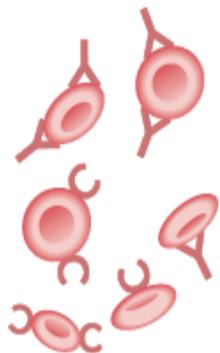


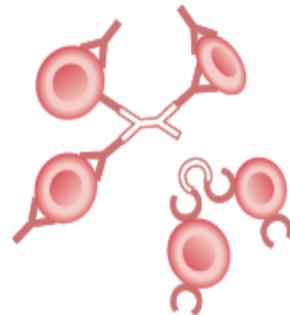
Il **siero di Coombs** è un siero antiglobuline umano che, fissandosi in maniera specifica sulla porzione Fc degli anticorpi IgG umani adesi alle emazie sensibilizzate, rende possibile evidenziare, con la creazione di questi "ponti" immunologici, l'avvenuta reazione antigene-anticorpo mediante il rilievo dell'emoagglutinazione.



GR con IgG (Y) o C3 (C) legato alla membrana



Incubazione con anticorpi a Ig (X) e C3 (C) umani



Agglutinazione (test di Coombs diretto positivo)



Siero del paziente con IgG (Y)



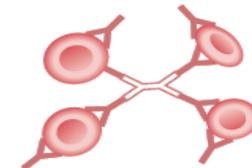
Incubazione con GR reagenti



Legame di qualsiasi IgG ai GR reagenti

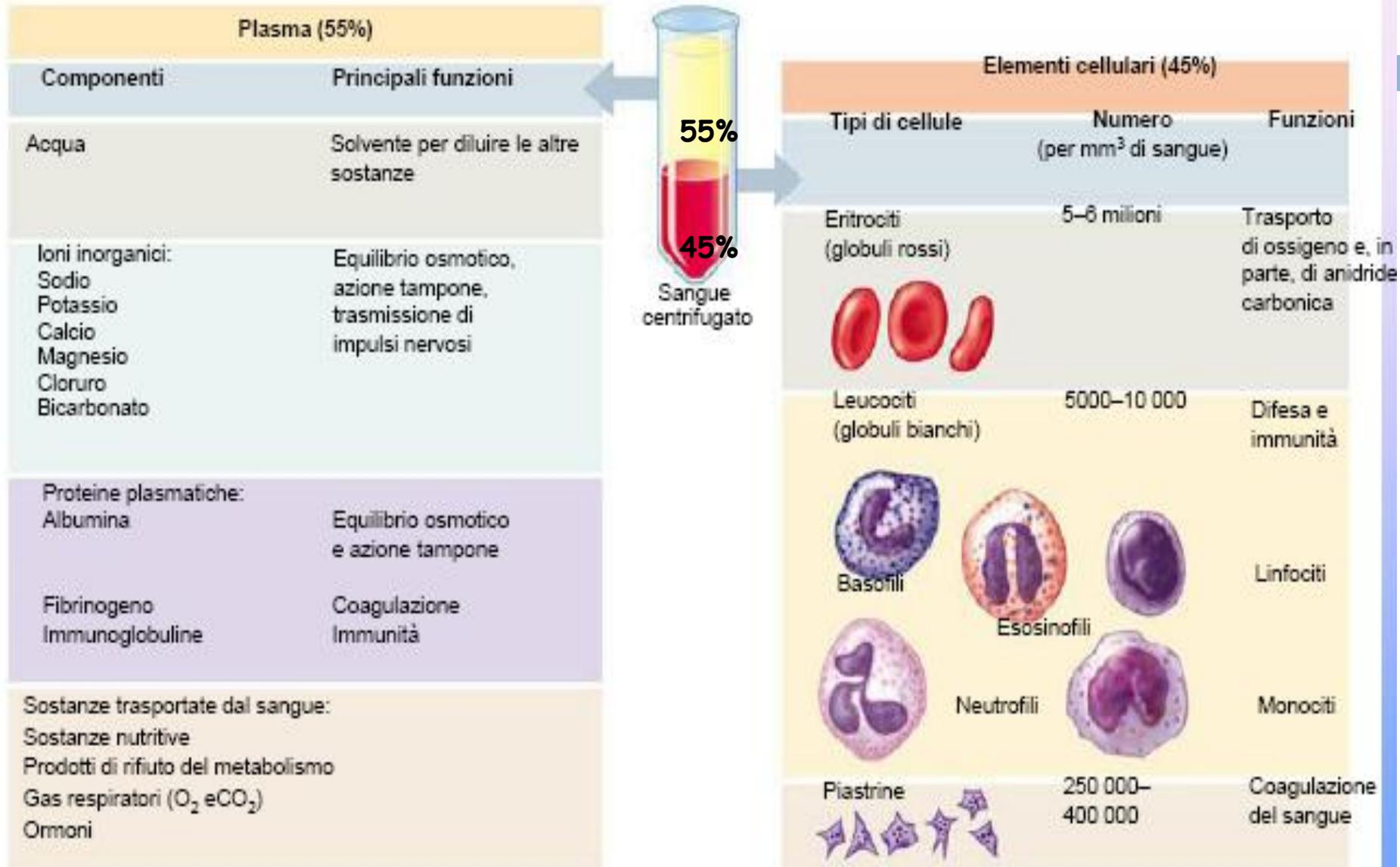


Incubazione con anticorpi a Ig (X) umani



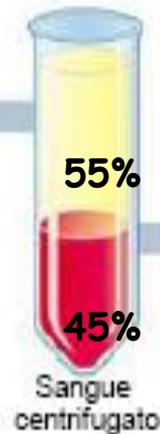
Agglutinazione (test di Coombs indiretto positivo)

# Composizione Sangue



# Composizione Sangue

Plasma (55%)	
Componenti	Principali funzioni
Acqua	Solvente per diluire le altre sostanze
Ioni inorganici: Sodio Potassio Calcio Magnesio Cloruro Bicarbonato	Equilibrio osmotico, azione tampone, trasmissione di impulsi nervosi
Proteine plasmatiche: Albumina	Equilibrio osmotico e azione tampone
Fibrinogeno Immunoglobuline	Coagulazione Immunità
Sostanze trasportate dal sangue:	
Sostanze nutritive	
Prodotti di rifiuto del metabolismo	
Gas respiratori (O <sub>2</sub> e CO <sub>2</sub> )	
Ormoni	

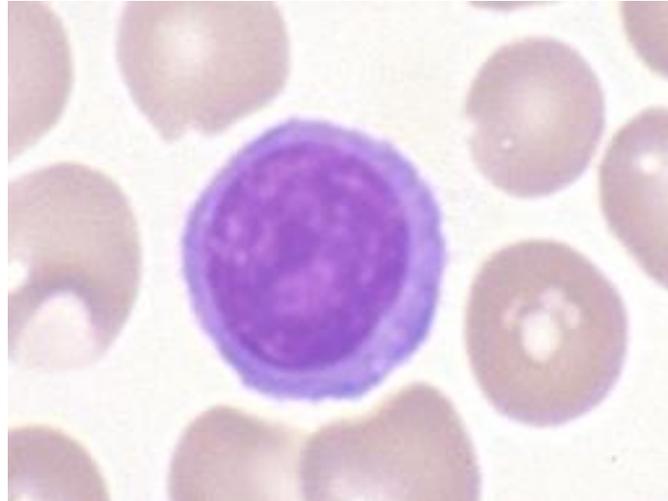


Elementi cellulari (45%)		
Tipi di cellule	Numero (per mm <sup>3</sup> di sangue)	Funzioni
Eritrociti (globuli rossi) 	5-8 milioni	Trasporto di ossigeno e, in parte, di anidride carbonica
Leucociti (globuli bianchi)	5000-10 000	Difesa e immunità
 Basofili	 Eosinofili	Linfociti
 Neutrofili		
 Monociti		
Piastrine 	250 000-400 000	Coagulazione del sangue

# LEUCOCITI

## VALUTAZIONE MICROSCOPICA

### LINFOCITI



Sono il **20-25% dei leucociti totali**

Hanno un nucleo eccentrico, denso che occupa circa il 90% della cellula.

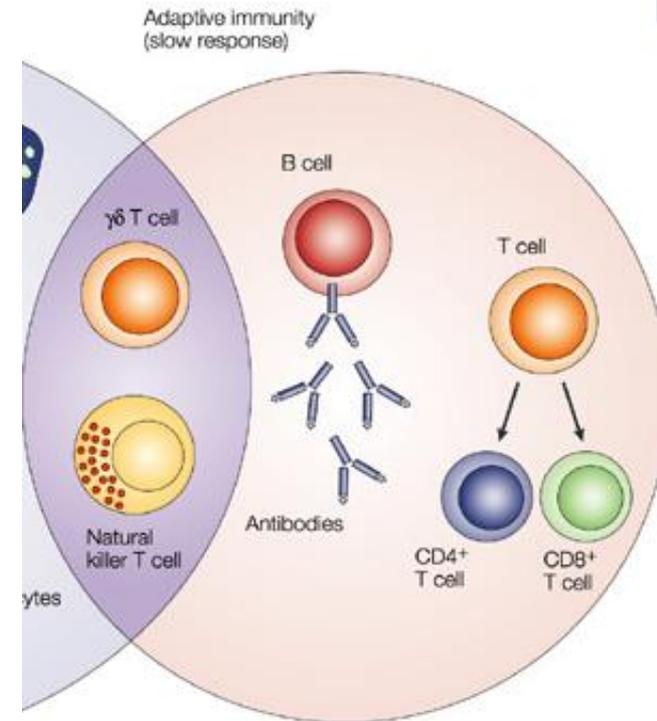
Hanno un diametro di circa 8-10  $\mu\text{m}$  e scarso citoplasma

# LEUCOCITI

## VALUTAZIONE MICROSCOPICA

### LINFOCITI

Esistono diverse sottopopolazioni di linfociti, non distinguibili al microscopio ottico



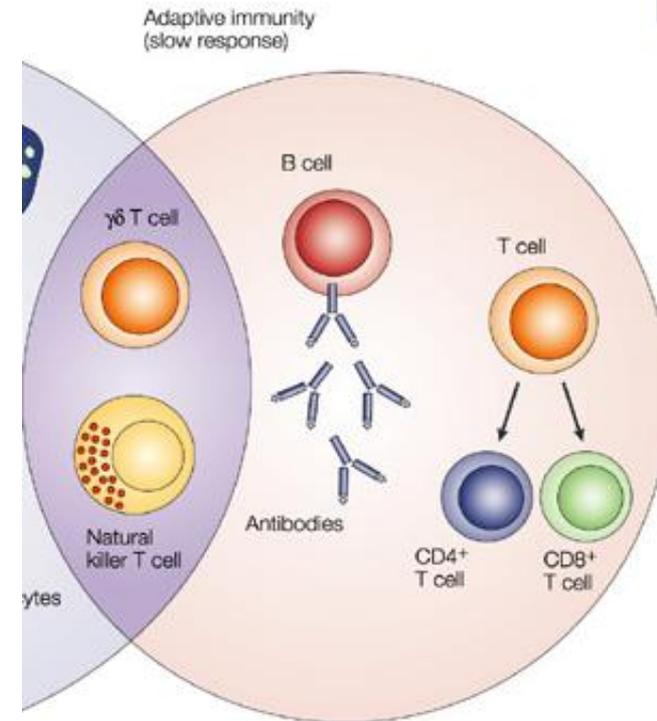
# LEUCOCITI

## VALUTAZIONE MICROSCOPICA

### LINFOCITI

Esistono diverse sottopopolazioni di linfociti, non distinguibili al microscopio ottico

- **Linfociti B**, una volta attivati dall'interazione con l'Ag, si trasformano in **plasmacellule** e producono Ab



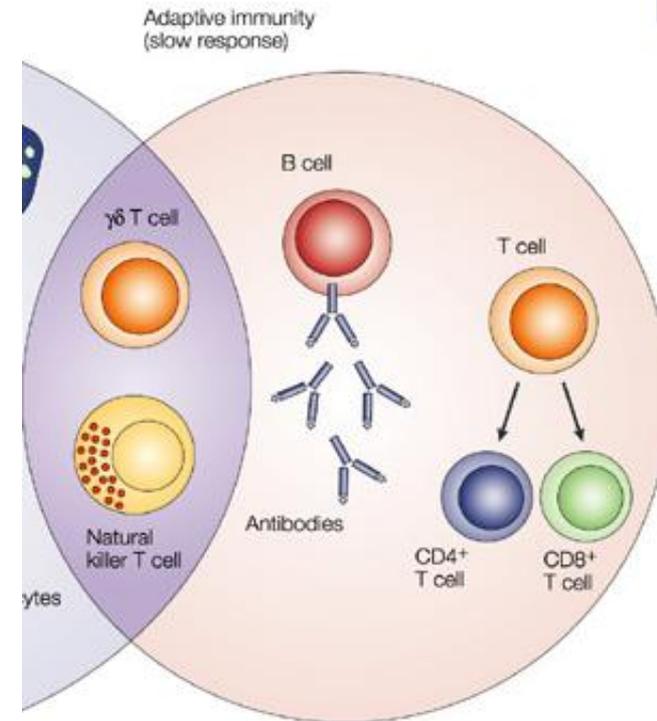
# LEUCOCITI

## VALUTAZIONE MICROSCOPICA

### LINFOCITI

Esistono diverse sottopopolazioni di linfociti, non distinguibili al microscopio ottico

- **Linfociti B**, una volta attivati dall'interazione con l'Ag, si trasformano in **plasmacellule** e producono Ab
- **Linfociti T** vengono distinti in **T-Helper** (coadiuvano i B nella risposta immunitaria) e in **T-Citotossici**, che uccidono cellule infettate da virus o estranee



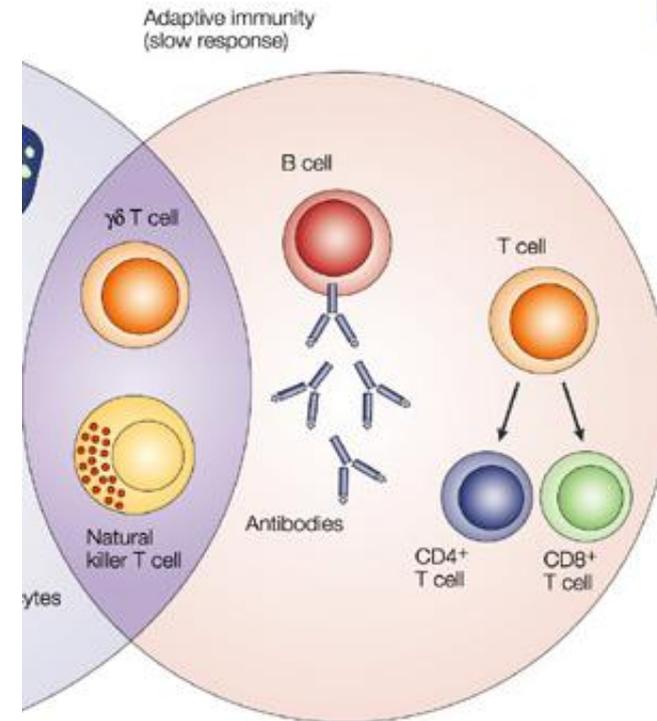
# LEUCOCITI

## VALUTAZIONE MICROSCOPICA

### LINFOCITI

Esistono diverse sottopopolazioni di linfociti, non distinguibili al microscopio ottico

- **Linfociti B**, una volta attivati dall'interazione con l'Ag, si trasformano in **plasmacellule** e producono Ab
- **Linfociti T** vengono distinti in **T-Helper** (coadiuvano i B nella risposta immunitaria) e in **T-Citotossici**, che uccidono cellule infettate da virus o estranee
- **Linfociti Natural Killer** uccidono cellule neoplastiche o infettate da virus

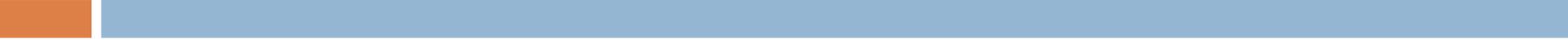


## RISPOSTA PRIMARIA

L'antigene, opportunamente preparato dal macrofago, viene presentato dai linfociti T ai linfociti B che devono produrre l'anticorpo.

I linfociti T devono anche produrre il segnale che induce l'attivazione delle cellule B.

Nella risposta immunologica **primaria**, quella cioè che si verifica quando l'ospite viene a contatto per la prima volta con un determinato antigene, deve trascorrere un periodo di tempo variabile da alcuni giorni ad alcune settimane prima che vengano prodotti gli anticorpi.



In seguito allo stimolo indotto dal contatto con l'antigene le cellule B possono trasformarsi in plasmacellule (cioè le cellule capaci di secernere gli anticorpi), o diventare “cellule B memoria” che vanno a far parte del pool di linfociti circolanti che persistono per mesi o anni.

Gli anticorpi prodotti nel corso della risposta immunologica primaria sono principalmente di classe IgM.

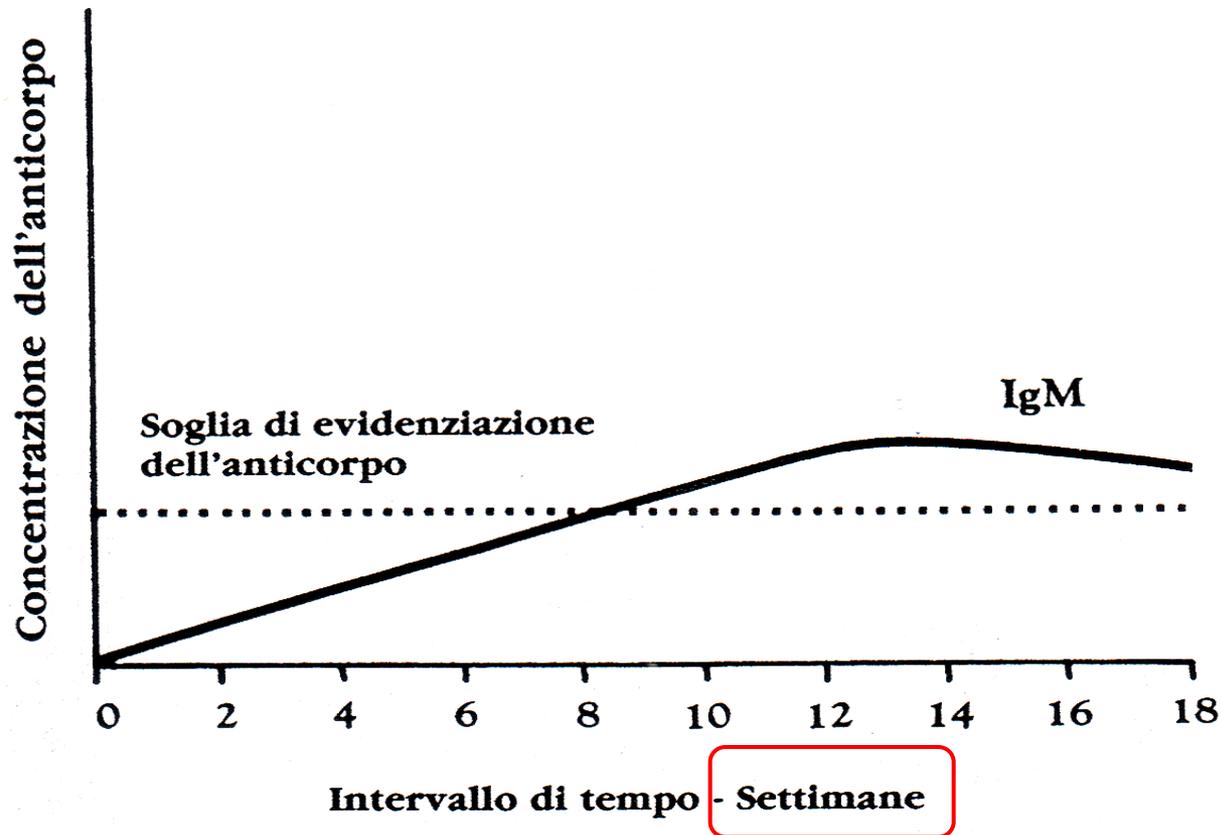


Figura 1.3A Grafico del tempo di una risposta immune primaria, che segue il contatto con l'antigene (Nota: la scala temporale è espressa in settimane, diversamente dalla Fig. 1.3B).

## RISPOSTA SECONDARIA

In caso di successivo contatto con gli stessi antigeni, le cellule B della memoria rispondono dando luogo alla risposta **secondaria**.

La risposta secondaria o “anamnestica”, si instaura molto rapidamente ed è caratterizzata da una produzione di anticorpi in quantità sensibilmente più elevata di quanto non si verifichi nel corso della risposta primaria.



Ciò avviene in quanto alla reintroduzione dello stesso antigene è già presente un clone di cellule B della memoria in grado di riconoscerlo e di iniziare prontamente la risposta anticorpale.

La maggior parte degli anticorpi prodotti sono di classe IgG.

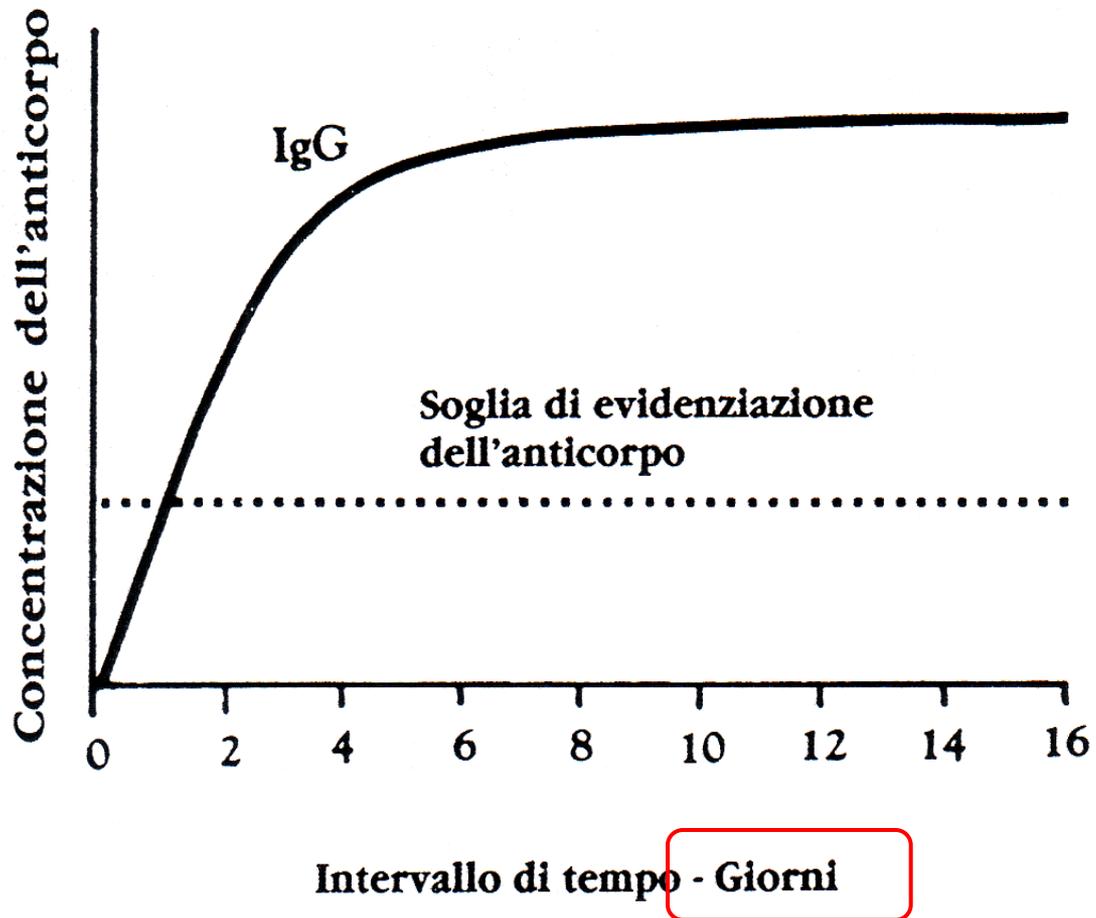


Figura 1.3B Grafico del tempo di una risposta secondaria seguente al secondo o a successivi contatti con lo stesso antigene (Nota: la scala temporale è espressa in giorni diversamente dalla figura 1.3A)

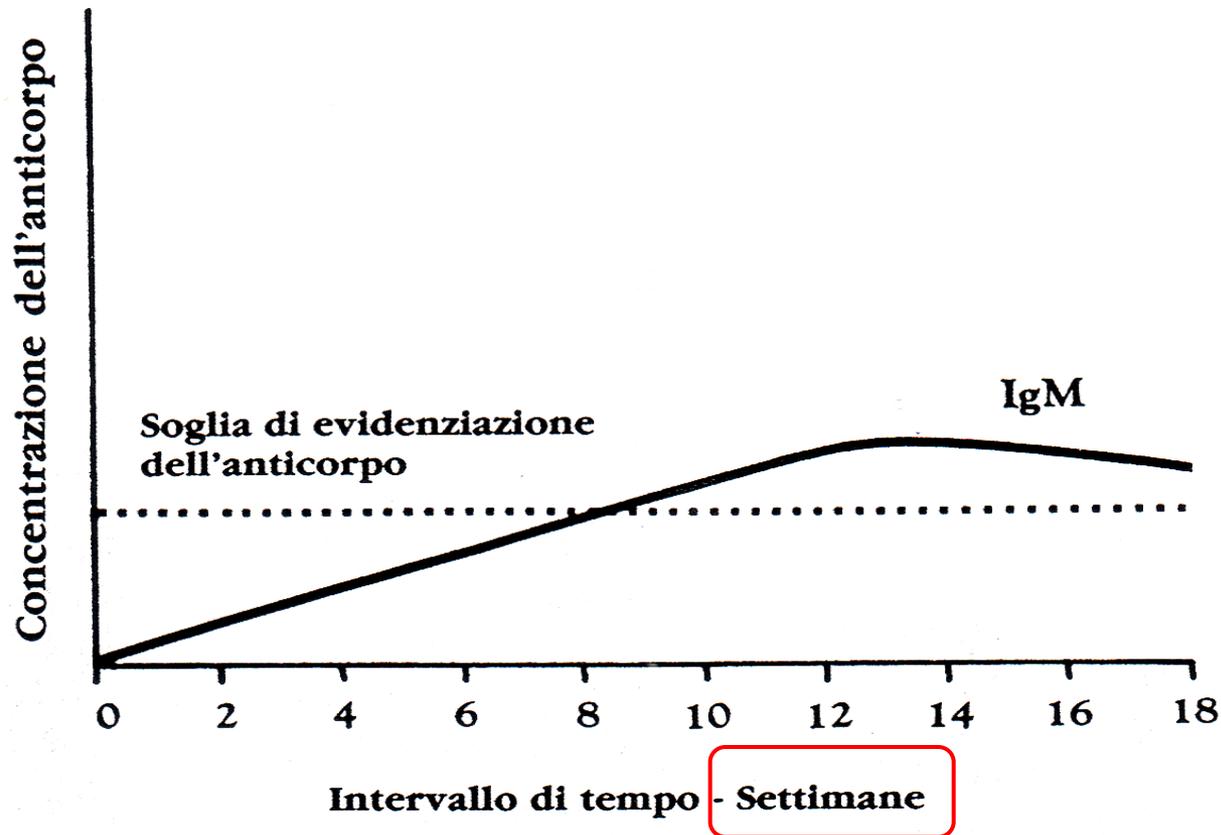


Figura 1.3A Grafico del tempo di una risposta immune primaria, che segue il contatto con l'antigene (Nota: la scala temporale è espressa in settimane, diversamente dalla Fig. 1.3B).



GLI ANTICORPI GRUPPO-EMATICI SONO DELLE  
PROTEINE PLASMATICHE (GAMMAGLOBULINE)  
PRODOTTE DALL'ORGANISMO COME MECCANISMO  
DI DIFESA IN RISPOSTA ALL'ESPOSIZIONE AD  
UN IMMUNOGENO ESTRANEO



GLI ANTICORPI GRUPPO-EMATICI SONO DELLE  
PROTEINE PLASMATICHE (GAMMAGLOBULINE)  
PRODOTTE DALL'ORGANISMO COME MECCANISMO  
DI DIFESA IN RISPOSTA ALL'ESPOSIZIONE AD  
UN IMMUNOGENO ESTRANEO

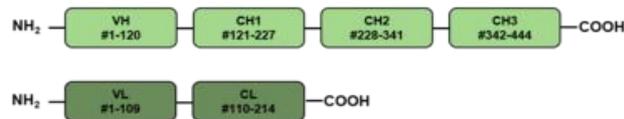
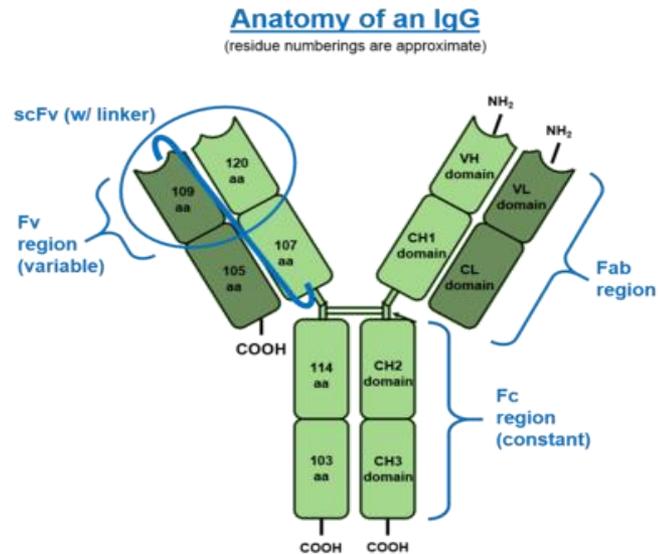


GLI ANTICORPI GRUPPO-EMATICI SONO DELLE  
PROTEINE PLASMATICHE (GAMMAGLOBULINE)  
PRODOTTE DALL'ORGANISMO COME MECCANISMO  
DI DIFESA IN RISPOSTA ALL'ESPOSIZIONE AD  
UN IMMUNOGENO ESTRANEO



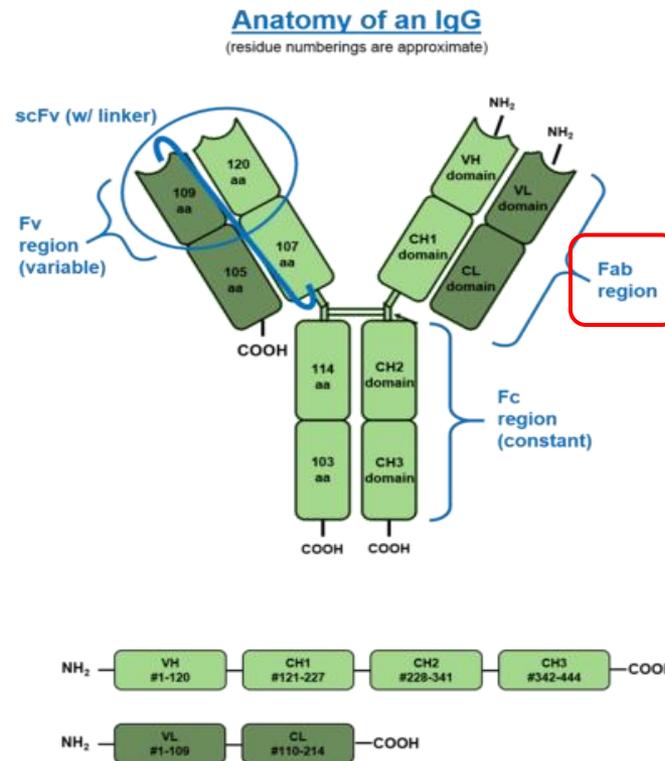
GLI ANTICORPI GRUPPO-EMATICI SONO DELLE  
PROTEINE PLASMATICHE (GAMMAGLOBULINE)  
PRODOTTE DALL'ORGANISMO COME MECCANISMO  
DI DIFESA IN RISPOSTA ALL'ESPOSIZIONE AD  
UN IMMUNOGENO ESTRANEO

La molecola IgG è composta da quattro catene- due identiche pesanti (catene H) e due identiche leggere (catene L)



La molecola IgG è composta da quattro catene- due identiche pesanti (catene H) e due identiche leggere (catene L)

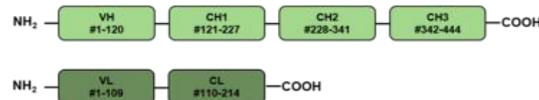
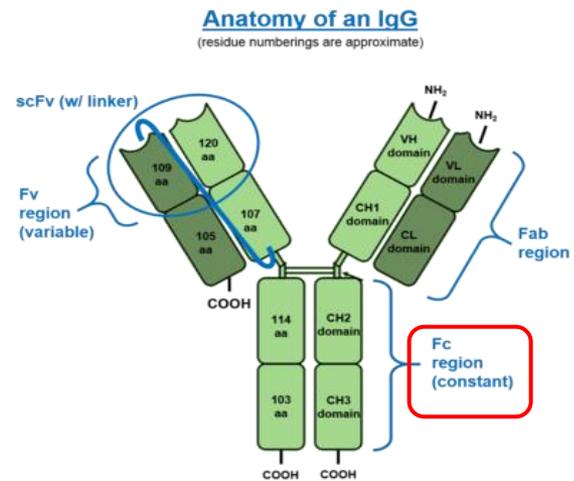
Le porzioni terminali di una catena H e di una catena L sono i punti dove avviene il legame con l'antigene (Fab)



La molecola IgG è composta da quattro catene- due identiche pesanti (catene H) e due identiche leggere (catene L)

Le porzioni terminali di una catena H e di una catena L sono i punti dove avviene il legame con l'antigene (Fab)

Il resto della molecola (Fc) mantiene altre funzioni quali la capacità di legare il complemento, di trasporto transplacentare e di reagire con i sieri antiglobuline umane

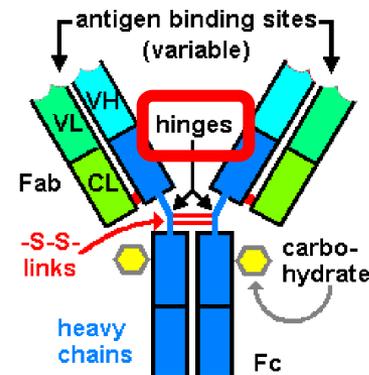


La regione cerniera (hinge region), dove la catena L è unita alla catena H, viene così detta perché è il punto dove la molecola può piegarsi o aprirsi e chiudersi a seconda delle condizioni

Quando è completamente aperta la distanza tra i due punti di legame con l'antigene (sit combinatori) è di circa 240 Å (24nm)

Questo spiega come un anticorpo non riesca a legarsi con più di un antigene sullo stesso globulo rosso

## STRUTTURA DELLE IMMUNOGLOBULINE



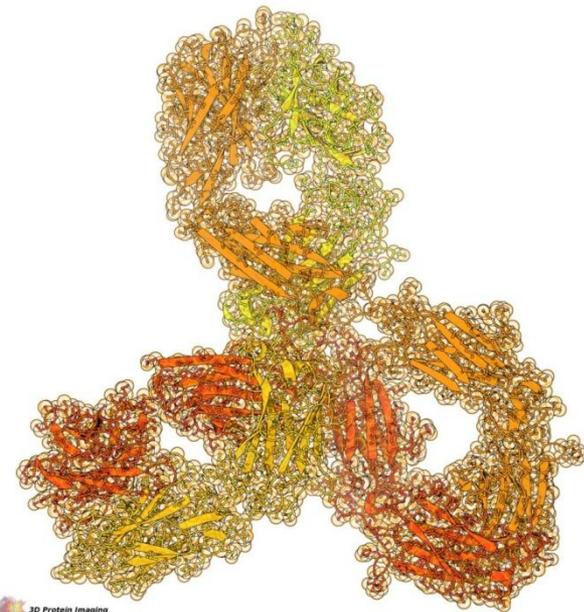
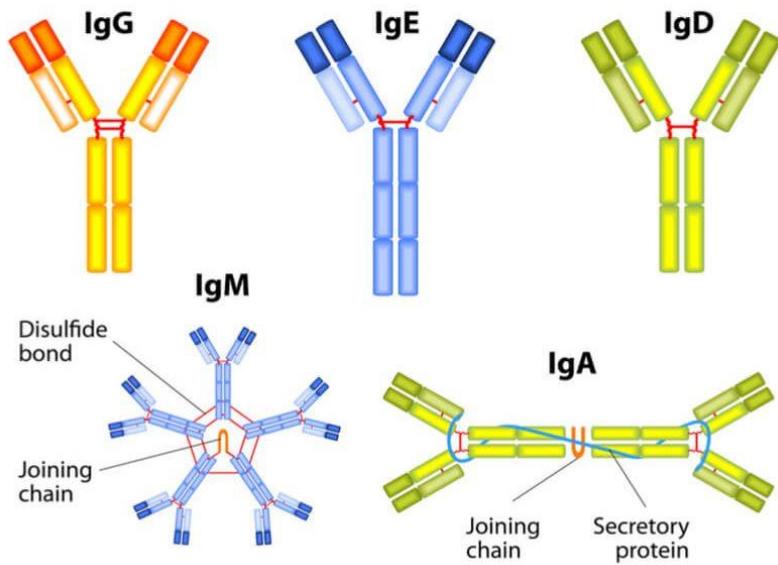


Infatti, anche se il globulo rosso misura circa 7000 nm di diametro, pochi antigeni gruppoematici sono normalmente così abbondanti da essere entro 24 nm l'un l'altro

Gli antigeni A e B costituiscono le eccezioni

La distanza massima tra due siti combinatori di una molecola IgM è circa 420 Å (42 nm)

# ANTIBODY CLASSIFICATION



## Immunogenicità



Indica la capacità di un antigene di stimolare la produzione del corrispondente anticorpo in un individuo che manchi dell'antigene

## Fattori che influenzano la immunogenicità

Struttura chimica e complessità dell'antigene  
Grado di estraneità  
Grandezza  
Dosaggio e densità antigenica  
Via di somministrazione  
Frequenza dell'antigene nella popolazione

## Fattori che influenzano la immunogenicità

### Struttura chimica e complessità dell'antigene

le proteine sono migliori immunogeni, seguite da carboidrati complessi

gli antigeni di natura polisaccaridica stimolano la produzione di IgM, quelli di natura proteica le IgG

## Fattori che influenzano la immunogenicità

### Grado di estraneità

gli immunogeni debbono essere riconosciuti come nonself

maggiore è la differenza dal self, maggiore è la probabilità di stimolare una risposta immune

se un antigene estraneo è simile a strutture antigeniche (proteine o carboidrati) possedute dal soggetto, può non attivarsi il meccanismo del riconoscimento immunologico (es. insulina porcina)

## Fattori che influenzano la immunogenicità

### Grandezza

molecole con un peso superiore a 10000 daltons sono immunogeni più potenti

### Dosaggio e densità antigenica

il numero di eritrociti somministrati e la quantità di antigene che presentano contribuiscono a determinare la risposta immune

il rischio di immunizzazione aumenta aumentando la quantità di antigene

## Fattori che influenzano la immunogenicità

### Via di somministrazione

IM o EV stimolano maggiormente una risposta immune

### Frequenza dell'antigene nella popolazione

es. k



Un altro fenomeno evidente della reazione  
antigene anticorpo è l'**emolisi**

Questo richiede l'intervento del sistema del  
complemento



I componenti del complemento sono delle normali proteine dell'organismo (beta globuline)

La fissazione del complemento è una serie di reazioni di tipo enzimatico attivate a cascata, ognuna dal prodotto della reazione precedente



Lo stadio iniziale dell'attivazione del complemento è innescato dall'anticorpo che si attacca all'antigene

Solo alcuni anticorpi sono in grado di attivare il sistema del complemento (solitamente IgM, talvolta IgG)



Questi anticorpi attaccandosi ai GR, modificano la loro forma permettendo l'attacco del primo componente del complemento

Alcuni componenti (specialmente C3) si attaccano direttamente alla membrana cellulare

Gli ultimi componenti della sequenza (C5, C6, C7 e C8) concorrono a ledere la membrana e la cellula viene così distrutta

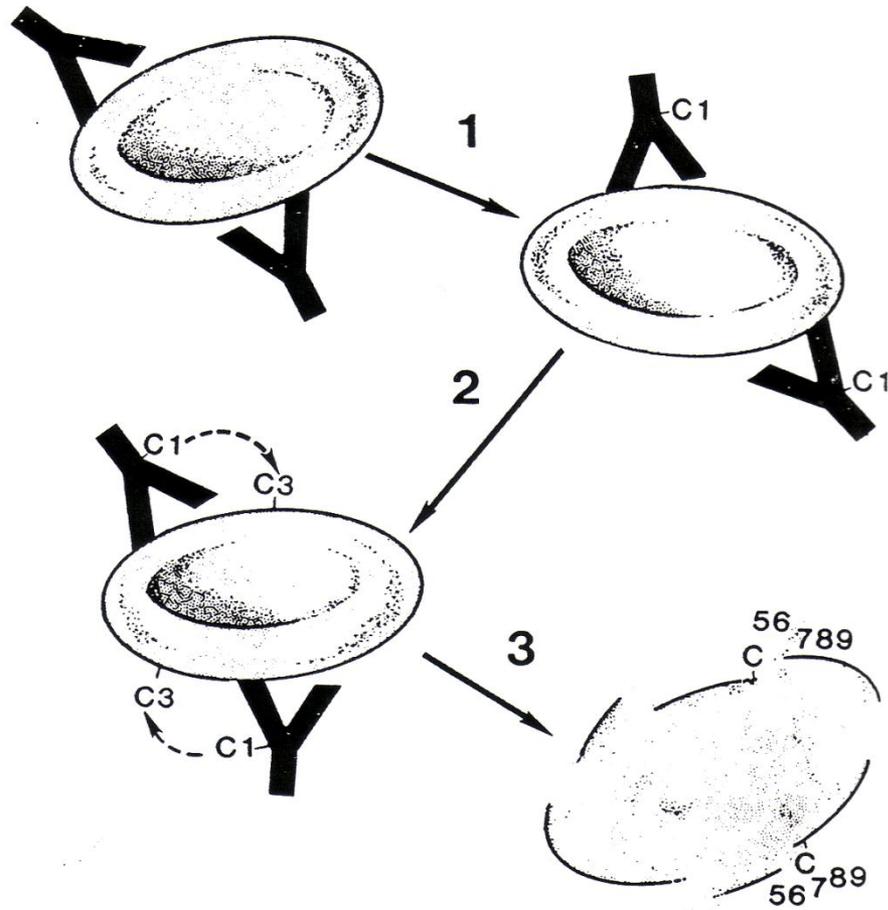
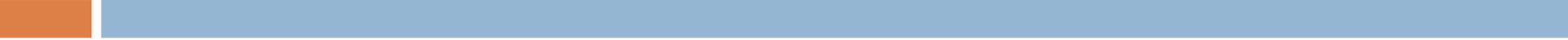


Figura 1.6B Illustrazione della lisi eritrocitaria mediata dal complemento. (1) Gli anticorpi attaccati alla cellula attivano il complemento. Per attivare il complemento è necessario che due anticorpi siano legati alla cellula molto vicini tra loro (nella figura ne viene rappresentato uno solo). Il primo componente, C1, si lega ad un recettore nella regione Fc che viene esposto solo quando l'anticorpo modifica la sua forma dopo il legame con l'antigene (2) attraverso una serie di reazioni enzimatiche (illustrate dalla linea tratteggiata), il C3 si lega alla superficie della cellula (3). Se la attivazione prosegue fino al completamento C5,6,7,8 e 9 penetrano nella membrana e determinano la lisi.

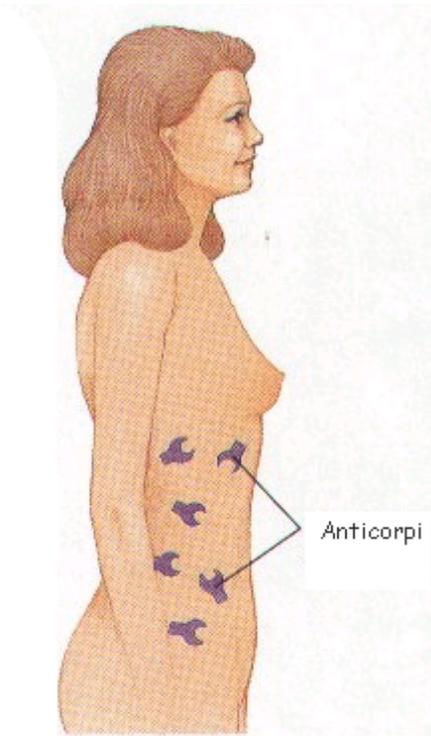


Non sempre la fissazione del complemento procede fino allo stadio che determina la lisi dell'eritrocita

Il processo spesso si ferma al primo stadio lasciando adesi alla superficie cellulare alcuni componenti che non sono in grado di determinare la lisi



Quando nel siero è presente un anticorpo, dal momento che non vi sono emazie che portano l'antigene corrispondente, esso circola libero.



... e sviluppa anticorpi..

Quando nel siero è presente un anticorpo, dal momento che non vi sono emazie che portano l'antigene corrispondente, esso circola libero.

Questi anticorpi vengono evidenziati esaminando il siero contro emazie test, aggiungendo il siero antiglobuline umane ed osservando l'agglutinazione che segue.

La ricerca di anticorpi con questo metodo viene detta:

Test dell'antiglobulina indiretto

o

Test di Coombs indiretto

## Test di Coombs Indiretto

### I fase

Incubazione siero-eritrociti per permettere il legame antigene-anticorpo (*sensibilizzazione*)

Lavaggio della sospensione eritrocitaria per allontanare anticorpi o complemento non legati

## Test di Coombs Indiretto

### I fase

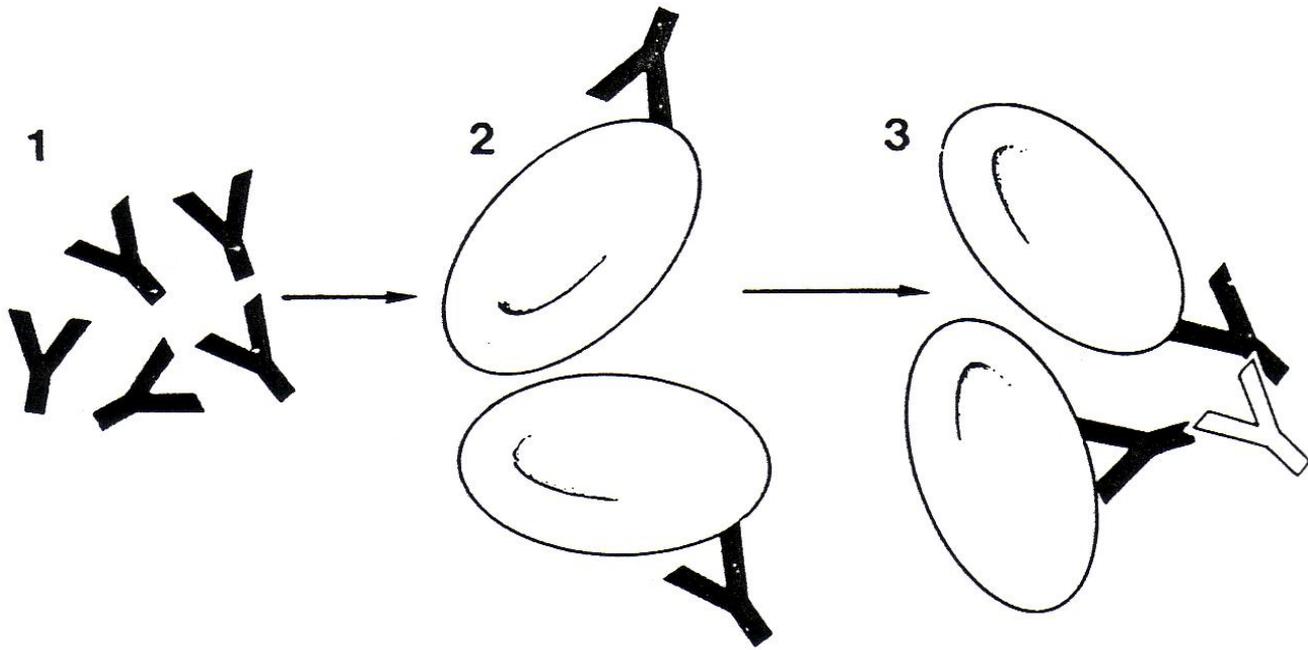
Incubazione siero-eritrociti per permettere il legame antigene-anticorpo (*sensibilizzazione*)

Lavaggio della sospensione eritrocitaria per allontanare anticorpi o complemento non legati

### II fase

Aggiunta dell'antiglobulina (*agglutinazione*)

La presenza dell'agglutinazione in una qualunque di queste fasi indica un **TCI positivo**





Gli anticorpi che non agglutinano direttamente le cellule sono detti *anticorpi incompleti o anticorpi sensibilizzanti*

Le cellule che portano questi anticorpi sulla loro superficie sono dette:

*cellule sensibilizzate.*

Per evidenziare la reazione antigene anticorpo è necessario usare la tecnica dell'antiglobulina o impiegare soluzioni che cambino il mezzo di reazione.

La teoria del *potenziale zeta*  
(forza di repulsione tra eritrociti in soluzione fisiologica)

afferma che:

la naturale tendenza delle cellule ad aggregare è contrastata da forze repulsive che determinano la distanza minima tra le cellule (la distanza minima è mantenuta dalla forte carica negativa alla superficie delle cellule data dal gran numero di catene di acido sialico)



Se la distanza è eccessiva le piccole molecole degli anticorpi non riescono a legare due cellule distinte e non avviene l'agglutinazione

Riducendo le forze repulsive si diminuisce la distanza media tra le cellule



Gli eritrociti in soluzione sono in costante movimento disordinato

Si avvicinano l'un l'altro fino a che le forze di repulsione non li allontanano



La carica negativa è dovuta principalmente al gran numero di catene di acido sialico attaccate alle catene proteiche inserite nella membrana

Quando gli eritrociti sono sospesi in fisiologica una nuvola di ioni contorna ogni eritrocita

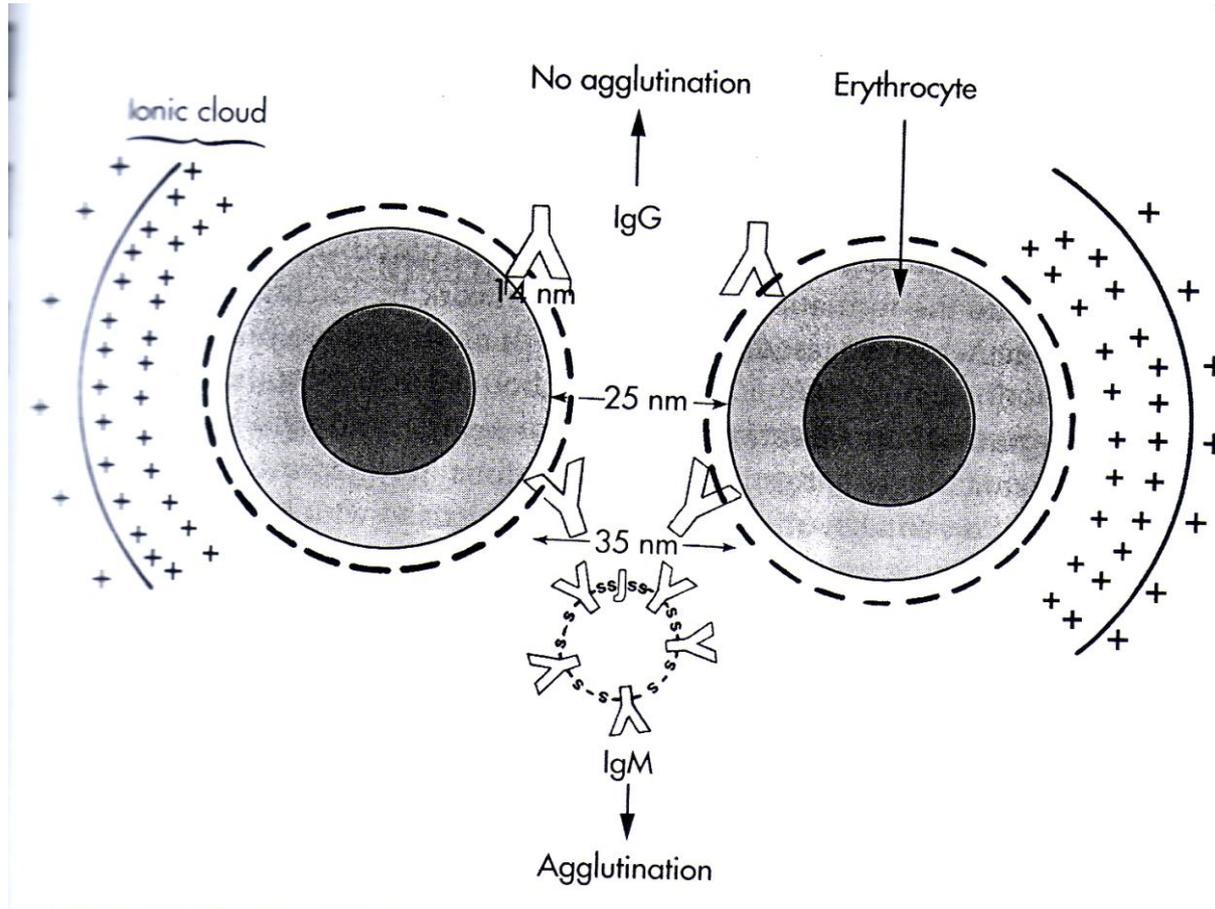
Gli ioni positivi  $\text{Na}^+$  della soluzione fisiologica sono attratti dalla superficie elettronegativa della cellula



Gli ioni negativi  $\text{Cl}^-$  si dispongono all'esterno formando un'atmosfera intorno alla cellula

La superficie dove questa nuvola di ioni si interrompe è detta “superficie di taglio” o “piano di scivolamento” e corrisponde alla zona in cui le cellule si avvicinano maggiormente tra loro, fino a che le cariche negative delle cellule impediscono un ulteriore avvicinamento

## Effetti del potenziale zeta



**Fig. 1-17** Effect of the zeta potential on the second stage of agglutination.

From Harmening D: *Modern blood banking and transfusion practices*, ed 3, Philadelphia, 1994, FA Davis.



Il potenziale elettrico misurato tra la membrana cellulare e questa zona  
“neutra” è detto

*potenziale zeta*



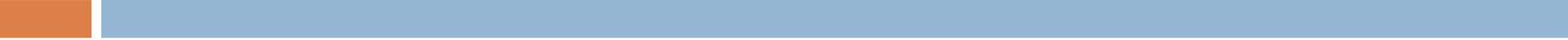
Il potenziale zeta viene calcolato con una formula che considera:

la viscosità

la mobilità elettroforetica della cellula

la costante dielettrica del mezzo di sospensione

Controllando questi fattori si cambia il potenziale zeta e varia la distanza minima tra le cellule



L'agglutinazione di GR vicini sensibilizzati con IgM è facilitata dalle dimensioni superiori e dalla taglia pentamerica delle IgM stesse

mentre le molecole anticorpali IgG poiché sono più piccole non sono in grado di coprire la distanza tra GR determinata dal potenziale zeta

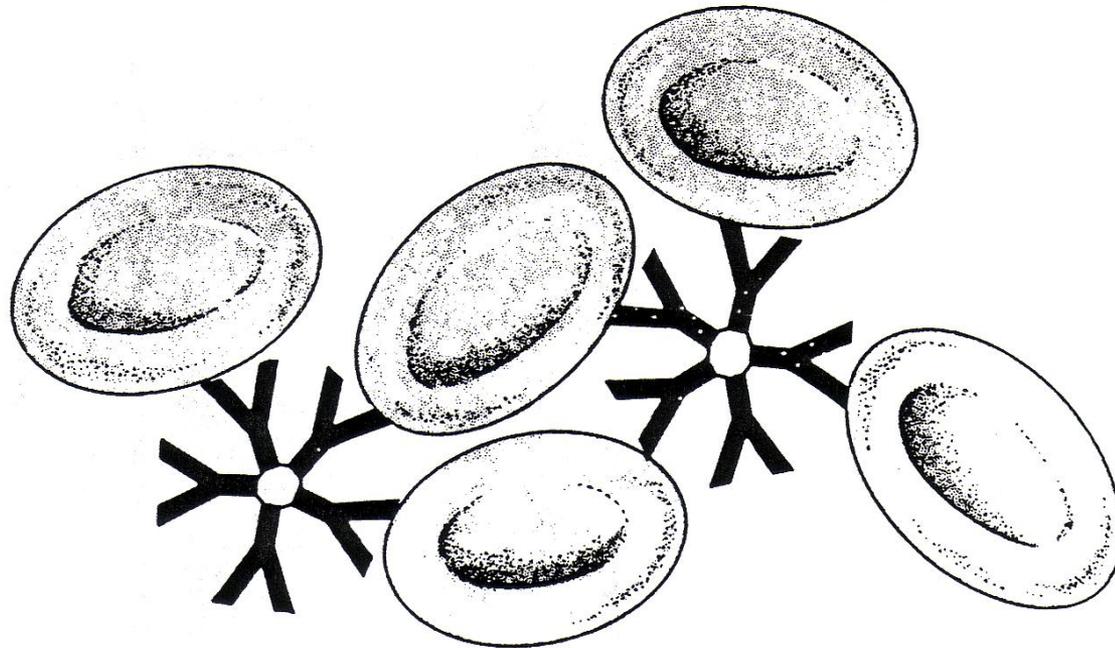
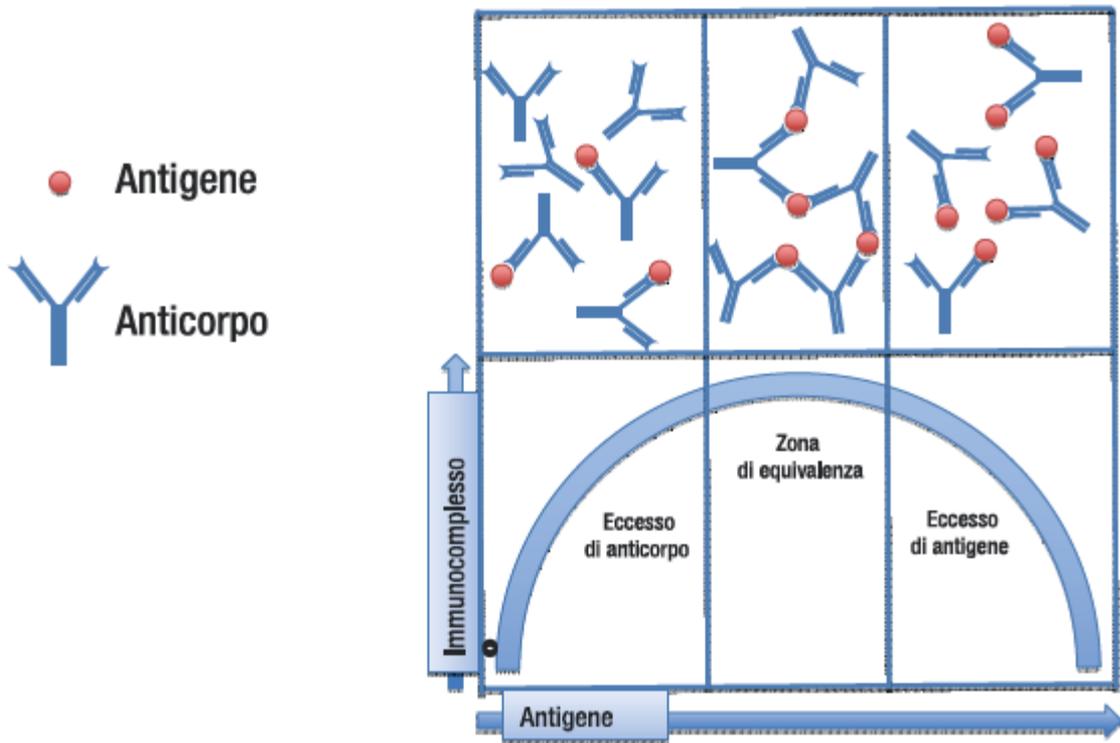


Figura 1.6j Nel caso di anticorpi IgM la reazione di agglutinazione non richiede che venga modificata la distanza tra i globuli essendo le molecole degli anticorpi sufficienti a coprire la distanza tra le cellule sospese in soluzione fisiologica.

La massima agglutinazione si verifica nella zona di equivalenza tra concentrazione dell'antigene e dell'anticorpo.

Se la concentrazione dell'anticorpo (prozona) o dell'antigene è in eccesso l'agglutinazione è subottimale.



## Fattori che influenzano la reazione di agglutinazione

---

Temperatura

Tempo

Concentrazione ionica

pH

## Fattori che influenzano la reazione di agglutinazione

### Temperatura

la maggior parte degli Ab clinicamente significativi sono IgG che reagiscono a 37°C.  
L'incubazione a tale T° potenzia la reazione.

### Tempo

la durata dell'incubazione per una reattività ottimale antigene-anticorpo varia a seconda dei test e dei reattivi utilizzati.

## Fattori che influenzano la reazione di agglutinazione

### Concentrazione ionica

se si riduce la carica ionica dell'ambiente aumenta la quantità di Ab che aderisce ai GR

### pH

quello ottimale per quasi tutti gli anticorpi è quello fisiologico intorno a 7.0



Il legame di un anticorpo con l'antigene e l'eventuale visualizzazione della reazione dipendono anche:

Struttura molecolare degli anticorpi

Specificità degli anticorpi

Mezzo di reazione

Densità dei siti antigenici e loro disponibilità al legame



## Mezzi potenzianti

Reagenti selezionati per modificare l'ambiente in cui avviene il test e promuovere l'agglutinazione

## Mezzi potenzianti

- ✓ Soluzioni a bassa forza ionica  
(LISS= Low Ionic Strenght Salt)
- ✓ Albumina polimerizzata bovina
- ✓ Enzimi proteolitici  
(ficina, papaina, tripsina, bromelina)

## Mezzi potenzianti

- ✓ Soluzioni a bassa forza ionica  
(LISS= Low Ionic Strength Salt)

In soluzione fisiologica l' $\text{NaCl}$  si dissocia producendo ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  che si concentrano attorno agli eritrociti. Quando anticorpo ed antigene interagiscono alcuni di questi ioni rimangono intrappolati nel legame e devono essere allontanati perché si formi un legame saldo. Le soluzioni in cui la concentrazione dei due ioni è inferiore a quella della fisiologica vengono dette LISS.

## Mezzi potenzianti

### ✓ Albumina polimerizzata bovina

Aumenta la costante dielettrica del mezzo e di conseguenza diminuisce il potenziale zeta riducendo la distanza tra le cellule e favorendone l'agglutinazione

Influenza in modo insignificante il legame antigene-anticorpo, mentre esercita una significativa influenza nella seconda fase del processo di agglutinazione.

## Mezzi potenzianti

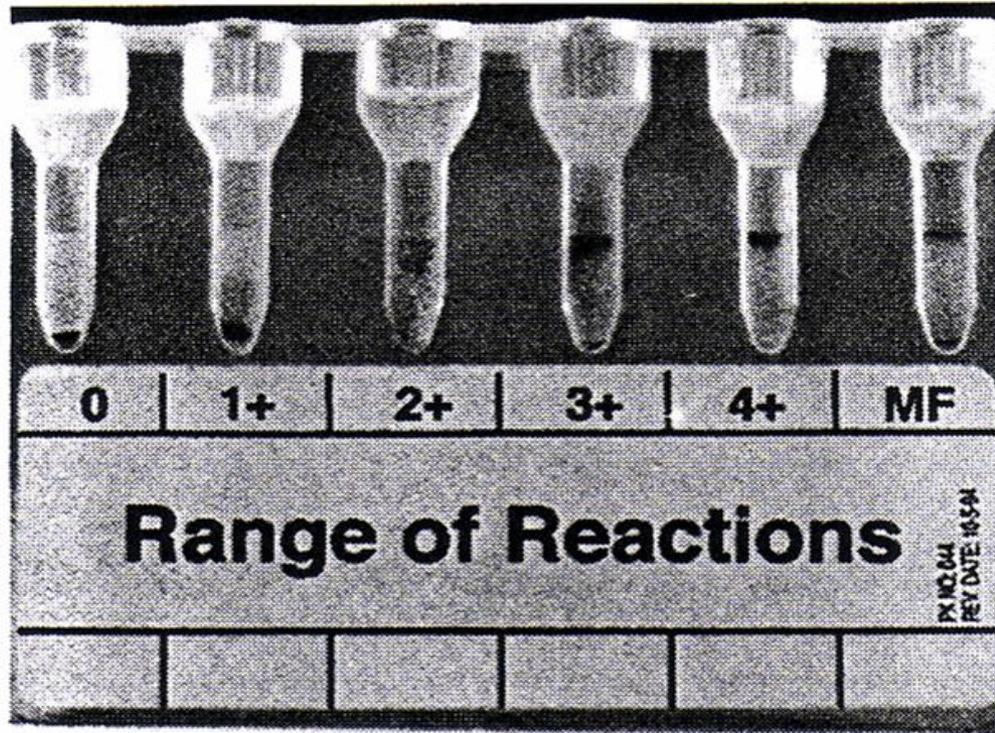
- ✓ Enzimi proteolitici (ficina, papaina, tripsina, bromelina)

Sono in grado di scindere alcuni legami peptidici delle proteine. La tripsina possiede l'azione più specifica spezzando le catene polipeptidiche in corrispondenza della lisina e dell'arginina, mentre gli altri enzimi agiscono in modo meno determinato. In seguito al trattamento enzimatico le cellule vengono private delle parti terminali delle proteine e degli oligosaccaridi (acido sialico) connessi, in tal modo riducendo anche la carica negativa degli eritrociti.

# Mezzi potenzianti

✓ Enzimi proteolitici (ficina, papaina, tripsina, bromelina)

- dopo il trattamento enzimatico non è più possibile ritrovare alcuni antigeni (M, N) ed anche gli antigeni S, s, Fy<sup>a</sup> vengono persi dopo trattamento enzimatico
- altri sono alterati in maniera parziale
- in altri casi si potenzia la reazione antigene-anticorpo sulle emazie trattate, rimuovendo gli oligosaccaridi terminali risultano maggiormente esposti altri antigeni che possono meglio reagire con i corrispondenti anticorpi (Rh)



**Fig. 2-11 Range of reactions in gel testing.**

Courtesy Ortho Clinical Diagnostics, Raritan, NJ, and Micro Typing Systems, Pompano Beach, Fla.



La presenza di anticorpi gruppo-ematici non è sempre conseguente al contatto con antigeni eritrocitari.

Esistono in natura, nei vegetali e nei batteri, alcune strutture chimiche che assomigliano agli antigeni eritrocitari.

Gli anticorpi prodotti in risposta a questi immunogeni non eritrocitari vengono detti

anticorpi naturali

## Test immunoematologici che prevedono il TCI

- ricerca anticorpale
- identificazione della specificità anticorpale
- crossmatch
- tipizzazione eritrocitaria

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione			
Ricerca anticorpale			
Identificazione anticorpale			
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
-----------	-------	-----------------------	------------------------

Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D		
--------------	------------------------------------	--	--

Ricerca anticorpale

Identificazione anticorpale

Crossmatch

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	
Ricerca anticorpale			
Identificazione anticorpale			
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB anti-D del commercio
Ricerca anticorpale			
Identificazione anticorpale			
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti		
Identificazione anticorpale			
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	
Identificazione anticorpale			
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	Siero del paziente
Identificazione anticorpale			
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	Siero del paziente
Identificazione anticorpale	Identificare la specificità degli anticorpi antieritrocitari		
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	Siero del paziente
Identificazione anticorpale	Identificare la specificità degli anticorpi antieritrocitari	Pannello di cellule a specificità antigenica nota	
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	Siero del paziente
Identificazione anticorpale	Identificare la specificità degli anticorpi antieritrocitari	Pannello di cellule a specificità antigenica nota	Siero del paziente
Crossmatch			

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	Siero del paziente
Identificazione anticorpale	Identificare la specificità degli anticorpi antieritrocitari	Pannello di cellule a specificità antigenica nota	Siero del paziente
Crossmatch	Determinare la compatibilità sierologica tra donatore e paziente prima della trasfusione		

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	Siero del paziente
Identificazione anticorpale	Identificare la specificità degli anticorpi antieritrocitari	Pannello di cellule a specificità antigenica nota	Siero del paziente
Crossmatch	Determinare la compatibilità sierologica tra donatore e paziente prima della trasfusione	Eritrociti del donatore	

## Procedure di routine nel laboratorio di immunoematologia

Procedure	Scopo	Origine dell'antigene	Origine dell'anticorpo
Tipizzazione	Identificare gli antigeni A, B e D	Eritrociti del paziente	Anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D del commercio
Ricerca anticorpale	Identificare gli anticorpi diretti contro gli eritrociti	Screening cells	Siero del paziente
Identificazione anticorpale	Identificare la specificità degli anticorpi antieritrocitari	Pannello di cellule a specificità antigenica nota	Siero del paziente
Crossmatch	Determinare la compatibilità sierologica tra donatore e paziente prima della trasfusione	Eritrociti del donatore	Siero del paziente

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN								
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>							
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	-	
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869

AUTO

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL					DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN									
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>							
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	-	
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869

AUTO

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL				DUFFY		KIDD	Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN							
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>			
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	+	
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869

AUTO

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN									
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>								
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	-		
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+	+
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	-

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869

AUTO

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN							
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>						
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	-
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	-

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869

AUTO

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN				
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>			
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	-
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869

AUTO

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN					
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>				
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	-
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	+	+	
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869

AUTO

N°	Rh-hr	Rh-hr								KELL						DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN								
		D	C	E	c	e	f	Cw	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>		Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S		s	P <sub>1</sub>	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>					
1	R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	+	+	0	0	+		+		0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	-
2	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0		0		0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+
3	rr	0	0	0	+	+		0		+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	-

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

LOT NO.  
BVS 48 NF

EXP. DATE  
2004-12-30

CCYY-MM-DD



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.  
a Johnson & Johnson company

BioVue Screen™  
Antigram® Antigen Profile

©OCD 2003 Raritan, NJ 08869









# Ortho Clinical Diagnostics

9000 Central Exp. 2015-2019

PATIENT NAME V. QONSA 107X4408

PATIENT ID: CA 70900

DATE

NOV 24 10 1900

CONCLUSION

Group A

Lot No. 6R3964

Exp. Date 2020-10-27

0074 00 10

**Panel B**

Reagent Red Blood Cells  
0.8% Resolve<sup>2</sup> Panel B  
ANTIGRAM<sup>®</sup> Antigen Profile

REFLECT 101

*Anti-M*

Cell	Rhr	Donor Number	Rh-ir										KELL					DUFFY				KID		Sex (Male)		LEWIS		MNS			P	LHDM		Special Antigen Typing	Test Results	
			D	C	c	e	1	C <sup>w</sup>	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Xg <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	S	s	M	N	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	L <sup>w</sup>	L <sup>x</sup>					
11	R	303617	0	0	0	-	+	-	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	HLA-	12	- NEG	
12	R	315492	0	0	0	-	+	-	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	13	+3	
14	R	115380	0	0	0	-	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	14	+3	
16	R0R0	317498	+	0	+	-	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	HLA-	15	+3		
16	R0R0	304370	-	0	+	-	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	16	- NEG	
17	R0R0	325900	+	0	+	-	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	17	+3	
18	R1R1	218502	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	HLA-	18	+3	
19	R1R1	218627	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	M(H), HLA	19	+2	
20	R0R1	305136	+	+	0	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	HLA-	20	+3		
21	R	317360	0	+	0	-	+	-	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	HLA-	21	+2		
22	R	218521	0	0	0	-	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	22	+3
Patient Cells																																				
Mode of Reactivity			37°C AntiGlobulin										AntiGlobulin					Variable		Cold			Var.													

Shaded cells indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment. \*\* indicates that "react" to new donors.

Cell	Additional Cells		Rh-ir										KELL					DUFFY				KID		Sex (Male)		LEWIS		MNS			P	LHDM		Special Antigen Typing	Test Results
	Rhr	Donor Number	D	C	c	e	1	C <sup>w</sup>	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Xg <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	S	s	M	N	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	L <sup>w</sup>	L <sup>x</sup>				

LabWADBaqlyEF1-mh... 100% In-house

vfrs-herenfrf7Amidse-0m-f-1

# Ortho Clinical Diagnostics

5000 Central Exp. Blvd. Columbus, GA 31906

PATIENT NAME: VANDERSA, MARY ELLEN

PATIENT ID: GA 700900

DATE: 08/04/14

CONCLUSION: Anti-M

*Anti-M*

Lot No. 6R3964

Exp. Date 2020-10-27

**Panel B**

Reagent Red Blood Cells  
0.8% Resolve<sup>2</sup> Panel B  
ANTIGRAM<sup>®</sup> Antigen Profile

REFLECT 181

Cell	Rh-ir	Donor Number	Rh-ir										KELL					DUFFY				KID			Lewis			MNS			P		LHDSM		Special Antigen Typing	Test Results
			D	C	c	e	1	C <sup>w</sup>	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	S	s	M	N	P <sub>1</sub>	L <sup>w</sup>	L <sup>s</sup>							
11	R+	303647	0	0	0	-	+	-	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	12	- NEG		
12	R+	315492	0	0	0	-	+	-	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	13	+3			
14	R+	115330	0	0	0	-	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	14	+3			
16	R0R0	317496	+	0	+	-	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	-	+	0	0	0	+	0	+	0	+	HLA-	15	+3			
16	R0R0	304370	-	0	+	-	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	16	- NEG			
17	R0R0	325900	+	0	+	-	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	17	+3			
18	R1R1	218502	-	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	M(H), HLA	18	+3			
19	R1R1	218427	-	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	M(H), HLA	19	+2			
20	R0R1	305136	-	+	+	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	20	+3			
21	R+	317360	0	+	0	-	+	-	0	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	21	+2				
22	R+	218521	0	0	0	-	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA-	22	+3			
Patient Cells																																				
Mode of Reactivity			37°C Antiglobulin										Antiglobulin					Variable			Cold		Var.													

Shaded cells indicate those antigens which are destroyed or destroyed by enzyme treatment. \*\* indicates that "react" to new donors.

Cell	Additional Cells		Rh-ir										KELL					DUFFY				KID			Lewis			MNS			P		LHDSM		Special Antigen Typing	Test Results
	Rh-ir	Donor Number	D	C	c	e	1	C <sup>w</sup>	V	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	S	s	M	N	P <sub>1</sub>	L <sup>w</sup>	L <sup>s</sup>							

Lab # DB 8414 EF 1-10-14 1:00 PM 8/4/14



