

Laboratorinė medicina.
2020, t. 22, Nr. 2(86), p. 82–86.

Eliucijos tyrimo rezultatų reikšmė esant teigiamai tiesioginei Kumbso reakcijai

Kornelijus Kateiva¹
Loreta Bagdonaite^{1,2}
Vida Betingienė²

Santrauka

Darbo tikslas – įvertinti eliucijos tyrimo rezultatų svarbą analizuojant teigiamos tiesioginės Kumbso reakcijos (TKR) priežastis.

Tyrimo medžiaga ir metodika. Buvo ištirti 63 pacientų teigiamos TKR kraujo mėginiai. Atliekant eliucijos tyrimus tikėtasi rasti imuninių (auto- ar alo-) antikūnų, dengiančių pacientų eritrocitus *in vivo*. Tyrimą sudarė trys etapai: 1) teigiamos TKR mėginių atranka; 2) eliucijos tyrimo atlikimas teigiamos TKR mėginiams; 3) netiesioginės Kumbso reakcijos (NKR) atlikimas po eliucijos tyrimo.

Rezultatai. Atlikus eliucijos tyrimą 63 pacientų kraujo mėginiuose reaktyvūs eliuatai buvo 51 %, o nereaktyvūs – 49 % mėginių. Ištyrus reaktyvių eliatų imuninius antikūnus, 25 % šių eliatų identifikuoti aloantikūnai ir 75 % – autoantikūnai. Dažniausiai (42 %) aptikti aloantikūnai buvo nukreipti prieš Rezus kraujo grupės antigenų sistemą, iš jų daugiausiai anti-E (34 %). Suskirsčius pacientus į silpnai ir stipriai teigiamos TKR grupes, nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp Kumbso reakcijos stiprumo ir reaktyvumo eliuato grupėse (Kramerio ryšio stiprumo koeficientas lygus 0,27. $\chi^2 = 4,59$, $p = 0,032$). Komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumas tarp reaktyvios ir nereaktyvios eliuato grupės statistiškai reikšmingai nesiskyrė (Fišerio $p = 1,000$). Statistiškai reikšmingo ryšio tarp imuninių antikūnų ir Kumbso reakcijos stiprumo nerasta (Fišerio $p = 0,218$).

Išvados. Esant stipriai teigiamai TKR dažniau aptinkami reaktyvūs eliuatai, kuriuose yra autoantikūnų, o silpnai teigiama Kumbso reakcija būdinga nereaktyviems eluatams (Kramerio ryšio stiprumo koeficientas lygus 0,27. $\chi^2 = 4,59$, $p = 0,032$). Komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumas tarp reaktyvios ir nereaktyvios eliuato grupės statistiškai reikšmingai nesiskyrė (Fišerio $p = 1,000$). Komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumas neturi įtakos gautai reaktyviai ir nereaktyviai eliuato reakcijai. Vertinant reaktyvioje eliuato grupėje identifikuotų imuninių antikūnų ryšį su TKR stiprumu, statistiškai reikšmingo ryšio nenustatyta (Fišerio $p = 0,218$). Reaktyviuose eliatuose identifikuotų imuninių antikūnų rūšis nepriklauso nuo TKR stiprumo.

Reikšminiai žodžiai: autoantikūnai, aloantikūnai, komplemento sistema.

ĮVADAS

Tiesioginė Kumbso reakcija (TKR) – laboratorinis tyrimo metodas, kuris dėl hemagliutinacijos leidžia vizuali-

zuoti imuninius antikūnus ar komplemento fragmentus, *in vivo* dengiančius eritrocitus. Atliekant šią reakciją pirmiausia naudojamas polispecifinis reagentas, kuris vienu metu gali ap-

¹Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedra

Department of Physiology, Biochemistry, Microbiology and Laboratory Medicine, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Vilnius University

²Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centro Klinikinės imunologijos ir kraujo perpylimo laboratorija

Laboratory of Clinical Immunology and Blood Transfusion, Centre of Laboratory Medicine, Vilnius University Hospital Santaros Klinikos El. paštas: loreta.bagdonaite@mf.vu.lt

tikti antikūnus ir komplemento fragmentus. Esant teigiamai reakcijai su polispecifiniu reagentu, tyrimas tęsimas su monospecifiniu reagentu, kuris padeda tiksliu identifikuoti, kas yra prisijungę prie eritrocitų membranos [1].

TKR yra atliekama tuomet, kai atsiradus laboratoriniams hemolizės požymiams norima atskirti, ar prasidėjusi hemolizė yra autoimuninės ar aloimuninės kilmės. Eritrocitai fiziologinėmis sąlygomis normos atveju išgyvena apie 120 dienų, paskui jie yra sudaromi.

Esant pagreitėjusiai jų destrukcijai, hemolizei, kaulų čiulpai stengiasi kompensuoti eritrocitų praradimą, tačiau jeigu sunaikinamų eritrocitų kiekis viršija kaulų čiulpuose pagaminamų ląstelių kiekį, pasireiškia hemolizinė anemija [2]. Hemolizinės anemijos paplitimas literatūros šaltiniuose yra pateikiamas pagal jos priežastis. Pavyzdžiui, sergamumas autoimuninėmis hemolizinėmis anemijomis (AIHA) siekia 1 atvejį 100 000 gyventojų per metus. Kadangi intravaskulinė hemolizė yra pavojinga žmogaus sveikatai, todėl jos aktualumas visuomenėje yra didelis [3].

Atlikus TKR ir gavus teigiamą reakcijos rezultatą, atliekamas eliucijos tyrimas, kuris padeda identifikuoti antikūnų, dengiančių paciento eritrocitus, specifiskumą. Norint nustatyti po eliucijos tyrimo nuplautų antikūnų specifiskumą, gauti eliuatai yra inkubuojami su reagentais ir pagal reakcijos rezultatus įvertinama, ar tai yra autoantikūnai, ar aloantikūnai. Šiuo darbu buvo siekta nustatyti eliucijos tyrimo metu gautų eliatų reikšmę esant teigiamai TKR.

DARBO TIKSLAS

Darbo tikslas – įvertinti eliucijos tyrimo rezultatų svarbą analizuojant teigiamos TKR priežastis.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Tiriamasis darbas atliktas Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės diagnostikos centro Klinikinės imunologijos ir kraujo perpylimo laboratorijoje.

Prieš tyrimą buvo sudaryti jo atlikimo etapai:

1. Teigiamos TKR mėginių atranka.
2. Eliucijos tyrimo atlikimas teigiamos TKR mėginiams.
3. Netiesioginės Kumbso reakcijos (NKR) atlikimas po eliucijos tyrimo.

Lentelė. Pacientų eliatų charakteristikos
Table. Characteristics of patients eluates

TKR stiprumas	Reaktyvus eliuatas N=32		Nereaktyvus eliuatas N=31	Iš viso N=63
	Aloantikūnai N=8	Autoantikūnai N=24		
1+	4 (50 %)	6 (25 %)	18 (58,1 %)	28 (44,4 %)
2+	4 (50 %)	8 (33,3 %)	13 (41,9 %)	25 (39,7 %)
3+	0 (0 %)	9 (37,5 %)	0	9 (14,3 %)
4+	0 (0 %)	1 (4,2 %)	0	1 (1,6 %)

Teigiamos tiesioginės Kumbso reakcijos mėginių atranka

Eliucijos tyrimas padeda identifikuoti tik prie eritrocitų membranos prisijungusius imuninius antikūnus, todėl prieš atliekant eliucijos tyrimą buvo surinkti kraujo mėginiai tik tų pacientų, kuriems buvo gautas teigiamas TKR rezultatas, o neigiami TKR mėginiai nebuvo įtraukti į tyrimą.

Eliucijos tyrimo atlikimas teigiamos tiesioginės Kumbso reakcijos mėginiams

Eliucijos tyrimai buvo atlikti naudojant „Gamma ELU-KIT II“ tirpalų sistemą.

Netiesioginės Kumbso reakcijos atlikimas po eliucijos tyrimo

Atliekant NKR buvo panaudotos specialios Šveicarijos firmos „BioRad“ (Šveicarija) DiaMED-ID sistemos priemonės:

1. Kumbso kortelės, kuriose esantis dekstrino pagrindu gelis užpildo mikrosulinėlius šiose kortelėse. Gelyje yra suspenduotas serumas, į kurio sudėtį įeina anti-IgG ir C3d polispecifinių antiglobulinų serumai.
2. Specialūs eritrocitų reagentai:
 - a. Dia Cell I ir II,
 - b. Dia Panell.

Šiam tyrimui naudoti eritrocitų reagentai yra tipuoti eritrocitai, kurie buvo naudojami imuninių antikūnų paieškai, o jų radus – identifikavimui.

Imuninių antikūnų paieška ir identifikavimas

Siekiant nustatyti po eliucijos nuplautus antikūnus (auto- ar alo-), buvo naudojamos Kumbso kortelės, o imuniniams antikūnams identifikuoti – Dia Panell eritrocitų reagentai. Imuninių antikūnų identifikavimui, kaip ir jų paieškai, naudotos Kumbso kortelės.

Statistinė duomenų analizė

Atrinktų 63 pacientų duomenys buvo sukelti į lenteles naudojantis *Microsoft Office Excel 2010* ir vėliau apdoroti statistine programa *SPSS Statistics 17,0*. Kokybiinių požymių tarpusavio ryšiui nustatyti buvo naudotas

Chi kvadrato kriterijus. Statistiškai reikšmingi ryšiai buvo laikomi patikimais, kai $p < 0,05$, o nepatikimais, kai $p > 0,05$.

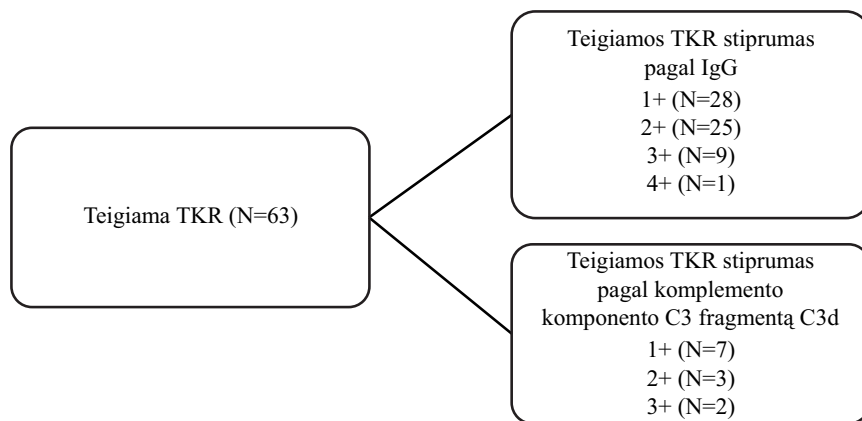
DARBO REZULTATAI

Eliucijos tyrimo atlikimas ir antikūnų specifiskumo nustatymas

Eliucijos tyrimui atlikti Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės diagnostikos centro Klinikinės imunologijos ir kraujo perpylimo laboratorijoje atrinkti mėginiai 63 pacientų, kuriems buvo nustatytas teigiamas TKR rezultatas. TKR yra atliekama norint nustatyti, ar pacientui, kuriam pasireiškė klinikiniai anemijos simptomai, prasidėjusi hemolizė yra autoimuninės ar aloimuninės kilmės. Priklausomai nuo eliucijos tyrimu gauto eliuato rezultato sprendta, ar teigiami TKR tyrimo rezultatai pacientams buvo dėl autoantikūnų ar aloantikūnų, galinčių sukelti hemolizę. Teigiamas TKR stiprumas buvo vertintas balais nuo 1+ iki 4+. Iš 63 pacientų eliucijos tyrimai buvo atlikti 31-am vyrui bei 32-iesiems moterims. Atliekant eliucijos tyrimus buvo tikimasi rasti imuninių (auto- ar alo-) antikūnų, dengiančių pacientų eritrocitus *in vivo*. Gautų eliatų rezultatų pasiskirstymas pateikiamas lentelėje ir 1 paveiksle.

Visų tirtų pacientų TKR stiprumas pasiskirstė taip: 1+ (44,4 %), 2+ (39,7 %), 3+ (14,3 %), 4+ (1,6 %). Reaktyvaus eliuato grupėje TKR stiprumas buvo nuo 1+ iki 4+, o nereaktyvaus eliuato grupėje – nuo 1+ iki 2+. Gauti eliuatai buvo panaudoti NKR imuninių antikūnų paieškai. Atlikus NKR nustatyta, kad 32-iesiems (50,79 %) pacientams eliuatas buvo reaktyvus su Dia Cell I ir II (eliuate buvo imuninių antikūnų) ir 31-am (49,21%) pacientui eliuatas buvo nereaktyvus (eliuate nebuvo imuninių antikūnų).

Pagal eliuato rezultatus pacientai suskirstyti į dvi grupes: 1 grupę sudarė pacientai, kuriems eliuato reakcija buvo teigiama, 2 grupę – neigiama.



1 pav. Teigiamų TKR eliuatų charakteristika
Fig. 1. Characteristics of patients DAT results

Siekiant nustatyti pirmos pacientų grupės reaktyvių eliuate esančių imuninių antikūnų specifiškumą, atlikta NKR su Dia Panell 11 tipuotų eritrocitų antigenų mišinių. Iš 32 reaktyvių eliuatų 8 (25 %) eliuatai buvo su aloantikūnais, o 24 (75 %) – su autoantikūnais. Identifikuoti aloantikūnai dažniausiai buvo nukreipti prieš eritrocitų kraujo grupių antigenų sistemas: Rezus (42 %), Kidd (25 %) ir Kell (17 %). Rečiausiai aloantikūnai buvo nukreipti prieš ABO (8 %) ir Duffy (8 %) (2 pav.).

Aptikti ir identifikuoti dažniausi aloantikūnai pasiskirstė taip: anti-E (34 %), anti-Jk^a (25 %), anti-K (17 %). Rečiausiai identifikuoti aloantikūnai: anti-D (8 %), anti-A1 (8 %) ir anti-Fy^a (8 %) (3 pav.).

Reaktyvaus eliuato grupėje dažniausiai nustatytas komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumas 1+ balų buvo 56 % tiriamųjų, o 2+ balų stiprumas 22 % bei 3+ balų stiprumas 22 % tiriamųjų. Nereaktyvaus eliuato grupėje dažniausiai buvo nustatytas tik 1+ stiprumas – 67 % tiriamųjų, o 2+ balų stiprumas – 33 % tiriamųjų (4 pav.).

Reaktyvaus ir nereaktyvaus eliuato sąsaja su tiesioginės Kumbso reakcijos stiprumu

Rezultatams palyginti išskirtos dvi reaktyvios ir nereaktyvios eliuato reakcijos mėginių grupės: 1 grupė – silpnai teigiama reakcija (TKR stiprumas 1+ balas), 2 grupė – stipriai teigiama reakcija (TKR stiprumas 2+ balai). Silpnai teigiama TKR buvo 28 (44 %) pacientams, o stipriai teigiama TKR – 35 (56 %) pacientams. Palyginus reaktyvios ir nereaktyvios eliuato reakcijos grupes pagal TKR stiprumą nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys: reaktyvus eliuatas dažniau nustatytas esant stipriai teigiamai Kumbso reakcijai nei esant silpnai teigiamai reakcijai (Kramerio ryšio stiprumo koeficientas lygus 0,27. $\chi^2 = 4,59$, $p = 0,032$) (5 pav.). Reaktyvaus eliuato grupėje silpnai teigiama TKR buvo 10 (36 %) pacientų, o stipriai teigiama – 22 (64 %) pacientams. Nereaktyvaus eliuato grupėje silpnai teigiama TKR buvo 18 (63 %), o stipriai teigiama TKR – 13 (37 %) pacientų (6 pav.).

Tiriant komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumą nenu-

statyta statistiškai reikšmingo ryšio tarp reaktyvaus ir nereaktyvaus eliuato grupių (Fišerio $p = 1,000$). Reaktyvaus eliuato grupėje komplemento komponento C3 fragmento C3d 1+ balo stiprumas buvo nustatytas 5 (71 %) pacientams, 2+ balų stiprumas – 4 (80 %) pacientams, o nereaktyvaus eliuato grupėje – atitinkamai 2 (28 %) pacientams ir 1 (20 %) pacientui (7 pav.).

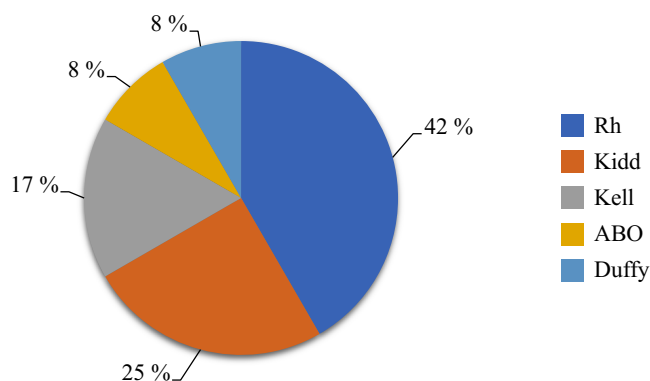
Reaktyvaus eliuato imuninių antikūnų ryšys su tiesioginės Kumbso reakcijos stiprumu

Atsižvelgiant į tyrimo metu gautus duomenis, kad reaktyvus supernatanto eliuatas dažniau nustatytas esant stipriai teigiamai TKR, palygintas reaktyviuose eliuatuose identifikuotų imuninių antikūnų ryšys su TKR stiprumu. Deja, statistiškai reikšmingo ryšio tarp imuninių antikūnų ir reakcijos stiprumo neaptikta (Fišerio $p = 0,218$) (8 pav.). Silpnai teigiamos TKR grupėje nustatyti 6 (60 %) autoantikūnai ir 4 (40 %) aloantikūnai, o stipriai teigiamos TKR grupėje – 18 (82 %) autoantikūnų bei 4 (18 %) aloantikūnai.

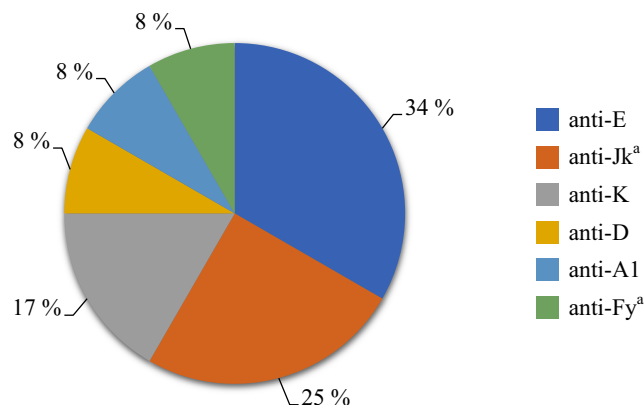
REZULTATŲ APTARIMAS

Tiesioginė Kumbso reakcija yra dažnai naudojama imunohematologijos laboratorijose, nes leidžia greitai gauti svarbios klinikinės informacijos. Šis tyrimas atliekamas tada, kai pagal laboratorinius rodiklius yra nustatyta hemolizė ir norima diferencijuoti jos kilmę – autoimuninę ar aloimuninę.

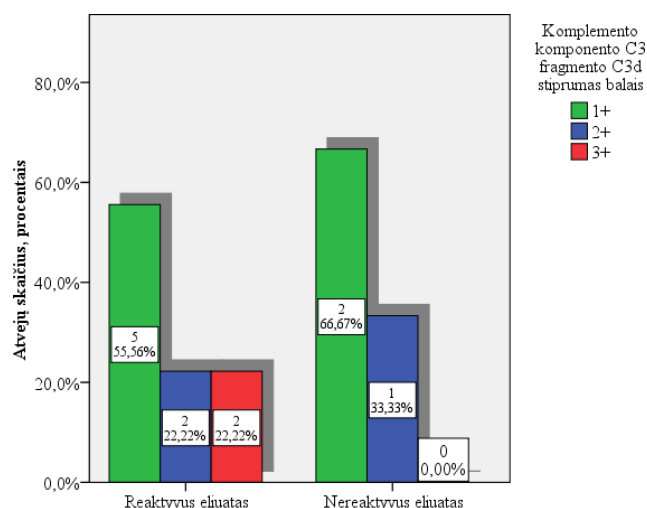
Atsižvelgiant į tai, kad imuniniai antikūnai sukelia imunines hemolizines anemijas, o elucijos tyrimas naudojamas jiems identifikuoti, mūsų darbo tikslas buvo nustatyti elucijos



2 pav. Identifikuotų antikūnų prieš kraujo grupių antigenų sistemas pasiskirstymas
Fig. 2. The distribution of identified antibodies against blood group antigen systems



3 pav. Identifikuotų antikūnų prieš kraujo grupių antigenus pasiskirstymas
Fig. 3. The distribution of identified antibodies against blood group antigens



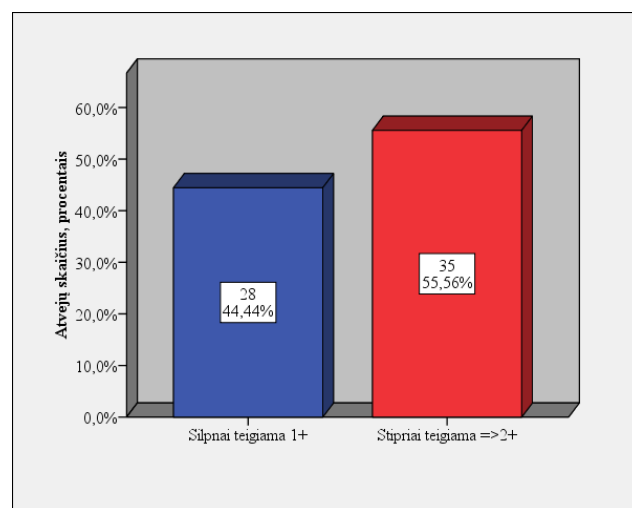
4 pav. Komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumo pasiskirstymas tarp reaktyvios ir nereaktyvios eliuato reakcijos grupių

Fig 4. The strength of the C3d fragment of the complement component C3 between reactive and non-reactive reaction of the eluate

tyrimo rezultatų reikšmę esant teigiamai TKR. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės diagnostikos centro klinikinės imunologijos ir kraujo perpylimo laboratorijoje buvo ištirti 63 pacientų kraujo mėginiai. Norint įvertinti eliacijos tyrimo rezultatų svarbą analizuojant teigiamos TKR priežastis, buvo keliami trys uždaviniai.

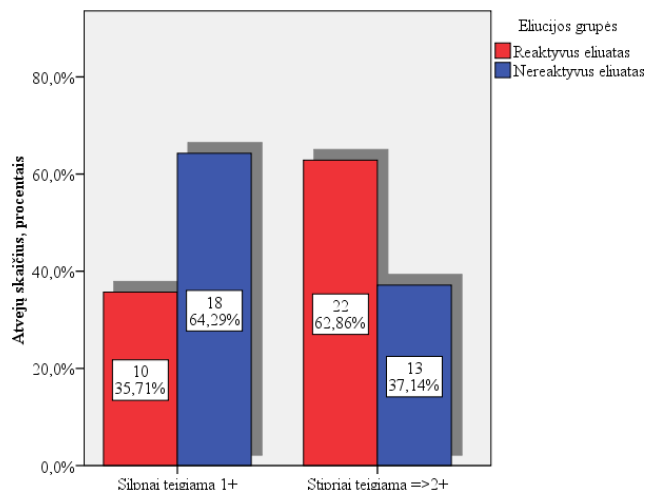
Pirmiausia siekta įvertinti eliacijos tyrimą esant teigiamai TKR nustatant antikūnų specifiskumą. Teigiama TKR rodo, kad eritrocitai yra sensibiliausi imuniniams antikūnais *in vivo*. Atlikus eliacijos tyrimą 63 pacientams nustatyta, kad 32 (50,79 %) eliuatai buvo reaktyvūs, o 31 (49,21 %) – nereaktyvūs. Ištyrus imuninius antikūnus, esančius reaktyviuose eliuatuose,

identifikuoti 8 (25 %) aloantikūnai ir 24 (75 %) autoantikūnai. O. Nathalang ir bendraautorių duomenimis, teigiamai TKR siekiant 2+ balų reaktyviuose eliuatuose buvo aptinkami tik aloantikūnai, o autoantikūnai buvo rasti eliuatuose, kurių TKR stiprumas buvo nuo 1+ iki 4+ balų [4]. Mūsų tyrimo metu gauti duomenys ne-



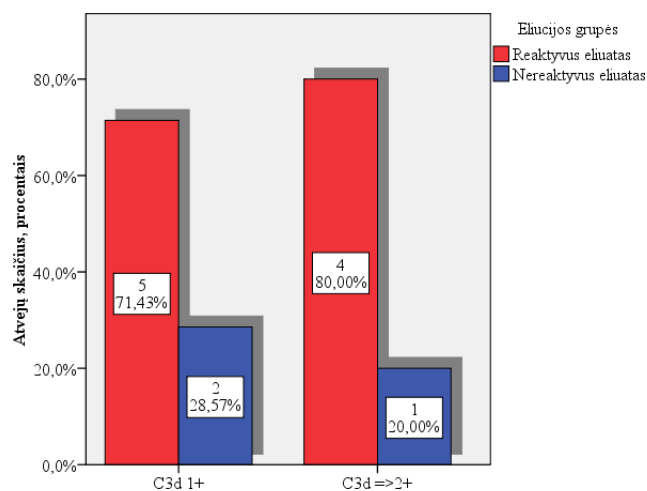
5 pav. TKR stiprumo pasiskirstymas

Fig. 5. The distribution of DAT strength



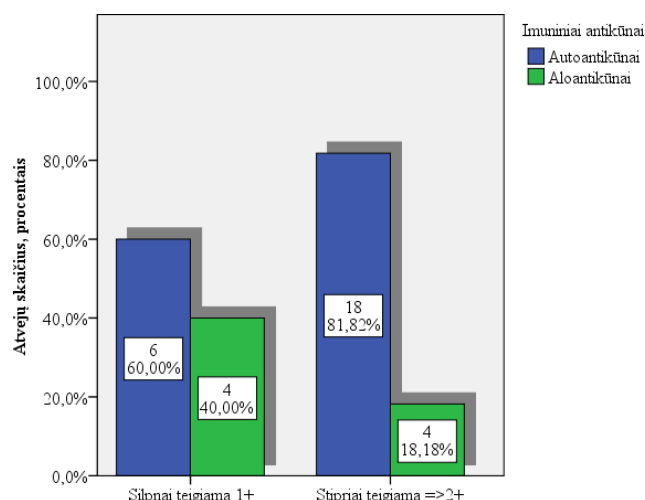
6 pav. Reaktyvaus ir nereaktyvaus eliuato ryšys su TKR stiprumu

Fig. 6. Correlation between the Coombs reaction strength groups and the results in the eluate groups



7 pav. Komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumo ryšys su reaktyviu ir nereaktyviu eliuatu

Fig. 7. Correlation of the C3d fragment of the complement component C3 between reactive and non-reactive reaction of the eluate



8 pav. Imuninių antikūnų ryšys su TKR stiprumu

Fig. 8. Analysis of immune antibodies with DAT strength

prieštaravo šių tyrėjų duomenims (žr. lentelę). Identifikuoti aloantikūnai dažniausiai buvo nukreipti prieš eritrocitų kraujo grupių antigenų sistemas: Rezus (42 %), Kidd (25 %) ir Kell (17 %). Rečiausiai aloantikūnai buvo nukreipti prieš ABO (8 %) ir Duffy (8 %). Aptikti ir identifikuoti dažniausi aloantikūnai pasiskirstė taip: anti-E (34 %), anti-Jk^a (25 %), anti-K (17 %). Rečiausiai identifikuoti aloantikūnai: anti-D (8 %), anti-A1 (8 %) ir anti-Fy^a (8 %).

Vėliau palyginome reaktyvaus ir nereaktyvaus eliuato reakcijos rezultatus su TKR bei komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumu. Suskirsčius pacientų mėginius į silpnai ir stipriai teigiamos TKR grupes, nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp Kumbso reakcijos stiprumo ir rezultatų eliuato grupėse (Kramerio ryšio stiprumo koeficientas lygus 0,27. $\chi^2 = 4,59$, $p = 0,032$). Reaktyvaus eliuato grupėje silpnai teigiama Kumbso reakcija buvo 36 % pacientų, o stipriai teigiama – 64 % pacientų. Nereaktyvaus eliuato grupėje silpnai teigiama Kumbso reakcija buvo nustatyta 64 %, o stipriai teigiama – 37 % pacientų. Remiantis tyrimo rezultatais galima teigti, kad eliacijos tyrimo metu gauti reaktyvūs eliuatai yra dažnesni esant stipriai teigiamai TKR, o nereaktyvūs – esant silpnai teigiamai TKR. Komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumas tarp reaktyvios ir nereaktyvios eliuato grupės statistiškai reikšmingai nesiskyrė (Fišerio $p = 1,00$). Reaktyvaus eliuato grupėje komplemento komponento C3 fragmento C3d 1+ balo stiprumas buvo nustatytas 71 %, o 2+ balų stiprumas – 80 % pacientų, o nereaktyvaus eliuato grupėje – atitinkamai 29 % ir 20 % pacientų. Remiantis tyrimo rezultatais galima teigti, kad komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumas, nustatytas prieš eliacijos tyrimą atliekant TKR, neturi įtakos gautai reaktyviai ir nereaktyviai eliuato reakcijai.

Taip pat buvo siekta įvertinti reaktyvios eliuato grupės imuninių antikūnų ryšį su TKR stiprumo grupėmis. Pagal mūsų atlikto tyrimo rezultatus nenustatyta statistiškai reikšmingo ryšio tarp imuninių antikūnų bei TKR stiprumo (Fišerio $p = 0,218$). Silpnai teigiamoje TKR grupėje 60 % tiriamųjų nustatyti autoantikūnai ir 40 % – aloantikūnai, o stipriai teigiamoje TKR grupėje – atitinkamai 82 % ir 18 % pacientų. Remiantis tyrimo rezultatais galima teigti, kad autoantikūnai bei aloantikūnai reaktyviuose eliuatuose buvo rasti esant tiek silpnai, tiek stipriai TKR.

IŠVADOS

Ištyrus reaktyvius eliuatus dažniausiai identifikuoti aloantikūnai buvo nukreipti prieš eritrocitų kraujo grupių antigenų sistemas: Rezus (42 %), Kidd (25 %) ir Kell (17 %). Šie dažniausi aloantikūnai pasiskirstė taip: anti-E (34 %), anti-Jk^a (25 %), anti-K (17 %). Nustatyta, kad esant stipriai teigiamai TKR dažniau nustatomi reaktyvūs eliuatai, kuriuose yra imuninių antikūnų, o silpnai teigiama Kumbso reakcija būdinga nereaktyviems eliuatams (Kramerio ryšio stiprumo koeficientas lygus 0,27. $\chi^2 = 4,59$, $p = 0,032$). Komple-

mento komponento C3 fragmento C3d stiprumas tarp reaktyvios ir nereaktyvios eliuato grupės statistiškai reikšmingai nesiskyrė (Fišerio $p = 1,000$). Komplemento komponento C3 fragmento C3d stiprumas neturi įtakos gautai reaktyviai ir nereaktyviai eliuato reakcijai. Vertinant reaktyvioje eliuato grupėje identifikuotų imuninių antikūnų ryšį su TKR stiprumu, statistiškai reikšmingo ryšio nenustatyta (Fišerio $p = 0,218$). Reaktyviuose eliuatuose identifikuotų imuninių antikūnų rūšis nepriklauso nuo TKR stiprumo. ◆

Gauta: 2020 06 01
Priimta spaudai: 2020 06 30

Summary

THE SIGNIFICANCE OF ELUTION TEST RESULTS IN PATIENTS WITH POSITIVE DIRECT ANTIGLOBULIN TEST

Kornelijus Kateiva, Loreta Bagdonaitė, Vida Betingienė

Aim of the thesis is to evaluate the significance of elution test results in the analysis of the causes of a positive direct antiglobulin test (DAT).

Research material and methodology. Blood samples from 63 patients with positive DAT were examined in the research. Elution tests were expected to detect immune (auto or allo) antibodies covering patients' erythrocytes *in vivo*. The research consisted of three main stages: 1) selection of positive DAT samples; 2) performing an elution test on positive DAT samples; 3) performing IAT (Indirect antiglobulin test) after the elution test.

Results. After the elution test in 63 patients, it was determined that 32 (50.79%) eluates were reactive and 31 (49.21%) were non-reactive. After testing the immune antibodies in the reactive eluates, 8 (25%) alloantibodies and 24 (75%) autoantibodies were identified. The most commonly detected alloantibodies were directed against the Rhesus (42%) blood group antigen system, of which the majority was anti-E (34%). When patients were divided into weakly and strongly positive DAT groups, a statistically significant relationship was found between the Coombs reaction strength groups and the results in the eluate groups (Kramer binding strength coefficient was 0.27. $\chi^2 = 4.59$, $p = 0.032$). The C3d strength of the complement com-

ponent C3 fragment did not differ statistically significantly between the reactive and non-reactive eluate groups (Fisher $p = 1.000$). Analysis of the reactive eluate group in which immune antibodies were detected with DAT strength revealed no statistically significant relationship between immune antibodies and Coombs reaction strength (Fisher $p = 0.218$).

Conclusions. It was found that reactive eluates containing immune antibodies are more frequently detected in the case of strongly positive DAT, and weakly positive Coombs reaction is characteristic of non-reactive eluates (Kramer binding strength coefficient is 0.27. $\chi^2 = 4.59$, $p = 0.032$). The C3d strength of the complement component C3 fragment did not differ statistically significantly between the reactive and non-reactive eluate groups (Fisher $p = 1.000$). The C3d strength of the complement component C3 fragment does not affect the obtained reactive and non-reactive reaction of the eluate. When the association of immune antibodies identified in the reactive eluate group with the strength of DAT was assessed, no statistically significant association was found (Fisher $p = 0.218$). The type of immune antibodies identified in the reactive eluates did not depend on the strength of the DAT.

Keywords: autoantibodies, alloantibodies, complement system.

LITERATŪRA

1. Parker V, Tormey CA. The direct antiglobulin test: indications, interpretation, and pitfalls. *Arch Pathol Lab Med* 2017; 141(2): 305–10.
2. Robertson LD, Roper D. Laboratory methods used in the investigation of the haemolytic anaemias. In: Dacie and Lewis practical haematology. 12th ed. Amsterdam: Elsevier BV, 2017; p. 214–27.
3. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 2002; 69(4): 258–71.
4. Nathalang O, Sriwanitchrak P, Tubrod J, Kupatawintu P. Antibody elutions in Thai patients with a positive direct antiglobulin test. *Blood Transfusion* 2011; 9(3): 306–10.