الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

كلية الطب البشري

جامعة دمشق

عنوان البحث :

تحضير مجموعات كشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية محليا في مشفى التوليد الجامعي بدمشق .

groups Preparation to detect and determine the type of irregular antibodies locally at University Hospital Obstetrics in Damascus.

بحث علمي أعد لنيل شهادة الماجستير في قسم الطب المخبري

طالبة الدراسات :

د.لميس زين الدين

رئيسة القسم :

أ. د رويدة أبو سمرة

الاستاذ المشرف :

أ. د تهاني علي

2016

إهداء

كلمات خرجت من القلب .....وأتمنى أن تصل إلى القلب

منك تعلمت أن للنجاح قيمة و معنى .. ومنك تعلمت كيف يكون التفاني والإخلاص في العمل .. ومعك آمنت أن لا مستحيل في سبيل الإبداع والرقي ..

أستاذتي المشرفة المحترمة

أ.د تهاني علي

إلى من أجزلوا بعطائهم و ضحوا بوقتهم و جهدهم .... لكم مني كل الشكر والتقدير على جهودكم القيمة

أساتذتي المحترمين

إلى قدوتي الأولى ونبراسي الذي ينير دربي .. إلى النبع الذي أرتوي مِنه حباً وحناناً.. إلى من أعطاني ولم يزل يعطيني بلا حدود.. إلى من رفعت رأسي عالياً افتخاراً به .....أحبك

والدي الغالي مروان

يا قلباً أجد في نبضاته الأمان..يا حضنا" يفوح في أرجائه الحنان.. يا زهرة أيامي وعبير صباحي .. يا بسمة سنيني وجمال حياتي ....يا من أسكن الله الجنة تحت قدميك .....أحبك

ملكة النساء أمي الحبيبة فاديا

إلى من كانت لي أما" بحنانها و أبا" بحكمتها .. إلى من تمنحني القوة و أشعر بالأمان بين ذراعيها .. إلى أطيب و أرق قلب .. إلى تلك الروح الجميلة حبي و امتناني

أختي سهير

إلى من أبعدتها المسافات لكنها حاضرة في قلبي بابتسامتها الجميلة و قلبها الرقيق و إحساسها المرهف

أختي رانيا

إلى من تشاركني أدق تفاصيل حياتي .. إلى الأحاديث التي أعشقها بوجودها .. إلى الجنون الذي أهواه برفقتها

أختي مروة

إلى القلب الحنون الذي أجده عند حاجتي .. إلى شمعة بيتنا أخي العزيز

محمد جمال

إلى من دخلوا بيتنا فأضافوا لحياتنا لونا" جديدا" بصفاء قلوبهم و طيب أخلاقهم

عبد الكريم ، عمر ، زياد

إلى الابتسامة البريئة التي تمنح قلبي الحب و الدفء و الحنان .. إلى روح حياتي و نور عيوني ..عصافيري الصغار

جودي ، يزن ، محمد البراء ، ليديا ، جوليا

إلى من تساوت عندهم الصداقة و الأخوة و شاركوني المشوار بصدق و إخلاص

أصدقائي

إلى من شاركتني تفاصيل حياتي بحلوها و مرها فكانت دمعتي حين حزني وابتسامتي وقت فرحي ..

إلى من ارتبط اسمي باسمها و تلازم مكاني بمكانها فغدت توأمي الذي لا أعيش بدونه ..

إلى الروتين الذي أهواه بوجودها .. فنجان قهوة و ضحكة من القلب..

صديقتي و أختي

لانا جحا

لميس

فهرس القسم النظري :

المصطلحات..... 5

مقدمة..... 7

الفصل الأول : الزمرة الدموية

(1.1) تعريف الزمرة الدموية..... 8

(1.2) نظام ABO..... 10

(1.3) نظام RH..... 13

(1.4) النظم الدموية الأخرى..... 18

الفصل الثاني : الأضداد اللانظامية

(2.1) تعريف الأضداد اللانظامية..... 24

(2.2) البحث عن الأضداد اللانظامية..... 27

(2.2.1) تقنيات الاختبار..... 27

(2.2.2) مبدأ الاختبار..... 27

(2.2.3) مراحل الاختبار..... 28

(2.3) أهمية الكشف عن الأضداد اللانظامية..... 29

(2.4) استطبابات التحري عن الأضداد اللانظامية..... 29

(2.5) المواصفات العالمية لمجموعات الكشف و تحديد النوع..... 30

فهرس القسم العملي :

أساس البحث 33

هدف البحث..... 33

مضامين البحث (النتائج المتوقعة)..... 33

مواد و طرائق الدراسة..... 33

تصميم الدراسة..... 33

مكان و زمان الدراسة..... 33

مجموعة الدراسة..... 33

الاعتبارات الأخلاقية..... 33

الموارد المتاحة للبحث..... 34

طريقة العمل..... 35

تحضير المحلول الحافظ..... 35

جمع العينات..... 35

الاستمارة الخاصة بالبحث..... 36

الاختبارات المجراة على العينات المسحوبة..... 37

المصول الضدية المستخدمة و طريقة استخدامها 38

تحضير مجموعات الكشف وتحديد النوع..... 40

ضبط الجودة ومراقبة المجموعات المحضرة..... 42

عرض النتائج..... 43

مناقشة النتائج..... 60

الدراسات المقارنة..... 61

التوصيات والمقترحات..... 62

المراجع..... 63

❖ **المصطلحات :**

الاختصار:	الشرح :
ISBT	International Society of Blood Transfusion
Dw	Weak D
HDFN	Hemolytic disease of fetus and newborn
AHG	Anti Human Globulin
IAT	Indirect antiglobulin test
DHTRs	Delayed hemolytic transfusion reactions.
Liss	Low ionic strength salne

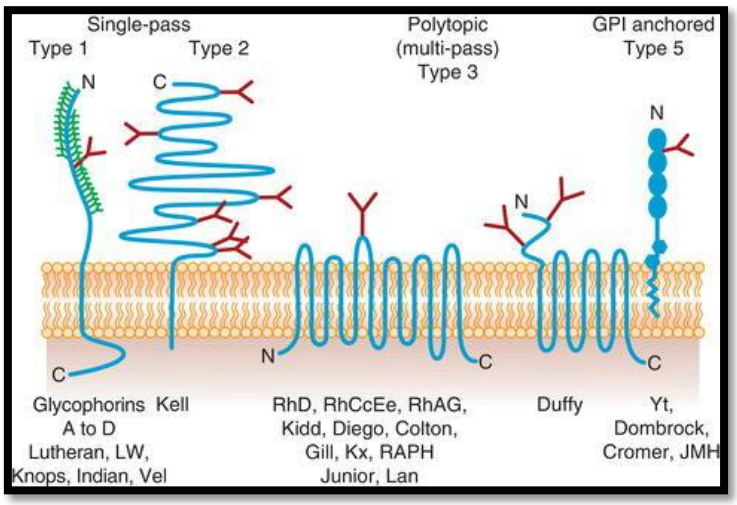
القسم النظري

مقدمة : Introduction

- ساهم اكتشاف الزمر الدموية بشكل كبير في الوقاية من العديد من الحوادث التي كانت تهدد حياة الأشخاص حيث أن مراقبة هذه الحوادث و فهم آلية حدوثها و دراسة أسبابها كان السبب الرئيسي في التعرف على الأنظمة الدموية المختلفة ، و إن تتالي هذه الاكتشافات ساهم في زيادة الأمان والسلامة سواء بمجال نقل الدم أو التوليد حيث أن اكتشاف نظام ABO أولا" لعب دورا" أساسيا" في سلامة نقل الدم وجعله ممكنا" كما أن اكتشاف RH فيما بعد ساعد في فهم آلية الداء الانحلالي للجنين والوليد و منع حدوثه ، وعلى الرغم من أهمية نظامي ABO,RH في طب نقل الدم فإن هناك أنظمة دموية أخرى تم اكتشافها فيما بعد تلعب دورا" مهما"في مجال نقل الدم و التوليد و تأمين سلامتهما ولم يقتصر دور الزمر الدموية على نقل الدم بل امتد إلى مجالات أخرى مثل علم الجريمة و تحديد النسب و الأبوة حيث لعبت دورا" مهما" في هذه المجالات ، و على الرغم من تراجع دور الزمر الدموية بعد إدخال اختبا رHLA و البصمة الوراثية DNA لكنها بقيت لسنوات عديدة من العلامات الوراثية البشرية ولعبت دورا" كبيرا" في رسم خرائط الجينوم البشري.

- **(1.1) تعريف الزمرة الدموية : Definition of blood group**

. مجموعة مستضدّات خيفية محدثة وراثيا ومستقلّة مورّثيا يعبّر عنها على سطح نمط أو أكثر من خلايا الدم ، ومنذ اكتشاف أول الزمر الدمويّة عند الإنسان من قبل العالم كارل لاندشتاينر عام 1901 تمّ التعرّف على عدد كبير من مستضدّات الكريات الحمر و لا يقتصر وجود هذه المستضدات على سطح الكريات الحمر بل إن بعضها يوجد أيضا" على سطح أنواع أخرى من الخلايا كالصفيحات الدموية و الخلايا الظهارية ومفرزات الجسم كاللّعاب و العرق و السائل المنوي و المصل و الدموع و البول(M.S.Jaff) و بالتالي يوجد لدينا زمر دمويّة ونسيجية في نفس الوقت كما في زمرة ABO و زمر دمويّة فقط مثل زمرة Rh (Milkins.C) ، ويستند تصنيف الدم في زمر أو مجموعات على وجود أو غياب مواد مستضدّية موروثة على سطح خلايا الدم الحمراء (M.S.Jaff) ، وقد جمعت معظم مستضدّات زمر الدم للكريات الحمر في نظم، وكل نظام يعرّف كمجموعة مستضدّات تكون الوحدة المورثيّة التي تنظّمها مستقلّة عن النظم الأخرى(Daniels.G.2007) ، إلى اليوم تمّ الاعتراف ب 35 نظام زمرة دم إنساني **(جدول1)** من قبل الجمعية العالمية لنقل الدم ISBT (International Society of Blood Transfusion) (Table).



الشكل (1) : المستضدات المختلفة على سطح الكرية الحمراء (Daniels.G.2007)

No.	Name	Symbol*	No. of antigens	Associated membrane structures	CD no.	HGNC symbol(s)	Chromosome
001	ABO	ABO	4	Carbohydrate		*ABO*	9
002	MNS	MNS	46	Glycophorins, GPA, GPB	CD235 A & B	*GYPA, GYPB, GYPE*	4
003	P1PK	P1PK	3	Carbohydrate		*A4GALT*	22
004	Rh	RH	54	Rh family, RhD, RhCcEe	CD240 D & CE	*RHD, RHCE*	1
005	Lutheran	LU	20	IgSF	CD239	*BCAM*	19
006	Kell	KEL	35	Endopeptidase	CD238	*KEL*	7
007	Lewis	LE	6	Carbohydrate		*FUT3*	19
008	Duffy	FY	5	G protein-coupled SF, chemokine receptor	CD234	*DARC*	1
009	Kidd	JK	3	Urea transporter		*SLC14A1*	18
010	Diego	DI	22	Band 3, anion exchanger (AE1)	CD233	*SLC4A1*	17
011	Yt	YT	2	Acetylcholinesterase		*ACHE*	7
012	Xg	XG	2	Glycoproteins	CD99**	*XG, CD99*	X/Y
013	Scianna	SC	7	IgSF, erythroblast membrane-associated protein		*ERMAP*	1
014	Dombrock	DO	8	ADP-ribosyltransferase 4	CD297	*ART4*	12
015	Colton	CO	4	Aquaporin SF, aquaporin-1		*AQP1*	7
016	Landsteiner-Wiener	LW	3	IgSF, intercellular adhesion molecule-4	CD242	*ICAM4*	19
017	Chido/Rodgers	CH/RG	9	Complement components C4A, C4B		*C4A, C4B*	6
018	H	H	1	Carbohydrate, Type 2 H	CD173	*FUT1*	19
019	Kx	XK	1	Xk protein		*XK*	X
020	Gerbich	GE	11	Glycophorins, GPC, GPD	CD236	*GYPC*	2
021	Cromer	CROM	18	CCP SF, decay-accelerating factor	CD55	*CD55*	1
022	Knops	KN	9	CCP SF, complement regulator-1	CD35	*CR1*	1
023	Indian	IN	4	Link module SF of proteoglycans	CD44	*CD44*	11
024	Ok	OK	3	IgSF, basigin	CD147	*BSG*	19
025	Raph	RAPH	1	Tetraspanin SF	CD151	*CD151*	11
026	John Milton Hagen	JMH	6	Semaphorin SF	CD108	*SEMA7A*	15
027	I	I	1	Carbohydrate		*GCNT2*	6
028	Globoside	GLOB	1	Carbohydrate, globoside		*B3GALT3*	3
029	Gill	GIL	1	Aquaporin SF, aquaporin-3		*AQP3*	9
030	RHAG	RHAG	4	Rh family, Rh-associated glycoprotein	CD241	*RHAG*	6
031	Forssman	FORS	1	Carbohydrate, Forssman glycolipid		*GBGT1*	9
032	Junior	JR	1	ATP-binding cassette transporter ABCG2		*ABCG2*	4
033	Lan	LAN	1	ATP-binding cassette transporter ABCB6		*ABCB6*	2

HGNC, Human Genome Organisation Gene Nomenclature Committee; SF, superfamily; IgSF, immunoglobulin superfamily; CCP, complement control protein.
*ISBT gene name when in italics.
**Does not include Xg glycoprotein.

جدول (1) : تسمية الزمر حسب ISBT وتصنيفها حسب الرقم والاسم و الرمز و عدد المستضدات و البنية و المورثة و الصبغي (Daniels.G.2007)

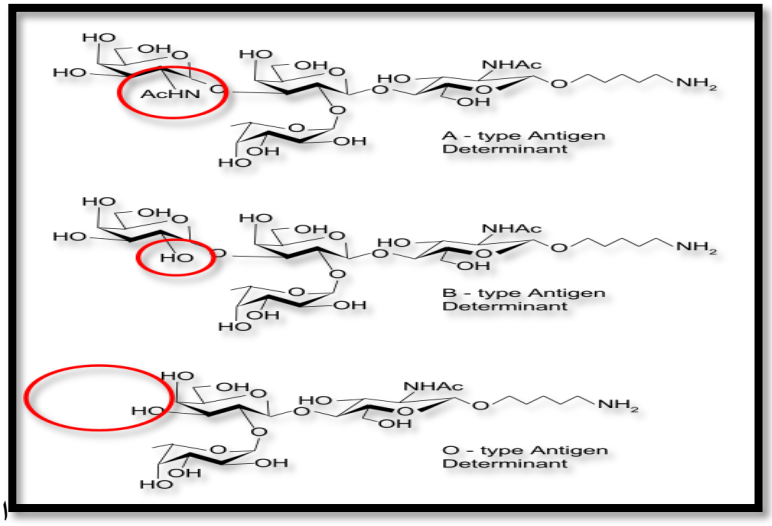
- **(1.2) نظام ABO : ABO System**

· تمّ اكتشاف الزمرة الدمويّة ABO من قبل كارل لاندشتاينر خلال التجارب المبكّرة في نقل الدم عام 1901 حيث قام بتمييز الزمر A,B,O أما الزمرة الرابعة AB فتم التعرف إليها بعد عام من قبل العالمين الفريد فون وادريانو عام 1902 ، ومازال تحديد زمرة الدم ABO الإختبار الأكثر أهميّة الذي يجرى في بنوك الدم لتجنّب الإصابة بالمراضة والوفيات (Karl Land ,M.S.Jaff) .

❖ **(1.2.1) مستضدات نظام ABO Antigens:**

· يعتبر نظام ABO نظام دموي نسيجي حيث لم يقتصر اكتشاف مستضداته على الكريات الحمر بل وجدت أيضا" على الصفيحات الدموية و الخلايا الظهارية و خلايا أخرى في الجسم بالإضافة إلى تواجدها بشكل منحل في المفرزات لدى 80% من الأشخاص(Daniels.G.2007).

· يتم تحديد الأنماط A,B,O بتشكل المستضدات A,B أو عدم تشكلها ابتداءا" من المستضد H ، والذي يتم تشكيله من خلال ربط الفوكوز إلى السلاسل قليلة السكاريد المربوطة إلى بروتينات في غشاء الكرية الحمراء و إن الموضع H الموجود على الصبغي رقم 19 المؤلف من 3 exons يرمز للأنزيم الناقل للفوكوز fucosyltransferase الذي يربط الفوكوز للنهاية السكرية (β–D–galactose,β– D–N– acetylglucosamine,β –D–galactose) في البروتينات السكرية في غشاء الكرية الحمراء، أما الموضع ABO الموجود على الزوج الصبغي رقم 9 و المؤلف من 7 exons والذي يمتلك ثلاث أشكال أليلية هي A,B,O ترمز لأنزيمات ناقلة للسكر، ففي حال الأليل A يرمز الأنزيم {a–1,3GalNAc transferase} والذي يربط (غالاكتوزأمين N أستيل) (GALNAc) إلى المستضد H ليتشكل المستضد A (**الشكل2**) ، أما الأليل B فيرمز للأنزيم {a–1,3–Gal transferase} الذي يربط الغلاكتوز (Gal)إلى المستضد H فيتشكل المستضد B (**الشكل2**) ، أما بالنسبة للزمرة O فتتحدد من عدم ارتباط أي جزيء سكري بالمستضد H (**الشكل2**) (Reid.ME).



الشكل (2) : طبيعة مستضدات ABO الكيميائية

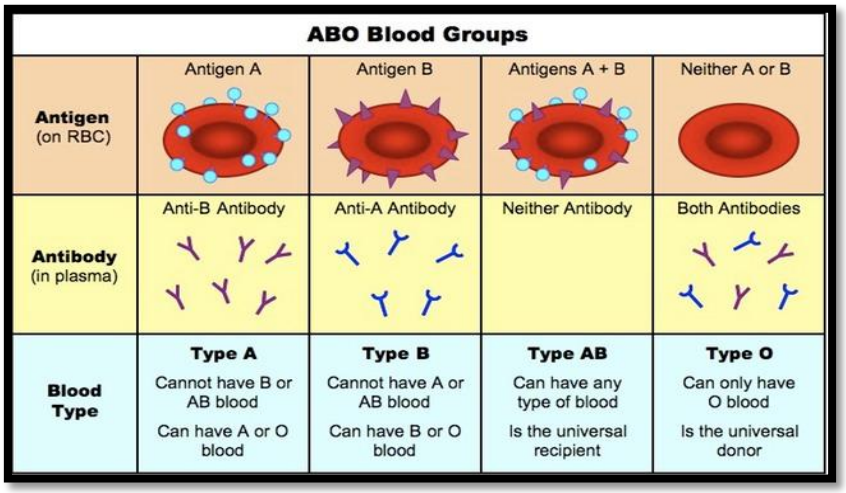
❖ (1.2.2) أضداد نظام ABO :

أضداد طبيعية تتشكل دون تعرض لمستضد خارجي من نمط IgM غير قادرة على عبور المشيمة و تتشكل خلال السنة الأولى من الحياة بسبب تشكل الفلورا المعوية و تشابه عديدات السكاريد فيها مع بنية مستضدات ABO [Poole.J].

❖ (1.2.3) النمط الظاهري Phenotype :

- **يتميّز نظام ABO :**

1. بوجود أو غياب المستضدات A و/أوB على سطح الكريات الحمر.
2. ووجود أو غياب أضداد "طبيعية" anti–A و/اوanti–B في البلازما.



الشكل(3) : تحديد الزمرة ABO

- بناء" على هذه الميزة تم التعرف إلى 4 أنماط ظاهرية لزمرة الدم هي :A,B,AB,O ويختلف شيوعها حسب المجتمعات البشريّة[Dean.L].

النمط الظاهري	البيض[Reid.ME]	السود[Reid.ME]	الآسيويين[Reid.ME]	سوريا [Ali.T]
O	44%	49%	43%	34.6%
A	43%	27%	28%	39.2%
B	9%	20%	25%	18.6%
AB	3%	3%	5%	7.6%

جدول (2) : تواتر النمط الظاهري لنظام ABO

- يبدو أنّ لمستضدّات زمرة الدم ABO أهمّية في فهم تطوّرنا لأنّ انتشار أنماط الدمABO المختلفة يتباين بين الشعوب ممّا يفترض أن نمط دم خاص يمنح ميّزة الإصطفاء (مثل المقاومة ضد الأمراض الخمجية)[Bedossa.A] ، وهو يتحدّد بتوزع الألائل الثلاثة لمورثّة ABO الموجودة على الزوج الصبغي رقم (9) لدى المجموعات السكّانية المختلفة [Dean.L] .

❖ (1.2.4) أهمية نظام ABO :

- نظام زمرة دموية فهو يحدد الزمرة الدموية للشخص ويصنف في خطورته بالدرجة الأولى في مجال نقل الدم لما يسببه من حوادث نقل دم انحلالية خطيرة و مميتة ، وبما أنه نظام نسيجي لتواجد مستضداته في أنسجة الجسم لذلك يجب احترامه في مجال زراعة الأعضاء (مثل الكبد و الكلية)[Daniels.G.2007].

- **(1.3) نظام الريزوس Rh System RH:**

- اكتشف نظام الريزوس Rh عام 1940 من قبل العالمين كارل لاندشتاينر و الكسندر فاينر، وكان اكتشاف نظام الريزوس كما هو الحال بالنسبة للعديد من النظم الدمويّة الأخرى، نتيجة لاستقصاء حوادث نقل الدم والداء الانحلالي للجنين و حديثي الولادة (Bedossa.A , Karl Land).
- إنّ نظام الريزوس Rh هو أكثر نظم الزمرة الدمويّة تعقيدا ويوجد فقط على الكريات الحمر، وقد أصبح الثاني في أهمّيته بعد نظام ABO في نقل الدم وبقي الأوّل من حيث الأهمّية في التوليد كونه السّبب الرئيسي للداء الانحلالي للجنين و حديثي الولادة (Dean.L).

❖ **(1.3.1) مستضدات نظام Antigens RH:**

- 49 مستضد ، خمسة مستضدات رئيسية لنظام RH على الكريات الحمراء تكون إيجابية أو سلبية وهي : C/c، E/e ، D ، و إن المستضد RhD هو أكثر مستضدّات نظام الريزوس Rh أهمّية في الممارسة السريرية ، إضافة إلى أنّه أكثر مستضدّات الزمر الدموّية أهمّية بعد A و B،وكونه أكثر مستضدّات الزمر الدمويّة تمنيعا فقد أصبح تحديده لا ينفصل عن تحديد زمرة الدم ABO، ويكون إيجابي الريزوس(+RhD) كل من تحمل كرياته الحمراء المستضد D وسلبي الريزوس (-RhD) كل من لايملك هذا المستضد(Milkins.C).

❖ **(1.3.2) تواتر المستضد RHD :**

المستضد :	البيض(M.S.Jaff، Milkins.C، Dean.L)	السود(M.S.Jaff، Milkins.C، Dean.L)	الآسيويين(Milkins.C، Dean.L، M.S.Jaff)	سوريا (Ali.T)
Rh(D)+	%85	%92	%99	%90
Rh(D)-	%15	%8	%1	%10

جدول (3): تواتر المستضد D

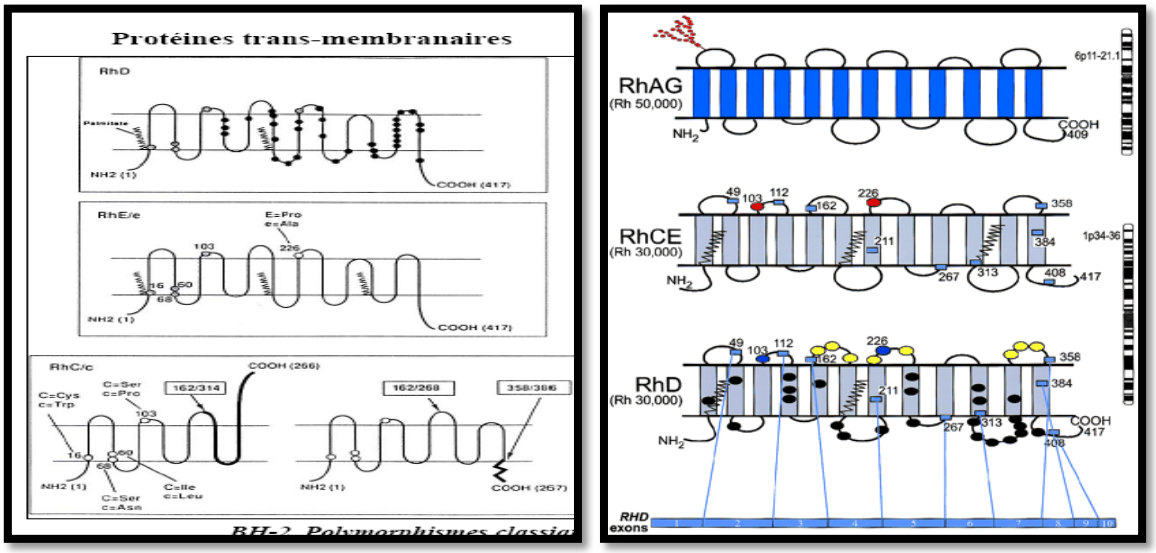
❖ **(1.3.3) تواتر باقي مستضدات RH هو كما يلي :**

المستضد :	البيض(Dean.L)	السود(Dean.L)	الآسيويين(Dean.L)	سوريا (Ali.T)
:Rh (C)	%68	%27	%93	73.8%
: Rh (E)	%29	%22	%39	24.6%
: Rh (c)	%80	%96	%47	73.9%
: Rh (e)	%98	%98	%96	97.4%

جدول(4) : تواتر باقي مستضدات RH

❖ (1.3.4) تركيب مستضدات RH (Daniels.G.2002,) :

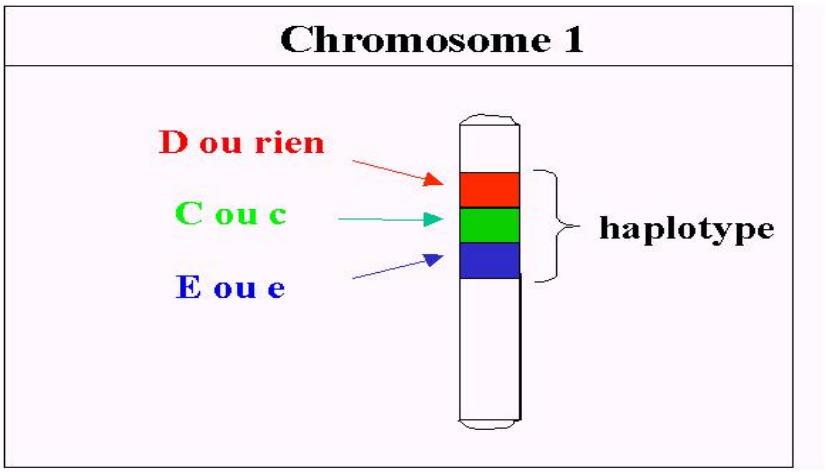
- مرمزة بواسطة المورثة RH CE ، RH D الموجودة على الصبغي رقم 1 ، وهذه المستضدات تأتي لكفاتج مباشر لهذه المورثات ، وهي عبارة عن بروتينات مؤلفة من 417 حمض اميني (30–33kDa) ، تحمل على ثلاثة عديدات ببتيد غشائية مختلفة ،لا تحوي في بنيتها على السكريات، وهي بروتينات عبر الغشاء من 30–32kDa متشابهة مع اختلافات بسيطة تحدد نوعها ، تكون مندمجة بهيكل الكرية و تجتاز الغشاء 12 مرة منطلقة من السيتوبلاسما ومنتهية فيها .
- ان اختلاف الحموض الأمينية في البروتينات الغشائية و الناتج عن تغير النكليوتيدات في المورثة المرمزة يقود إلى التنوع في المستضدات المحمولة على هذه البروتينات فمثلا" في المورثة RHCE المؤلفة من 10 Exons نجد أن اختلاف الألائل C/c ب6 نوكليوتيدات في (Exon 1,2) يولد عديد ببتيد يحوي 4 فروق في الحموض الامينية في المواقع: 16،60،68،103 وأهمها(Ser 103 Pro) أما الألائل E/e لا تختلف إلا بنوكليوتيد واحد في ال (Exon5) مما يولد حمض اميني واحد مختلف (Ala Pro226).
- الحموض الامينية المسؤولة عن تنوع المستضدات هي فقط التي توجد على الحلقات خارج الغشاء لذلك فقط الموقع 226 ل E/e والموجود على الحلقة الخارجية الرابعة للغشاء و 103 ل C/c الموجود على الحلقة الخارجية الثانية للغشاء هما المسؤولين عن هذا التنوع.



الشكل (4) : تركيب مستضدات RH

❖ (1.3.5) مورثات Rh[Weiner.A]:

- سابقا" و من وجهة نظر مورثية المورثات D –"d", C–c, E–e تمثل ثلاثة نظم من الالائل حيث المورثات مستأثرة و تتوضع بجانب بعضها على الصبغي رقم 1 بالترتيب D، C/c، E/e



الشكل (5) : مورثات RH

- حديثا" وجد أنه يتم ترميز بروتينات مستضدات RH بواسطة اثنتين من المورثات RH–D و RH–CE الموجودتين على الذراع القصير للصبغي (1) ، حيث أن غياب التعبير عن المستضد D يحدث عادة بسبب غياب وجود المورثة RH–D من جينوم الأفراد –RHD ، بينما باقي المستضدات المختلفة مثل C و E تتولد بواسطة المورثة RH–CE.

❖ (1.3.6) تعقيد مستضدات نظام The complexity of antigens RH:

- **مستضد Dw (D الضعيف) Weak D:**

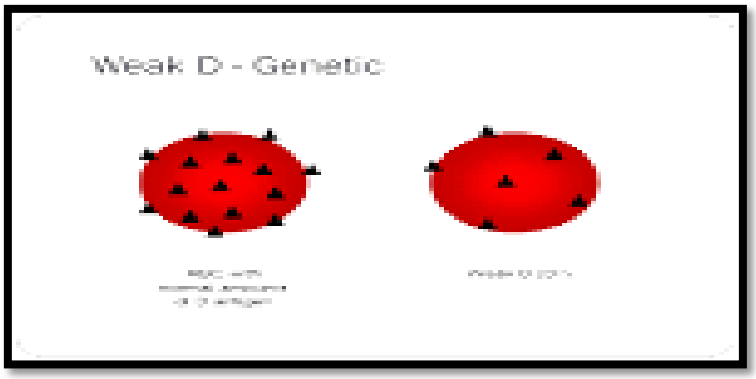
- هناك بعض الحالات التي تحتاج فيها الكريات الحمر إيجابية ال RHD+ لإحداث التراص مع كاشف Anti-D إلى إضافة AHG (مصل مضاد الغلوبولين الإنساني) وذلك بتقنية IAT (الاختبار غير المباشر لمضاد الغلوبين) فهي غير قادرة على إحداث التراص بالتقنية العادية وقد ساعد التطور الحديث في المخابر واستخدام تقنيات حساسة ومؤتمتة اضافة لاستخدام مصول ضدية وحيدة النسيلة في انخفاض شيوع ال Dw (D الضعيف) (Brecher.ME).
- شيوعه عند البيض القوقاز حوالي 1% ، وقد لوحظ ترافقه مع C (DwCe) أو مع E (DwcE) أما وجود Dw مع غياب C و E (Dwce) فهو شائع عند السود (Avent.ND).

تواتر Dw حسب النمط الظاهري :

النمط الظاهري	(Avent.ND)dCcee	(Avent.ND)dccEe	(Avent.ND)dccee
البيض	%40	%25	%0.23

جدول (5) : تواتر DW حسب النمط الظاهري

- ينتج النمط Dw عن وجود عوز كمي في المواقع المستضدية D : (9000-100) ، بينما عددها الطبيعي هو (40000-10000) وهذا ينتج عنه ضعف في قوة التفاعل وحتى غياب كشف المستضد وذلك وفقا لحساسية التقنية المخبرية المستخدمة (Mais.DD) .



الشكل (6) : مستضد D WEAK

- نتعامل مع الكريات Dw على أنها كريات RhD+ ، و يعتبر من لديه Dw متبرع ايجابي و/ أوآخذ ايجابي RhD وبالتالي فهو يمنع ولا يستمنع ، لذلك من الهام البحث عنه لدى كل متبرع بالدم سلبي RhD ، حديث ولادة سلبي RhD من أم ايجابية RhD ، أم سلبية RhD ولدت طفل ايجابي RhD (Brecher.ME).

- **المستضد D الجزئي partial D** [Mais.DD] :

· المستضد D الطبيعي عبارة عن موزاييك من 9 محددات مستضدية تكون جميعها موجودة عند الشخص +RhD وجميعها غائبة عند الشخص –RhD.

· ينتج عن وجود طفرة في المورثة RH D او تشكل مورثة هجينة RH D–CE–D ، وعندما تنقص واحدة او عدة محددات مستضدية يمكن للشخص ان يتمنع تجاه المستضد D .

· في سياق كشفه نجد ظهور anti–D لدى شخص +RHD وهو ليس ضدا ذاتيا مع وجود سوابق نقل دم او حمل (مولود ايجابي) ، أوعند اجراء الزمرة نجد تناقض في النتائج أحيانا" ايجابي وأحيانا" سلبي ، لذلك يجب أن نتعامل معه على أساس أن الشخص المتبرع يعتبر +RHD إيجابيا" في حين أنه عند تلقيه الدم يعتبر سلبيا" –RHD ويجب أن ينقل له دم سلبي .

❖ (1.3.7) أضداد نظام Antibodies RH:

· أكثر الأضداد اللانظامية شيوعا، وهي بشكل رئيسي أضداد لانظامية ومناعية تالية لحمل اونقل دم من نمط IgG (IgG1 و/أو IgG3) تثبت المتممة بالدرجة37 ، و بعضها أضداد طبيعية دون أي نقل دم أو حمل مثل :anti–E,anti–Cw [Milkins.C].

- **تصنف حسب شيوعها تنازليا" ابتداءا" من anti–D كما يلي:**

anti–D,anti–E,anti–c,anti–C,anti–e

· إن أضداد المستضد RhD(anti-D) والتي توجد عند شخص سلبي الريزوس تعرض لنقل دم إيجابي الريزوس أو امرأة سلبية حامل بطفل إيجابي الريزوس يمكن أن تسبّب ارتكاسات نقل دم انحلالية شديدة ومميتة وداء انحلالي للجنين وحديث الولادة [Milkins.C]، فعلى الأقل 30% من المتلقّين سلبيي الريزوس(-RhD) لكريات دم حمر ايجابية الريزوس(+RhD) يشكّلون أضدادanti-D [Daniels.G.2007] .

❖ (1.3.8) الأهمية السريرية:

1. حوادث نقل دم انحلالية متأخرة مثل **anti–D, anti–C, anti–E, and anti–c** والانحلال يكون خارج الأوعية [Reid.ME،Daniels.G.2002].
2. داء انحلالي لحديث الولادة و الجنين (HDFN)**Hemolytic disease of fetus and newborn** :

· منها ما يسبب مرض شديد (داء انحلالي للجنين داخل الرحم والوليد HDFN) مثل **anti–D** [Urbaniak.SJ] ، بالإضافة إلى **anti–c** فإنه يأتي بعد anti–D بالخطورة [Hackney.DN] ،

· ومنها ما يسبب مرض متوسط إلى خفيف بعد الولادة (داء انحلالي للوليد HDN) مثل anti–C/ anti– E / anti–e [Joy.SD].

- **(1.4) باقي النظم الدمويّة Other blood systems:**

☒ **(1.4.1) نظام Kell :**

- في عام 1945 اكتشف كومز Combs أول مستضد من نظام Kell ، وذلك عند السيدة Kellacher و التي شكلت أضداد anti–K1 و أدت لحدوث داء انحلالي لمولودها الجديد والذي تملك كرياته المستضد K ومن ثم تم التعرف على المستضد k (cellano) في عام 1949 (Coombs.RRA) .
- عدد مستضداته 25 مستضد أكثرها أهمية سريرية هو المستضد K وهي عبارة عن غليكوبروتينات غشائية من النمط II مؤلفة من 732 حمض أميني تحوي جسور كبريتية ، يتم ترميزها من قبل المورثة KEL الموجودة على الصبغي رقم 7 والمؤلفة من 19 Exons ، ويعود التنوع المستضدي لنظام Kell إلى التبدل النكليوتيدي الحاصل في المورثة المرمزة فمثلا" التنوع K1,K2 يعود للتبدل على مستوى Exon 6 من (C–T 698) وهذا ما يؤدي لحمض أميني مختلف (M 193 T) يسبب هذا التنوع(Camara.C).
- توجد هذه المستضدات على الكريات الحمراء فقط وتتطور باكرا" عند الجنين منذ الأسبوع السادس(Reid.ME).

❖ **تواتر المستضدات :**

المستضد	البيض(Reid.ME)	السود(Reid.ME)	سوريا(Ali.T)
K	%9	%2	% 8,1

جدول (6) : تواتر المستضد K

- النمط الظاهري(K–, k+) هو الأشيع حيث يوجد عند 98 % من السود و 91 % من القوقاز(Reid.ME).
- أضداده غالباً تالية لتمنيع مغاير ، وهي من النمط IgG (غالبا IgG1)، بينما IgM غير شائع ، و إن هذه الأضداد تكشف باختبار غير مباشر لمضاد الغلوبولين الإنساني(IAT) ، و يعد Anti–KEL1 أكثرها شيوعا" وهو غالبا من النمط IgG1 .

❖ **أهميته السريرية Clinical significance:**

1. هام في نقل الدم حيث يؤدي إلى حوادث نقل دم انحلالية شديدة (Lee.S).
2. حدوث داء انحلالي لحديث الولادة مع موت الجنين داخل الرحم **HDFN** : يأتي بعد نظام RHD و ABO من حيث الأهمية لأنّ المستضد K يتطّور باكرا جدا عند الجنين منذ الأسبوع السادس على مستوى الخلايا المولّدة للحمر لذلك أضداده " Anti –K " لها تأثير مثبط لتوليد الكريات الحمر داخل النقي عند الجنين فهي ذات تأثير مضاعف مثبط وانحلالي في إحداث فقر الدم (Camara.C,Vaughan.JI).

☒ (1.4.2) نظام Duffy :

- اكتشف مستضد Fya عام 1950 عندما وصف Cutbush و Mollison و Parkin مريض ناعور متعرض لنقل دم متكرر قد شكل ضد anti-Fya ، أما المستضد Fyb فقد تم كشفه بعد عام من ذلك من قبل Ikin (Daniels.G.2007) .

❖ **مستضدات نظام Antigens Duffy** (Reid.ME) :

- 6 مستضدات **Fya, Fyb, Fy3, Fy4, Fy5, Fy6**
- المورثة المسؤولة هي FY المتوضعة على الصبغي رقم 1 و المؤلفة من 2 Exons ، والتي ترمز للغليكوبروتين المؤلف من 337 حمض أميني والذي يمثل البروتين الحامل للمحددات المستضدية لنظام Duffy والأليلين الأساسيين فيها هما FYA,FYB و يختلفان عن بعضهما بنكليوتيد واحد في الموقع 125(A and G) على التوالي مما يقود للتنوع المستضدي بسبب اختلاف تتالي الحموض الأمينية حيث يرمزان للمستضدين Fya,Fyb و اللذين يختلفان بحمض أميني واحد في الموضع 42 (glycine and aspartic acid على التوالي).
- تتواجد مستضدات Duffy على الكريات الحمراء ولوحظ وجودها بكميات أكبر على الشبكيات من الكريات الناضجة ، بالإضافة لذلك توجد أيضا" على الخلايا الظهارية وعلى خلايا الوريدات بعد الشعرية للكلية والجلد والرئة والدماغ وانبوب الهضم ومهمتها مراقبة الرد الالتهابي موضعيا عن طريق تثبيتها للكيموكينات المتحررة حيث أن هذه المستضدات تعمل كمستقبلات للكيموكينات وهي عائلة من السيتوكينات ماقبل الالتهابية مثل IL-8, PF4, GRO-a, ENa-2, NAP-2 القادرة على تفعيل البيض واحداث هجرة للبيض .

❖ **تواتر المستضدات:**

المستضد	البيض (Reid.ME)	السود (Reid.ME)	الآسيويين (Reid.ME)	سوريا (Ali.T)
Fya	%66	%10	%99	%65
Fyb	%83	%23	%18.5	% 67,2
Fy3	%100	%32	%99.9	لم يتم إجراؤه

جدول (7) : تواتر مستضدات نظام Duffy

❖ **النمط الظاهري Fy(a−b−)** (Levinson.W، Reid.ME) :

- في عام 1955 وجد كل من Sanger و Race و Jack أن النمط الظاهري **Fy(a-b-)** هو نادر جدا عند القوقاز و يشاهد عند السود بنسبة 68 % حيث لا تعبر كرياتهم الحمر عن RNAm ولا عن بروتينات Duffy و قد لوحظ انتشار هذا النمط في مناطق غرب أفريقيا مع نسبة منخفضة للعدوى بالمتصورات النشيطة و ذلك لأن مستضدات Duffy تمثل مستقبلات لطفيلي المتصورة النشيطة على الكرية الحمراء و التي تتنشر بشكل واسع في أفريقيا لذلك فإن أصحاب النمط Fy(a−b−) لا يصابون بالعدوى و يشكلون مناعة اتجاه المرض وهذا ما يفسر عدم توطن المرض في مناطق غرب أفريقيا.

النمط الظاهري	*البيض* (Reid.ME)	*السود* (Reid.ME)	*الصينيين* (Reid.ME)
Fy(a+b+)	%49	%1	%9
Fy(a−b+)	%34	%22	<1%
Fy(a+b−)	%17	%9	%91

جدول(8) :تواتر النمط الظاهري لنظام Duffy

أضداد نظام Duffy هي بشكل رئيسي من نمط IgG و بشكل نادر من نمط IgM ، anti−Fya هو الأكثر شيوعا" ، بينما anti−Fyb أقل شيوعا" من السابق بحوالي 20 مرة ، بالنسبة للأضداد anti−Fya شائعة عند البيض و نادرة عند السود من النمط Fy(a−b−) وهي مسؤولة عن حوادث نقل دم وداء انحلالي لحديثي الولادة ، أما الأضداد anti−Fyb نادرا ما تلاحظ بمفردها بل تترافق غالبا مع أضداد غيرية أخرى لنظم أخرى (anti−Kell,anti−Kidd) ، وبالنسبة للأضداد anti−Fy3 فهي ذات نوعية تجاه Fya،Fyb بآن واحد وليست مزيج من anti−Fya+anti−Fyb و قد لوحظ لوحظ وجودها عند الأفراد البيض من النمط الظاهري Fy(a−b−) بعد نقل دم أو حمل (Roback.JD،Klein.HG).

❖ **أهميته االسريرية Clinical significance:**

- القدرة الممنعة لمستضدات Duffy هامة نسبيا وتلي مستضدات Rh,Kell ، وهو نظام هام في الإمراضية لدى الإنسان لأنّ المستضد Fya ممنّع جدا ويمكن أن يكون مسؤولا عن حوادث نقل دم انحلالية خطيرة وعدم توافق جنيني والدي(Daniels.G.2002).

☒ (1.4.3) نظام Kidd :

- في عام 1951 اكتشف أول مستضد لنظام JKa (Kidd) من قبل Allen [Chernecky.C,Natural.V]، وهو نظام حصري بالكريات الحمر ويكون متطوّرا بشكل جيد عند الولادة .
- عدد مستضداته 3 مستضدات **Jka, Jkb, and Jk3** ، المستضد JKa هو الأشدّ تمنيعا [Chernecky.C]
- المورثة المسؤولة عن ترميز بروتينات Kidd هي SLC14A1 حيث تتوضع على الصبغي رقم 18 و تتألف من 11 Exons ، و هي بروتينات عابرة للغشاء مؤلفة من 389 حمض أميني و إن الاختلاف بالحموض الأمينية الناتج عن التبدل النكليوتيدي في المورثة يقود للتنوع المستضدي ففي هذه المورثة نجد أليلين سائدين أساسيين هما JKa,JKb وهما ينتجان عن تبدل نكليوتيدي في الموضع –G 838) A) و يرمزان المستضدين JKa,JKb اللذين يختلفان بحمض أميني واحد (D 280 N) [Reid.ME].

❖ **تواتر المستضدات:**

المستضد:	البيض [Casina.TS، Reid.ME]	السود [Casina.TS، Reid.ME]	الآسيويين [Casina.TS، Reid.ME]	سوريا [Ali.T]
Jka	%77	%92	%73	%78,8
Jkb	%74	%49	%76	%69,5
Jk3	%100	%100	%100	عدم إجراؤه

جدول(9): تواتر مستضدات نظام Kidd

❖ **النمط الظاهري Phenotype:**

النمط الظاهري:	البيض [Reid.ME]	السود [Reid.ME]	الآسيويين [Reid.ME]
JK(a+b+)	%50	%41	%49
JK(a+b–)	%26	%51	%23
JK(a–b+)	%23	%8	%27
JK(a–b–)	نادر	نادر	نادر

جدول(10):تواتر النمط الظاهري لنظام Kidd

- إن أضداد JKa,JKb غير شائعة ، و هي عادة IgG (IgG1,IgG3 وممكن أن تكون IgG2,IgG4) أو من النمط IgM ، حيث 50% تقريبا" من anti–JKa,JKb قادرة على ربط المتممة [Klein.HG] .

- إن الكريات الحمراء من النمط متماثل اللواقح (JKaJKa) قادرة على التعبير بشكل أكبر عن المستضد من النمط متخالف اللواقح (JKaJKb) لذلك فإن الأضداد تتفاعل بشكل أكبر مع الكريات من النمط متماثل اللواقح [Mais.DD].
- الضد (anti-JKa) هو ضد خطير و مخاتل فمن الصعب تأكيد وجوده حيث أنه يختفي بسرعة من الجسم فيكون قابل للكشف خلال فترة وجيزة من الزمن في المصل و هذا ما يسبب خطورة كبيرة حيث أنه عند نقل تالي لدم إيجابي (+JKa) لشخص تشكلت لديه هذه الأضداد فإن الفحوص المخبرية تبدو متوافقة وإن إجراء النقل سيتسبب بإنتاج سريع لأضداد anti-JKa المسؤولة عن إحداث تفاعل نقل دم انحلالي متأخر [Klein.HG].

❖ **أهميته االسريرية Clinical significance**[Daniels.G.2002]:

- تعد أضداد anti-Jka هي الأكثر خطورة بين أضداد نظام Kidd حيث أنها مسؤولة عن:

1. إحداث تفاعلات نقل الدم الانحلالية الخطيرة في حال نقل الدم المخالف و تكون مسؤولة عن إحداث 3/1 حالات تفاعل نقل الدم الانحلالي المتأخر DHTRs (Delayed hemolytic transfusion reactions).
2. التمنيع للأم الحامل حيث تكون المستضدات الجنينية قادرة على إحداثه خلال الحمل و بالتالي التسبب بحدوث داء انحلالي حول الولادة HDFN .

☒ (1.4.4) نظام MNS:

- اكتشف في 1927 من قبل Karl Landsteiner و Philip Levine
- عدد مستضداته 46 مستضد تتضمن M, N, S, s .
- المورثات المسؤولة هي GYPA,GYPB والتي ترمز البروتينات الحاملة لمستضدات نظام MNS حيث أن المورثة GYPA (7 exons) تملك أليلين هما MNS1,MNS2 اللذين ينتجان المستضدين M,N على التوالي بالاختلاف النكليوتيدي الحاصل فالأليل MNS1 يرمز (5 serine 1–glycine) و الأليل MNS2 يرمز (5glutamate1– leucine) مما ينتج عنه اختلاف بالحمض الأميني بين المستضدين M,N في الموضع 1و5 ، أما المورثة GYPB (5 exons) تملك أليلين هما MNS3,MNS4 ينتجان المستضدين S,s على التوالي بالاختلاف النكليوتيدي الحاصل فالأليل MNS3 يرمز (29 methionine) و الأليل MNS4 يرمز (29 threonine) مما ينتج عنه اختلاف بحمض أميني بين المستضدين S,s في الموضع 29 (Poole.J،Table، Daniels.G.2002،Daniels.G2007).

❖ **تواتر مستضداته:**

التوزع :	$^{(Reid.ME)}$M	$^{(Reid.ME)}$N	$^{(Reid.ME)}$S	$^{(Reid.ME)}$s
البيض	%78	%72	%55	%89
السود	%74	%75	%31	%93

جدول(11):تواتر مستضدات نظام MNS

- بالنسبة لأضداد نظام MNS فإن الأضداد anti–N , anti–M من النمط IgM في حين الأضداد anti–S,anti–s من النمط IgG (Mais.DD).

❖ **الأهمية السريرية Clinical significance:**

- الأضداد Anti–s , Anti–S هي الأكثر تسببا لحوادث نقل الدم و الداء الانحلالي لحديث الولادة(Daniels.G.2002) .

☒ نظم دموية أخرى :

1. نظام Lewis
2. نظام P
3. نظام Lutheran .....

- **(2.1) الأضداد اللانظامية Irregular antibodies :**

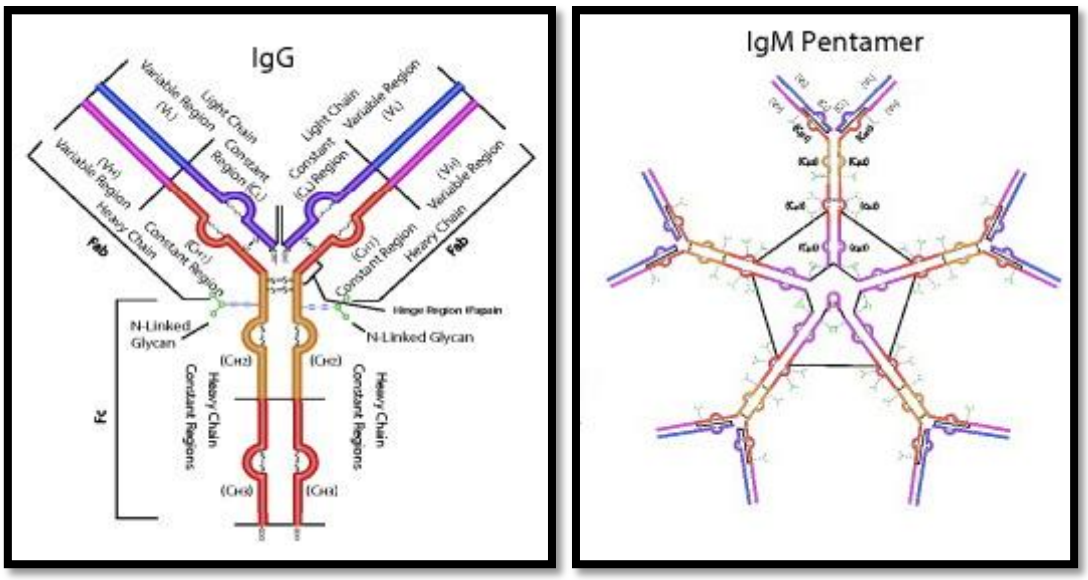
تعريف Definition :

- يوجد لدينا نوعين أساسيين من الأضداد و هما أضداد نظامية و لانظامية Irregular and regular antibodies و الأضداد النظامية بالتعريف هي أضداد موجهة ضد مستضدات نظام ABO تظهر في السنوات الأولى للحياة وهي من النمط IgM و الأضداد الطبيعية هي غالبا" أضداد نظامية أما بالنسبة للأضداد اللانظامية فهي أضداد موجهة ضد مستضدات الكريات الحمراء عدا مستضدات ABO مثل مستضدات نظام RH ونظم دموية أخرى وهي أضداد مناعية من نمط IgG ناتجة عن التعرض لجسم أجنبي و قد نجد أضداد طبيعية لانظامية ناتجة عن التعرض لجسم أجنبي[Eva.D،Garratty.G] .
- كما و تصنف الأضداد اللانظامية إلى أضداد طبيعية و مناعية فالأضداد اللانظامية الطبيعية Natural antibodies : أضداد تتشكل بدون نقل دم أو حمل وهي من النمط IgM و تصنف حسب شيوعها (Anti p1/ Lea /Leb /H /M) وفي حال تشكلها فهي خطيرة في نقل الدم حيث أنها حالة بالدرجة37 م وخطيرة في نقل الدم الكتلي و العمل الجراحي تحت التبريد أما الأضداد اللانظامية المناعية Immune irregular antibodies : أضداد تتشكل بآلية مناعية نتيجة نقل دم أو حمل وهي من النمط IgG و تصنف حسب شيوعها (Anti D/ K / c / Fya / Jka / S) و هي تمتلك خطورة كبيرة في نقل الدم وفي إحداث الداء الانحلالي للجنين وحديثي الولادة [Eva.D،Garratty.G].

- **الفرق بين الأضداد IgM وIgG** [Eva.D،Garratty.G]:

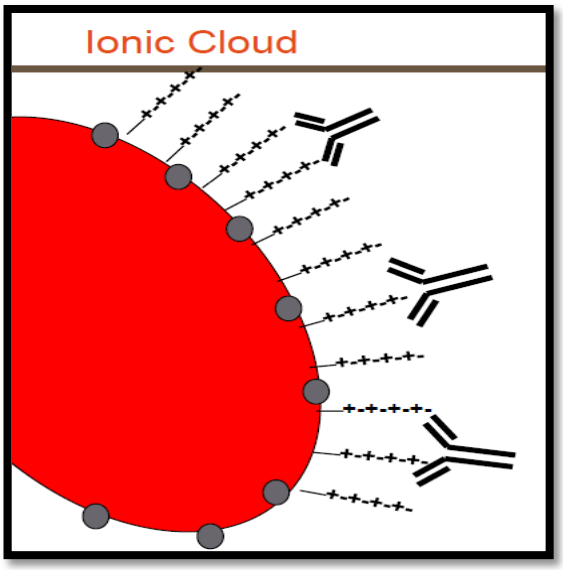
- **الخواص:** بالنسبة ل IgM درجة حرارتها الفضلى هي +4 م ، قادرة على تفعيل المتممة وهي راصة في الوسط الملحي حيث أنها قادرة على إحداث التراص العفوي أما الضد IgG فهي فعالة في الدرجة 37 م و إن الأصناف الفرعية للغلوبولين المناعي IgG ليست متساوية في قدرتها علي تفعيل المتممة حيث يعتبر الصنف الفرعي IgG3 الأكثر فاعلية بالمقارنة بالأصناف الفرعية الأخرى لـ IgG و هي غير قادرة على إحداث تراص مباشر لذلك لا بد من إضافة مصل كومبس لجعل التفاعل مرئيا".
- **عبور المشيمة:** IgM لا تجتاز المشيمة أما IgG فهو قادر على عبور المشيمة مما يفسر خطورته في إحداث الداء الانحلالي للجنين و حديثي الولادة .

- **بنيويا**" : يتميز الضد IgM بوجود 10 مواقع ارتباط بالمستضد بينما الضد IgG فيوجد فيه موقعين فقط للارتباط.

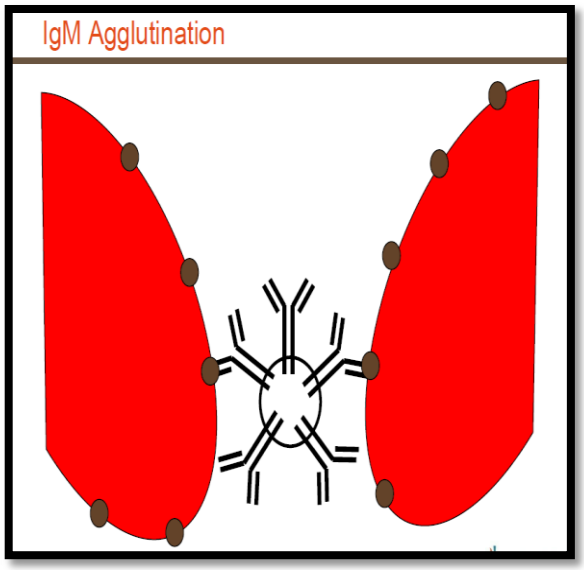


الشكل(7): بنية IgM,IgG

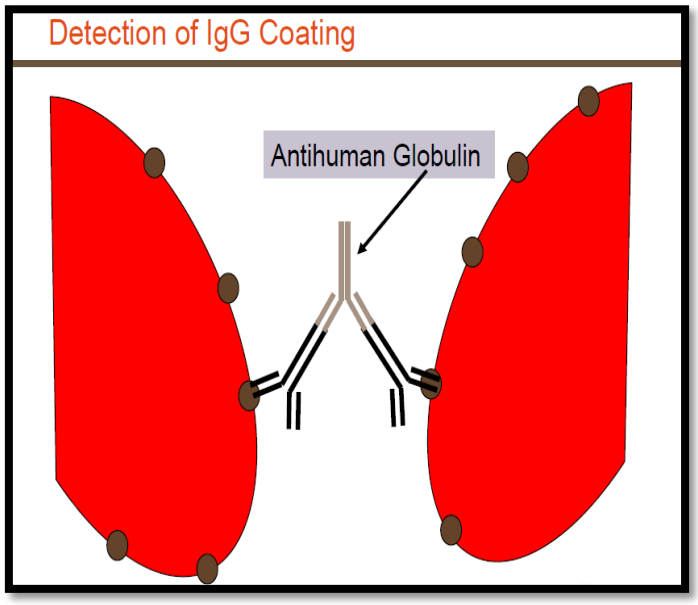
- إن بنية الضد IgM جعلته قادر على ربط الكريات الحمراء و إحداث التراص العفوي لذلك يتم كشفه باستخدام المصل الفيزيولوجي (**الشكل 8**) أما بالنسبة ل IgG فهو غير قادر على إحداث التراص بشكل عفوي وذلك بسبب بنيته الصغيرة وامتلاكه موقعين للارتباط فقط بحيث تسمح له بتحسيس الكريات الحمراء دون القدرة على إحداث التراص بالإضافة إلى عدم قدرته على التغلب على قوة زيتا و التي تمنع حدوث التراص وهي متعلقة بثلاثة عوامل و هي الشحنة السالبة على سطح الكرية الحمراء والقوة الشاردية للوسط و حجم الجزيئات فيه (**الشكل 9**) و من خلال التغلب على هذه العوامل نستطيع الكشف عن وجود الضد IgG حيث يتم التغلب عليها من خلال البروتياز الحالة للبروتين والذي ينقص من الشحنة السالبة بالإضافة إلى إنقاص التوتر الشاردي للوسط بإضافة محلول ليس Liss و لجعل التفاعل مرئيا" تتم إضافة مصل مضاد الغلوبولين الإنساني عديد النوعية AHG (**الشكل 10**) وهذه هي تقنية اختبار غير مباشر لمضاد الغلوبين IAT .



الشكل (9) : قوة زيتا



الشكل (8): تراص IgM



الشكل (10) : تراص IgG

- السبب الرئيسي لتشكل هذه الأضداد في دوران المريض هو تعرضه خلال نقل الدم أو الحمل إلى كريات حمراء غير متوافقة مع كرياته ، و هذه الأضداد لها القدرة على التسبب بالأذى في حال تم إجراء نقل دم تكون فيه الكريات الحمراء مستهدفة من قبل هذه الأضداد الموجودة ، أو حامل تملك أضداد للمستضدات الموجودة على الكريات الجنينية حيث أنها قادرة على عبور المشيمة و الارتباط مع كريات الجنين مما يؤدي لانحلالها و التسبب بإحداث الداء الانحلالي للجنين و حديثي الولادة (Natural.V) .

(2.2) البحث عن الأضداد اللانظامية Irregular antibodies screening[Oren.E،Arraut.A] :

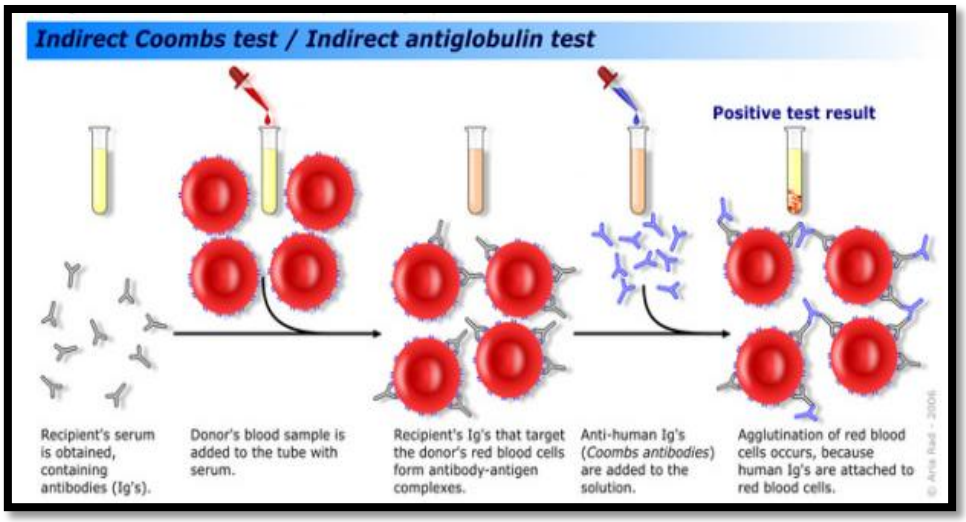
- كشف وجود الأضداد الغير متوقعة ، والمتشكلة ضد مستضدات غير ABO مثل (Duffy, Kell, Kidd, MNS, P, Rh) والتي تعتبر ذات أهمية سريرية في مجال نقل الدم و التوليد والتي لا يمكن كشفها بالاختبارات الأخرى ، و إن هذه الأضداد قد تكون IgG أو IgM ، الأضداد IgM أقل أهمية وذلك لأنها فعالة في درجة حرارة الغرفة وليس في درجة حرارة الجسم لذلك إحداثها لانحلال داخل الجسم نادر .
- يأتي تأمين سلامة نقل الدم المناعية ضمن سلسلة من الاختبارات الدموية وهي تنميط الزمرة الدموية ABO, RH(D) واختبار التوافق Cross-mach و البحث عن الأضداد اللانظامية و تنميط المريض ل Rh,K, Duffy,Kidd,Ss و يعتبر البحث عن الأضداد اللانظامية حجر الأساس في تأمين سلامة نقل الدم المناعية و ذلك لأهميته في الكشف عن هذه الأضداد الغير متوقعة بالإضافة إلى ذلك تأتي أهميته في الناحية التوليدية في الفحص قبل الولادة لكشف الأضداد اللانظامية في مصل المرأة الحامل والتي تكون قادرة على عبور المشيمة و مهاجمة كريات حمر الجنين مسببة بذلك حدوث الداء الانحلالي للجنين و حديثي الولادة (HDFN) .

❖ (2.2.1) تقنيات الاختبار[F.Rosen ،Chernecky.C,Casina.TS,]:

- استخدام المصل الفيزيولوجي و الذي يكشف عن وجود الأضداد من نمط IgM القادرة على إحداث التراص العفوي في الوسط الملحي و هي تعتبر غير مهمة سريريا" خصوصا" بالنسبة للحوامل .
- تقنية IAT اختبار غير مباشر لمضاد الغلوبين و التي تكشف عن الأضداد من نمط IgG و التي تعتبر الأهم سريريا" في مجال نقل الدم و عند الحوامل بشكل كبير.
- تقنية الاختبار الأنزيمي (البابائين أو التربسين أو البروميلين) يخرب مستضدات Fy و MNSs يكشف أضداد RH و Lewis بشكل أفضل .

❖ (2.2.2) مبدأ الاختبار[F.Rosen ،Chernecky.C,Casina.TS,] :

- يتم استخدام الاختبار غير المباشر لمضاد الغلوبين (Indirect antiglobulin test (IAT في كشفها و يتم ذلك من خلال حضن مصل المريض المراد كشف وجود الأضداد فيه مع مجموعات كريات حمراء بشرية من زمرة الدم O بحيث لا تتأثر بأضداد الـ (anti-A antibodies) أو الـ (anti-B antibodies) مع إضافة مصل كومبس ، حيث نستخدم 3-4 مجموعات للكشف و 10-11 مجموعة لتحديد النوع حيث نستدل على النتيجة الإيجابية بحدوث التراص (**الشكل11**) .



الشكل (11) : الاختبار غير المباشر لمضاد الغلوبين (F.Rosen)

❖ **(2.2.3) مراحل الاختبار :**

يتم على مرحلتين و هما :

1) <u>البحث عن وجود الضد (مرحلة الكشف) :</u>

- تستخدم على الأقل 3 مجموعات كريات الحمر من الزمرة O منمطة للنظم التالية:Rh,Kell,Duffy,Kidd,MNSs,Lewis,P1,Lutheran ، وهو يدل على وجود أو غياب الأضداد في مصل المريض و يمكن أن نجد أكثر من ضد في الوقت نفسه و في حال إيجابية الكشف و وجود الضد يجب أن نقوم بتحديد نوعه و هي المرحلة الثانية (Sandler.S).

2) <u>تحديد نوع الضد:Identification</u>

- يجب استخدام 10−11 مجموعة من الكريات الحمر من الزمرة O المنمطة بكل النظم Rh,Kell,Duffy,Kidd,MNSs,Lewis,P1,Lutheran ، و يجب إجراء تحديد نوع الأضداد اللانظامية في حال نتيجة الكشف الإيجابي بسبب اختلاف هذه الأضداد عن بعضها من حيث الأهمية السريرية ففي حال كان الضد مهم سريريا" يجب أخذه بعين الاعتبار عند كل نقل دم أو حمل(Wintrobes) و نجد من خلال **(جدول 12)** اختلاف الأهمية السريرية للمستضدات حتى ضمن النظام الواحد .

Clinically Significant	Sometimes Clinically Significant	Usually not Significant	Not Considered Significant
Rh (D, C, E, c, e)	MNS (U, Vw, Mur)	Lutheran (Lu^a, Lu^b)	Chido/Rodgers (Ch^a, Rg^a)
Kell (K, k, Ku)	Vel	Lewis (Le^a, Le^b)	JMH
Duffy (Fy^a, Fy^b, Fy3)	Ge	MNS (M, N)	Bg
Kidd (Jk^a, Jk^b, Jk3	Hy		Cs^a
Diego (Di^a, Di^b, Wr^a)	Yt^a	P_1	Xg^a
MNS (S, s)			

جدول (12): اختلاف الأهمية بين المستضدات

- **(2.3) أهمية الكشف عن الأضداد اللانظامية :**

1) **نقل الدم:** بسبب اختلاطات نقل الدم المناعية الناتجة عن عدم التوافق بالكريات الحمراء والتي ينتج عنها اختلاطات خطيرة فورية أو متأخرة تأتي أهمية هذا الاختبار في كشف الأضداد الغير متوقعة و التي تسبب هذه الاختلاطات مما يساهم في الوقاية من حدوث التمنيع وعدم فعالية نقل الدم من خلال نقل الدم المنمط المناسب لنتيجة هذا الاختبار (Daniels.G.2007) .

2) **الحمل** :اختبار مهم في الحمل حيث يعد من الاختبارات التي تتم مراقبة الحامل بها وذلك بسبب أهميته في الكشف عن الأضداد اللانظامية التي تستطيع في حال وجودها أن تعبر المشيمة لتهاجم كريات الجنين في حال وجود المستضدات المستهدفة على سطحها فتسبب انحلالها و يحدث ما يسمى بالداء الانحلالي للجنين و حديثي الولادة ، و ففي حال كشف وجود هذه الأضداد يتم تحديد نوعها وتحديد أهميتها السريرية و عيارها و مراقبة الجنين للتوصل إلى التدبير المناسب) (Daniels.G.2007).

- **(2.4) استطبابات التحري عن الأضداد اللانظامية (Eva.D) Indications:**

1) قبل كل نقل دم و عند المتبرعين بالدم (خاصة نقل البلازما والأشخاص ذوي الزمرة O) و في حالات نقل دم المتكرر مثل مرضى فقر دم المنجلي و التلاسيميا بالإضافة إلى إجرائه في حالات زرع النقي و الأعضاء .

2) مراقبة الحوامل من خلال كشف الأضداد اللانظامية عند خروس إيجابية الريزوس والتي لم تتعرض لنقل دم سابق وذلك في الشهر (3-8 أو 9) أما بالنسبة لسلبية أو إيجابية RH(D) سواء كانت خروس تعرضت لنقل دم سابق أو غير خروس فيتم إجراء كشف الأضداد اللانظامية لديها في الأشهر (3-6-9-8) ، كما يجب إجراؤه بعد الولادة للمرأة سلبية RH والتي ولدت طفل إيجابي RH قبل إعطاء جرعة الغاماغلوبولين للتأكد من عدم وجود الأضداد لديها و بعد 24 ساعة من إعطاء الجرعة للتأكد من كفاية العلاج ب Anti-D .

❖ **(2.5) المواصفات التي يجب أن تتمتع بها الكريات الحمراء الموجودة في مجموعات الكشف و تحديد النوع حسب معايير BCSH Blood Transfusion Task Force** (Chapman.JF) :

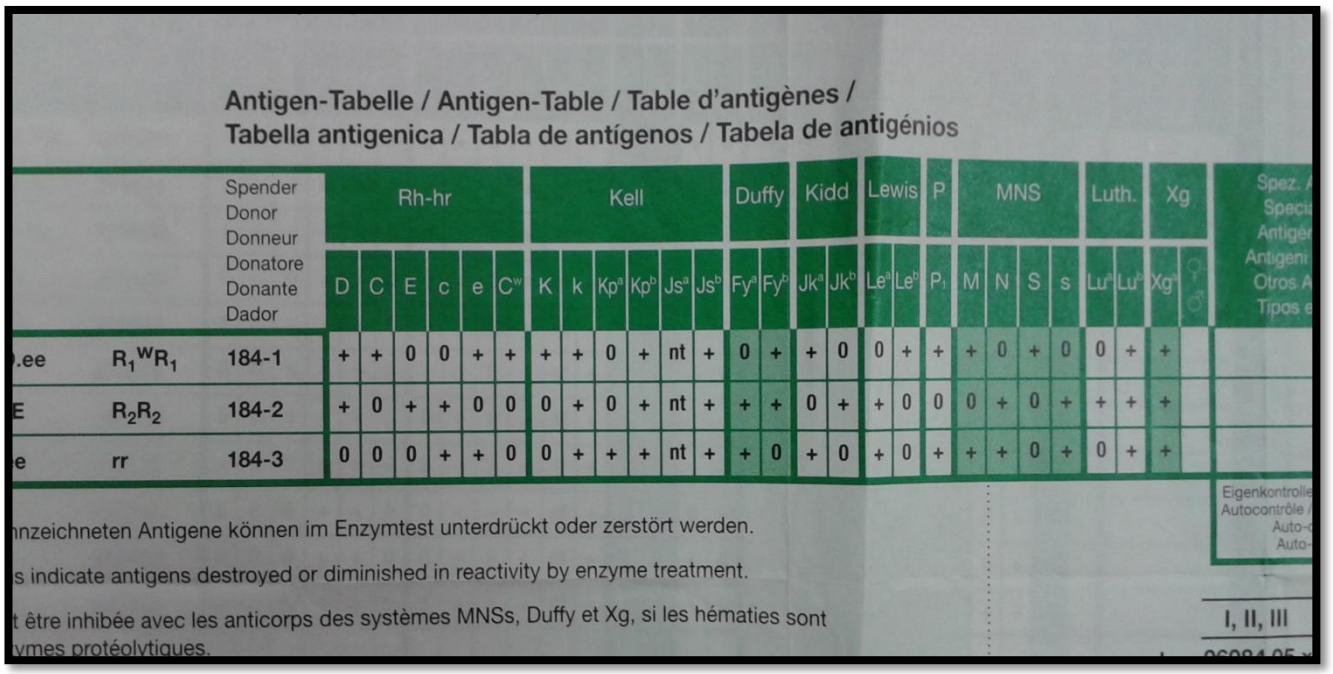
- تقوم شركات تخصصية بتحضير مجموعات الكشف و تحديد النوع من المتبرعين المعروفين لديها وفق الشروط التالية :

1. من الزمرة O بحيث لا تتأثر بأضداد anti-A , anti-B .
2. منمطة للمستضدات التالية D,C,c,E,e,K,JKa,JKb,Fya.Fyb,M,N,S,s,P1,Lea,Leb
3. واحد على الأقل من كريات حمر الكواشف يجب أن يعبر عن كل مما يلي :

(DcE/DcE)R2R2-(DCe/DCe)R1R1-(dce/dce)rr

4. ينبغي أن يكون فيها كريات من متبرعين من النمط متماثل اللواقح حيث أن بعض الأضداد تبدي تفاعلات أقوى مع المستضدات من النمط متماثل اللواقح (Fya,Fya) (JKb,JKb) (Jka,Jka) (S,S) (Fyb,Fyb) .
5. يجب ان تحقق من خلال تقاطعاتها القدرة على التمييز بين الأضداد المركبة وذلك في حال وجود أكثر من ضد في الوقت نفسه .
6. العمر النصفي لهذه الكريات 35 يوما" مع عدم وجود انحلال فيها .

❖ **نموذج البانيل من شركة تجارية:**



Antigen-Tabelle / Antigen-Table / Table d'antigènes /
Tabella antigenica / Tabla de antígenos / Tabela de antigénios

		Spender Donor Donneur Donatore Donante Dador	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Xg	
			D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	♀♂
.ee	$R_1{}^wR_1$	184-1	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+	
E	R_2R_2	184-2	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	+	+	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	+	
e	rr	184-3	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	

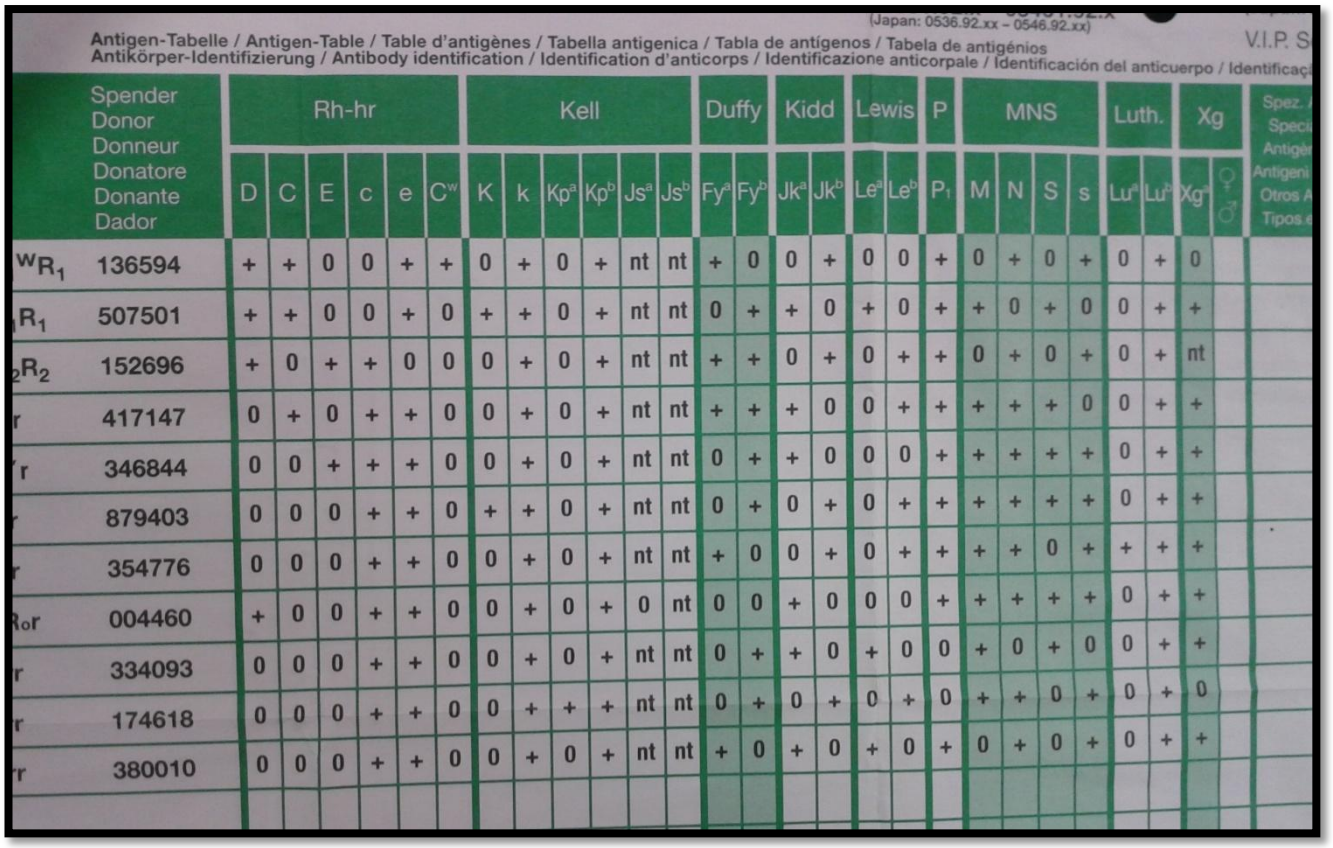
nzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden.

s indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment.

t être inhibée avec les anticorps des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont
ymes protéolytiques.

Eigenkontrolle / Autocontrôle / Auto- / Auto-

I, II, III



(Japan: 0536.92.xx – 0546.92.xx)

V.I.P. S

Antigen-Tabelle / Antigen-Table / Table d'antigènes / Tabella antigenica / Tabla de antígenos / Tabela de antigénios
Antikörper-Identifizierung / Antibody identification / Identification d'anticorps / Identificazione anticorpale / Identificación del anticuerpo / Identificaç

	Spender Donor Donneur Donatore Donante Dador	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Xg	
		D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	♀♂
$^wR_1$	136594	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	
R_1	507501	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	
R_2	152696	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	nt	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	nt	
r	417147	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	
r	346844	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	
r	879403	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	
r	354776	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	
or	004460	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	nt	0	0	+	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	
r	334093	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	+	
r	174618	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	
r	380010	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	

القسم العملي

أساس البحث :

- تأتي أهمية الكواشف المستخدمة في كشف الأضداد اللانظامية و تحديد نوعها في المصل, من فائدتها في الوقاية من اختلاطات نقل الدم المناعية و الداء الانحلالي للجنين وحديثي الولادة ونظرا" لعدم القدرة على استيرادها أبدا من الخارج بسبب الأزمة الحالية ,و بسبب عدم تواجد مصدر محلي لإنتاجها رغم الأهمية الكبيرة لها ,فقد توجهنا إلى دراسة إمكانية تحضير هذه الكواشف محليا.

هدف البحث :

- دراسة إمكانية تحضير مجموعات لكشف و تحديد النوع الأضداد اللانظامية ,بصورة محلية في مشفى التوليد الجامعي.

مضامين البحث (النتائج المتوقعة) :

- القدرة على إنتاج محلي لهذه الكواشف كبديل عن المنتج الأجنبي بحيث يصبح هناك مصدر ثابت للحصول عليها وهذا يضمن التوافر الدائم و التكلفة الأقل ، وهذا الأمر قد يكون نواة لمشروع مستقبلي يساهم في تحقيق الاكتفاء الذاتي الذي نطمح له .

مواد و طرائق الدراسة :

تصميم الدراسة:

- دراسة بدئية حول إمكانية تحضير الكواشف باستخدام عينات دم من أشخاص أصحاء ظاهريا" محددين من داخل المشفى أو خارجها ثم تطبيقها على عينات دموية من مرضى متعرضين لنقل دم أو حوامل .

مكان و زمان الدراسة :

- تمت الدراسة في مخبر مشفى التوليد الجامعي بدمشق و ذلك خلال فترة سنة كاملة 2016-2015.

مجموعة الدراسة :

- تحضير الكواشف : أشخاص أصحاء ظاهريا" زمرتهم الدموية O حصرا موافقون على الاشتراك بالدراسة .
- تجريب الكواشف المحضرة: عينات مصل لمرضى من المشفى(حوامل)ومن مركز التالاسيميا(مرضى نقل دم متكرر).

الاعتبارات الأخلاقية (الفائدة و الضرر):

- يعتمد البحث على ضرورة سرية البيانات التي تم الحصول عليها مع التأكيد على أخذ الموافقة على المشاركة بالدراسة من الأشخاص المناسبين .

الموارد المتاحة للبحث :

1. المواد الداخلة في تركيب المحلول الحافظ .
2. مصول ضدية جاهزة لتحري مستضدات RH , Kell , Duffy , Kidd , Lewis , MNS , P (DIAGAST) فرنسا .
3. أنابيب EDTA .
4. أنابيب بلاستيكية .
5. بطاقات هلام تحوي AHG (مصل مضاد الغلوبولين الإنساني عديد النوعية).

طريقة العمل :

المرحلة 1: تحضير المحلول الحافظ :

- وظيفة هذا المحلول أن يحافظ على سلامة الكريات الحمراء و يمنع انحلالها بحيث تبقى قادرة على أداء عملها في كشف الأضداد اللانظامية لفترة محددة مماثلة للكواشف التجارية والتي تستمر لفترة 35 يوم .

- تم تحضير المحلول الحافظ بمكونات محددة و بنسب معينة و هذه المكونات هي :
trisodium citrate, citric acid, dextroseinosine and the antibiotics (neomycin and chloramphenicol).

- العمل على معرفة مدى قدرته على حفظ العينات من خلال تجريبه في حفظ كريات حمر عشوائية و قد تمت مراقبة انحلال الكريات الحمر بشكل يومي وذلك بفحص الخضاب في السائل الطافي بواسطة جهاز دمويات آلي (Medonic- Pool-Sweden).

المرحلة 2: جمع العينات:

- البحث عن الأشخاص المناسبين للدراسة,والذين تنطبق عليهم الشروط التالية :

1. أصحاء ظاهريا" من الزمرة الدموية O حصرا إيجابيي أو سلبيي RHD مع نفي وجود Dw للسلبيين .
2. عدم وجود أمراض دموية .
3. الموافقة على الاشتراك بالدراسة .

- ثم تسحب عينات دم منهم على أنابيب حاوية على مانع تخثر EDTA بعد ملء استمارة خاصة ومن ثم أجريت عليها الاختبارات اللازمة .

الاستمارة الخاصة بالبحث :

رقم الاستمارة :

<u>الهوية الشخصية :</u>

اسم المتبرع : **العمر :** **الجنس:**

رقم الهاتف : **العنوان :** **المهنة :**

<u>السوابق المرضية :</u>* وجود أمراض دموية :

***وجود أمراض معدية (HBV . HCV . HIV):**

<u>إجراءات البحث :</u>1)الزمرة الدموية (ABO . RH) : **2) Dw :**

3) تنميط الكريات الحمراء لمستضدات ال RH و النظم الدموية الأخرى :

RH					*KELL*
D	**C**	**E**	**c**	**e**	**K**

Duffy		Kidd	
Fya	**Fyb**	**JKa**	**JKb**

Lewis		MNS				P
Lea	**Leb**	**M**	**N**	**S**	**s**	**P1**

المرحلة 3: الاختبارات المجراة على العينات المسحوبة

1. إجراء اختبار الزمرة الدموية لعينات الدم المسحوبة للتأكد منها .
2. التحري عن Dw للأشخاص سلبيي ال RH باستخدام كاشف (**Anti-D monoclonal IgG**) بطريقة الهلام باستخدام الكاسيتات.
3. إجراء اختبارات (HBV . HCV) .
4. تنميط الكريات الحمراء التي تم الحصول عليها و ذلك لمستضدات RH والنظم الدموية الأخرى , Kell) Duffy , Kidd , Lewis , MNS , P وذلك باستخدام مصول ضدية جاهزة (DIAGAST فرنسا)باستخدام الأنابيب.
5. يتم تسجيل و تصنيف النتائج الخاصة بكل متبرع و التي تم التوصل إليها في سياق الدراسة .

المصول الضدية المستخدمة هي :

- مصول ضدية مستوردة من شركة **DIAGAST في فرنسا .**

- يوجد لدينا 16 كاشف لتنميط المستضدات على سطح الكريات الحمراء يتم العمل بها .
- {**RH**(anti-C/E/c/e),**Kell**(anti-K), **P**(anti-P1) **Duffy**(anti-Fya/Fyb) , **Kidd**(anti-Jka/JKb), **Lewis**(anti-Lea/Leb) , **MNS**(anti-M/N/S/s)}.

طريقة استخدام الكواشف في تنميط العينات المسحوبة :

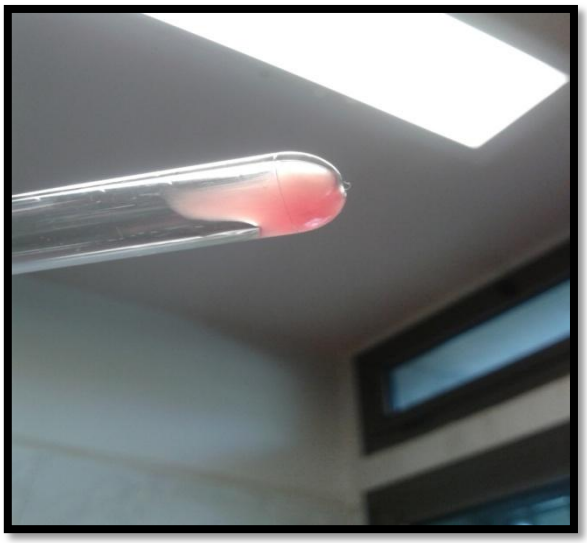
- كل مجموعة من الكواشف لها طريقة خاصة .

النظام	تحضيرمعلق من كريات العينة المراد تنميطها	نوع الانابيب المستخدمة	مزج خفيف	الحضن	الغسيل	إضافة مصل كومبس	مدة التثفيل	سرعة التثفيل	قراءة
RH/K	5% مصل فيزيولوجي	بلاستيكية		لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	دقيقة	1500/ د	
Kidd/M/N/ P	5% مصل فيزيولوجي	زجاجية		لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	دقيقة	1500/ د	
Lea	5% مصل فيزيولوجي	زجاجية		5د /25 درجة	لا يوجد	لا يوجد	دقيقة	1500/ د	
Leb	5% مصل فيزيولوجي	زجاجية		15د /25 درجة	لا يوجد	لا يوجد	دقيقة	1500/ د	
Duffy/S/s	5% محلول ليس Liss	زجاجية		10د /37 درجة(محم مائي)	غسيل 3 مرات بالسيروم	إضافة مصل كومبس	دقيقة	1500/ د	

مشاهدة التراص عيانيا و في حال الشك بوجوده يتم التأكد مجهريا

تقدير شدة التراص ب +1/+2/+3/+4

إيجابي



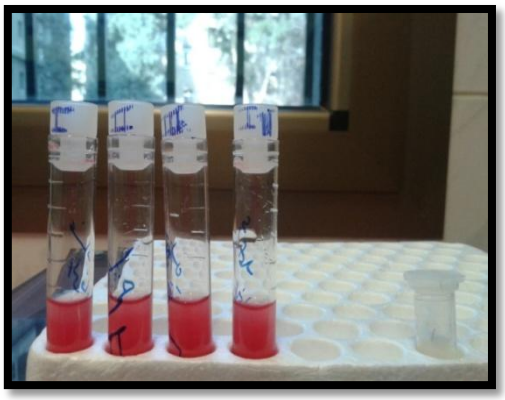
سلبي

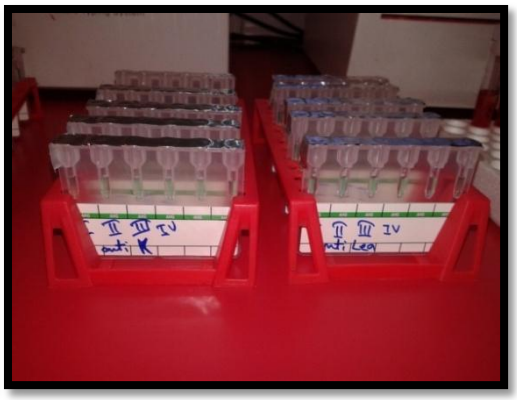
المرحلة 4 : تحضير مجموعات الكشف و تحديد النوع

- تجمع كل النتائج التي حصلنا عليها من تنميط العينات الإيجابية و السلبية في جداول محددة .
- إيجاد العينات او الاشخاص ذوي النمط الذي يوفر تقاطعات محددة من المستضدات لتحضير مجموعات كشف الاضداد اللانظامية و تحديد نوعها مشابهة للكواشف التجارية حيث تم البحث عن توزعات محددة للمستضدات وفق البانيل المراد تشكيله و الذي يتألف من 3-4 توزعات خاصة بمجموعة الكشف و 10-11 توزع خاص بمجموعة تحديد النوع .
- إعادة سحب عينات دم جديدة على أنابيب **EDTA** من الأشخاص الذين تم اختيارهم.
- حفظ العينات بالمحلول الحافظ المحضر بتركيز معين .
- تجريب المجموعات المحضرة مع مراقبة الانحلال يوميا في السائل الطافي للعينات المحفوظة بقياس مقدار الخضاب فيه .
- تحضير النموذج الأول .

المرحلة 5 : تجريب نموذج الكواشف رقم 1 المحضر(المؤلف من 4 مجموعات للكشف و 11 مجموعة لتحديد النوع) وذلك على كونترولات وعلى عينات مرضى

- تحضير معلقات من العينات الداخلة في النموذج المحضر بتركيز 1% ويتم العمل هنا باستخدام كاسيتات الهلام الحاوية على AHG .
- تجريبه بكشف و تحديد نوع الأضداد الموجودة في عينات معماة غير معلومة المحتوى للذي يجري الاختبار و تكون مكونة من ضد واحد او من مزيج من اكثر من ضد مع الاخذ بعين الاعتبار الاضداد الاكثر اهمية سريريا والاكثر شيوعا.





- طريقة العمل ببطاقات الهلام المستخدمة في تجريب النموذج المحضر لكشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية :

- تقنية IAT في الهلام باستخدام كاسيتات تحوي مصل مضاد الغلوبولين عديد النوعية (IgG+C3d) { مصل كومز } حيث نقوم بتحضير معلقات كريات حمر من الزمرة O والتي تم تحضيرها في الدراسة (بتركيز 1%) وتوضع نقطة من هذه المعلقات (3-4 معلقات للكشف و 11 معلق لتحديد النوع) ضمن آبار الكاسيتات و من ثم تضاف نقطة من مصل المريض و نقوم بعدها بالحضن لمدة 15 د في 37 ثم التثفيل لمدة 10 د ثم قراءة النتيجة .

❖ **ضبط الجودة ومراقبة المجموعات المحضرة :**

. **خلال العمل كانت تتم مراقبة الكريات المحفوظة بالمحلول الحافظ كالتالي :**

1. مراقبة نسبة الانحلال في المعلق بشكل يومي و ذلك من خلال قياس الخضاب في السائل الطافي .
2. الزرع الجرثومي للسائل الطافي .
3. إمرار شاهد anti-D (مستورد من شركة DIAGAST) للكشف و تحديد النوع للتأكد من صلاحية و عمل الكريات .

❖ **عرض النتائج :**

عدد العينات الإجمالية من الزمرة O (75) عينة

عدد العينات الاجمالي	RHD+	RHD-
75 عينة	**45عينة**	**30 عينة**

- من خلال مراقبة الانحلال و نتائج إمرار الكونترول اليومي نجد أن مدة صلاحية الكواشف المحضرة هي 53 يوم وكانت نتيجة إمرار الكونترول (شاهد anti-D) بشكل يومي متطابقة و تدل على فاعلية الكريات في كشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية .

نتائج مراقبة الانحلال

اليوم	الانحلال
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	0
7	0
8	0
9	0
10	0
11	0
12	0
13	0
14	0
15	0
16	0
17	0
18	0
19	0
20	0
21	0
22	0
23	0
24	0
25	0
26	0

اليوم	الانحلال
27	0,1
28	0,1
29	0,1
30	0,1
31	0,1
32	0,2
33	0,2
34	0,2
35	0,2
36	0,2
37	0,2
38	0,2
39	0,2
40	0,2
41	0,2
42	0,2
43	0,2
44	0,3
45	0,3
46	0,3
47	0,4
48	0,4
49	0,4
50	0,5
51	0,5
52	0,7
53	0,7

نتائج تنميط العينات حيث أن (+) تشير لوجود المستضد و (-) تشير لعدم وجوده

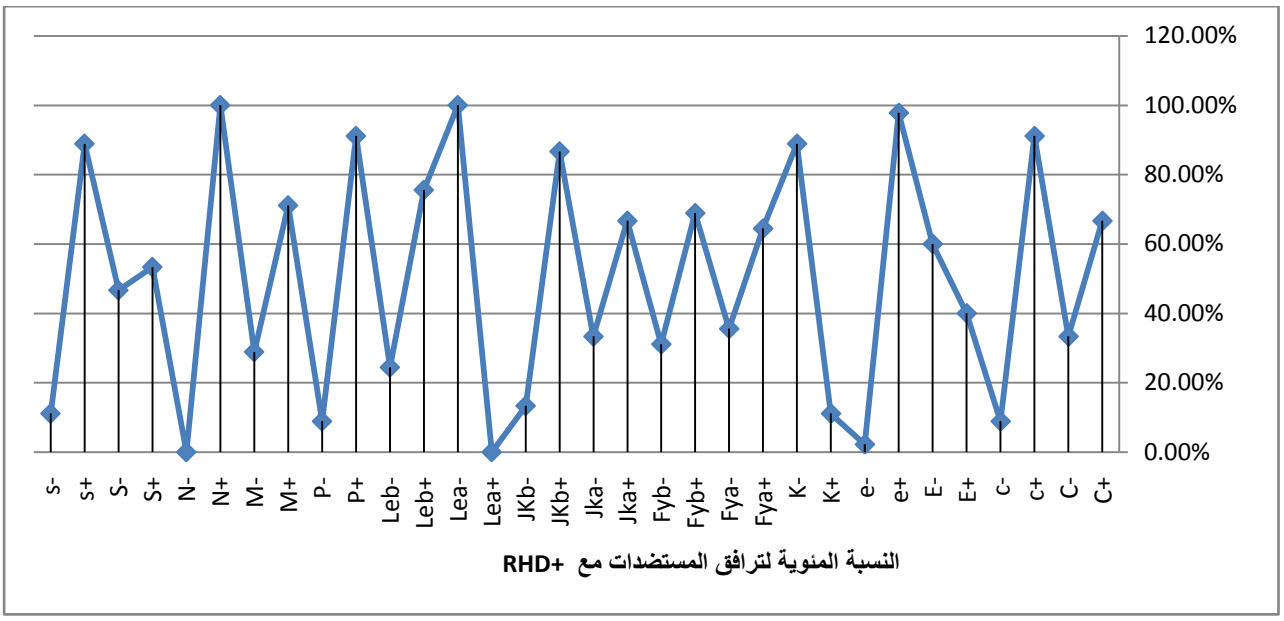
s	S	N	M	P	Leb	Lea	JKb	Jka	Fyb	Fya	K	e	E	c	C	D	الرقم
–	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	–	+	+	+	–	+	1
+	–	+	+	+	+	–	+	–	–	+	–	+	–	+	+	+	2
+	–	+	–	+	+	–	+	–	+	–	–	+	–	–	+	+	3
+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	+	+	+	4
+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	5
+	–	+	–	+	–	–	+	+	–	+	–	+	–	–	+	+	6
+	–	+	+	+	+	–	+	–	+	–	–	+	–	+	–	+	7
+	–	+	+	+	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	8
+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	–	–	+	–	+	+	+	9
+	–	+	–	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	10
+	–	+	+	+	+	–	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	11
+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+	+	12
+	+	+	–	+	+	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+	+	13
–	+	+	+	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	+	–	+	14
+	+	+	+	–	+	–	+	+	–	+	–	+	+	+	–	+	15
+	–	+	–	+	–	–	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+	16
+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+	–	+	17
+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	18
+	–	+	+	+	–	–	+	+	–	+	–	+	+	+	–	+	19
+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	20
+	–	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	21
+	+	+	–	+	–	–	–	+	+	+	–	+	+	+	–	+	22
–	+	+	+	+	+	–	+	+	–	+	–	–	+	+	–	+	23
+	–	+	–	+	+	–	+	–	+	+	–	+	–	+	+	+	24

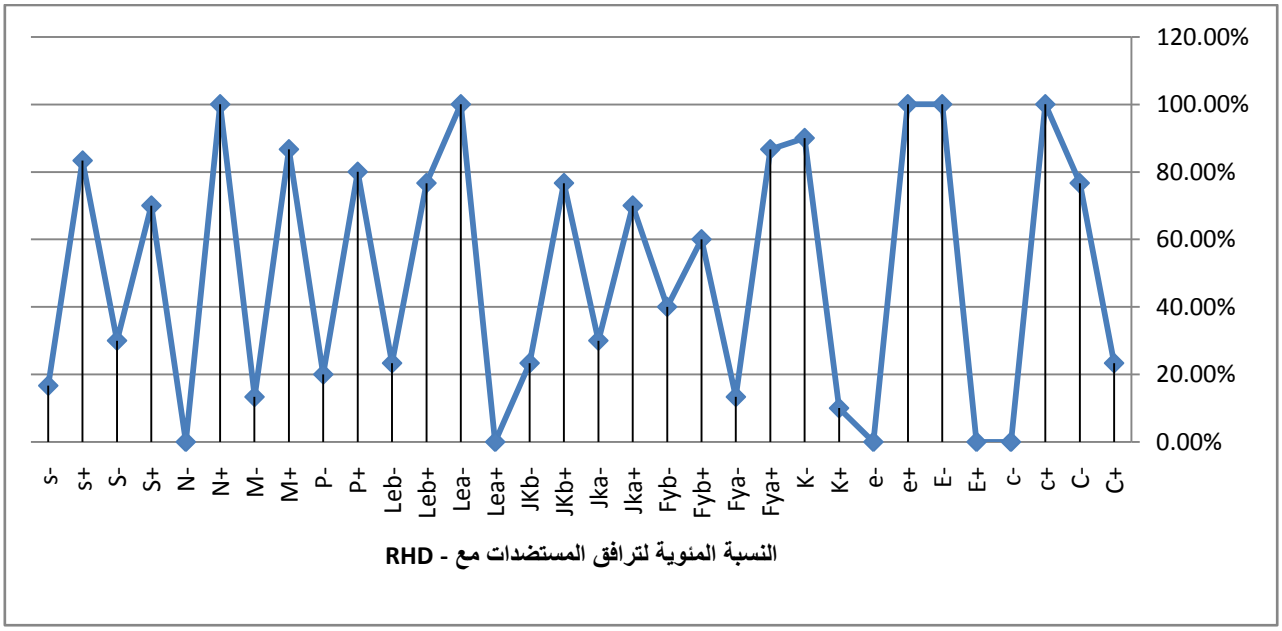
s	S	N	M	P1	Leb	Lea	JKb	Jka	Fyb	Fya	K	e	E	c	C	D	الرقم
+	-	+	+	+	+	-	+	+	–	+	-	+	-	+	+	+	25
+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	26
+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	27
+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	28
+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	29
+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	30
+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	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

نتائج احصائيات توزع المستضدات مع كل من +RHD و -RHD من نتائج التنميط

RHD-		RHD+	
23.33%	**C+**	66.66%	**C+**
76.66%	**C-**	33.33%	**C-**
100.00%	**c+**	91.11%	**c+**
0.00%	**c-**	8.88%	**c-**
0%	**E+**	40%	**E+**
100%	**E-**	60%	**E-**
100.00%	**e+**	97.77%	**e+**
0.00%	**e-**	2.22%	**e-**
10.00%	**K+**	11.11%	**K+**
90.00%	**K-**	88.88%	**K-**
86.66%	**Fya+**	64.44%	**Fya+**
13.33%	**Fya-**	35.55%	**Fya-**
60.00%	**Fyb+**	68.88%	**Fyb+**
40.00%	**Fyb-**	31.11%	**Fyb-**
70.00%	**Jka+**	66.66%	**Jka+**
30.00%	**Jka-**	33.33%	**Jka-**
76.66%	**JKb+**	86.66%	**JKb+**
23.33%	**JKb-**	13.33%	**JKb-**
0%	**Lea+**	0%	**Lea+**
100%	**Lea-**	100%	**Lea-**
76.66%	**Leb+**	75.55%	**Leb+**
23.33%	**Leb-**	24.44%	**Leb-**
80.00%	**P+**	91.11%	**P+**
20.00%	**P-**	8.88%	**P-**
86.66%	**M+**	71.11%	**M+**
13.33%	**M-**	28.88%	**M-**
100%	**N+**	100%	**N+**
0%	**N-**	0%	**N-**
70.00%	**S+**	53.33%	**S+**
30.00%	**S-**	46.66%	**S-**
83.33%	**s+**	88.88%	**s+**
16.66%	**s-**	11.11%	**s-**


120.00%
100.00%
80.00%
60.00%
40.00%
20.00%
0.00%
s- s+ S- S+ N- N+ M- M+ P- P+ Leb- Leb+ Lea- Lea+ JKb- JKb+ Jka- Jka+ Fyb- Fyb+ Fya- Fya+ K- K+ e- e+ E- E+ c- c+ C- C+
النسبة المئوية لترافق المستضدات مع +RHD


120.00%
100.00%
80.00%
60.00%
40.00%
20.00%
0.00%
s- s+ S- S+ N- N+ M- M+ P- P+ Leb- Leb+ Lea- Lea+ JKb- JKb+ Jka- Jka+ Fyb- Fyb+ Fya- Fya+ K- K+ e- e+ E- E+ c- c+ C- C+
النسبة المئوية لترافق المستضدات مع - RHD

النموذج (1) :

❖ مجموعة الكشف 1

			RH			Kell	Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS		
الرقم	D	C	E	c	e	K	Fya	Fyb	Jka	JKb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s
I	+	+	−	−	+	−	−	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+
II	+	−	+	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
III	−	−	−	+	+	−	−	+	−	+	−	+	−	−	+	+	+
IV	−	−	−	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	−

❖ مجموعة تحديد النوع 1

			RH			Kell	Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS		
الرقم	D	C	E	c	e	K	Fya	Fyb	Jka	JKb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s
1	+	+	−	−	+	−	−	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+
2	+	−	+	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
3	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+	−	+
4	+	+	−	+	+	−	−	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+
5	+	+	−	+	+	−	−	+	−	+	−	+	+	+	+	+	+
6	−	−	−	+	+	−	−	+	−	+	−	+	−	−	+	+	+
7	−	−	−	+	+	−	−	+	+	+	−	+	+	−	+	+	+
8	−	−	−	+	+	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
9	−	−	−	+	+	−	−	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+
10	−	−	−	+	+	−	+	+	−	+	−	+	−	+	+	+	+
11	−	−	−	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	−

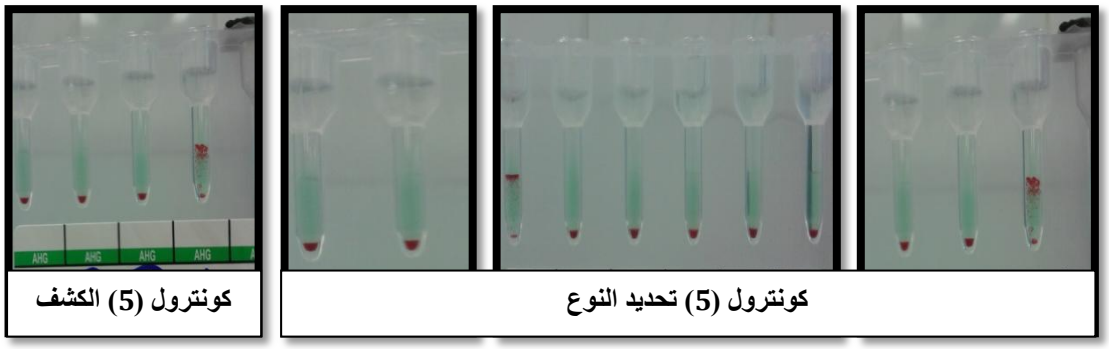
- **تجريب البانيل بكشف الأضداد المختلفة باستخدام مصول ضدية معماة غير معلومة لمن يجري الاختبار بعضها مؤلف من ضد واحد و الأخرى مؤلفة من مزيج من أكثر من ضد و كانت النتائج كما يلي :**

		تحديد النوع											الكشف				
التوافق	تفسير	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	IV	III	II	I	الكونترول
توافق	Anti-D	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	1
توافق	Anti-C	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	2
توافق	Anti-E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	3
توافق	Anti-c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	4
توافق	Anti-K	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	5
توافق	Anti-JKb	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	6
توافق	Anti-Fya	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	7
غير متوافق	D+C	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	8
توافق	D+Fya	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	9
غير متوافق	JKb+K	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
توافق	D+C+K	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	11
توافق	D+JKa	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	12

☒ **لم يستطع النموذج(1) المحضر تمييز**(D+C) بسبب عدم وجود C إيجابي مع D سلبي.

☒ **لم يستطع النموذج(1) المحضر تمييز**(JKb+K) بسبب عدم وجود JKb سلبي مع K سلبي.

و هنا بعض صور النتائج :



كونترول (5) الكشف | كونترول (5) تحديد النوع

anti - K

كونترول (9) الكشف | كونترول (9) تحديد النوع

Anti - (D+Fya)

- تم العمل على تحضير نموذج ثاني وذلك لسد الثغرات الموجودة في النموذج الأول حيث قمنا بالبحث عن عينات جديدة من الزمرة O ذات تنميطات جديدة لترميم النقص في النموذج الأول وتم سحب العينات الجديدةعلى **EDTA** بالإضافة للعينات الموافقة الموجودة في النموذج الأول و حفظها بالمحلول الحافظ .

النموذج (2) :

❖ **مجموعة الكشف 2**

			RH			Kell	Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS		
الرقم	D	C	E	c	e	K	Fya	Fyb	Jka	JKb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s
I	+	+	–	–	+	–	–	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+
II	+	–	+	+	–	–	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	–
III	–	–	–	+	+	–	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+	+
IV	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–

❖ **مجموعة تحديد النوع 2**

			RH			Kell	Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS		
الرقم	D	C	E	c	e	K	Fya	Fyb	Jka	JKb	Lea	Leb	P1	M	N	S	S
1	+	+	–	–	+	–	–	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+
2	+	–	+	+	–	–	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	–
3	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	–	+	–	+
4	+	+	–	+	+	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+
5	+	+	–	+	+	–	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+
6	–	+	–	+	+	–	+	–	+	+	–	+	+	+	+	–	+
7	–	–	–	+	+	–	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+	+
8	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–
9	–	+	–	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	–	+	–	+
10	–	–	–	+	+	–	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+	+
11	–	–	–	+	+	–	–	+	+	+	–	+	+	+	+	–	+

تجريب النموذج 2 المحضر

- تمت تجربته في :

1. كشف الأضداد الموجودة في أكثر من مزيج والتي تم تحضيرها و تجربة النموذج 1 عليها.
2. كشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية في 25 عينة لحوامل أخذت من رسالة أخرى .
3. كشف الأضداد اللانظامية ل 53 حامل سلبيات RH في مشفى التوليد الجامعي وذلك لمدة شهرين .
4. كشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية و ذلك ل 100 عينة من مرضى القلاسيميا .

- **نتائج تجربته بما يلي :**

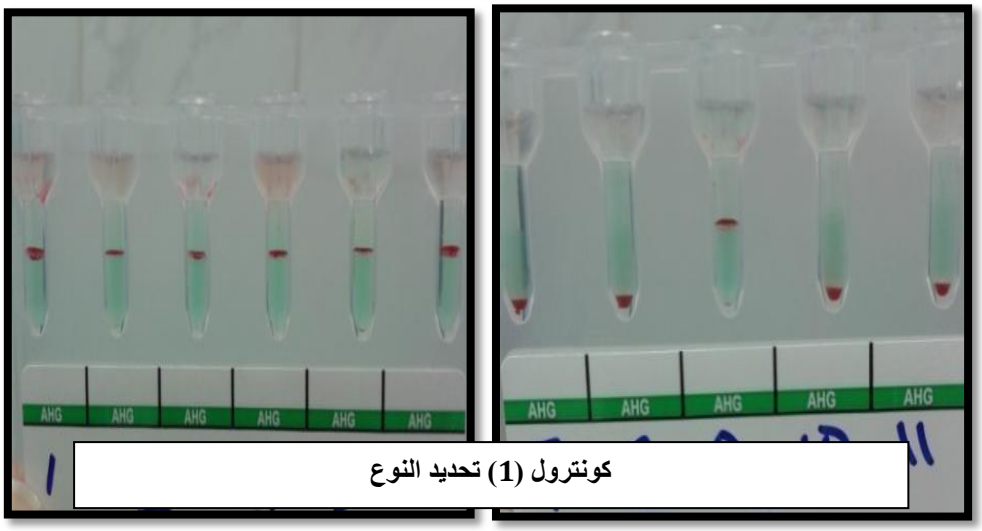
1. **استخدامه في كشف الأضداد الموجودة في أكثر من مزيج والتي تم تحضيرها و تجربة البانيل 1 عليها و كانت النتائج كالآتي :**

		تحديد النوع											الكشف				
	تفسير	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	IV	III	II	I	الكونترول
توافق	D+C	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	1
	D+Fya	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	JKb+K	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	3
	D+C+ K	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	4
	D+Jka	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	5
	Fyb+K	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6

استطاع النموذج رقم 2 تمييز مزيج الأضداد بشكل تام

- **بعض صور النتائج :**

كونترول (1) الكشف



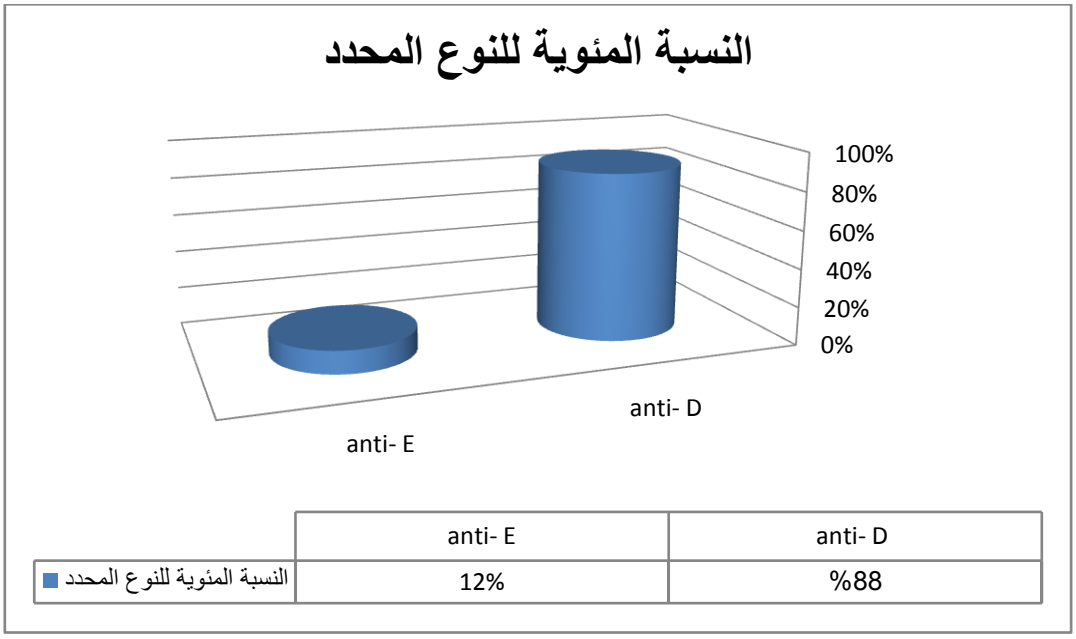
كونترول (1) تحديد النوع

ANTI-D+C

2. استخدامه في كشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية ل 25 عينة من رسالة أخرى

- هذه العينات هي من حوامل سلبيات RHD- أنجبن أطفالا" إيجابيي ال RHD+ وأجري لهن كشف أضداد لا نظامية بالروتين المخبري العادي باستخدام كريات (O+ و O-) وكان إيجابيا" دون القدرة على تحديد النوع و كانت نتائجنا كما يلي:

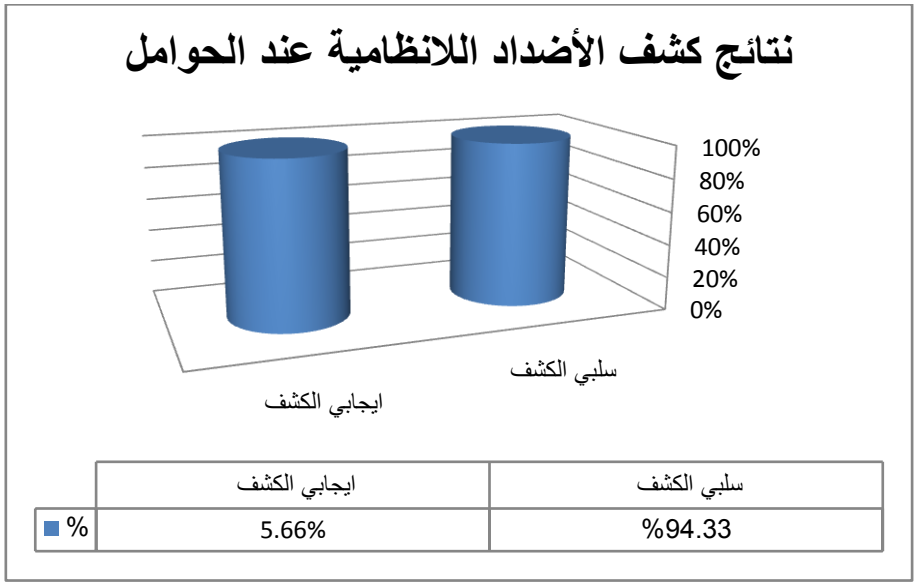
عدد العينات	الكشف	تحديد النوع
25 عينة	إيجابي	**22** عينة anti-D **3** عينات anti-E

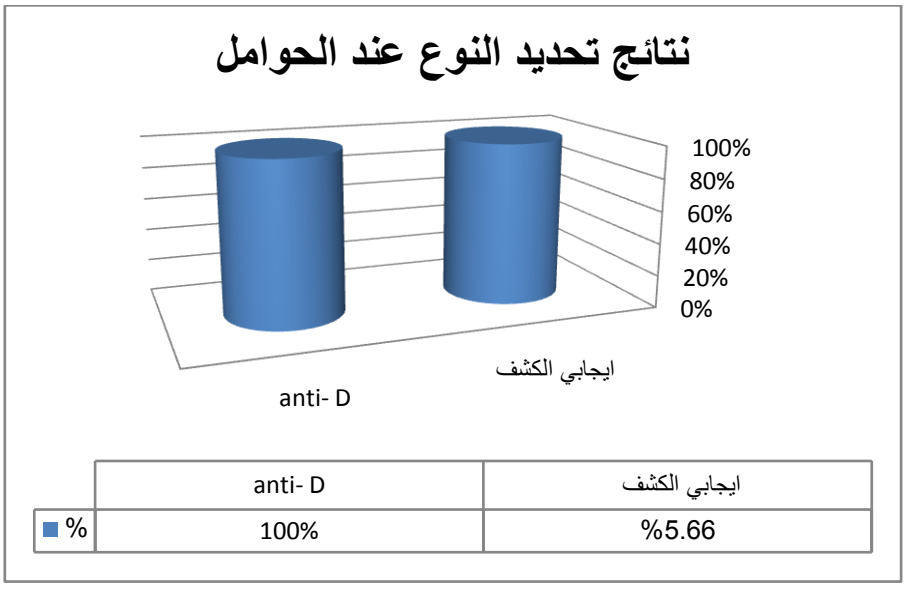


لقد استطاع البانيل كشف الأضداد اللانظامية بتراكيز مختلفة تتراوح بين 64/1 و 1024/1.

3. استخدام البانيل في كشف الأضداد اللانظامية ل 53 عينة (حوامل سلبيات RH في مشفى التوليد الجامعي) وذلك خلال مدة شهرين (3- 4 / 2016) و كانت النتائج كما يلي:

عدد العينات	كشف الأضداد	تحديد النوع
50 عينة	**سلبي**	**/**
3 عينات	**ايجابي**	**Anti – D**



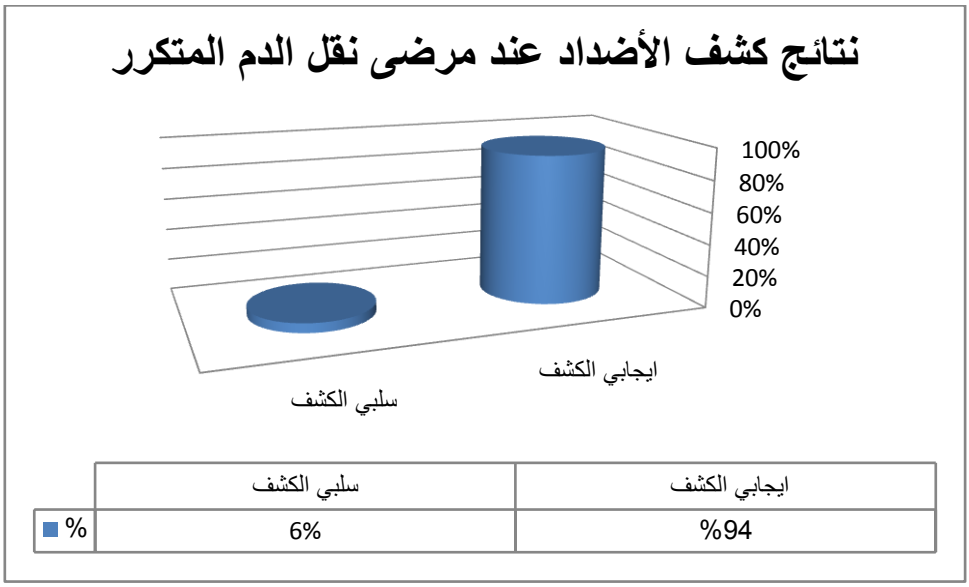


4. استخدامه في كشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية في عينات مرضى التلاسيميا والتي تم جمعها من مركز التالاسيميا

- الحصول على 100 عينة من مركز التلاسيميا لمرضى تلاسيميا يقومون بنقل دم متكرر و كانت النتائج كما يلي :

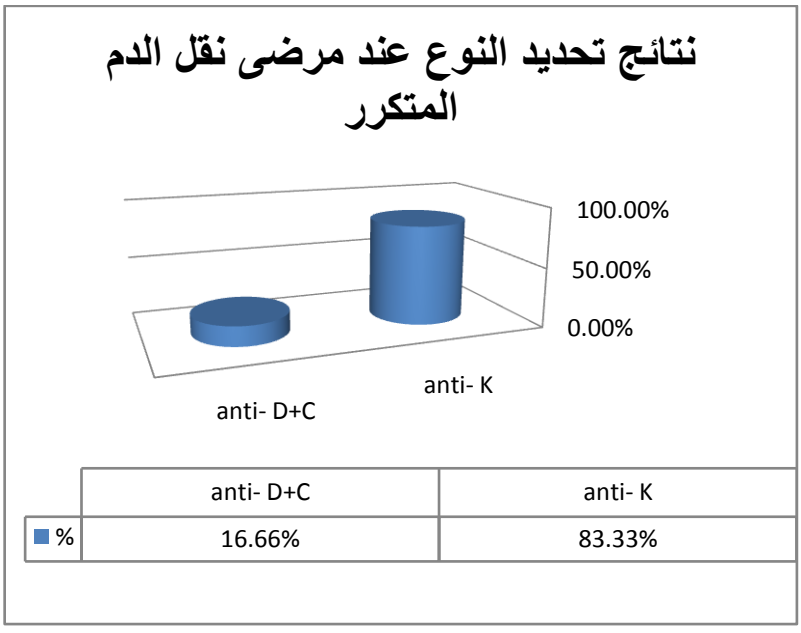
- بإجراء الكشف كانت نسبة العينات إيجابية الكشف هي 6%

عدد العينات	العينات السلبية	العينات الإيجابية
100 عينة	% 94	% 6



- عند تحديد النوع للعينات إيجابية الكشف كانت النتائج كما يلي :

العينات الإيجابية	تحديد النوع
5 عينات	Anti – K
1 عينة	Anti - D+C

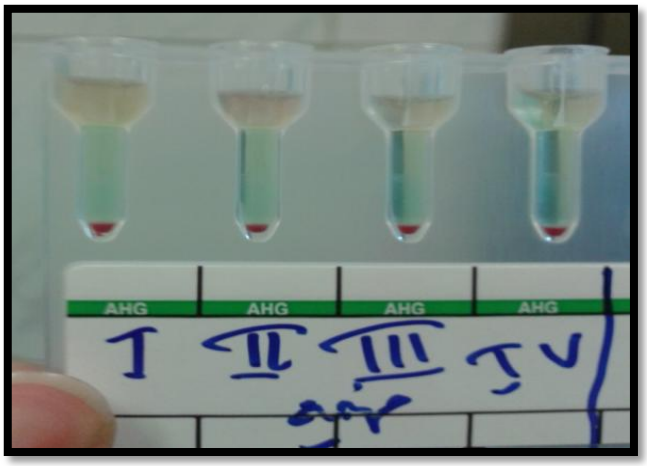


- للتأكد من نوع الضد الذي توصلنا إليه قمنا بإجراء تنميط المستضد الموافق للضد الناتج في العينة الإيجابية :

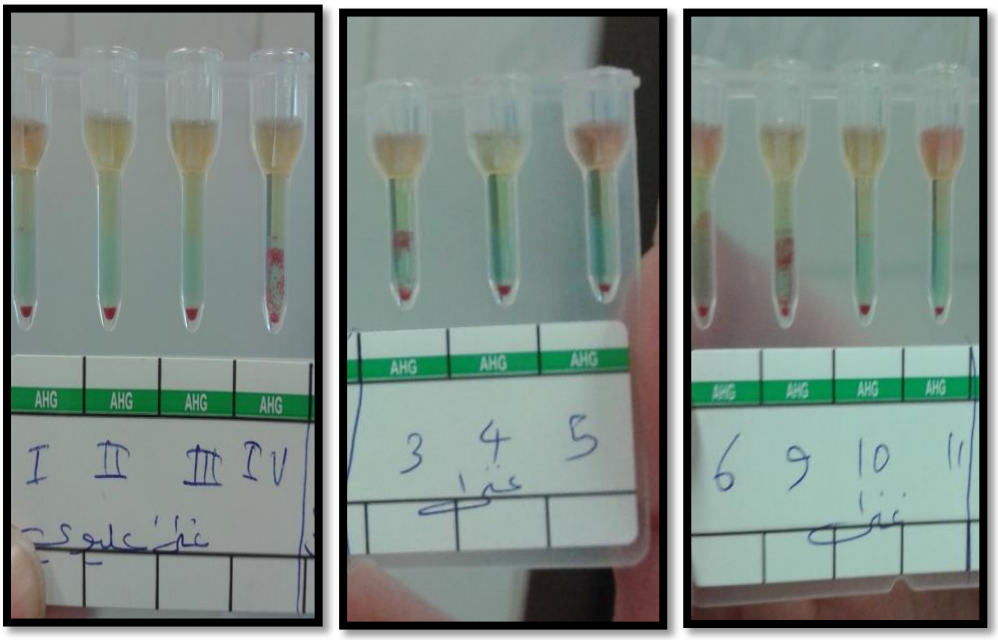
تحديد النوع	إجراء التنميط	التوافق
Anti – K	**(K) - Neg**	**نتيجة متوافقة**
Anti - D+C	**(D+C) - Neg**	**نتيجة متوافقة**

صور بعض نتائج عينات نقل الدم المتكرر :

- **بعض العينات السلبية و الايجابية :**



Neg



Pos/anti-K

❖ **مناقشة النتائج :**

- أهمية إجراء اختبار كشف الأضداد اللانظامية و تحديد نوعها عند الحوامل و مرضى نقل الدم المتكرر حيث نجد من خلال نتائجنا و على الرغم من العمل لفترة قصيرة حالات إيجابية عديدة حيث كانت نسبة الإيجابية ل 53 عينة حوامل هي 5,6% و كانت anti-D بنسبة 100% و من 25 عينة إيجابية الكشف كانت نسبة anti-D 88% و نسبة anti-E 12% أما بالنسبة لل 100 عينة من مرضى نقل دم المتكرر كانت نسبة الإيجابية هي 6% و بتحديد النوع كانت anti-K بنسبة 83,3% و نسبة anti-D+C 16,6% .
- ونظرا" لاستحالة تأمين الكواشف التجارية منذ 5 سنوات بسبب الظروف الحالية ، تأتي أهمية دراستنا في إمكانية تأمين بديل محلي و غير مكلف لهذه الكواشف ذات الأهمية لإجراء اختبار كشف و تحديد نوع الأضداد اللانظامية الضروري لسلامة نقل الدم و التوليد.
- وفي حال افترضنا إمكانية تأمين هذه الكواشف من الخارج فهي ذات كلفة باهظة مع مدة صلاحية قصيرة متبقية وذلك بسبب الوقت الذي تأخذه لحين وصولها ، و هنا نجد أن دراستنا تلافت هذا الموضوع من خلال الكلفة المادية الأقل والتي نحتاجها فقط لتنميط المتبرعين وذلك لمرة واحدة في البداية للوصول للمتبرعين الثابتين الذين نستطيع تحضير المجموعات منهم بشكل دوري ، بالإضافة إلى مدة الصلاحية الأطول بسبب التحضير المحلي لها ، و هذا ما يؤمن مصدر ثابت لهذه الكواشف أقل تكلفة.
- من خلال نتائجنا نجد أننا نستطيع و من 75 متبرع فقط أن نحضر أكثر من نموذج لمجموعة الكشف و تحديد النوع و بالكمية التي نريدها نظرا" لوجود المصدر لدينا (المتبرعين) بعكس الكواشف التجارية ذات الكمية المحدودة (4 مل لمجموعة الكشف و 1 مل لمجموعة تحديد النوع) مع تاريخ صلاحية متبقي قصير.

❖ الدراسات المقارنة Comparative studies:

- إن دراستنا هي الأولى من نوعها في سوريا و البلدان العربية فلا توجد دراسات محلية أو عربية للمقارنة معها ، هناك دراسة وحيدة أجنبية تمت مقارنة نتائج دراستنا معها.

- الدراسة هي [Salamat.N] :

Indigenous development of antibody screening cell panels at Armed Forces Institute of Transfusion (AFIT) , Rawalpindi, Pakistan

- أجريت هذه الدراسة في معهد القوات المسلحة لنقل الدم(AFIT) في الباكستان عام 2005 من قبل الباحثون Salamat.N,Bhatti.F.A,Yaqub.M,Hafeez.M,Hussain.A ، تم فيها تحضير مجموعة كشف الأضداد اللانظامية المؤلفة من ثلاث كواشف فقط بدون مجموعة تحديد النوع.

- **و كانت نتائج هذه الدراسة :**
- تم تحضير مجموعة الكشف فقط ، و كانت مدة صلاحية هذه الكواشف 35 يوم دون وجود انحلال بالإضافة إلى نتائج متوافقة بتمرير الكونترولات لمعرفة مدى الصلاحية .

- **و كانت نتائج دراستنا :**
- حيث قمنا بتحضير مجموعة الكشف المؤلفة من 4 كواشف و مجموعة تحديد النوع المؤلفة من 11 كاشف ، حيث تم تحضيرها وفقا لمعايير BCSH Blood Transfusion Task Force ، و كانت مدة صلاحية كواشفنا 53 يوم مع نتائج متوافقة بإمرار الكونترولات اليومية طول فترة 53 يوم .

❖ **التوصيات و المقترحات :**

- التأكيد على الأهمية الكبيرة لاختبار كشف الأضداد اللانظامية و تحديد نوعها عند الحوامل و مرضى نقل الدم المتكرر و مدى ضرورة تطبيقه للوقاية من الاختلاطات الخطيرة الناجمة عن هذه الأضداد .
- تفتح مثل هذه الدراسة بابا" في مجال الاستثمار حيث يمكن الاستفادة منها في مجال التصنيع المحلي لإيجاد بديل وطني يحل محل الكواشف الأجنبية.
- توفر المادة الأولية وهي المتبرعين الثابتين للحصول على عينات الدم منهم بشكل دوري يساهم في التحضير المستمر و الدوري لهذه الكواشف
- العمل على نطاق أوسع سواء على مستوى المشفى أو شركات استثمارية بحيث يتم التعامل مع المتبرعين الثابتين بشكل منظم و تشجيعي من أجل المحافظة على وجودهم و تلبيتهم الدعوة لسحب الدم بشكل دوري لتأمين مصدر ثابت لهذه الكواشف .
- تأطير هذا الجهد المبذول و العمل على جعله مشروع محلي تتم الاستفادة منه في مجال الاكتفاء الذاتي من جهة و كعمل تسويقي محلي من جهة أخرى .
- وقد وجدنا أننا و بالرغم من كل الظروف قادرون على التحضير المحلي لمثل هذه المواد ، و ذلك بفهم صحيح لتركيبتها و آلية عملها بالإضافة إلى التعاون المنسق و الممنهج للوصول إلى النتائج الأفضل.

References:

1. **Ali.T, Frequencyof ABO Blood Groups and Other Blood Systems in Syria ,Damascus(Syria),**2008.
2. **Arraut, A. and Tran, S. J.Erythrocyte Alloimmunization and Pregnancy. 273995.,2012.**
3. **Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. Blood 2000; 95:87-375.**
4. **Bedossa A. Système ABO et associes. Immun-Hématologie et groupes sanguins .Cahier de Formation en Biologie Médicale N26. Bioforma (France) ; 2002:34-41.**
5. **Brecher ME. Technical Manual (15th ed.). Bethesda MD: American Association of Blood Banks. ISBN 1.,2005-56395-196-7.322-323.**
6. **Camara-Clayette, V., Rahuel, C., Lopez, C., Hattab, C., Verkarre, V., Bertrand, O., Cartron, J.-P.Transcriptional regulation of the KEL gene and Kell protein expression in erythroid and non-erythroid cells.Biochem. J. 356: 171-180, 2001.**
7. **Casina TS. In search of the Holy Grail: comparison of antibody screening methods. Immunohematology. 2006;22:196–202.**
8. **Chapman.J.F,.Forman.K,.Kelsey.P.Knowles.S.M.Murphy.et alGuidelines for pre-transfusion Compatibility procedures in blood transfusion laboratories. J.transfusion Medicin.,1996,6:273-283.**
9. **Chernecky CC, Berger BJ .Laboratory Tests and Diagnostic Procedures, 6th ed. St. Louis: Saunders,.2013.**
10. **Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. Br J Exp Pathol 1945;26:255.**
11. **Daniels G, Bromilow I. An introduction to blood groups. Essential guide to blood groups. Blackwell Publishing Ltd(UK);2007:1-6.**
12. **Daniels G. Human Blood Groups. 2nd Ed. Oxford: Blackwell Science, 2002.**
13. **Dean L.Blood Groups and Red Cell Antigens. National Center for Biotechnology Information (US); 2005:27-34.**
14. **Eva_D._QuinleyImmunohematology__Principles_and_Practice_(3rd_Edition)-Lippincott_Williams_&_Wilkins(2010), 3:75-82.**
15. **F. Rosen and R. Geha, Case Studies in Immunology, 4th ed., Garland Science, p.173.**
16. **Garratty G. Screening for RBC antibodies—what should we expect from antibody detection RBCs. Immunohematology.2002;18:71–77.**

17. **Hackney DN, Knudtson EJ, Rossi KQ, Krugh D, O'Shaughnessy RW. Management of pregnanciescomplicated by anti-c isoimmunization. Obstet Gynecol 2004; 103:24-30.**

18. **Joy SD, Rossi KQ, Krugh D, O'Shaughnessy RW. Management of pregnancies complicated by anti-Ealloimmunization. Obstet Gynecol 2005; 105:8-24.**

19. **"Table of blood group systems v4.0" (PDF). International Society of Blood Transfusion. April 9, 2015:155-157.**

20. **Karl Landsteiner | Jewish Virtual Library.**

21. **Klein HG, Anstee DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. 11th Ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2005 .**

22. **Lee, S., Wu, X., Reid, M. E., Zelinski, T., Redman, C. M.Molecular basis of the Kell (K1) phenotype.Blood 85: 912-916, 1995.**

23. **Levinson, Warren (2004). Medical microbiology & immunology: examination & board review. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill.**

24. **M.S. Jaff. ABO and rhesus blood group distribution in Kurds. J. of Blood Medicine 2010.**

25. **Mais DD. ASCP Quick Compendium of Clinical Pathology, 2nd Ed. Chicago: ASCP Press, 2009.**

26. **Milkins C, Berryman J, Cantwell C, Elliott C, Haggas R, Jones J, Rowley M, Williams M,Win N (2012). Guidelines for Pre-Transfusion Compatibility Procedures in Blood Transfusion Laboratoires. British Committee for Standards in Hématologiej. Transfusion Medicine 2013, 23: 3–35.**

27. **Natural Versus Regular Antibodies J. The Protein Journal Publisher Springer Netherlands ISSN January 07, 2005.**

28. **Oren, E. and Sepulveda, J. Alloimmunization From Transfusions. 134958.,2012.**

29. **Poole J, Daniels G. Blood Group Antibodies and Their Significance in Transfusion Medicine. Transfus Med Rev 2007; 21: 58-71**

30. **Reid ME and Lomas-Francis C. The Blood Group Antigen Facts Book. Second ed. 2004, New York:Elsevier Academic Press.**

31. **Roback JD et al. AABB Technical Manual, 16th Ed. Bethesda: AABB Press, 2008.**

32. **Salamat.N,Bhatti.F.A,Yaqub.M,Hafeez.M,Hussain.A.,Indigenous Development of antibodys screening cell panels at Armed Forces institute of transfusion.rawalpindi, Pakistan. J Pak Med Assoc., 2005 Oct;55(10):43-439.**

33. **Sandler, S G. Transfusion Reactions. Medscape Reference. Available online 206885.,2015,3:150-160.**

34. **Urbaniak SJ, Greiss MA. RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn. Blood Rev 2000;14:44-61.**

35. **Vaughan JI, Manning M, Warwick RM, Letsky EA, Murray NA, Roberts IA. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-Kell antibodies in fetal alloimmune anemia. N Engl J Med 1998; 338:798-803.**

36. Weiner, Alexander S. (1 February 1949). "Genetics and Nomenclature of the Rh–Hr Blood Types". Antonie van Leeuwenhoek (Netherlands: Springerlink) 15 (1): 17–28. doi:10.1007/BF02062626. ISSN 0003-6072. Retrieved 6 November 2010.

37. Wintrobe's Clinical Hematology. 12th ed. Greer J, Foerster J, Rodgers G, Paraskevas F, Glader B, Arber D, Means R, eds. Philadelphia, PA: Lippincott.