

Bevezetés a vércsoport-szerológiai vizsgálatokba

dr. Földi Éva
OVSZ Szegedi Regionális Vérellátó Központ

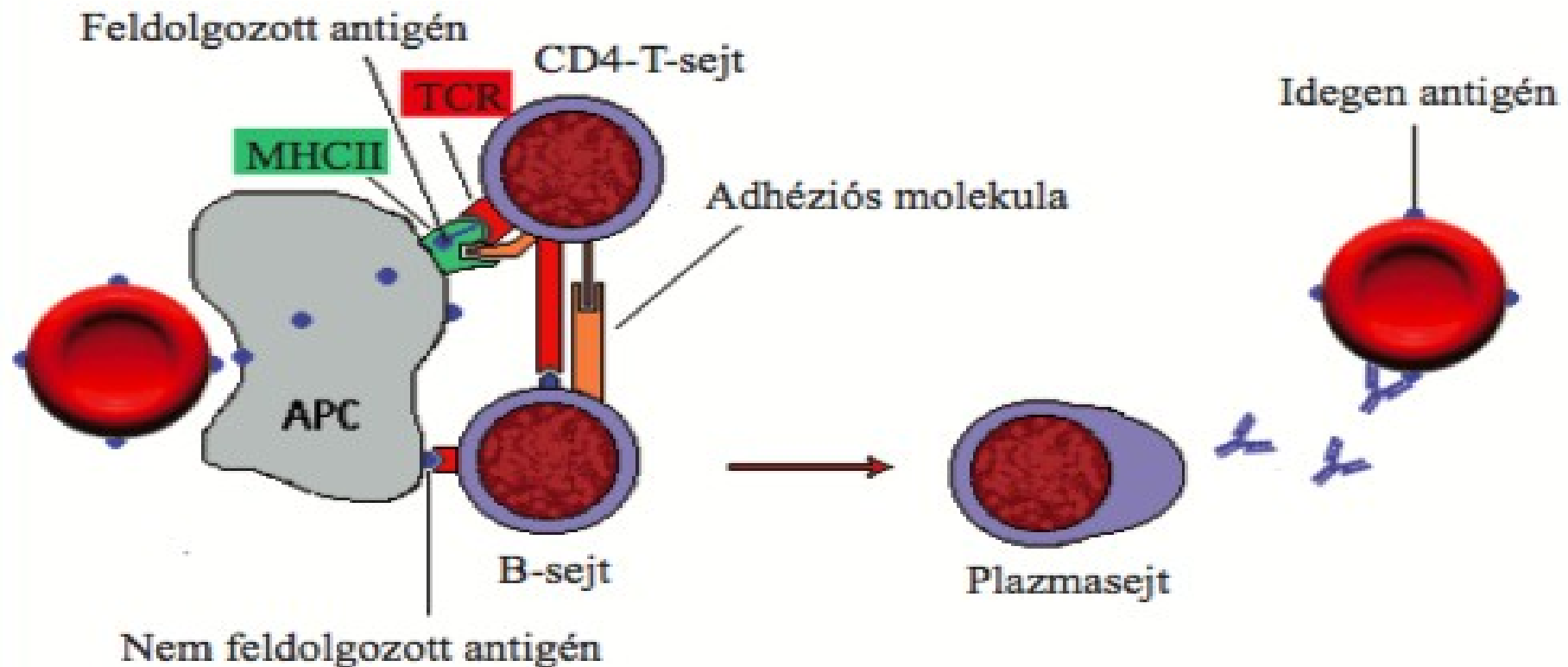
2018. január

Mivel foglalkozik a vércsoport-szerológia?

- Vércsoport szerológiai kompatibilitás:
 - *Kompatibilitás:*
a donor vörösvérsejtjei a recipiens keringésében normális túlélést mutatnak
 - *Szerológiai kompatibilitás:*
a recipiens savójában nem mutatható ki ellenanyag a donor vörösvérsejt antigénjei ellen
 - Cél: a hemolitikus transzfúziós szövődmény és az alloimmunizáció megelőzése

Fogalmak

- **Alloimmunizáció:** az azonos fajon belüli, idegen antigénekkal szemben kialakuló immunválasz (humorális immunitás – ellenanyagok – komplement rendszer és /vagy monocyta,macrophag rendszer aktiválódik)



• Hemolitikus transzfúziós szövődmény

- **azonnali:** a tüneteket a transzfundált vvt-k szinte azonnali szétesése okozza (döntően intravascularis hemolízis)
 - Rossz közérzet, gyengeség, hányinger, mellkasi és háti fájdalom, hidegrázás, láz, tachycardia, dyspnoe, hypotenzió, gyors anaemizálódás, hemoglobinuria, DIC, oliguria/anuria, sokk – gyakran fatális, háttérében ABO inkompatibilis transzfúzió áll
- **késői:** szintén a transzfundált vvt-k szétesése okozza, amit a transzfúziót követően megjelenő, ellenük termelődött antitestek váltanak ki (inkább extravascularis hemolízis)
 - a várt Hgb emelkedés elmarad ± icterus
 - az antitestek a transzfúziót követő 7-14. naptól mutathatók ki, de 3 hónapig számítani kell megjelenésükre – megelőzni nem lehet, a transzfúzió indikációját minden esetben alaposan mérlegelni kell

Mivel foglalkozik a vércsoport-szerológia?

A kompatibilitási vizsgálat elemei:

- Laboratóriumi vércsoport-meghatározás

ennek része:

- *AB0 meghatározás kétoldalas technikával*
- *RhD meghatározás*
- *Ellenanyagszűrés* – pozitív ellenanyagszűrés esetén az ellenanyag azonosítása, sz.e. további vizsgálatok
- *DAT vizsgálat*

- Laboratóriumi keresztpróba

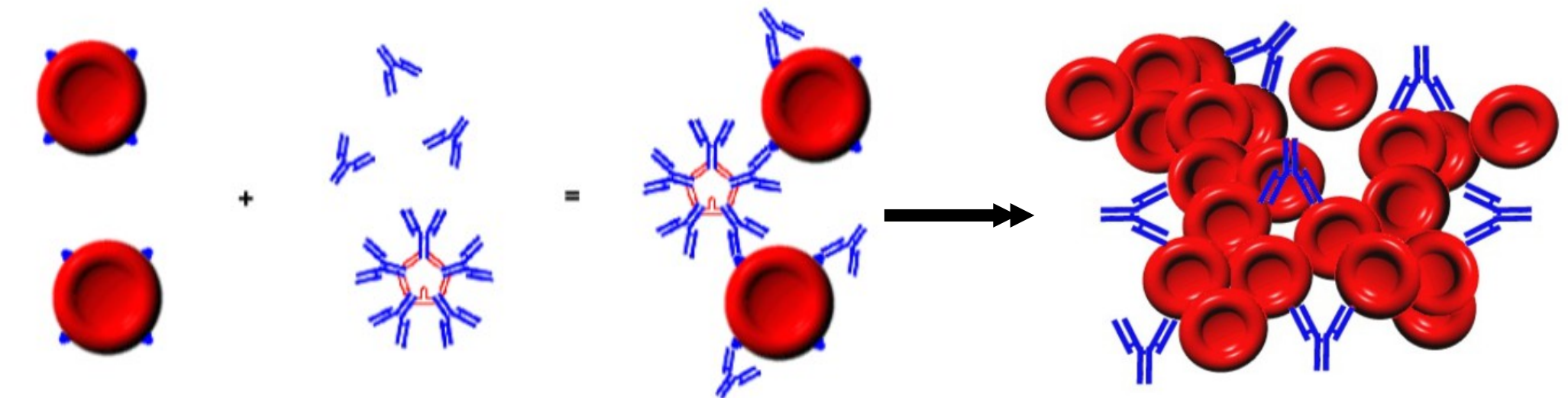
Szerológiai vizsgálatok

- Antigén (sejt felszínén) és antitest (savóban) reakcióján alapulnak
- In vitro antigén és antitest reakció eredményezhet:
 - **Agglutinációt**
 - Szenzitizálódást agglutináció nélkül
 - Komplement közvetítette hemolízist
 - Komplementfixációt hemolízis nélkül

Szerológiai vizsgálatok

- Antigén kimutatása: (az antigén számunkra ismeretlen) ismert specificitású antitesttel (tesztsavó, reagens) pl.: AB0 és Rh tulajdonság meghatározás
- Antitest kimutatása: (az antitest számunkra ismeretlen) ismert antigén-tulajdonságú sejttel (tesztsejtek, paneelsejtek) pl.: ellenanyagszűrés

Agglutináció



Erythrocytes with antigen "blue"

Antibody against antigen "blue"

- Binding to erythrocytes
- Agglutination of erythrocytes
- Eventually complement activation

Specifikus fázis: a specifikus antigén-antitest kötődés

Aspecifikus fázis: az immunkomplexek makroszkópos térrácsba rendeződnek, ez általában szemmel látható reakciót eredményez

AB0 rendszer antigénjei

- Szénhidrátok
- Közös prekurzorból, a H anyagból alakulnak ki
- 2 antigén jelenléte/hiánya 4 vércsoportot határoz meg – „0” esetén a H anyag változatlan marad
- Vvt, fvs, thr, egyéb sejtek felszínén, testnedvekben

A („A” antigén)

B („B” antigén)

AB („A” és „B” antigén)

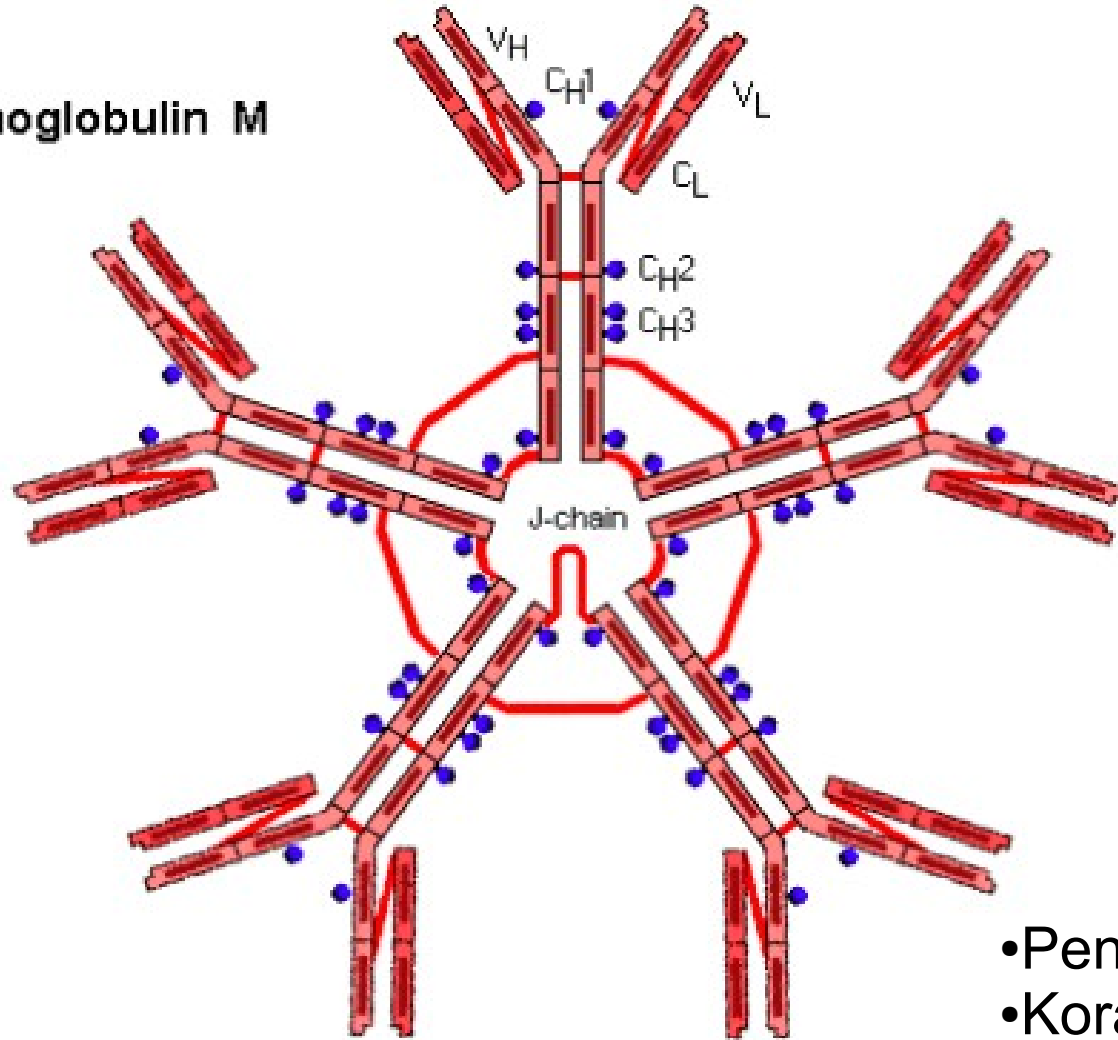
0 (nincs „A” és „B” antigén)

AB0 rendszer antitestjei

- **anti-A és anti-B** antitest
- Természetes módon fordulnak elő minden egyén savójában, REGULÁRIS antitestek – egyedül az AB0 vércsoportrendszerénél = klinikailag a legjelentősebb
- 3-6 hónapos korban jelennek meg (bélflóra kialakulásával hozható összefüggésbe, egyértelműen nem tudjuk) – NEM vörösvértestek váltják ki a termelődésüket
- **IgM** típusúak (ritkán IgG, IgA) – direkt agglutinációra képesek

AB0 rendszer antitestjei (IgM)

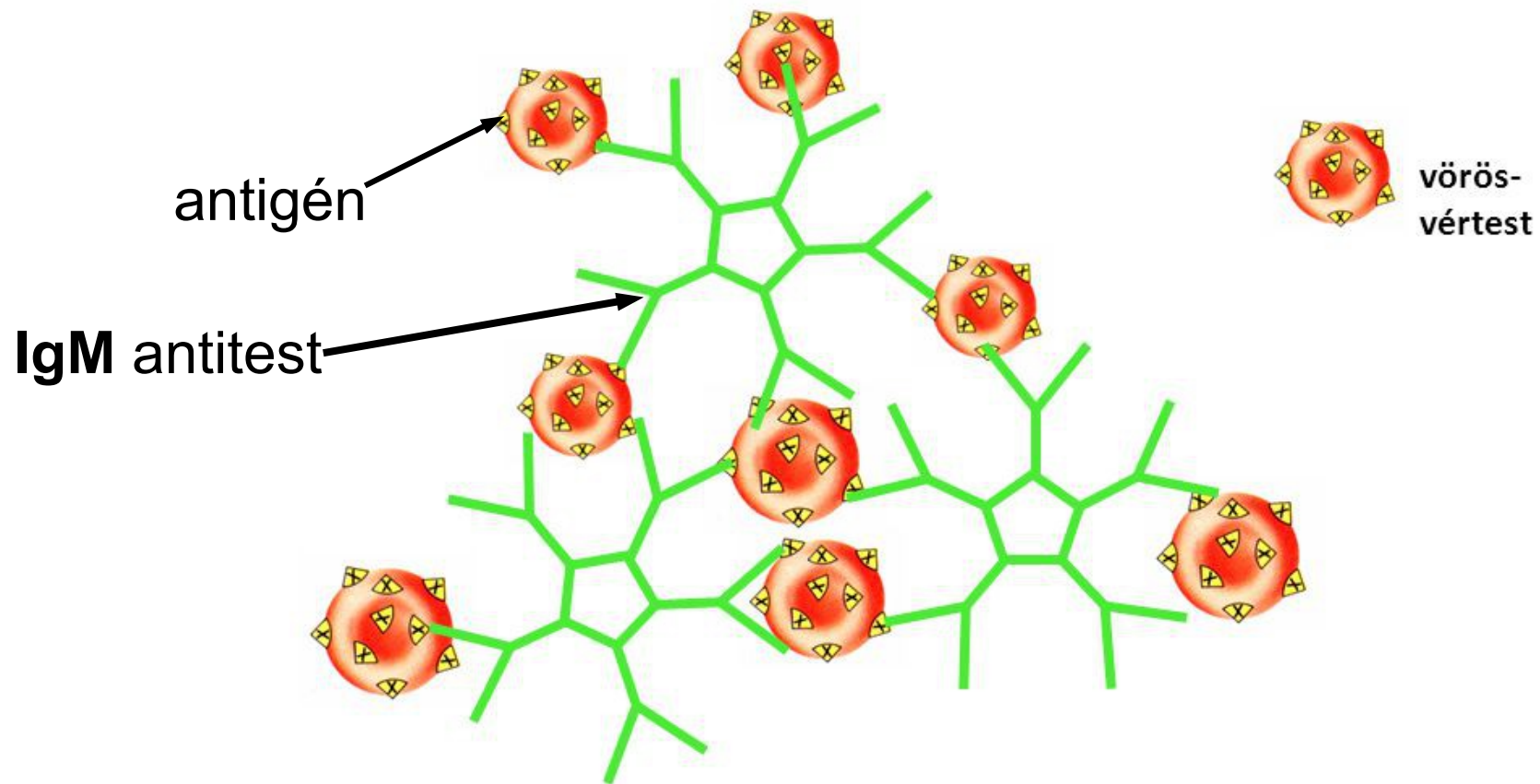
Immunglobulin M



Komplett antitest, **direkt agglutináció** kiváltására képes!

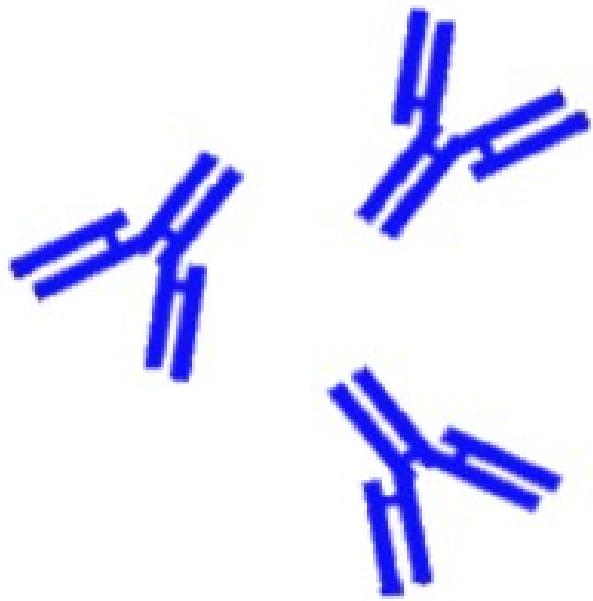
- Pentamer szerkezetű
- Korai immunválaszban termelődik
- Komplementet aktivál
- Hideg típusú antitest

DIREKT AGGLUTINÁCIÓ

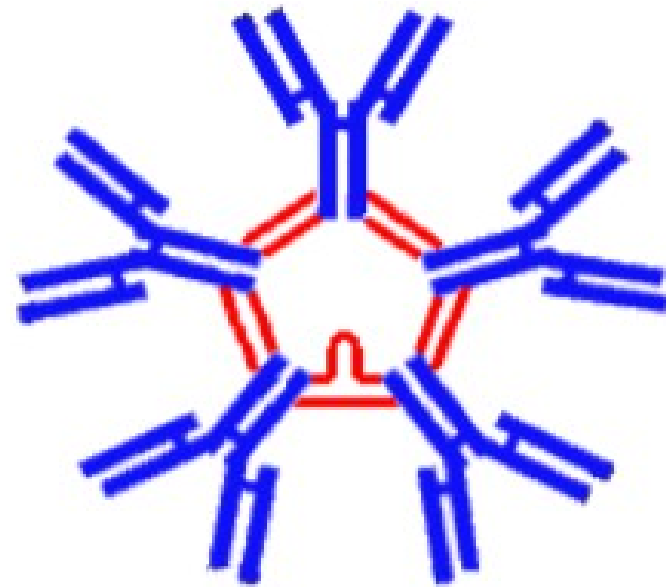


Térrács jön létre

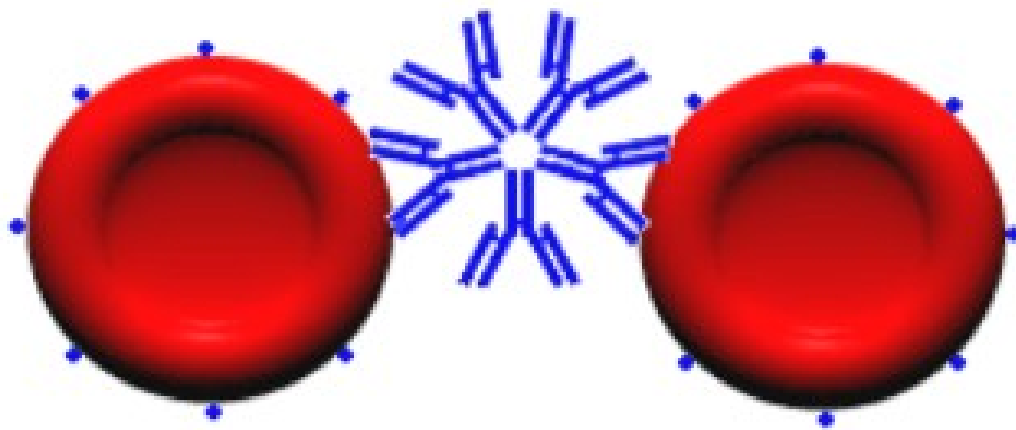
A vvt-k összecsapzódnak (agglutinálódnak), ez szemmel látható reakciót eredményez = **agglutináció**



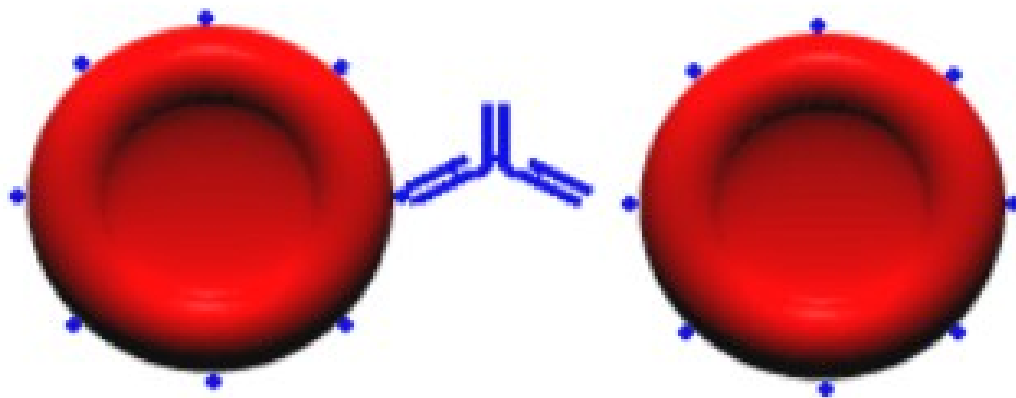
IgG



IgM

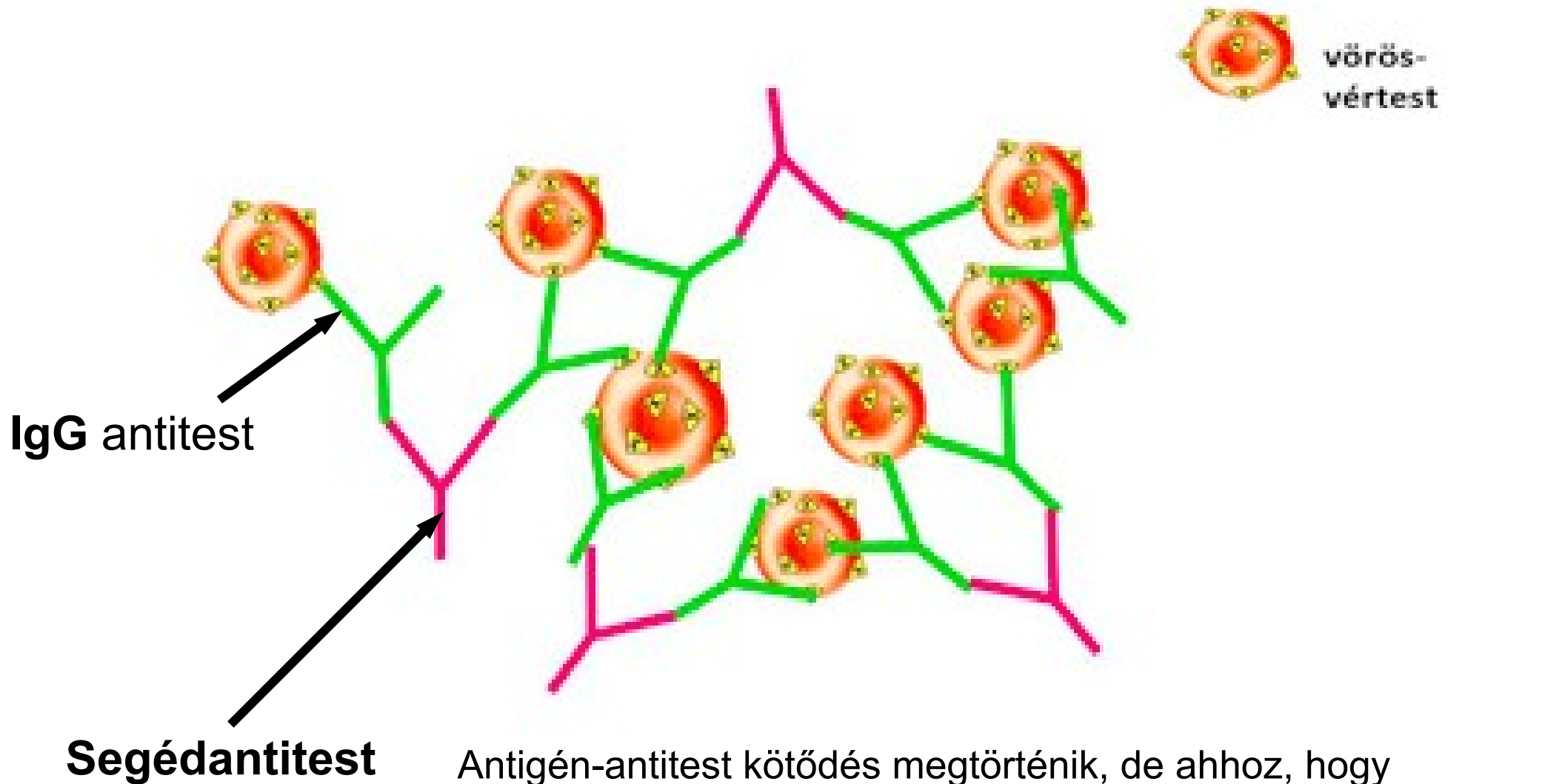


Complete Antibody (IgM)



Incomplete Antibody (IgG)

INDIREKT AGGLUTINÁCIÓ



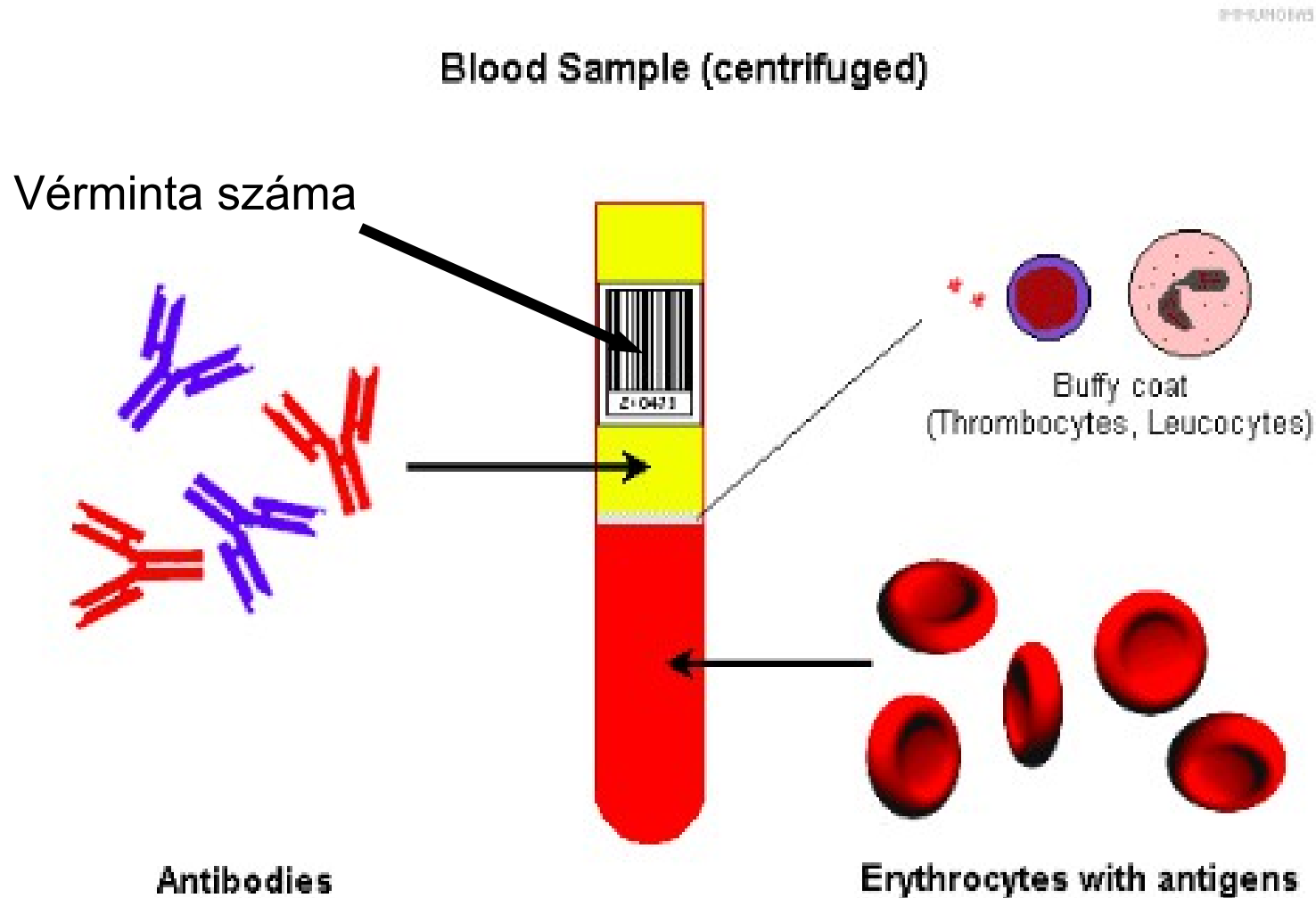
Antigén-antitest kötődés megtörténik, de ahhoz, hogy kialakuljon a rácsszerkezet, és szemmel látható reakciót kapjunk, egy segédantitestre/speciális közegre van szükség.

AB0 vércsoport-tulajdonság meghatározása

- Laboratóriumi meghatározás ún. kétoldalas technikával történik
- „bal oldalon” a vörösvérsejteken lévő A és B antigént/antigéneket mutatjuk ki
- „jobb oldalon” az anti-A és/vagy anti-B antitesteket mutatjuk ki
- **Landsteiner szabály:** az egyén savója normális körülmények között nem tartalmazhatja a saját vörösvérsejtjein található AB0 antigén(ek) ellen irányuló antitestet, de kötelezően tartalmazza a hiányzó antigén elleni antitestet.

Vércsoport meghatározáshoz 1 db EDTA-s minta, vérválasztáshoz 1 db EDTA-s és 1 db natív minta szükséges.

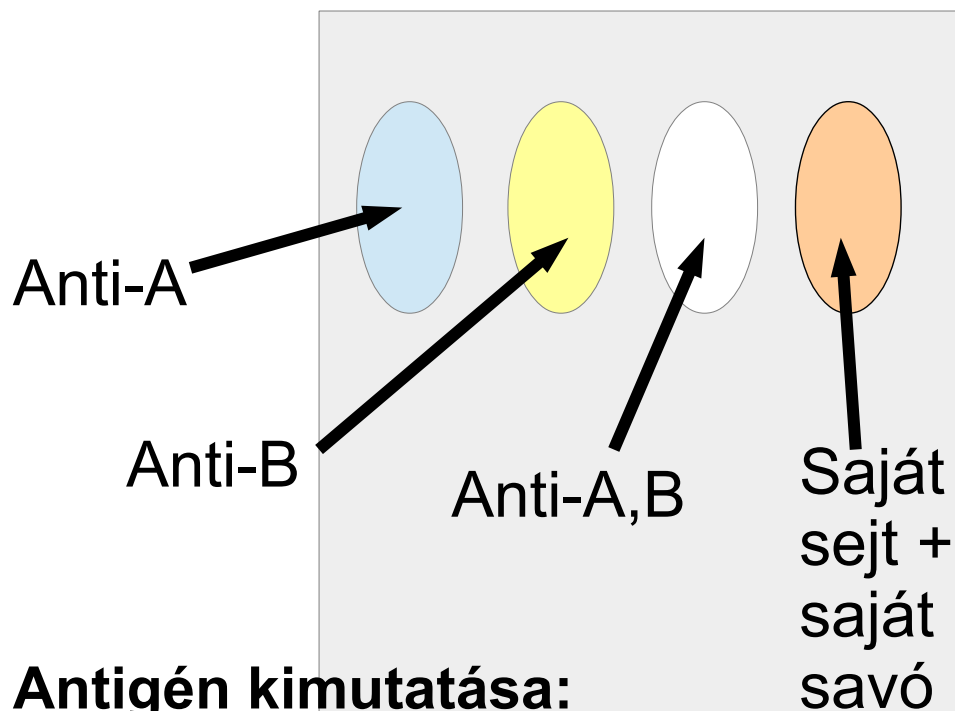
EDTA-s cső centrifugálás után:



AB0 meghatározás – lemezes technika

Bal oldal

Jobb oldal



Antigén kimutatása:

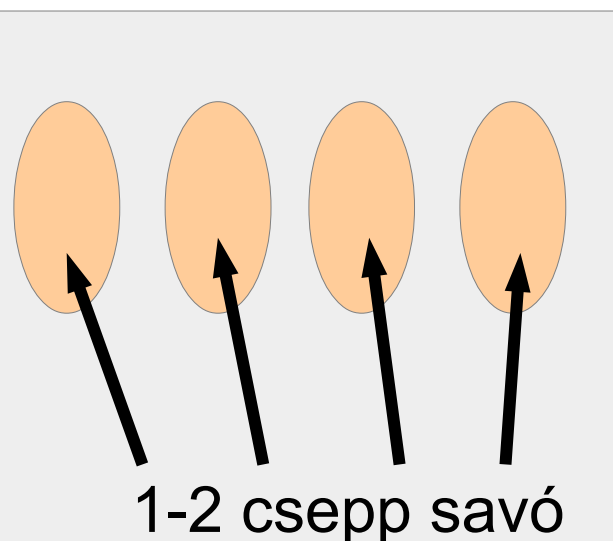
1-2 csepp reagens + 1 csepp vvt szuszpenzió (3-5%).

A reagensek monoklonális antitestet tartalmaznak:

ANTI-A

ANTI-B

ANTI-A,B reagens.



Antitest kimutatása:

1-2 csepp savó + tesztsejtek (3-5%).

A tesztsejtek A1, A2, B, 0 antigéntulajdonságúak, melyek reagálnak a savóban lévő anti-A és/vagy anti-B antitestekkel.

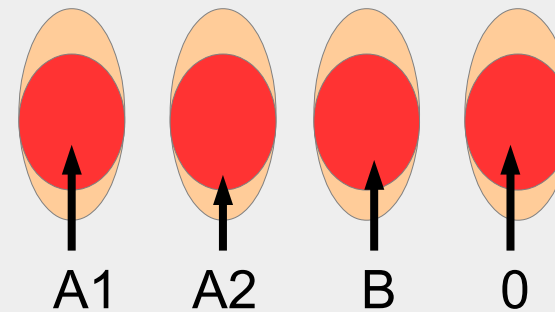
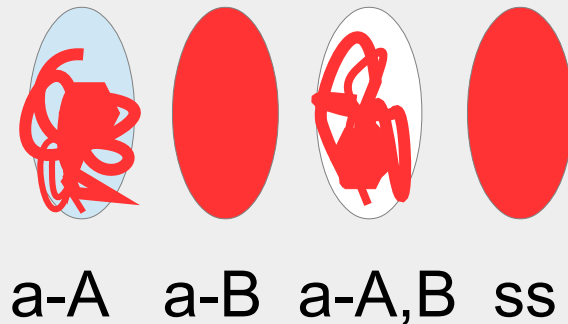
AB0 meghatározás – lemezes technika

Bal oldal

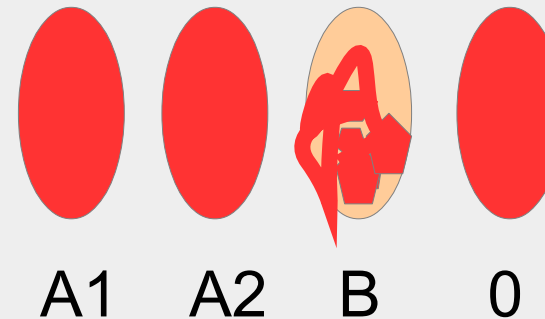
Jobb oldal

1-1 csepp a beteg vvt szuszpenziójából

Ezután kb. 10 perc inkubáció szobahőn, majd az eredmények értékelése a csempe enyhe döntögetésével:



1-1 csepp tesztsejt



Agglutináció értékelése

- Pozitív reakció: agglutináció jelenléte
++++ → +, +/-
- Negatív reakció: agglutináció hiánya
- Kevert mező: a pozitív és negatív reakció egyidejű jelenléte



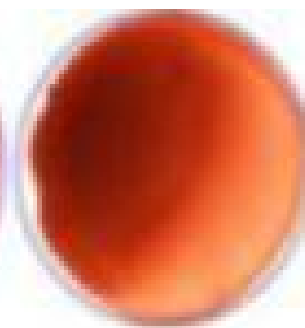
Erős
agglutináció



Szokásos
agglutináció



Gyenge
agglutináció

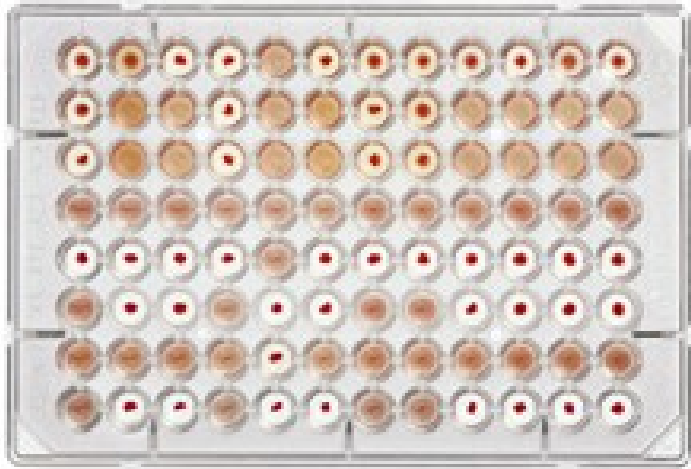


Nincs
agglutináció

AB0 meghatározás – lemezes technika

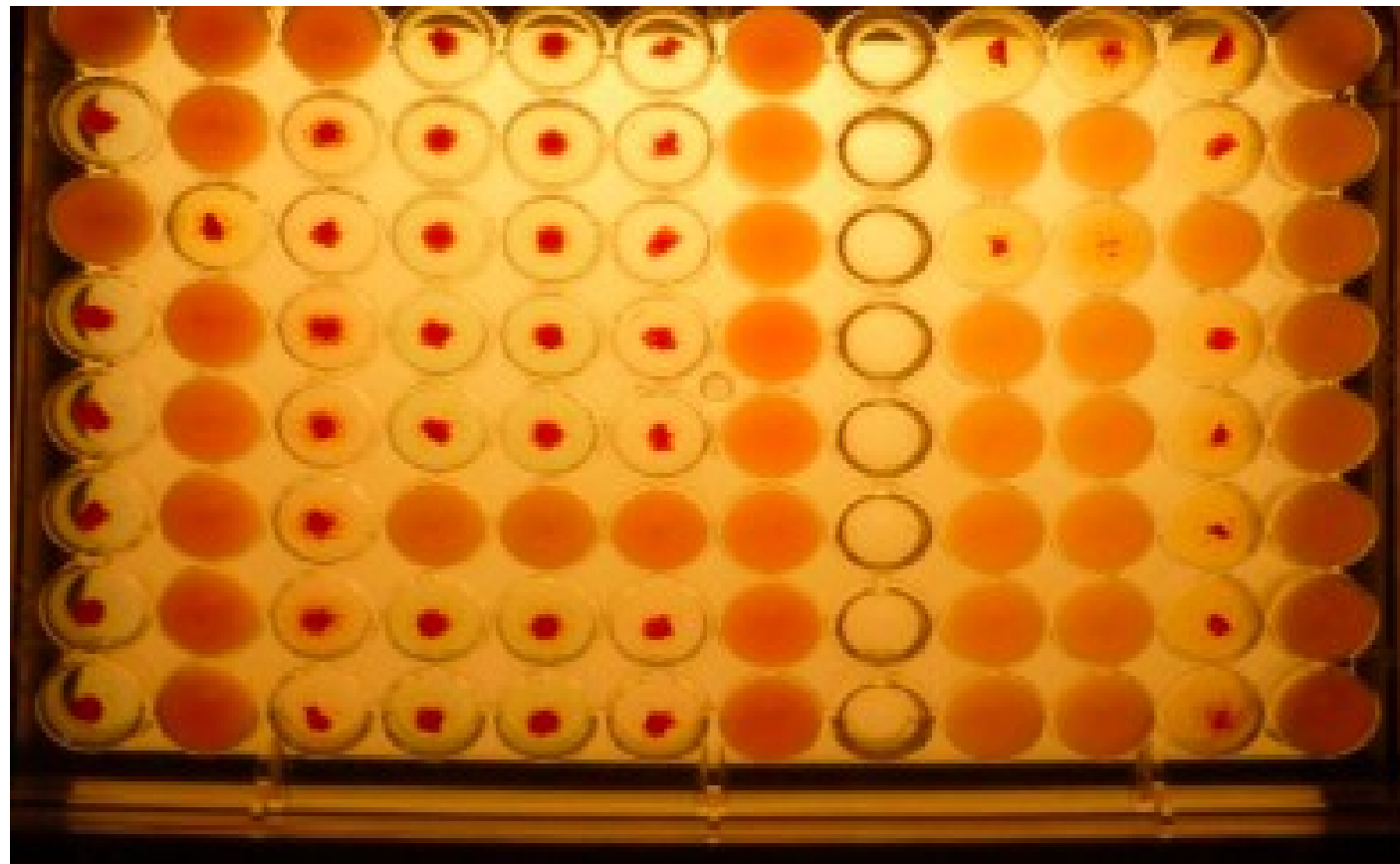


Mikroplate technika

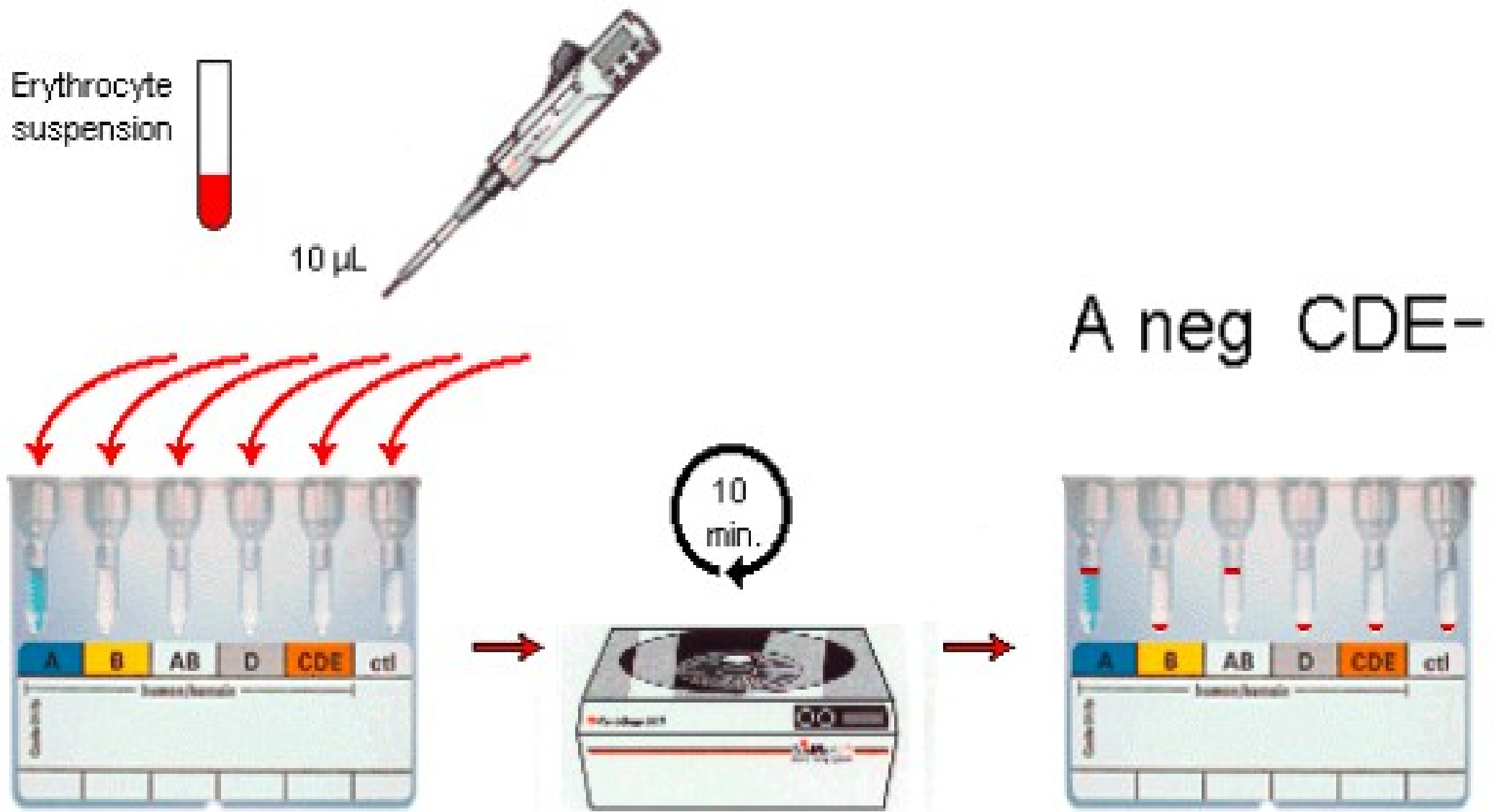


a-A a-B a-A,B a-D a-D CDE+ ss A1 A2 B 0

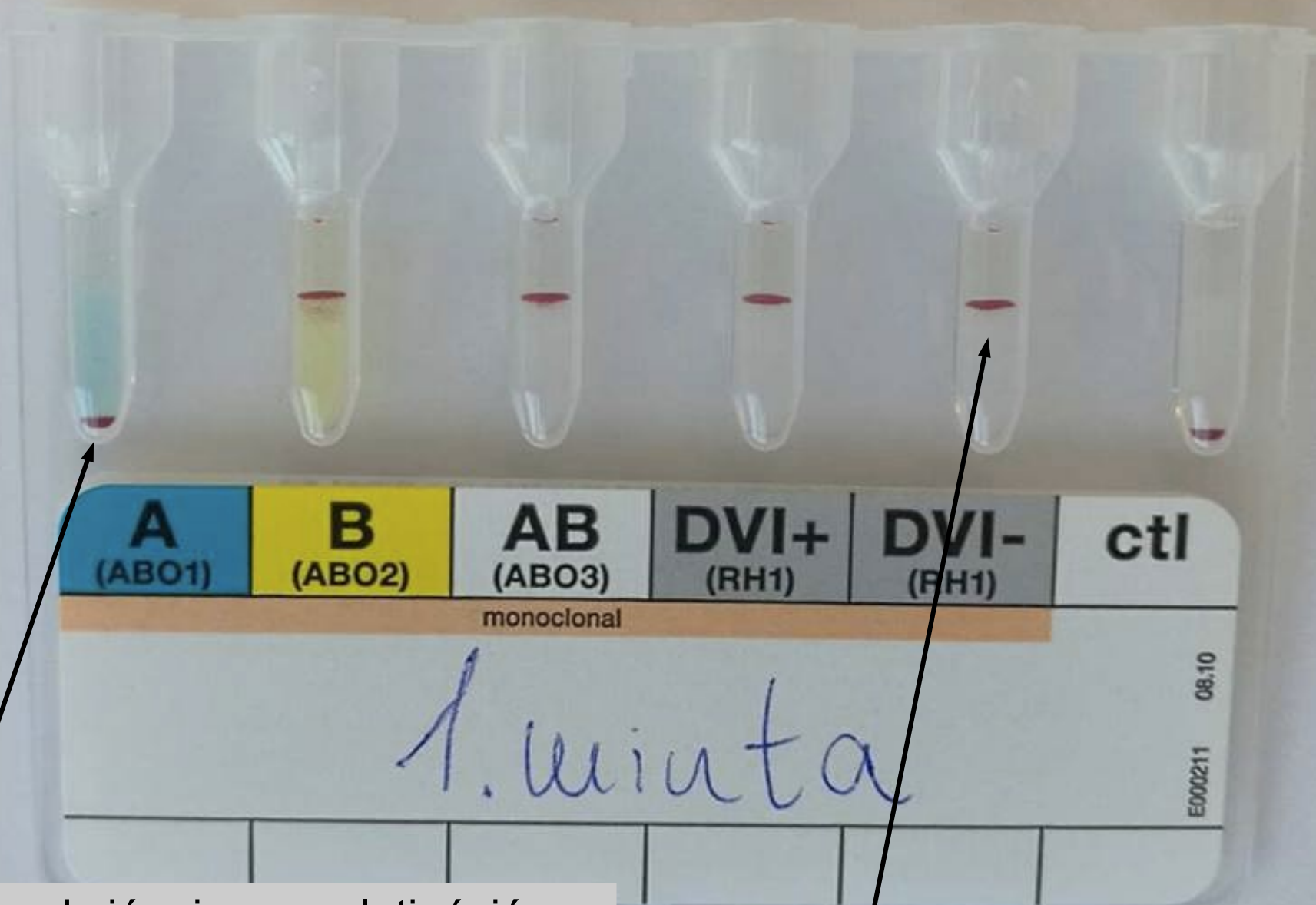
Mikromódszer, egy plate-re több minta fér, költséghatékony.



ABD Determination with the Gel Technique



Gélkártya – oszlopagglutinációs technika



Negatív reakció, nincs agglutináció, a vvt-k a centrifugálás során a gél aljára kerülnek.

++++ erősségű reakció, a térrács miatt a vvt-k nem tudnak áthatolni a gélen



Serafol® ABO+D monoclonal

Serafol® ABO+D

CE 0483 IVD

Reaktion-Karte zur Identifizierung (A, B, D) - System
 Reaktions-Karte für Blood Group Confirmation (A, B, D) - System
 Carte de contrôle prétransfusionnel (Système A, B, D et Rh (D))

1 Karte/Card/Carte

Anti-A (konz. A002) ≥ 200 I.E./ml
 Anti-B (konz. B005) ≥ 200 I.E./ml
 Anti-D (konz. D5) 226g/Mln. Ther. ≥ 1:32

20°C LDT

SIFIN

Serafol® ABO+D


Anti-A


Anti-B


Anti-D

D-Status: negativ
 1007107 2009-07

Serafol® ABO+D


Anti-A


Anti-B


Anti-D

Name: **MUSKASA + DURAN**
 Pat.Nr.: **199**
 Datum: **15.03.2010**

D-Status: positiv
 1007107 2009-07

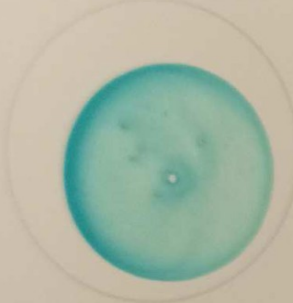

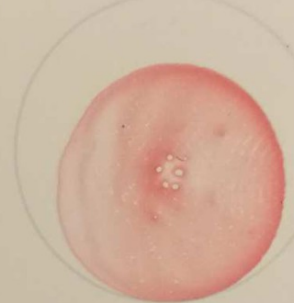


Betegágy mellett (a beteg és a vörösvérsejt-készítmény vércsoport meghatározására)



Véradó donorok előzetes vércsoport meghatározása (anti-D nélkül)



A Serafol kártyát a vérminta kicseppentése előtt töltsük ki a vizsgált személy adataival.

Serafol® ABO+D

			
Anti-A	Anti-B	Anti-D	LOT
 Blut / Blood / Sang	NÉV Name / Nom	ID	
	SZÜL. IDŐ Geb.-Dat. / Date of Birth Date de Naissance	Kons.-Nr. / Unit No. No. Poche	
	DÁTUM Datum / Date	Blutgruppe / Blood Group Groupe Sanguin	
	ALÁÍRÁS Unterschrift / Signature		

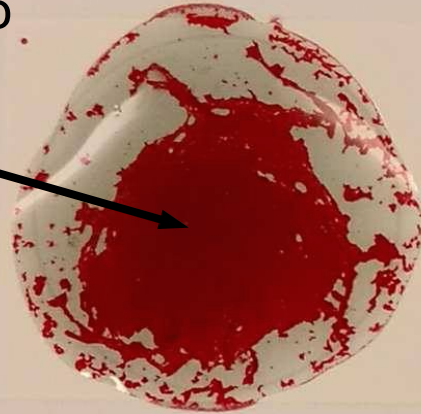
 

0180117 2018-10

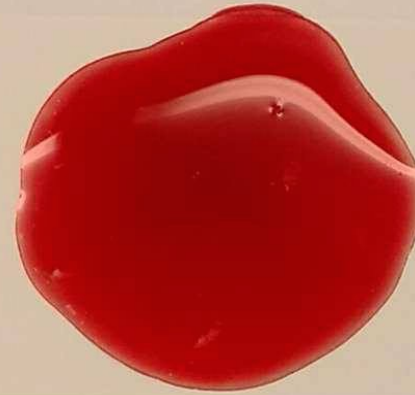
LEJÁRATI IDŐ!!!

Serafol® AB0+D

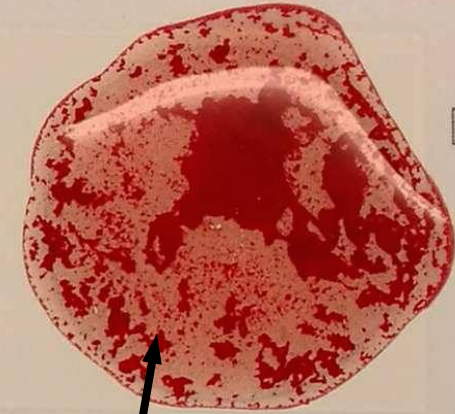
++++ erősségű reakció
(lepényagglutináció)



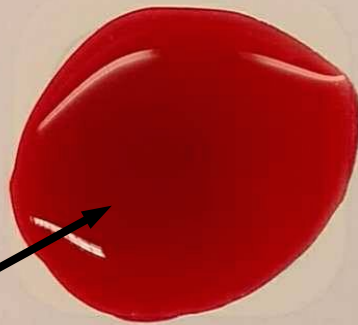
Anti-A



Anti-B



Anti-D



Blut / Blood / Sang



LOT

2018-03

190916

SZ [redacted] Gy [redacted]
Name / Nom ID

19 [redacted]
Geb.-Dat. / Date of Birth Date de Naissance

2017.05.09
Datum / Date

[redacted]
Kons.-Nr. / Unit No. No. Poche

[redacted]
Unterschrift / Signature

A pol

KEVERT MEZŐ?

Kontrollként szolgál: fiz.só és 1 csepp EDTA-s vérminta – ha agglutinációt látunk a vizsgálat **NEM ÉRTÉKELHETŐ!** (AB RhD pozitív, fals eredményt kaphatunk) – OVSZ-ben történő vércsoport meghatározás eredménye a mérvadó (+ transzfúziós utasítás).





































Sifin

BIO-RAD

Kevert mezős reakció

- nem csoportazonos vér transfúzióját követően - szerológiai okok vagy vérkészlet miatt a beteg nem csoportazonos vért kapott ± transfúziós szövődmény
- csontvelő transzplantációt követően
- haematológiai betegség esetén
- chimerizmus

Anti-A Anti-B Anti-D Control

1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				



Köszönöm a figyelmet!