Preparation of a preservative for the preservation of red blood cells and their antigens

Dr. Suzan Alshemali*
Dr. Rama Ibrahim**
Amara Moussa***

(Received 23 / 11 / 2022. Accepted 1 / 2 / 2023)

□ ABSTRACT □

Blood transfusion is the most common treatment for anemia in thalassemia, sickle cell anemia and oncology patients, but it has many immunological and non-immunological complications. Alloimmunization is one of the most important immunological complications, as it causes a Hemolytic Transfusion Reaction (HTR) and Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn (HDFN). It also increases the difficulty in securing adequate blood. It is prevented by alloantibodies screening before each blood transfusion. In this study, we aimed to prepare a preservative "in house" that maintain red blood cells(RBCs) and their antigens to be the basis for designing the local panels for future implementation in antibodies screening and identification instead of importing at very high costs.

Venous blood samples were collected from 10 different donors, their red cells carry the following antigens: D, E, e, C, c, K and Fy^a to test the ability of the prepared preservative at Tishreen Hospital. PH testing, bacterial culture, erythrocyte lysis and effectiveness of the erythrocyte antigens prepared in preservative were also performed. PH of RBCs dilution within the preservative was suitable for appropriate PH for the activity of RBC antigens and bacterial culture was negative for all dilution. No significant lysis of RBCs was demonstrated and RBCs antigens were effective during the entire study period. According to our results, we can consider this study as a starting point for larger studies with more antigens, so that we can save all important RBCs antigens, and then we can prepare panel in house.

Key words: Preservative, Antibodies, Antigens, Blood transfusion, Indirect coombs.

***Assistant Professor, Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Tishreen University, Latakia-Syria. Suzanne.alshimali@tishreen.edu.sy**
**** Assistant Professor, Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Latakia-Syria. ramaibrahim@tishreen.edu.sy**
***** Postgraduate Student, Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Latakia-Syria. amara.moussa@tishreen.edu.sy**

تحضير مادة حافظة لحفظ كريات الدم الحمراء ومستضداتها

د. سوزان الشمالي [*]

د. راما ابراهيم [**]

اماره موسى [***]

(تاريخ الإيداع 23 / 11 / 2022. قُبِل للنشر في 1 / 2 / 2023)

☐ ملخّص ☐

يعتبر نقل الدم العلاج الأكثر شيوعاً لفقر الدم عند مرضى الأورام، مرضى التلاسيميا وفقر الدم المنجلي، إلا أنه لا يخلو من العديد من المضاعفات غير المناعية والمناعية. يعد التمنيع الخيفي أحد أهم المضاعفات المناعية لما يسببه من الارتكاس الانحلالي التالي لنقل الدم والداء الانحلالي عند الوليد/الجنين، كما أنه يزيد من صعوبة تأمين دم مناسب للمرضى. تتم الوقاية منه عبر اختبار مسح الأضداد المناعية الخيفية قبل كل نقل دم. يعتمد اختبار مسح الأضداد على توفر كريات كاشفة منمطة معروفة المستضدات الظاهرية المهمة سريرياً. تعتمد أغلب مصارف الدم في الدول المتقدمة طبياً على كريات حمراء كاشفة محضرة تجارياً وذات مدة صلاحية shelf life تتراوح بين 4-8 أسابيع. نهدف في هذه الدراسة إلى تحضير مادة حافظة محلية "In house" تحافظ على كريات الدم الحمراء وما عليها من مستضدات لتكون الحجر الأساس في تصميم كريات حمراء كاشفة محلية لتستخدم في كشف الأضداد الخيفية وتحديد هويتها دون اللجوء الى استيرادها من الخارج بأسعار مكلفة للغاية.

تم جمع عينات دم وريدي من 10 متبرعين مختلفين، تحمل كرياتهم الحمر المستضدات D, E, e, C, c, K, Fy^{a}، من أجل اختبار قدرة المادة الحافظة المحضرة بتراكيز مختلفة، وذلك في مشفى تشرين الجامعي، كما تم إجراء اختبار درجة الحموضة، الزرع الجرثومي، انحلال الكريات الحمراء واختبار فعالية مستضدات الكريات الحمراء المحضرة فيها. كانت درجة حموضة تمديدات الكريات الحمراء ضمن المادة الحافظة موافقة لدرجة الحموضة المناسبة لفعالية مستضدات الكريات الحمراء، كما كان الزرع الجرثومي سلبي لكل التمديدات. لم يظهر أي انحلال مهم في الكريات الحمراء، كما كانت مستضدات الكريات الحمراء فعالة خلال فترة الدراسة كاملة. وفقاً للنتائج التي توصلنا إليها يمكننا اعتبار هذه الدراسة نقطة بدء لدراسات أكبر وبوجود مستضدات أكثر لنتمكن من حفظ جميع مستضدات الكريات الحمراء المهمة وعند ذلك نستطيع تحضير الكريات الكاشفة المحلية.

الكلمات المفتاحية: مادة حافظة، نقل الدم، الأضداد، المستضدات، كومس اللامباشر

[*] مدرّسة-قسم الطب المخبري-كلية الطب البشري-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية Suzanne.alshimali@tishreen.edu.sy

[**] مدرّسة-قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة-كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية ramaibrahim@tishreen.edu.sy

[***] طالبة ماجستير-قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة-كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية amara.moussa@tishreen.edu.sy

مقدمة:

يعرف حالياً 346 مستضد على سطح الكريات الحمراء، تصنف هذه المستضدات ضمن 36 نظام دموي، ويشكل 9 منها ما يسمى بأنظمة الزمر الدموية الرئيسة كما يوضح الجدول (1). ترتبط بهذه المستضدات أغلب المضاعفات المناعية تجاه مستضدات الكريات الحمراء، وأهمها الارتكاس الانحلالي التالي لنقل الدم Hemolytic Transfusion Reaction (HTR) والداء الانحلالي عند الوليد/الجنين Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn (HDFN) [1].

الجدول (1): أنظمة الزمر الدموية

أنظمة الزمر الدموية	المستضدات
ABO	A_1, A_2, B, H
Rh	D, C, c, E, e
Kell	K, k
Kidd	Jk^a, Jk^b
Duffy	Fy^a, Fy^b
P	P_1, P_2
MNS	M, N, S, s
Lewis	Le^a, Le^b
Lutheran	Lu^a, Lu^b

تنتج أضداد الزمر الدموية بسبب التمنيع بمستضد غريب والتفاعل معه بشكل نوعي. يعرف الضد المهم سريرياً بأنه الضد الذي يقصّر بُقيا الكريات الحمراء والقادر على إحداث الارتكاس الانحلالي التالي لنقل الدم والداء الانحلالي عند الوليد/الجنين [2]. يكون هذا الضد من النوع IgG عادة، دافئ أي يعمل في درجة حرارة 37°، ينشأ بعد نقل الدم أو الحمل أو بعد غرس الأعضاء لا يفعل المتممة عادة، غير راص ولا يعبر المشيمة، ويمكن كشفه بتفاعل كومس اللامباشر Indirect Coombs [3، 4].

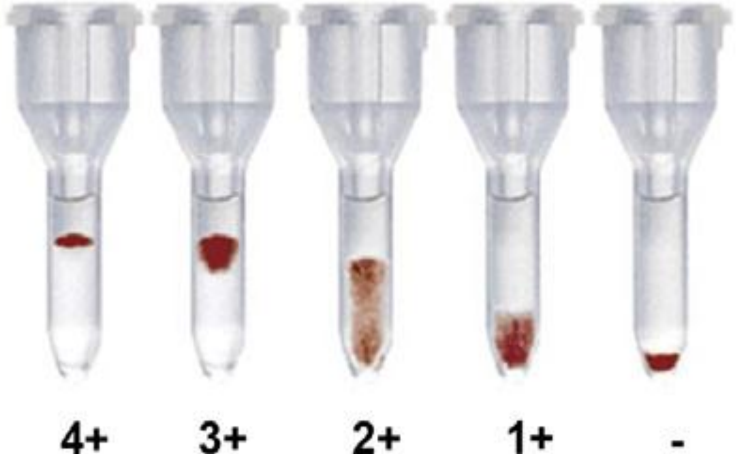
طور العالم روبن كومس اختبار ضد الغلوبلين البشري Anti Human Globulin Test (AHGT) (اختبار كومس) لكشف ارتباط أضداد IgG غير الراصة مع مستضداتها النوعية [5]، وذلك بإضافة مصل كومس وهو ضد الغلوبلين البشري anti human globulin serum (AHG) مما يؤدي الى ارتباط ضد الضد البشري مع الجزء Fc من أضداد IgG المرتبطة مع مستضداتها على سطح الكريات الحمراء دون رصها مسبباً إحداث شبكة تراص مرئية عيانياً.

يوجد تطبيقان لهذا الاختبار: اختبار ضد الغلوبلين المباشر Direct Antiglobulin Test (DAT) والذي يتألف من مرحلة واحدة، حيث يرتبط الضد مع المستضد في الحيوية In vivo ويتم كشف هذا الارتباط عن طريق إضافة مصل كومس إلى الكريات الحمراء، ويتم قراءة التراص أو عدمه بعد التثفيل عيانياً.

أما اختبار ضد الغلوبلين غير المباشر Indirect Antiglobulin Test (IAT) فيتألف من مرحلتين، ويختلف عن كومس المباشر بوجود مرحلة تحسيس، وهي ربط الضد مع مستضده النوعي في المختبر In vitro في المرحلة

الأولى، وذلك بحضن كريات حمراء معلومة المستضدات مع المصل للكشف عن وجود أضداد مجهولة فيه. في المرحلة الثانية يتم إضافة ضد الضد البشري AHG وقراءة نتيجة التراص عيانياً كما في الشكل (1). يتم تحديد درجة التفاعل من 0 إلى 4 وفقاً للمكان الذي حدث فيه تجمع الكريات الحمراء المرتصة كما يوضح الشكل (2). يستخدم اختبار كومس اللامباشر في: اختبار التصالب (Cross matching)، مسح الأضداد(Antibodies screening)، تحديد نوعية الأضداد (Antibodies Identification)، معايرة الأضداد (Antibodies titration) والتنميط الظاهري (Extended phenotype) [6، 7].

الشكل (1): التراص في اختبار كومس اللامباشر



الشكل (2): درجات نتائج اختبار كومس اللامباشر في الهلام

يحتاج مرضى التلاسيميا، فقر الدم المنجلي، مرضى الأورام وغيرهم لنقل دم متكرر [8−11]، وما يترتب على ذلك من مضاعفات مناعية وغير مناعية. يعتبر التمنيع الخيفي من أهم المضاعفات المناعية تجاه الكريات الحمراء القادمة مع وحدات الدم، حيث يُعَرَّف بأنه استجابة مناعية تحدث بتشكل أضداد من نوع IgG تجاه المستضدات الخيفية، وهي غالباً أضداد RH (D,C,c,E,e) وأضداد كيل وكيد ودوفي. يتظاهر التمنيع الخيفي بانخفاض الخضاب، تعب، حمى، يرقان وقد يؤدي الى الموت. إلا أن أكثر المشاكل شيوعاً للتمنيع الخيفي تكمن في صعوبة تأمين دم مناسب للمرضى، ازدياد خطورة تشكل أضداد خيفية إضافية وانحلال الكريات الحمراء الذاتية والخيفية [12, 13].

لا يعتمد النقل الآمن للكريات الحمراء على اختبار واحد فقط إنما على سلسلة من الاختبارات والإجراءات مثل اختيار المريض المناسب، تحديد الزمر الدموية، مسح الأضداد وأخيراً اختبار التصالب [14].

إن كشف الأضداد الخيفية وتحديد هويتها هي أحد أهم تطبيقات اختبار كومس غير المباشر. يتم كشف الأضداد عن طريق مفاعلة مصل/بلاسما المريض مع 3 مجموعات من كريات حمراء O كاشفة تحوي على سطحها كل المستضدات للتحري عن وجود الأضداد الخيفية alloantibodies غير المتوقعة (أي غير أضدادABO). أما تحديد هوية هذه الأضداد يتم عن طريق تفاعل مصل/بلاسما المريض إيجابي الأضداد الخيفية مع رعيل panel منمط بشكل موسع، يتألف من 9–11 مجموعة من كريات حمراء O كاشفة، منمطة، معروفة المستضدات و تكون محضرة تجارياً على الأغلب، حيث تعلق في أوساط حافظة وتكون مدة صلاحيتها shelf life 8-4 أسابيع.

مبررات الدراسة وأهميتها وهدفها:

إن مسح الأضداد المناعية غير المتوقعة هو مرحلة أساسية من اختبارات التوافق قبل نقل الكريات الحمراء، كما أنه يستخدم بشكل دوري خلال متابعة السيدة الحامل كفحص أساسي لتشخيص والوقاية من الداء الانحلالي عند الوليد. يتم مسح الأضداد عادة اعتماداً على اختبار كومس غير المباشر، الذي يتضمن استخدام كريات حمراء مأخوذة من متبرعين منمطين من ناحية مستضدات الحمراء الرئيسة، كما يمكن حفظها لعدة أسابيع. إن الكريات المحضرة تجارياً ذات كلفة عالية، كما أن استيرادها من الخارج مبرّدة يزيد من الكلفة الباهظة لها، إضافة إلى أن مدة صلاحيتها محدودة بفترة زمنية قصيرة، لذلك من الممكن أن تصل هذه الكواشف منتهية الصلاحية من الخارج خاصة في الظروف الحالية. لا يتم إجراء كشف الأضداد وتحديد هويتها في بنوك الدم في سورية بشكل روتيني قبل نقل الدم، ولا يتم أيضاً إجراء التنميط الظاهري لكريات المتبرعين والمرضى لتأمين دم مناسب للمريض وذلك بسبب التكلفة المرتفعة للرعيلين المستخدمين في كشف الأضداد وتحديد هويتها، إنما يكتفى بتحقيق توافق الزمرة ABO وRh-D واختبار التصالب الذي قد لا يفي بالغرض في بعض الأحيان بسبب نتيجته السلبية على الرغم من وجود الضد. لذلك كان لابد من التفكير في تصميم كريات حمراء كاشفة محلية انطلاقاً من كريات حمراء محلية منمطة، إلا أنه لابد أولاً من تحضير مادة حافظة تحفظ مستضدات هذه الكريات. قمنا بإجراء هذه الدراسة –الأولى من نوعها–بهدف تحضير المادة الحافظة الضرورية في حفظ مستضدات الكريات الحمراء والتي يمكن اعتمادها لتحضير كريات حمراء كاشفة محلية لكشف الأضداد وتحديد هويتها في دراسات لاحقة.

الدراسة العملية:

1– تحضير المادة الحافظة:

انطلاقاً من محلول الحفظ المحضر وفق كتيب منظمة الصحة العالمية [15]، تم تحضر مادة حافظة محلية لدراسة إمكانية استخدامها في حفظ الكريات الحمراء ومستضداتها السطحية لتكون الأساس في تحضر كريات حمراء كاشفة محلية تستخدم لكشف الأضداد الخيفية وتحديد هويتها. تم تحضير المادة الحافظة انطلاقاً من المكونات الواردة في الجدول (2).

الجدول (2): مكونات المادة الحافظة

المادة	الكمية
Tri Sodium Citrates	g0.8
Dextrose	g 1.86
Citric acid	g 0.299
Nacl	g0.42
Adenine	g0.0275
Penicillin V	g 0.04
Neomycin	g0.01
Gentamycine	g0.005
Water for injection	ml 100

2- العينات:

تم جمع عينات دم وريدي كامل على أنابيب تحوي مضاد تخثر EDTA من 10 متبرعين مختلفين بعد أخذ موافقتهم المستنيرة، ثم تم تنميط مستضدات كرياتهم الحمراء A, B, AB, D, C, c, E, e, K, Fy^a باستخدام مصول ضدية (Sensa Core, lot. NO. 1130021, India) موافقة للمستضدات A, B, AB, D, C, c, E, e، أما لتنميط K, Fy^a فقد تم استخدام الأضداد المتشكلة عند مرضى ممنعين بالأضداد Anti-K و$Anti\text{-}Fy^a$ كما هو موضح في الجدول رقم (3)، وذلك باستخدام اختبار كومس اللامباشر. تم تحضير المادة الحافظة واختبارها في مشفى تشرين الجامعي في الفترة الممتدة من آذار 2022 وأيلول 2022.

الجدول (3): النمط الظاهري للكريات الحمراء للمتبرعين المستخدمة في اختبار المادة الحافظة.

المتبرعين	زمرة ABO	D	E	e	C	c	Fya	K	النمط
1	B	+	+	+	+	+	-	-	R1R2
2	O	+	-	+	+	-	-	-	R1R1
3	O	+	-	+	+	+	-	-	R1r
4	A	+	+	-	-	+	-	-	R2R2
5	AB	+	-	+	+	-	-	-	R1R1
6	A	+	+	+	-	+	-	-	R2r
7	B	-	-	+	-	+	-	-	rr
8	A	+	-	+	+	-	-	+	R1R1k
9	O	+	-	+	+	-	+	-	R1R1
10	O	+	-	+	+	-	+	-	R1R1

استخدمت المادة الحافظة لإجراء تمديدات مختلفة للكريات الحمراء لكل متبرع على حده في أنابيب إبندورف Eppendorf عقيمة، وذلك لاستخدامها في اختبار فعالية المادة الحافظة في حفظ الكريات الحمراء ومستضداتها. قمنا بإجراء التمديدات الواردة في الجدول (4)، ثم تم حفظها في درجة حرارة 4°± 2 لمدة تصل إلى 60 يوم.

الجدول (4): التمديدات المستخدمة للكريات الحمراء للمتبرعين في المادة الحافظة

حجم دم : حجم مادة حافظة
1 : 1
1 : 2
1 : 3
1 : 4
1 : 5
1 : 6
1 : 7

3- الاختبارات المجراة على المادة الحافظة:

بعد القيام بتحضير المادة الحافظة وجمع عينات المتبرعين وإجراء عدة تمديدات للدم مع المادة الحافظة، تم القيام باختبار المادة الحافظة حيث أجرينا الزرع الجرثومي، قياس درجة الحموضة (PH)، قياس تركيز الخضاب الحر في أنابيب التمديد ثم فحص مستضدات الكريات الحمراء بطريقة ضد الغلوبولين اللامباشر IAT Indirect Antiglobulin Test\ ضمن الهلام IAT–Gel test باستخدام ضد نوعي لكل مستضد وذلك باستخدام المصول الضدية التالية: .(Sensa Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-D, Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e, Anti-K, Anti-Fy[a] Core, lot. NO. 1130021, India)

أجريت هذه الاختبارات عدة مرات وذلك في الأيام 0، 7، 14، 30، 45 و 60 من تحضير المادة الحافظة.

أولاً: الزرع الجرثومي:

تم التأكد من خلو التمديدات من نمو الجراثيم سلبية أو ايجابية الغرام عن طريق زراعتها على وسط الآغار الدموي Blood agar بطريقة الفرش، حيث تم أخذ قطرة بواسطة ماسحة قطنية وفرشها على طبق الآغار الدموي، ثم وضع الطبق في الحاضنة (Thermoline incubator) بحرارة 37° لمدة 48 ساعة وقراءة النتائج. قمنا أيضاً بأخذ كمية قليلة من التمديدات بواسطة ماسحة قطنية أخرى وإضافة وسط إكثار من محلول ثيو غليكولات ووضعها في الحاضنة لمدة 48 ساعة، ثم فرش نقطة من المزيج السابق على وسط الآغار الدموي وقراءة النتائج.

ثانياً: قياس درجة الحموضة:

تم قياس باهاء التمديدات بواسطة جهاز PH meter (PH.Mv.Cond.TDS/ Taiwan) عن طريق وضع قطب الهيدروجين في الماء المقطر حتى يعطي قيمة 7 ثم وضع القطب في المادة الحافظة وقراءة النتيجة بعدها.

ثالثاً: تركيز الخضاب الحر في أنابيب الكريات الحمراء المعلقة في سائل الحفظ:

قمنا بقياس تركيز الخضاب في السائل الطافي في كل أنبوب لمعرفة مدى انحلال الكريات الحمراء بطريقة درابكن (Drabkin) بواسطة المطياف الضوئي (Spectrophotometer).

رابعاً: فحص مستضدات الكريات الحمراء بطريقة كومس اللامباشر بطريقة الهلام:

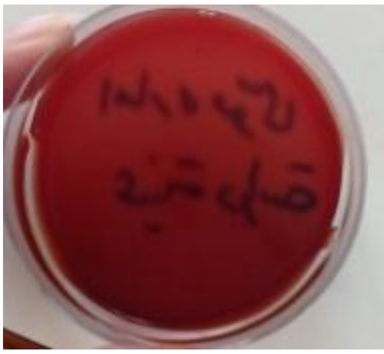
تم إجراء اختبار كومس اللامباشر ضمن الهلام LISS-Coombs gel card (INVITROGEL TEST.SYSTEM, Germany) لقياس فعالية المادة الحافظة في حفظ كل مستضدات الكريات الحمراء المذكورة

في الجدول رقم (3). قمنا بتحضير تركيز 1% باستخدام محلول LISS لجميع عينات المتبرعين وبكل التمديدات المذكورة في الجدول رقم (4). تم إضافة 50 مكل من المحاليل المحضرة بتركيز 1% إلى آبار الهلام ثم إضافة 25 مكل من المصل الحاوي على الضد النوعي الموافق للمستضد الذي يتم اختباره. بعد الحضن في الحاضنة الخاصة ID-incubator بدرجة حرارة 37° لمدة 15 دقيقة تم التثفيل لمدة 10 دقائق وقراءة النتائج. يعتبر اختبار كومس اللامباشر ايجابي (+) بحدوث تراص عياني، ويعتبر سلبي (−) بعدم حدوث التراص.

النتائج:

1- الزرع الجرثومي:

كانت نتائج الزرع الجرثومي للتمديدات بطريقتي الفرش على الآغار الدموي ووسط الإكثار ضمن ثيو غليكولات سلبية خلال فترة الدراسة كاملة دون ظهور أي نمو جرثومي، الشكل(3).



الشكل(3): نتيجة الزرع على الآغار الدموي

2- قياس درجة الحموضة:

يُظهِر الجدول (5) درجات الحموضة للتمديدات المحضّرة خلال فترة الدراسة، وكانت تغيرات درجة الحموضة طفيفة وغير هامة إحصائياً $(P > 0.05)$.

الجدول (5): درجة الحموضة للتمديدات المحضّرة

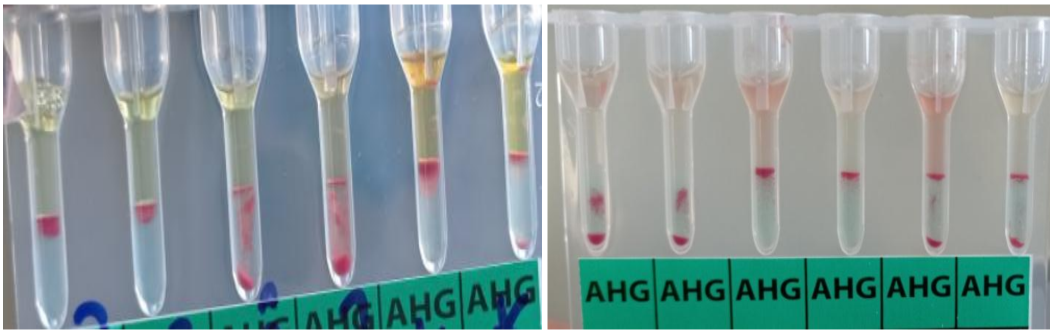
الزمن	درجة الحموضة
اليوم 0	6.20
اليوم السابع	6.17
اليوم الرابع عشر	6.16
اليوم الثلاثون	6.14
اليوم الخامس والأربعون	6.13
اليوم الستون	6.11

3- تركيز الخضاب الحر في أنابيب الكريات الحمر المعلقة في سائل الحفظ:

لم يلاحظ حدوث انحلال للكريات الحمراء في أي من التمديدات سواء عيانياً أو مخبرياً بالمطياف الضوئي.

4- فحص مستضدات الكريات الحمر بطريقة كومس اللامباشر ضمن الهلام:

باستخدام ضد نوعي لكل مستضد، أبدت جميع آبار الهلام في اختبار كومس اللامباشر تراصاً عيانياً ولجميع المستضدات المدروسة وبكل التمديدات، وبنفس درجة قوة التفاعل تقريباً خلال كامل فترة الدراسة، الشكل (4).



الشكل(4): نتائج اختبار كومس اللامباشر في الهلام

المناقشة:

إن تخزين الكريات الحمراء في شروط حفظ مناسبة، وبوجود مادة حافظة ملائمة سيضمن الحفاظ على الكريات الحمراء ومستضداتها آمنة وفعالة لأطول فترة ممكنة خارج بيئتها الأصلية، لاستخدامها في تصميم كريات حمراء كاشفة محلية تستخدم لاحقاً في اختبارات كشف الأضداد الخيفية وتحديد هويتها لدى المرضى المعتمدين على نقل الدم بشكل متكرر، وهذا كان الهدف المرغوب لهذه الدراسة.

انطلاقاً من سائل الحفظ الوارد في كتيب منظمة الصحة العالمية [15]، قمنا بتحضير مادة حافظة محلية بدءاً من المكونات الواردة في الجدول رقم (2) أعلاه.

تفقد كريات الدم الحمراء عند تخزينها كل من قدرتها على البقاء لفترة طويلة وجزيئات ATP والهيموغلوبين. وجِد أن إضافة الأدنين الى كريات الدم المحفوظة يساهم في زيادة عمر الكريات الحمراء، سلامة غشائها وزيادة مدة بقاء جزيئات ATP. إن المحافظة على رقم هيدروجيني (7- 6.5) يساهم في إبقاء مستويات ATP لأطول فترة ممكنة ويقلل إنتاج حمض اللبن الناتج عن تحلل الكريات الحمر. أما إضافة Nacl فيساهم في الحفاظ على سلامة غشاء الكريات الحمراء ويقلل انحلالها. تعمل السيترات المضافة على تقليل انحلال الكريات الحمر وإطلاقها للهيموغلوبين كما تحافظ على قيمة PH حمضية. يلعب الديكستروز دور مضاد للتخثر كما أنه يحافظ على حمضية الوسط [16، 17].

بالعودة إلى نتائجنا كانت نتائج الزرع الجرثومي للمادة الحافظة سلبية خلال كامل فترة الدراسة بسبب إضافة الصادات الحيوية (بنسلين، نيومايسين وجنتامايسين) ولم تؤثر هذه الإضافات على فعالية المستضدات، وكانت هذه النتيجة مشابهة لنتائج الدراسة التي أجريت عام 1997، حيث تم استخدام نيومايسين، نيستاتين، كلورامفينيكول وأمفوتريسين، ووجد أن هذه المواد لم تؤثر على فعالية مستضدات الكريات الحمراء [18]. كان PH محلول الحفظ حمضياً ضعيفاً بسبب وجود مواد حمضية ضعيفة مثل السيترات والديكستروز، وكان لهذه النتيجة أهمية في حفظ الكريات الحمر لأنها تساهم في الحفاظ على الطاقة لفترة أطول [19]. لم يؤد سائل الحفظ بتمديداته المختلفة إلى حل Lysis مهم في الكريات الحمر، كما حافظت الكريات المخزنة ضمن المادة الحافظة على فعالية مستضداتها بالارتباط مع الأضداد الموافقة بطريقة كومس اللامباشر خلال فترة الدراسة كاملة وبكل التمديدات، وكانت النتائج مشابهة لدراسة أجريت بوجود مادة حافظة من السيترات والفوسفات والديكستروز [20].

بذلك يمكننا الانطلاق من نتائج هذه الدراسة لتكون الأساس لدراسات أكبر بوجود متبرعين ومستضدات أكثر، عندها نتمكن من تصميم كريات حمراء كاشفة لكشف الأضداد الخيفية وتحديد هويتها، خاصة مع غلاء سعرها وكلفة استيرادها، ومؤخراً ندرة توفرها جاهزة بشكل تجاري في العالم كله وليس فقط في بلادنا، وفي ظل الحاجة إلى كريات كاشفة محلية لاستخدامها في اختبار مسح الأضداد المناعية قبل كل نقل دم خاصة لدى المرضى المعتمدين عليه Transfusion-dependent ولمراقبة حمول السيدات اللواتي لديهن قصة سابقة لداء انحلالي عند الوليد.

References:

1. Storry, J.R., et al., *International society of blood transfusion working party on red cell immunogenetics and terminology: report of the Seoul and London meetings.* ISBT science series, 2016. **11**(2): p. 118-122.

2. Alshimali, S., M.A. Awama, and S. Baddour, *Comparison between gel and tube methods in antibody screening by using Indirect Coombs in hemoglobinopathies patients in Latakia.*Tishreen University Journal-Medical Sciences Series, 2022. **44**(1): p. 209-220.

3. Poole, J. and G. Daniels, *Blood group antibodies and their significance in transfusion medicine.* Transfusion medicine reviews, 2007. **21**(1): p. 58-71.

4. Flegel, W.A., *Pathogenesis and mechanisms of antibody-mediated hemolysis.* Transfusion, 2015. **55**(S2): p. S47-S58.

5. Coombs, R., A. Mourant, and R. Race, *A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins.* British journal of experimental pathology, 1945. **26**(4): p. 255.

6. Chen, L., et al., *Study on the effect of direct anti-human globulin test positive strength on patients' red blood cell transfusion.* Zhonghua yi xue za zhi, 2020. **100**(44): p. 3510-3514.

7. Theis, S.R. and M.F. Hashmi, *Coombs Test.* 2019.

8. Azarkeivan, A., et al., *Blood transfusion and alloimmunization in patients with thalassemia: multicenter study.* Pediatric hematology and oncology, 2011. **28**(6): p. 479-485.

9. Ohene-Frempong, K. *Indications for red cell transfusion in sickle cell disease*. in *Seminars in hematology*. 2001. Elsevier.

10. Muthanna, F.M., et al., *Cancer related anaemia (CRA): An overview of approach and treatment.* International Journal of Health Sciences, 2022(II): p. 2552-2558.

11. Mansour, N. and O. Jouni, *Indications and complications: Red blood cells transfusion in extremly and very low birth weight preterm infants.*Tishreen University Journal-Medical Sciences Series, 2022. **44**(5): p. 373-380.

12. Dasararaju, R. and M.B. Marques, *Adverse effects of transfusion.* Cancer Control, 2015. **22**(1): p. 16-25.

13. Brand, A., *Immunological complications of blood transfusions.* La Presse Médicale, 2016 . :(8-7)45p. e313-e324.

14. Knight, R. and M. De Silva, *New technologies for red-cell serology.* Blood reviews, 1996. **10**(2): p. 101-110.

15. Organization, W.H., *Blood grouping reagents: preparation and application methods*. 1993.

16. Hess, J.R. and T.G. Greenwalt, *Storage of red blood cells: new approaches.* Transfusion medicine reviews, 2002. **16**(4): p. 283-295.

17. De Korte, D., et al., *Prolonged maintenance of 2, 3-diphosphoglycerate acid and adenosine triphosphate in red blood cells during storage.* Transfusion, 2008. **48**(6): p. 1081-1089.

18. Ali, A.J., *The use of flow cytometry to measure blood group antigen deterioration in preservative low ionic strength solutions [LISS] for panel use.* 1997.

19. Kanias, T. and J.P. Acker, *Biopreservation of red blood cells–the struggle with hemoglobin oxidation.* The FEBS journal, 2010. **277**(2): p. 343-356.

20 Snyder, E., et al., *Stability of red cell antigens during prolonged storage in citrate-phosphate-dextrose and a new preservative solution.* Transfusion, 1983. **23** :(2)p. 165-166.