

Coombs technika

Dr. Toldi József

OVSZ Szegedi Regionális Vérellátó
Központ

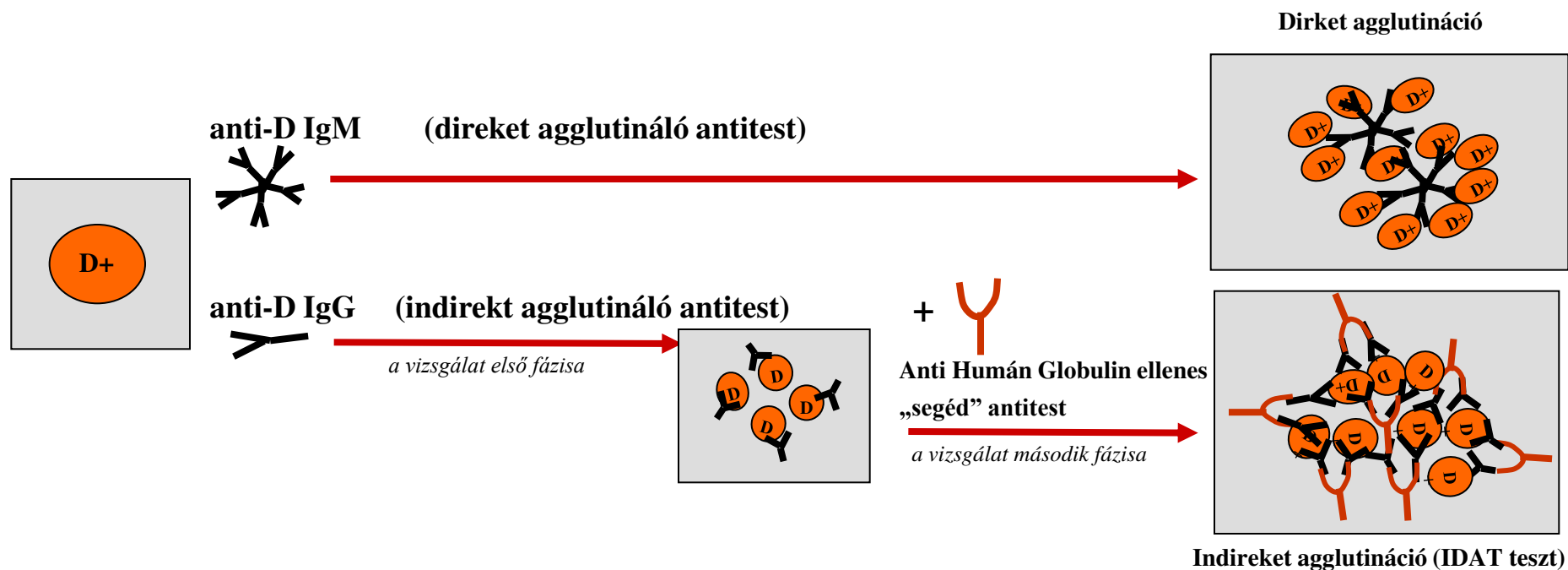
Agglutináció

I. antigén - antitest kapcsoltság

- összetartó erőt nem kovalens kötések alkotják
- lassú
- kétirányú, kezdetben labilis

II. kicsapódás

- gyors
- stabil
- irreverzibilis



❖ Antigén-antitest kapcsolódást befolyásoló tényezők

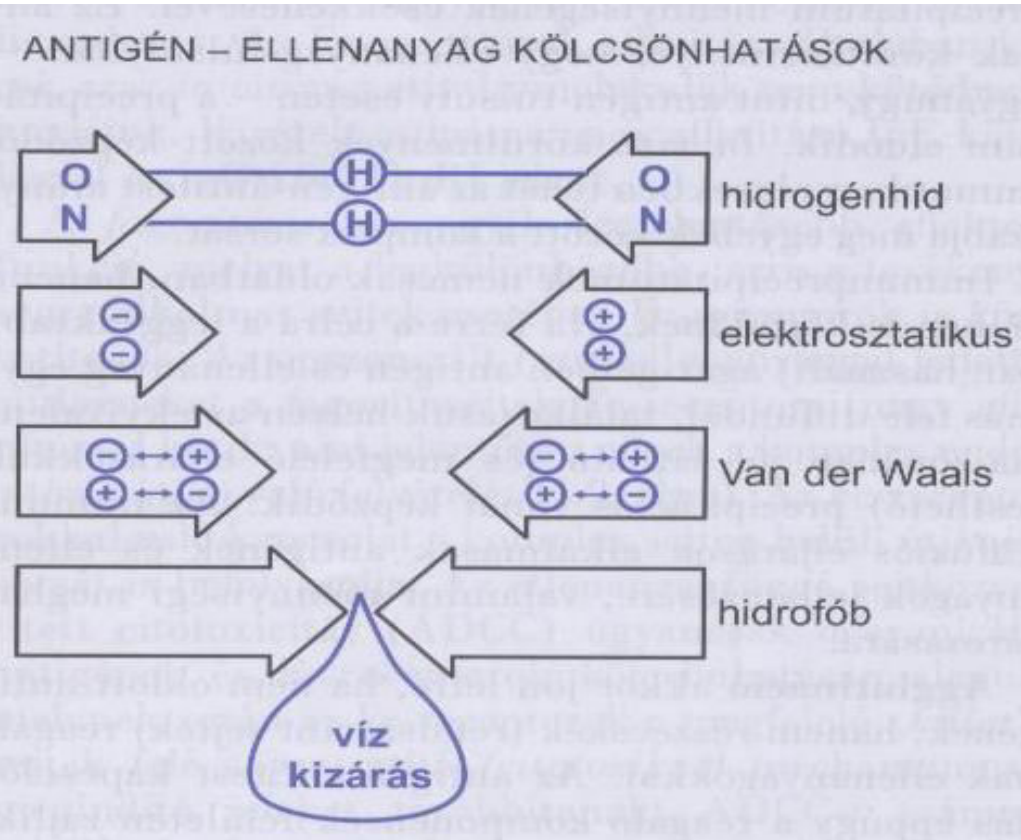
- közeg ion-erőssége
- zeta potenciál
- hőhatás

❖ Kicsapódást befolyásoló tényezők

- antitest koncentráció
- enzimhatás
- centrifugálás

Antigén - antitest reakciók

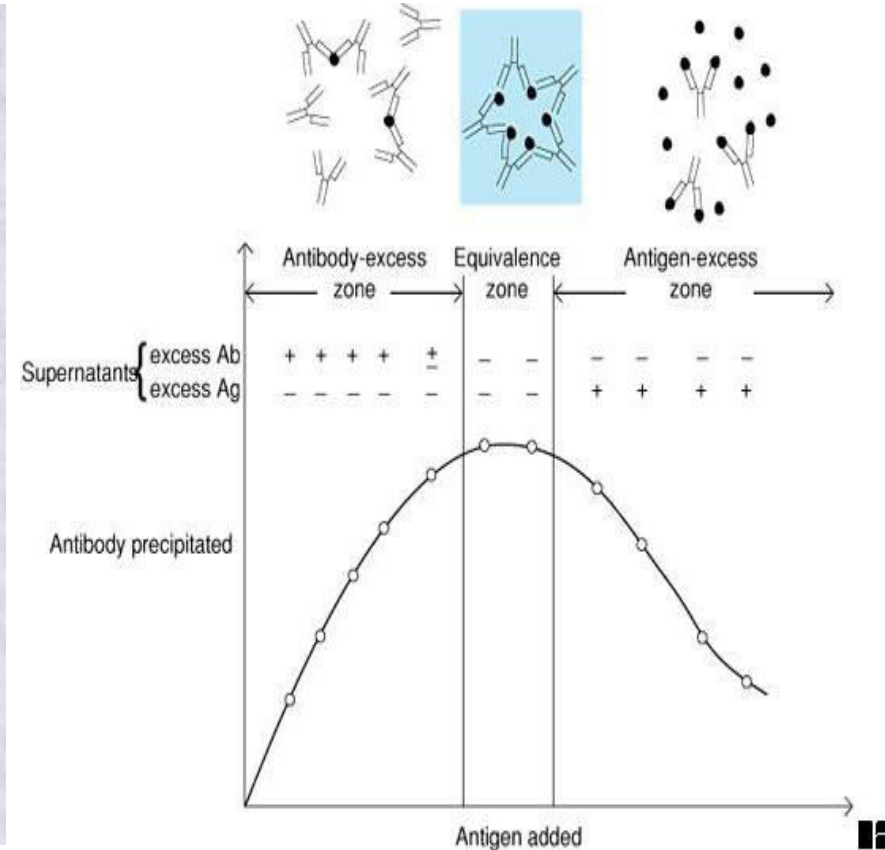
- Kötési erők



**nem specifikus
antigén – antitest
kötés**

**specifikus
antigén – antitest
kötés**

- Kötési arányok



Coombs technika

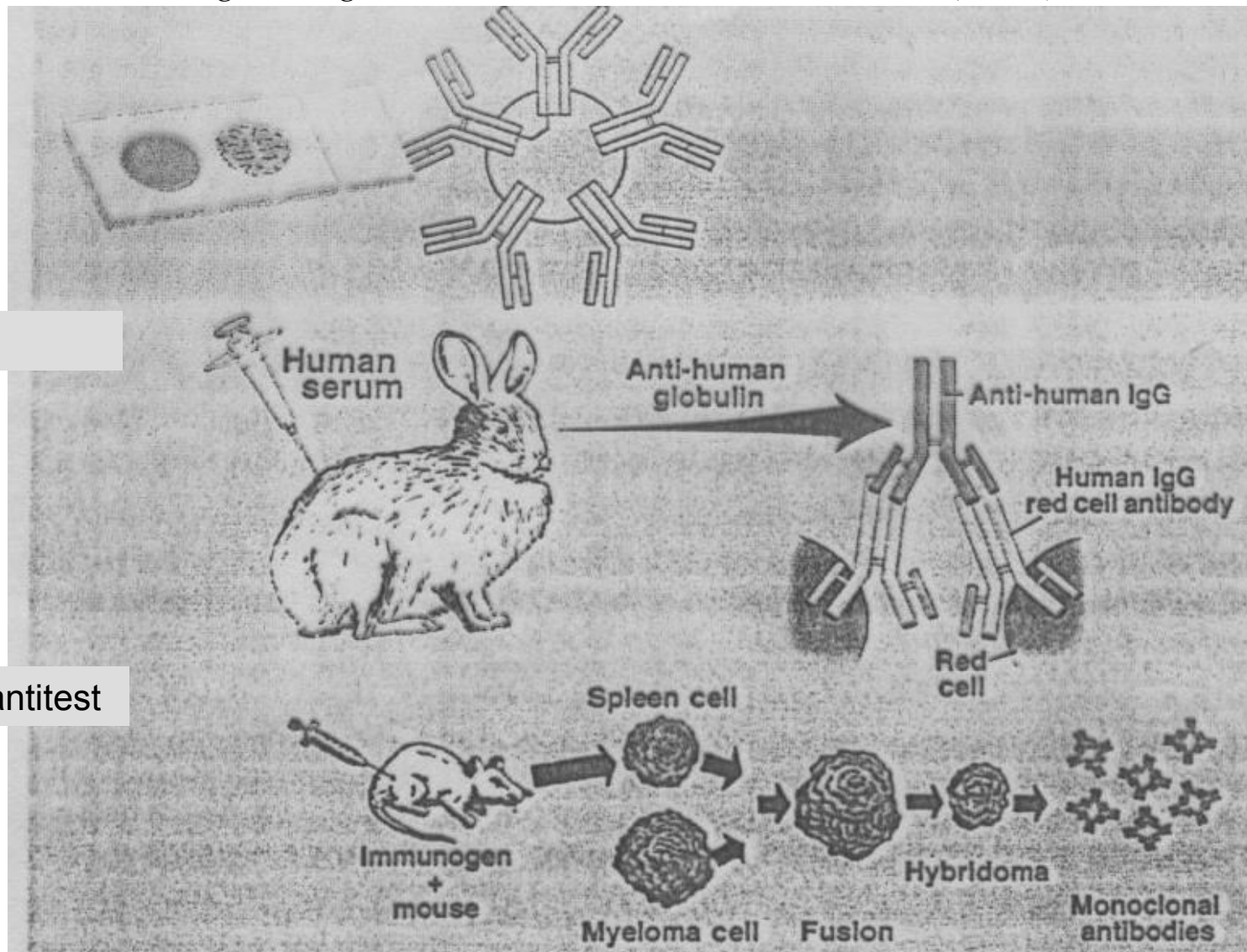
az indirekt agglutináló antitestek kimutatását elősegítő módszer

❖ A módszer bevezetése a szerológia vizsgálatokba: Coombs, Mourant és Race (1945)

❖ az AHG reagens előállítható, mint:

- Hetero antitest

- Monoklonális antitest



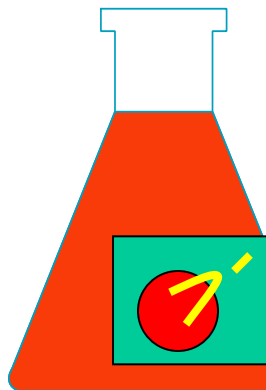
A Coombs reagens

- ❑ *specifitására nézve anti human globulin ellenes antitest (AHG)*
- ❑ *vörösvérsejtek immunglobulinnal, komplementtel való fedettségének kimutatására szolgáló un. segédantitest*
- ❑ *előállítható*
 - *heteroantitestként (a múltban),*
 - *monoklonális úton (napjainkban)*
- ❑ *specifitására nézve megkülönböztetünk:*

<i>AHG specifitás</i>	<i>kötelezően reagál</i>	<i>reagálhat még</i>
<i>Polispecifikus</i>	<i>IgG, C3d</i>	<i>IgM, IgA, C3c, C4</i>
<i>Monospecifikus</i>		
<i>anti-IgG</i>	<i>IgG</i>	-
<i>anti-IgM</i>	<i>IgM</i>	-
<i>anti-C3d</i>	<i>C3d</i>	-
<i>anti-C3c</i>	<i>C3c</i>	-

A fedettség kialakulása (*in vivo*)

in vivo



Direkt Antiglobulin Teszt (DAT)



DAT pozitív lelet:

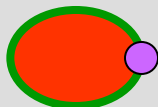
transzfúziós szövődmény

szabad antitest a beteg keringésében

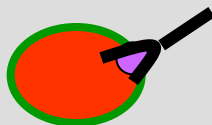


anti-Jka

célantigén pozitív vér transzfúzió



Jka+



transzfúziót követő DAT pozitivitás

- *transzfúziós szövődmény*
- *UHB*
- *gyógyszer indukált anémia (DIHA)*
- *AIHA*

Gyógyszer indukált anémia (DIHA)

Table 16-4. Serological Findings Associated With Drug-Induced Antiglobulin Tests

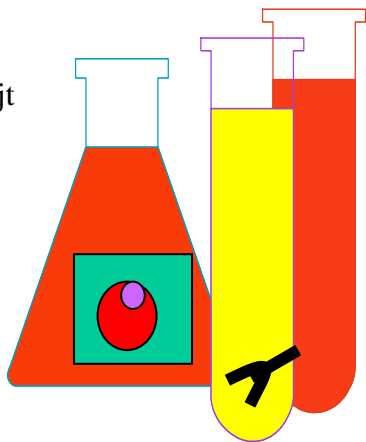
Mechanism	Examples	DAT
Drug Adsorption (DA)	penicillin cephalosporins	IgG (sometimes C3 also)
Immune Complex (IC)	phenacetin, quinidine	C3 (sometimes IgG also)
Membrane Modification (MM)	cephalosporins	IgG + C3 + albumin, etc
Induction of Autoimmunity (AI)	α -methyl dopa (Aldomet)	IgG (rarely C3 also)

Forrás: AABB Manual X ed.

A fedettség kialakulása (in vitro)

❖ a keringésben:

- szabad antitest a savóban
- antitest mentes vörösvérsejt



Indirekt Antiglobulin Teszt (IAT)

Az antigén antitesttel való fedettsége a laboratóriumi vizsgálatok alkalmával (in vitro) következik be

Immunantitest (IgG) reakciója a célantigénnel

❖ a reakció I. fázisa beteg savó és a szűrősejt/ donorvörösvérsejt inkubációja

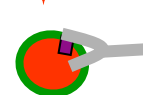
szabad antitest a savóban



célantigén pozitív donorvér



❖ inkubációt követő állapot
antitesttel fedett vörösvérsejt



direkt agglutináció negatív reakció



❖ II. mosási fázis: A nem antigén-antitest kötésben lévő szabad Ig eltávolítása

❖ III fázis: AHG reagens hozzáadása



indirekt agglutináció pozitív



❖ Indirekt Coombs technikát igénylő vizsgálatok:

➤ ellenanyagszűrés

➤ ellenanyag azonosítás

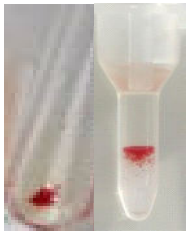
➤ laboratóriumi keresztpróba

➤ antigén kimutatás (poliklonális - IgG reagens használata esetén)

Antitest kimutatás

- ❖ *a beteg savójának reakciója ismert antigén tulajdonságú vörösvérsejtekkel*
 - *a szűrősejtekre vonatkozó tulajdonságok:*
 - i. *Rh fenotípusára nézve tartalmazzon: C^wCD_{ee}, ccDEE és ccd_{ee} tulajdonságú szűrősejteket,*
 - ii. *egyéb antigén tulajdonságaira nézve tartalmazza legalább a: K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb, S, s, M, N, P1 Lea, Leb antigéneket,*
 - iii. *legalább a Fya, Fyb, Jka, Jkb, S, s antigénekre nézve tartalmazzon homozigóta tulajdonságú szűrősejtet*

Antigén	+	Antitest	Antigén-Antitest kapcsoltság
<i>ismert</i>		<i>ismeretlen</i>	<u><i>antitest kimutatás</i></u>

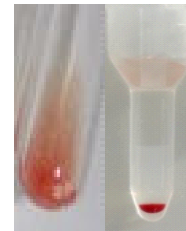


pozitív



antitest azonosítás

- ❖ *a pozitív ellenanyagszűrés eredmény megerősítése - az antitest-specifitás meghatározása*



negatív

- ❖ *negatív ellenanyagszűrés esetén a savó nagy valószínűséggel semmilyen ellenanyagot nem tartalmaz !*

Antitest azonosításhoz használatos panelsor

II.

OVK PANEL SEJTEK

Gyártási idő: 1998. február 05.

Lejáratási idő: 1998. március 06.

VV. SZÁM		D	C	E	c	e	C ^w	K	k	M	N	S	s	P1	Le ^a	Le ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	MEGJ.
890113	1	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	
5141746	2	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	
5141748	3	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
5141742	4	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	
2939301	5	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	
890139	6	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	
5141786	7	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	
5141781	8	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	
890402	9	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	
5141759	10	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	r/v

pl, plagt : 2, 5, 7

l, logt : 1, 4

Torny

Keresztpróba vizsgálatok

❑ **major keresztpróba** (beteg savója + donor vörösvérsejtek)

➤ *direkt leolvasás* - nem használatos (betegágy melletti keresztpróba)

➤ *indirekt leolvasás* (laboratóriumi keresztpróba)

Antigén	+	Antitest	Antigén-Antitest kapcsolat
Donor vörösvérsejt		ismeretlen	<u>keresztpróba eredménye</u>

pozitív

A vér NEM adható be !

• a savó antitestet tartalmaz a donor vörösvérsejtjein található antigén tulajdonságokra!

negatív

A donorvér kompatibilis a beteg számára

• *negatív keresztpróba esetén a savó nem tartalmaz ellenanyagot a donor vörösvérsejtjein található antigén tulajdonságokra!*

✓ *a keresztpróba eredménye mindig csak a konkrét donorvérre érvényes*