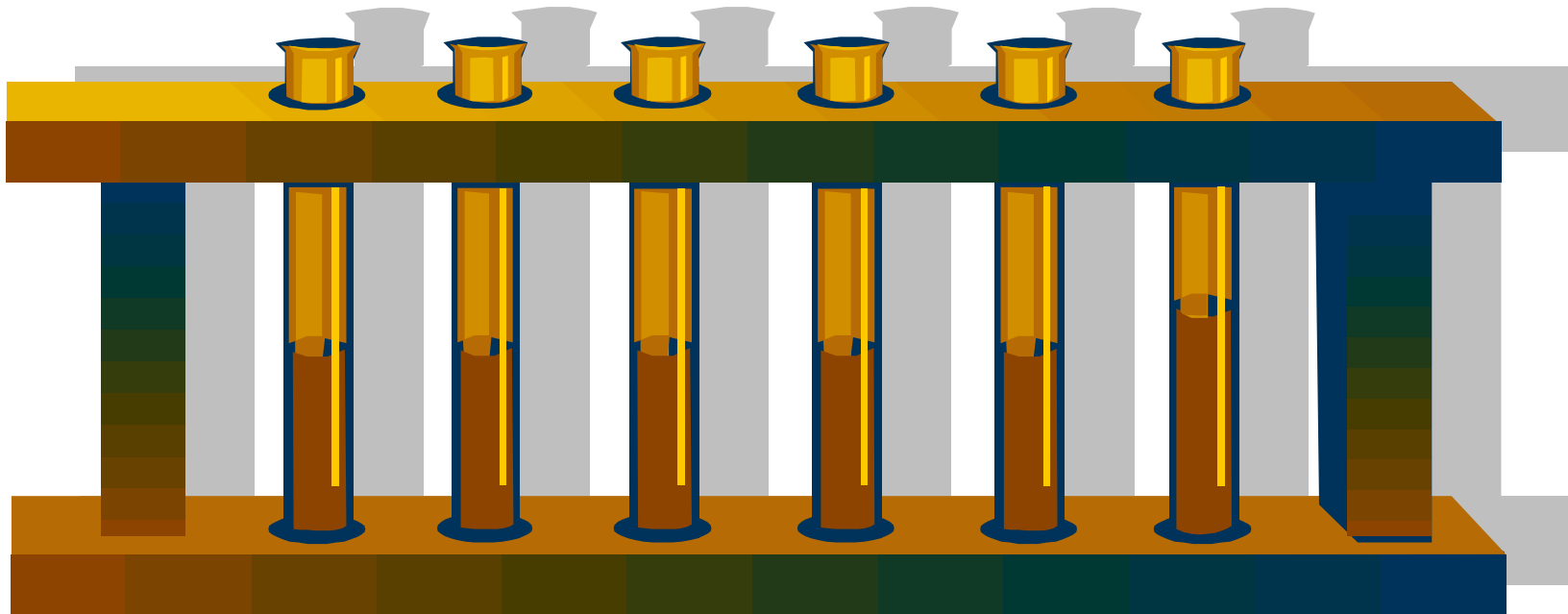
- **exclusion des antigènes de basse fréquence
comme W_r^a (1:1000, anti- W_r^a 3 % !)**
 - **détection de l'antigène Co^b (~ antigène K)**
 - **détermination de la densité antigénique des hématies
P1 (w P1, s P1) et des hématies K**
 - **3 hématies rr et 1 cellule Le(a-b-) etc.**
- ☺ un bon profil permettant une identification
sélective d'un mélange « simple » d'anticorps**



CQI : Panel d'hématies pour la spécification des anticorps irréguliers

Pour tout nouveau lot de Panel, prendre un témoin du set de CQI du fournisseur en parallèle avec l'échantillon d'un patient ou des plasmas connus de malades (anti-Fy^a, anti-D etc)

agglutinines froides



**Hématies adultes de
groupe 0 pour l'ag I**

**Sang de cordon de
groupe 0 pour l'ag i**

CQI: agglutinines froides

- ➔ Introduire en parallèle un plasma avec un anticorps froids (Lewis, P1, M)

TITRE D'UN ANTICORPS

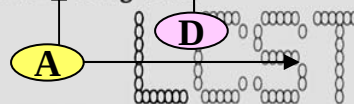
Sérum						
Dilution	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
+						
Suspension érythrocytaire (antigène spécifique)						
↓						
Incubation						
↓						
Lecture	POS	POS	POS	POS	NEG	NEG

Titre : 8

Hôpitaux Universitaires de Genève
Sérologie Transfusionnelle
Responsable Dr. Marie-José Stelling
24, Rue Micheli du Crest 1211 Genève 14
Tél. 022 372.72.79 Fax 022 372.72.90

Imprimé le: Jeudi 24/08/2000 16h04

CHABERON Michele
TRANLAB Sang veine



Michele
Né(e) le : 06/10/1965 (F)
Rte du Mandement 523
Dardagny

Votre réf.:

H.U.G. - HOPITAL CANTONAL
Dr TASIAS
P.GOS CONS.URGENCES

Tél : 24412

Pneu : 3426

Demandeur : H.U.G. - GENEVE P.GOS CONS.URGENCES

Demande No : 02 0061 06 2000 Sang veineux Lèvement du 02/06/2000 10h 30

ANALYSE

Valeur Unités V.Réf/Seuil

Groupe Sanguin

ABO Rhesus

A+

Système Rhesus

C	+
D	+
E	-
c	+
e	+

Recherche d'anticorps

RAI +

Anticorps anti-erythro.

Anti-E		PRES
enzymatique		+
enzymatique	titre	2
Coombs Indirect		+
Coombs Indirect	titre	2

Titre selon technique en tube.

Titre selon technique en tube

Message laboratoire:

Pour tout renseignement complémentaire, vous pouvez appeler la responsable du LCST au téléphone 372 72 86.

Veillez vous référer au Répertoire des Prestations d'Analyses concernant les données sur le matériel d'analyse, la méthode utilisée et la sous-traitance. Ce rapport ne peut être reproduit sans autorisation du laboratoire. Ce rapport est le seul exemplaire qui reflète la mise à jour des résultats disponibles au laboratoire à la date et l'heure indiquées sur le rapport.

Fin du rapport - Total de 1 page(s)

CQI: Titration des Isoagglutinines anti-A et anti-B

- * Introduire en parallèle un *pool* de plasma de référence de titres connus pour l'anti-A et l'anti-B**
- * Si cette prestation est fréquente dans le laboratoire (par ex. suivi des TMO)**

CQI : éluat

- Utiliser en parallèle d'un éluat, des érythrocytes sensibilisés par un anticorps de spécificité connue (technique validée au préalable)

