

## A) VÉRCSOPORT-SZEROLÓGIAI ALAPFOGALMAK

A vércsoport-szerológia az *immunológia* egyik ága, mely a vörösvérsejtek felszínén lévő *antigének* és a plazmában/savóban lévő *antitestek* in vivo és in vitro reakcióival foglalkozik.

Vércsoport-szerológiai módszereket alkalmaznak transzfuziológiai, genetikai, populációgenetikai, bűnügyi technikai, apasági, stb. vizsgálatokban.

A transzfúziós vércsoport-szerológia központi témája a recipiens (a transzfúziót kapó személy) és a donor (a vért adó személy) közötti *kompatibilitás*. KOMPATIBILITASEK A DONORVÖRÖSVÉRSEJTEK A BETEG SZÁMÁRA. HA „NORMÁLIS”, (ÁTLAGOS) A VÖRÖSVÉRSEJTEK TÚLÉLÉSI IDEJE A RECIPIENS SZERVEZETÉBEN.

A vörösvérsejtek túlélési ideje különböző okok következtében rövidülhet le. A jelen fejezet azt tárgyalja, amikor az idő-előtti *vörösvérsejt-destrukciót* *antigén-antitest reakció* idézi elő.

### A vércsoport-antigénekről

A vörösvérsejt-antigének (vércsoport-antigének) a sejt membránjának alkotórészei. Az antigénként szereplő protein-, lipoprotein-, glicoprotein-, molekulacsoportok a membránban, vagy abból (részlegesen) kinyúlva helyezkednek el. Számuk sejtenként az antigén fajtájától függően a százezres és a százas nagyságrend között van. Az egyedfejlődés során bizonyos antigének már a korai magzati lét során megjelennek, mások csak a születés utáni években fejlődnek ki, csak néhányuknak ismeretes az eredeti biológiai funkciója.

A vörösvérsejt-antigének *öröklött* tulajdonságok, a sejt-membránon való megjelenésüket a kromoszómákon lévő *gén*ek határozzák meg. Ha a gének egymással allél-és/vagy kapcsoltsági viszonyban vannak, *vércsoport-rendszert* hoznak létre.

### A vércsoport antitestekről

A vércsoport-szerológiában szerepet játszó antitestek az immunglobulinok IgM és IgG osztályába tartoznak, ritkán az IgA osztályba.

A vércsoport-antitestek egy része, – az ABO rendszer antitestjei, – minden egészséges, 1 éven felüli ember savójában *szabályszerűen* (*regulárisan*) megtalálhatók.

Megjelenésük 6 hónapos kortól várható.

Az egyéb, nem *szabályszerű* (*irreguláris*) vércsoport-antitestek csak akkor fordulnak elő az egyén savójában, ha az illető immunizálódott valamely vércsoport-antigénnel szemben. Immunizálódás bekövetkezhet transzfúzió, vagy terhesség révén, a transzfúziós szövödményeket leggyakrabban ezek az *immunantitestek* okozzák.

A vércsoport-antitestek jellemzői

|                                           | IgG      | IgM         |
|-------------------------------------------|----------|-------------|
| 1. savókoncentráció mg/100 ml             | 800–1680 | 50–190      |
| 2. szintézis-sebesség változás, mg/kg/nap | 20–40    | 3–17        |
| 3. lebomlási sebesség, %/nap              | 4–7      | 14–25       |
| 4. komplement-kötés                       | igen     | igen        |
| 5. placentán át                           | igen     | nem         |
| 6. mólsúly                                | 150 000  | 900 000     |
| 7. hőoptimum                              | meleg    | hideg       |
| 8. eredet                                 | immun    | természetes |

1. savókoncentráció, 2. szintézis sebessége, 3. lebomlás sebessége, 4. komplement-kötés képessége, 5. placentán való áthatolás képessége, 6. mólsúly, 7. hőoptimum = az a hőfok, amelyen az antitest a legmagasabb titert adja.

### A vércsoport-antigének és -antitestek in vitro reakciójának áttekintése

Az antigének és antitestek – megfelelő reakciókörülmények között – egymással reakcióba lépnek. Amikor az antigének a vörösvérsejt-membrán alkotórészei, a hozzájuk kapcsolódó antitestek természetesen egyúttal a vörösvérsejtekhez is kötődnek.

A vörösvérsejtek, saját savójukban (plazmájukban), vagy fiziológias konyhasó-oldatukban, azonos felületi töltésük következtében taszítják egymást, ezért nem kerülhetnek egymáshoz egy bizonyos távolságnál közelebb, hanem *szuszpenzióban* maradnak.

Az IgM antitestek óriásmolekulák, melyek 10 kötőhellyel rendelkeznek, egyszerre több sejthez is képesek kapcsolódni, ezáltal a sejtek között szabálytalan rácsszerkezet alakul ki, aminek következtében az addig szuszpenzióban lévő sejtek kicsapódnak a szuszpendáló közegből: *agglutinálódnak*.

A fiziológias konyhasóoldatban szuszpendált vörösvérsejtek közötti távolságot az IgG antitestek nem képesek áthidalni, az antigénjükhöz kapcsolódó antitestek agglutinációt nem hoznak létre, az antitestekkel fedett sejtek szuszpenzióban maradnak: *nem agglutinálódnak*.

Az *immunantitestek túlnyomó többsége az IgG osztályába tartozik*. Ezen ellenanyagok kimutatására – felfedezésük (1939) óta – többféle módszert dolgoztak ki: centrifugálás, 37 °C-on végzett vizsgálatok, a vörösvérsejtek felszínének fehérjebontó enzim kezelése, különböző reakcióerősítő- és gyorsító adalékok használata [albumin, LISS, (= angol rövidítés, alacsony ionerős oldat = glicintartalmú reakcióerősítő oldat), PEG (polietilén glikol), stb.], *antiglobulin teszt (AGT = Coombs teszt)*, illetve a fentiek kombinációi.

### Vércsoport-rendszerek

Az allél és/vagy kapcsoltsági viszonyban levő gének által létrehozott vércsoport-antigének és antitestjeik vércsoport-rendszert alkotnak.

A transfúziós szempontból jelentős vércsoport-rendszerek

| Vércsoport-rendszer | Antigén         | Gyakoriság<br>% | Antitest                                  |
|---------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------------------|
| AB0                 | A               | 52              | IgM<br>– szövődményokozó                  |
|                     | B               | 30              |                                           |
| Rh                  | D               | 85              | IgG<br>– szövődményokozó<br>UHB-t kiváltó |
|                     | C               | 70              |                                           |
|                     | c               | 80              |                                           |
|                     | C <sup>w</sup>  | 1               |                                           |
|                     | E               | 30              |                                           |
|                     | e               | 98              |                                           |
| Kell                | K               | 9               | IgG<br>– szövődményokozó<br>UHB-t kiváltó |
|                     | k               | 99,8            |                                           |
| Duffy               | Fy <sup>a</sup> | 66              | IgG<br>– szövődményokozó<br>UHB-t kiváltó |
|                     | Fy <sup>b</sup> | 83              |                                           |
| Kidd                | Jk <sup>a</sup> | 77              | IgG<br>– szövődményokozó<br>UHB-t kiváltó |
|                     | Jk <sup>b</sup> | 72              |                                           |
| Lewis               | Le <sup>a</sup> | 22              | IgM vagy IgG*<br>IgM**                    |
|                     | Le <sup>b</sup> | 72              |                                           |
| MNSs                | M               | 78              | IgM vagy IgG*<br>IgM**                    |
|                     | N               | 72              |                                           |
|                     | S               | 55              | IgM vagy IgG<br>IgG                       |
|                     | s               | 89              |                                           |
| Ii                  | I               | 100             | IgM<br>– hidegantitestek                  |
|                     | i               |                 |                                           |
| P                   | P1              | 79              | IgM<br>– hidegantitestek <sup>1</sup>     |
|                     | P2              |                 |                                           |

\* Ha IgG, szövődményt okozhat

\*\* Ha IgM, általában sem szövődményt, sem UHB-t nem okoz

1. Az antigén-gyakoriság nem azonos a vércsoport-gyakorisággal, mind az A, mind a B antigén-gyakoriságban.
2. UHB= újszülöttkori hemolitikus betegség

Az antitestek osztályozása

|                   |             |               |
|-------------------|-------------|---------------|
| Eredet szerint    | természetes | immun         |
| Hőoptimum szerint | hideg       | meleg         |
| Előfordulás       | regulárisan | irregulárisan |
| Célpont szerint   | auto        | allo          |

### Az AB0-RENDSZER

Transzfúziós szempontból a legfontosabb vércsoport-rendszer. 3 szomatikus génje (A, B, 0) által meghatározott antigénjeinek jelenléte, illetve hiánya 4 csoportra osztja az emberiséget: A, B, AB és 0 csoportúakra.

A 0 csoportúaknak nincs a vörösvérsejt-felületén AB0-rendszerbeli antigénjük. Az AB csoportúak mind az A-, mind a B-antigént hordozzák.

Az A-csoportúak csak az A-antigént, a B-csoportúak csak B-antigént hordoznak.

Az AB0-rendszer az egyetlen vércsoportrendszer, amelyben szabályosan (regulárisan) fordulnak elő antitestek: **minden egészséges felnőtt ember savója (plazmája) tartalmazza azt az AB0-antitestet, amelynek antigénjét az illető vörösvérsejtjei nem hordozzák, és nem tartalmazhatja azt az antitestet, amelynek antigénjeit az illető vörösvérsejtjei hordozzák (Landsteiner szabály).**

4. táblázat

| Antigén a vörösvérsejt felületén | Antitest a savóban |
|----------------------------------|--------------------|
| A                                | anti-B             |
| B                                | anti-A             |
| 0                                | anti-A, -B         |
| AB                               | –                  |

Az AB0 vércsoport-meghatározás legegyszerűbben úgy történik, hogy a vizsgálandó vérminta vörösvérsejtjeit reagáltatjuk anti-A és anti-B antitestekkel, illetve ilyen antitestet tartalmazó reagensekkel.

Mivel a „0” csoportúak savójában található anti-A, illetve anti-B általában erősebben reagál az A-, illetve B-antigént hordozó sejtekkel, mint a B-csoportú anti-A, illetve az A-csoportú anti-B, ezért a vizsgálatokat anti-A, -B, anti-B és anti-A tartalmú reagensekkel végzik.

Ha egyidejűleg a vizsgálandó vérminta savóját tesztvörösvérsejtekkel megvizsgáljuk, hogy milyen antitesteket tartalmaz, ily módon megerősítjük a tesztavókkal kapott eredményeket; ezt a módszert nevezzük kétoldalas laboratóriumi vércsoport-meghatározásnak:

AB0 meghatározás laboratóriumi módszerrel

| Tesztsavók |        |        | Tesztsejtek |   |   | Vércsoport |
|------------|--------|--------|-------------|---|---|------------|
| anti-A, -B | anti-B | anti-A | A           | B | 0 |            |
| +          | -      | +      | -           | + | - | A          |
| +          | +      | -      | +           | - | - | B          |
| -          | -      | -      | +           | + | - | 0          |
| +          | +      | +      | -           | - | - | AB         |

A transfúzió biztonsága érdekében a transfundáló orvos a betegágy mellett köteles ellenőrizni a beteg és a beadandó donorvér vércsoportját. Ehhez a vizsgálathoz kevesebb eszköz áll rendelkezésre, ilyenkor elfogadható, hogy csak a vizsgálandó vérminták vörösvérsejtjeinek csoportját állapítsák meg, ez az ún. „egyoldalas”, „betegágy melletti” meghatározás. A vizsgálathoz autokontroll tartozik, a szokásos reagensok mellett azt is megvizsgáljuk, hogy a beteg saját savója agglutinálja-e a saját sejteket:

6. táblázat

AB0 meghatározás „betegágy melletti” módszerrel

| Tesztsavók |        |            | Saját savó | Értékelés |
|------------|--------|------------|------------|-----------|
| anti-A     | anti-B | anti-A, -B |            |           |
| +          | -      | +          | -          | A         |
| -          | +      | +          | -          | B         |
| -          | -      | -          | -          | 0         |
| +          | +      | +          | -          | AB        |

Amennyiben az autokontroll pozitív, a vizsgálat nem értékelhető. Ilyenkor szaklaboratóriumban kell az okot tisztázni.

A laboratóriumi kétoldalas vizsgálat eredményének azonosnak kell lennie a betegágy melletti vizsgálatával. Eltérés esetén a vizsgálatok megismétlendők.

### A transfúzió alapszabálya az AB0 rendszerbeli kompatibilitás

Az AB0 rendszer antitestjei általában az IgM osztályba tartoznak, szobahőn, fiziológiás konyhasós közegben jól reagálnak.

### AZ Rh-RENDSZER

A transfúziós és a perinatális jelentőség szempontjából közvetlenül az AB0 után következik az Rh-rendszer, amelynek legfontosabb antigénje a D.

A D-pozitívakat másképpen Rh(D) pozitívaknak, a D-negatívakat Rh(D)-negatívaknak nevezzük. Rh(D) pozitív a népességnek mintegy 85%-a, Rh(D) negatív 15%.

Amennyiben – transzfúzió, vagy terhesség révén – Rh(D) pozitív vörösvérsejtek jutnak az Rh(D) negatív személy keringésébe, akkor *anti-D* termelést válthatnak ki. Mivel a D igen erős antigén, az immunizálódás rendszerint be is következik. Ez azzal járhat, hogy egy második transzfúzió már *szövődményt* vált ki, illetve egy második Rh-pozitív gyermek igen nagy valószínűséggel *újszülöttkori hemolitikus betegséggel (UHB)* születik. Annak megelőzésére, hogy az Rh(D) negatívak immunizálódjanak, gondoskodni kell, hogy az Rh(D) negatívak csak Rh(D) negatív vörösvérsejt-transzfúziót kaphassanak. Transzfúzió előtt a betegek AB0-csoportjának meghatározása mellett az Rh(D)-csoportot is meg kell határozni. A donorok Rh(D) vércsoportját a véradáskor határozzák meg.

7. táblázat

*Rh(D) meghatározás értékelése*

| Tesztcsavó: anti-D                                                               | Autokontroll                | Rh                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| ++++                                                                             | –                           | pozitív                                                                     |
| –                                                                                | –                           | negatív                                                                     |
| ++++                                                                             | ++ – ++++                   | ?                                                                           |
| –                                                                                | +                           | ?                                                                           |
| ±, +, ++, +++ (kevert mező)                                                      | –                           | D <sup>u</sup>                                                              |
| ±, +, ++, ++++, +++++<br>változó erősségű agglutináció<br>kevertmezős reakcióval | –                           | Rh tévesztés<br>transzfúzió után                                            |
| ugyanaz                                                                          | pozitív kevertmezős reakció | Rh tévesztés<br>transzfúzió után<br>anti-D-vel rendelkező<br>beteg esetében |

Az Rh(D) gént hordozó szomatikus kromoszómán a D mellett még két gén-hely (locus) helyezkedik el, azzal szoros kapcsolódásban (linkage), a Cc és az Ee locusok. A génhármast, a triplet (1 D vagy d, 1 C, vagy c, vagy Cw, 1 E, vagy e együtt) változatlanul öröklődik.

Minden személy Rh-rendszerbeli antigénjei úgy jelennek meg a vörösvérsejtjein, ahogy azt az anyai és apai triplet együttesen meghatározza.

A D-locuson vagy jelen van a D-gén, vagy hiányzik onnan (egy amorf, antigént létre nem hozó gén foglalja el a helyét). A D-gén hiányát d-vel jelezzük.

A d recesszív a D-hez képest, vagyis ha valaki DD vagy Dd genotípusú, egyformán Rh(D) pozitív lesz, Rh(D) negatív pedig az, aki homozigóta a D hiányára, genotípusa dd.

A „c” locuson három allélgén valamelyike foglalhat helyet: a „C”, „c”, C<sup>w</sup>. Az allélek egymással kodominánsak, vagy a Cc, vagy CC<sup>w</sup>, vagy cC<sup>w</sup> fenotípusokat hoznak létre, vagyis, ha valaki pl. C és c géneket örökölt, akkor a vörösvérsejtjei reagálni fognak mind az anti-C, mind az anti-c meghatározó savókkal. Az „e” locuson az egymással kodomináns E és e gének valamelyike helyezkedik el.

A D/d, C/c/C<sup>w</sup> és E/e gének egymással minden kombinációban előfordulnak, bár nem egyforma gyakorisággal. Magyarországon és a kaukazoid populációkban a leggyakoribb a Cde, a cDe és a cde együttes. Mivel az Rh(D) csoportot az apai és anyai gének

együttesen határozzák meg, a leggyakoribb magyar genotípusok a CDe/CDe, Cde/cde, CDe/cDe, cDE/cDE, cDE/cde és a cde/cde.

Immunizálódás esetén anti-D-t termelhetnek a D negatívak, anti-C-t a C-negatívak, és így tovább. Az Rh(D) negatívak ezek szerint képesek anti-C-t, anti-D-t és anti-E-t produkálni. Legtöbbször azonban nem az összes hiányzó antigénnel szemben lesz az immunizálódó személynek antitestje, hanem csak az egyikkel (anti-D), vagy kettővel (anti-D és -C, illetve anti-D és -E) szemben.

Az Rh(D) pozitívak is immunizálódhatnak Rh rendszerbeli antigénnel szemben. Leggyakrabban a CDe/CDe személyek termelnek anti-c-t, anti-E-t vagy mindkettőt. Ez a két antitest okozza nálunk az összes hemolitikus szövődményeknek mintegy a felét.

Az Rh-rendszerbeli antitestek rendszerint IgG osztályú immunantitestek, fehérje-bontó enzimekkel kezelt vörösvérsejtekkel, valamint Coombs savóval jól reagálnak, a placentán áthatolnak, újszülöttkori hemolitikus betegséget okoznak.

A D-antigének előfordulnak gyengébb variánsai is, ezeket  $D^u$ -nak nevezték el. Korábban a  $D^u$ -sokat mint recipienseket és anyákat Rh(D) negatívként, mint donorokat és apákat Rh(D) pozitívként kezeltük, mivel egyes  $D^u$ -sok képesek voltak anti-D-t termelni, máskor  $D^u$ -s vörösvérsejtek viszont szövődményt váltottak ki Rh(D) negatív, anti-D-t termelő betegekben.

Mai ismereteink szerint a  $D^u$ -sok túlnyomó többsége csak a sejtenkénti receptor-számban különbözik a problémamentesen Rh(D) pozitívtól, ezért Rh(D) pozitívként minősíthetjük őket, hiszen az anti-D savóval reagálnak – bár a reakció gyengébb.

Előfordulnak olyan  $D^u$ -sok, ugyan nagyon ritkán, akiknél a „ $D^u$ ”-antigénnek – amely bonyolult szerkezetű, összetett antigén – egy vagy több epitopja hiányzik és a hiányzó rész ellen antitestet termelhetnek, amelyet mi anti-D-ként tudunk meghatározni, hiszen az Rh(D) pozitívakkal reagál, amelyek mind hordozzák ezeket az epitopokat.

Vércsoport-szerológiai módszerekkel nem lehetséges azoknak a  $D^u$ -soknak az előzetes elkülönítése, akik képesek anti-D-t termelni, azoktól, akik erre nem képesek. Ezért a probléma racionális megközelítése az ellenanyagszűréssel (ld. ott) történik: az Rh(D) pozitívként kezelt  $D^u$ -soknál, mint minden betegnél, transzfúzió előtt antitest-vizsgálatot kell végezni. Amennyiben a recipiens savójában előző transzfúzió vagy terhesség eredményeképpen anti-D mutatható ki, át kell térni az Rh(D) negatív vérek transzfúziójára.

### A kompatibilitás biztosítása

Kompatibilis a donorvér a recipiens számára, ha a transzfundált vörösvérsejtek átlagos túlélést mutatnak a beteg szervezetében. A donor-vörösvérsejtek túlélése lerövidül, ha a recipiens antitestet termel a donorvörösvérsejt valamely antigénjével szemben. A kompatibilitási vizsgálat során – in vitro –, keressük a recipiens savójában azokat az antitesteket, amelyek antigénjét a donor vörösvérsejtek hordozzák és amelyek – in vivo –, transzfúziós hemolitikus szövődményt okozhatnak, ha a beteg megkapja a vörösvérsejtkészítményt.

**Meg lehet előzni a hemolitikus szövődményeket, ha a recipiens savóját a tervezett transzfúzió előtt megvizsgálják, nem tartalmaz-e a donor valamely vörösvérsejt-antigénjével szemben ellenanyagot.**

In vitro az antigén-antitest kötődést általában *agglutináció* formájában mutatjuk ki. In vivo a reakció nem agglutinációként jelentkezik. Ha a vörösvérsejtekhez ellenanyagok

kötődnek, az ilyen módon megjelölt sejtek rendszerint a lépben, ill. a májban destruálódnak: extravasalis haemolysis, az ABO-inkompatibilis vörösvérsejtek viszont nagyrészt a keringésben, intravasalis hemolizálódnak.

Direkt agglutinációval mutatjuk ki az ABO és Rh(D) vércsoportokat, míg a szövődmény-okozásra képes immun-antitestek kimutatására az antiglobulin tesztet (AGT), vagy más, régi nevén Coombs-tesztet használjuk. Az antitestszűrésnek és a kompatibilitási vizsgálatnak ez a legfontosabb módszere.

A reakció két lépcsőben jön létre: első lépésben az IgG antitest hozzákötődik a vörösvérsejt felszíni-antigénjéhez, a második lépésben az ellenanyagokkal fedett sejtek szuszpenziójához hozzáadott emberi fehérjék elleni (anti-humán-globulin) savó hatására létrejön az agglutináció.

Ha az első lépés in vivo már megtörtént, vagyis, ha előzetesen IgG antitestek kapcsolódnak a keringésben a vörösvérsejtekhez, és ezt a sejt-suszpenzióhoz adott anti-humán globulin savó hatására létrejött agglutinációval igazoljuk in vitro, akkor azt mondjuk, a beteg vörösvérsejtjeinek *direkt Coombs-a = direkt antiglobulin tesztje (DAT)* pozitív.

Direkt Coombs pozitivitással járó betegségek:

- *autoimmun hemolitikus anémiában* a beteg autoantitestjei a saját vörösvérsejtekhez kötődnek,
- *újszülöttkori hemolitikus betegségben* az anya alloantitestjei a magzat vörösvérsejtjeihez,
- *hemolitikus transzfúzió szövődményben* a recipiens antitestjei a beadott donor-vörösvérsejtekhez,
- *gyógyszeres immunhemolízisben* a beteg „antidrog” antitestjei a droghoz kapcsolódnak. Ha a gyógyszer a vörösvérsejt felszínéhez adszorbeálódik, a gyógyszerellenes antitest pedig hozzá, a szuszpenzióhoz adott antihumán-globulin savó agglutinálja a sejteket.

Ha a vizsgálat végzője hozza össze in vitro a vörösvérsejteket és a savókat – megfelelő reakciókörülmények között –, és az inkubációs idő lejártá után adja a szuszpenzióhoz az antiglobulin = Coombs savót, akkor *indirekt Coombs = indirekt antiglobulin teszt (IAGT)* módszert használt.

## I. A KOMPATIBILITÁSI VIZSGÁLAT LÉPÉSEI

### I. A kompatibilitási vizsgálat első lépése: egyeztetés AB0-ra és Rh(D)-re

Mivel az AB0-rendszerben minden egészséges felnőtt ember savója tartalmazza azt az ellenanyagot, amelynek antigénjét ő nem hordozza (Landsteiner szabály), az A-csoportú emberek nem kaphatnak B-antigént hordozó vörösvérsejteket (B, illetve AB csoportúakat), a B-csoportúak nem kaphatnak A-antigént hordozó vörösvérsejteket (A, illetve AB-csoportúakat), a 0-sok nem kaphatnak sem A-, sem B-antigént hordozó vörösvérsejteket (A-, B-, illetve AB-csoportúakat).

ABO-kompatibilis vörösvérsejt (vvs.)-készítmények választása

| RECIPIENS<br>vércsoportja | Transzfundálható<br>vörösvérsejt-készítmény vércsoportja                 |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| 0                         | 0                                                                        |
| A                         | A-s és 0-s „mosott”                                                      |
| B                         | B-s és 0-s „mosott”                                                      |
| AB                        | AB-s és<br>A, vagy B, vagy 0-s „mosott”<br>plazmamentes vvs.-szuszpenzió |

Ha az ABO-kompatibilitást biztosítottuk, ezután az Rh(D) kompatibilitást kell figyelembe venni. Az Rh(D) negatív személyek nem kaphatnak Rh(D) pozitív vörösvérsejteket, mert könnyen immunizálódnak, anti-D-t termelnek, és egy következő Rh(D) pozitív transzfúzió már szövödményt válthat ki.

## 2. A kompatibilitási vizsgálat második lépése: az ellenanyagszűrés

Ha a recipiens és a donor között ABO- és D-kompatibilitás áll fenn, akkor az esetek 95–98%-ában a recipiens szervezetébe került donor vörösvérsejtek túlélési ideje normális.

A vérátömlesztésben részesült személyek közül átlagosan 2–5% képes arra, hogy a beadott vörösvérsejtek egy, vagy több antigénjével szemben immunizálódjék.

Genetikailag meghatározott, hogy ki melyik antigénnel szemben termelhet antitestet, de ezt ma még nem tudjuk vizsgálni. Teljesen egyforma antigénkészletük csak az egypetéjű ikertestvéreknek van, így ha egy személy bárki mástól kap vért, mindenképpen kap olyan antigént is, amellyel maga nem rendelkezik.

Ha az ellenanyag-termelés minden esetben bekövetkezne, senki nem kaphatna életében másodszor vörösvérsejt-tartalmú készítményt. Tudjuk, hogy ez szerencsére nem így van.

A kompatibilitást biztosíthatnánk az ABO és D-n kívüli antigénekre való egyeztetéssel is. Ez azonban túl költséges megoldás és nem áll arányban a kockázattal, hiszen a betegeknek csak átlagosan 2–5%-ánál fordul elő szövödmény okozására képes antitest.

Amíg a kompatibilitási vizsgálat első lépésében az ABO- és D-antigénekre egyeztetünk, a vizsgálat második lépésében a beteg savóját vizsgáljuk, tartalmaz-e olyan antitestet, amely a donor valamely vörösvérsejt-antigénjével *in vivo* reagálva hemolitikus szövödményt okozhat.

Az utóbbi 50 év irodalmi tapasztalatai azt mutatják, hogy leggyakrabban – az esetek kb. 50%-ában – *anti-c* és *anti-E* antitestek fordulnak elő. E kettő után következik az *anti-K*. A leggyakrabban előforduló antitestek okozzák a legtöbb transzfúziós hemolitikus szövödményt. Ezek hárman idézik elő nálunk a szövödményeknek több, mint a kétharmadát.

A többi szövödményt általában az Rh-rendszerbeli egyéb antitestek (*anti-C*, *-e*, *-C<sup>w</sup>*), továbbá a Duffy, Kidd, MNSs és Lewis-rendszerbeli antitestek okozzák.

Ha antitest-szűrést végzünk, igen nagy valószínűséggel ki tudjuk védeni a transzfúziós hemolitikus szövődmények túlnyomó részét. Az ellenanyagszűrés lényege, hogy a vizsgálandó savót reagáltatjuk két, vagy három jól megválasztott 0-csoportú donortól származó vörösvérsejttel.

A kiválasztás alapelve, hogy a sejtek hordozzák a populációra jellemző legfontosabb antigéneket, mégpedig, lehetőleg homozigóta, erősen reagáló formában, mert így akkor is kimutatható az antitest, ha gyengén reagál. Az in vitro reakcióerősség nem okvetlenül jelzője az in vivo történésnek.

9. táblázat

*Példa a szűrősejtek kiválasztására*

|    | AB0 | D | C | c | Cw | E | e | K | k | Fya | Fyb | Jka | Jkb | M | N | S | s | Lea | Leb | P1 |
|----|-----|---|---|---|----|---|---|---|---|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|-----|-----|----|
| 1. | 0   | + | + | - | +  | - | + | + | + | +   | -   | +   | -   | + | - | + | - | +   | -   | +  |
| 2. | 0   | + | - | + | -  | + | - | - | + | -   | +   | -   | +   | - | + | - | + | -   | +   | -  |

Az ellenanyagszűrés eredménye lehet negatív. Helyesen megválasztott szűrősejtek esetében ez azt jelenti, hogy a beteg savójában minden valószínűség szerint nincs szövődmény-okozásra képes antitest. Ekkor AB0 és Rh(D)-re való egyeztetéssel is biztosítható a kompatibilitás.

Ha a vizsgálandó savó reagál az egyik, vagy másik, vagy mindkét szűrősejttel, akkor antitest jelenléte valószínűsíthető. Egyedül a szűrés alapján azt nem tudjuk eldönteni, milyen antitest van jelen, ez nem is célja a szűrésnek.

#### *Ellenanyag-azonosítás*

Pozitív ellenanyagszűrés esetében az *ellenanyagot azonosítani kell*. Ez ún. teszt-sejtpanel segítségével történik. A jó panel a népességre jellemző minden antigént tartalmaz, és minden specificitásból legalább egy negatívát is. A negatív mintára ugyanolyan szükség van, mint a pozitívra, különben nem tudunk antitestet azonosítani. Az *azonosítás elve*: „anti-x” az az ismeretlen antitest, mely reagál a panel minden x pozitív tagjával és nem reagál az x negatív tagok egyikével sem. Ha vörösvérsejt-destrukciót kiváltó ellenanyagot találtunk egy beteg savójában, gondoskodnunk kell arról, hogy **a recipiens csak olyan vörösvérsejt-tartalmú vérkészítményt kapjon, amely nem hordozza a megfelelő antigént**. A jelenlegi ismereteink szerint szövődményt nem okozó antitestek azonosítása ugyanolyan fontos, mint a reakciót előidézőké, ugyanis tudnunk kell, hogy szükséges-e az antigénre nézve negatív vérek biztosítása.

Az antitest-azonosítás részeként meg kell győződnünk arról, hogy az „anti-x”-et termelő személy „x” negatív-e. Normális körülmények között senki nem termelhet olyan vércsoport-antitestet, amelynek az antigénjét az ő sejtjei hordozzák.

3. A kompatibilitási vizsgálat harmadik lépése: az egyes donorok és a recipiens közti összeférhetőség vizsgálata

A vérválasztás utolsó lépése az AB0 és Rh(D) tekintetében kompatibilis donorvérek egyenkénti vizsgálata: nincs-e a recipiensnek olyan antitestje, amelynek az antigénjét a donor vörösvérsejtjei hordoznák. Ebben a stádiumban már nem lehet szó anti-A-ról,

vagy -B-ről, anti-D-ről, vagy egyéb, egyszerű Rh rendszerbeli antitestről, sem a Duffy, Kidd, Kell, MNSs, Lewis és P stb. rendszerbeli ellenanyagokról, mert az előző lépésekben az ezekre az antigénekre vonatkozó inkompatibilitást már kizártuk, ha az ellenanyag-szűrősejteket helyesen választottuk meg, és a jó módszert helyesen alkalmaztuk.

Előfordulhat például, hogy a donor hordoz egy *ritka antigént* (gyakorisága kisebb, mint 1:400), amely nem szerepel a panelesejteken, és amellyel szemben a recipiensnek ellenanyaga van.

Előfordulhat, hogy a szűrősejtek – jobb hiányában –, nem rendelkeznek egy antigénnel, amelynek az antitestje viszonylag ritkán okoz szövödményt, pl. C<sup>w</sup>, de a körülmények szerencsétlen összejárása következtében a recipiens rendelkezik az antitesttel, a donor pedig az antigénnel. Ezt a típusú reakciót tudjuk kivédeni az egyenkénti kompatibilitási vizsgálattal.

Ilyenkor a beteg savóját reagáltatjuk a donorok vörösvérsejtjeivel indirekt antiglobulin tesztben. A pozitív eredmény inkompatibilitást jelent.

Olyan személyeknél, akik korábban nem kaptak transzfúziót, és nem voltak terhések, a kompatibilitási vizsgálatot elegendő az első két lépésre korlátozni. Ha az alapbetegség ismeretében feltehető, hogy a beteg politranszfundált, ha szervátültetésre vár, ha vérképzőszervi betegségben szenved, a fenti feltételek mellett is a teljes (1–3) kompatibilitási vizsgálatot célszerű elvégezni.

## II. A KOMPATIBILITÁSI VIZSGÁLAT ÉRTÉKELÉSE

Az elvileg jól felépített, technikailag megfelelően kivitelezett és helyesen értékelt kompatibilitási vizsgálat az esetek túlnyomó többségében biztosítja, hogy a beadott donor-vörösvérsejtek immunreakció következtében ne pusztuljanak el időnek előtte a recipiens szervezetében: ily módon megelőzhető, hogy egy immun vércsoport-antitesttel rendelkező beteg antigén-pozitív vért kapjon és elkerülhető az *akut hemolitikus szövödmény*.

Nem tudja kivédeni azonban a vizsgálat a beteg *primer immunizálódását*, vagyis azt, hogy ha a beteg először találkozik egy számára idegen antigénnel, az ellen bizonyos idő után antitestet ne termeljen.

Nem védi ki a vizsgálat a transzfúziós hemolitikus szövödményt olyankor sem, amikor a beteg korábban immunizálódott, de az adott időben a keringésben nincs kimutatható antitest. Ha egy ilyen, pl. anti-c-re immunizált, de pillanatnyilag anti-c-vel nem rendelkező beteg c-pozitív vért kap, a szervezete érzékeli az inkompatibilitást, és egy hosszabb-rövidebb (pár óra – pár nap), ún. „latencia periódus” eltelte után elkezd az anti-c termelését. Az ellenanyag folyamatosan reagál a keringő inkompatibilis vörösvérsejtekkel és közrejátszik azok destrukciójában. Miután az inkompatibilis vörösvérsejtek eltűntek a szervezetből, az antitest kimutathatóvá válik a recipiens savójában (*szekunder immunizálódás*).

Az ilyen ún. *elhúzódó transzfúziós hemolitikus szövödmény* csak akkor előzhető meg, ha a betegnél kimutatott antitestet azonosítják és a későbbi esetleges transzfúziók során ezen antigént nem hordozó vörösvérsejteket kap. Az immunizált személyt igazolással kell ellátni, melyet mindig magánál hordhat, és egy esetleges új kórházi felvételnél azt bemutatja.

### III. A KOMPATIBILITÁSI VIZSGÁLAT ÉRVÉNYESSÉGÉNEK IDEJE

Az immunizálódás *folymat*. A (recipiens-, anya-) szervezet találkozik az antigén stimulussal (transzfúzió, magzati vörösvérsejtek), az immunapparat működésbe lép, az antigén-felismerés után bizonyos idővel megkezdődik az antitest-termelés. Az ellenanyagok megjelenhetnek órákkal, napokkal, vagy hetekkel a stimulus után a keringésben. Minden antitest-termelődési folyamat során van egy időpillanat, amikor az ellenanyagok szintje átlépi a **kimutathatósági határt** (amely, természetesen, erősen függ az alkalmazott metodikától).

A vizsgálandó vérminta a vérvétel időpontjától függően tartalmazza vagy nem tartalmazza az antitestet. Ha a beteg a közelmúltban transzfúziót kapott, vagy terhesség zajlott le, mindig lehetséges, hogy ellenanyag-termelés van folyamatban csak a vérvétel/vizsgálat időpontjában ez még nem jelentkezik kimutatható antitest formájában (szintje nem éri el a kimutathatósági határt).

A fentiek figyelembevételével a negatív ellenanyagszűrési eredmény mindig a vérminta időpontjára vonatkozik. Minél közelebb van a transzfúzió beadásának ideje a vérvételhez, annál nagyobb az esély, hogy a beadott vér csakugyan antitestmentes szervezetbe kerül. Ha a beteg korábban immunizálódott a beadott vér valamely antigénjével szemben, de a transzfúzió előtt nincs kimutatható antitestje, a vér ún. szekunder immunválaszt válthat ki, *elhúzódo transzfúziós hemolitikus szövödmény* következik be. Ha viszont a kompatibilitási vizsgálat idején ugyan nem volt keringő antitest a szervezetben, de mire a beteg megkapja a vért, addigra már megjelent az ellenanyag, akkor *akut transzfúziós hemolitikus szövödmény* jöhet létre. Minél hosszabb idő telik el a vizsgálat és a transzfúzió között, annál valószínűbb, hogy időközben antitest jelenjék meg, – annál valószínűbb az akut reakció.

A gyakorlati szempontok figyelembevételével azt mondhatjuk, hogy ha a kompatibilitási vizsgálatához szükséges vérminta levétele és az ehhez a mintához választott donorvér beadása között nem telik el 48/72 óránál több, akkor elég jó esélye van annak, hogy a választott vér kompatibilis legyen.

### IV. A KOMPATIBILITÁSI VIZSGÁLATOK NÉHÁNY GYAKORLATI ASPEKTUSA

#### 1. Vörösvérsejt-antigén-meghatározás

Akár AB0, akár Rh(D), akár más antigént akarunk meghatározni teszt-savók segítségével, a legfontosabb a savók **használati utasításának** ismerete.

Minden antitestnek megvan a maga jellemző

optimális reakcióhőmérséklete,

reakcióideje,

savó:sejt aránya

a vele reagáló vörösvérsejtek optimális sejtszuspenzió-sűrűsége.

A gyártó által adott használati utasítástól eltérni nem szabad! Lejáratú időn túl lévő savót tilos használni! A savókat az előírt körülmények között kell tárolni!

A fenti okok következtében nem lenne célszerű receptszerű AB0- és Rh-meghatározási leírásokat adni. A Transzfuziológiai Szabályzat közöl AB0 és Rh(D) meghatározási módszereket, amelyek a Humán Intézet által előállított savók használatát feltételezve, azok előírásait tartalmazzák.

Az évtizedek óta megszokott reagensek helyett új, másképpen reagáló, sejttenyészetek útján előállított monoklonális antitestek kerülnek újabban forgalomba. Ezek esetleg egészen más reakciómód szerint reagálnak, mint az eddig ismert savók. Az új típusú reagensek nemcsak a hagyományos módon, üvegcsében, folyékony vagy liofilizált halmozállapotban kaphatók, hanem műanyag mikrotiter lemezhez, esetleg géloszlopocskához kötve, vagy ún. vércsoport-meghatározó kártyára beszártva, ilyenkor a meghatározás módja eltérhet a szokásostól. Az egyetlen gyakorlati útmutatás tehát csak az lehet, hogy *minden reagenst a használati utasításnak megfelelően kell alkalmazni*.

## 2. Antitestszűrés, kompatibilitási vizsgálat

Az antitestszűrés és kompatibilitási vizsgálat betegágy mellett nem végezhető, **csak szaklaboratóriumban**. Alapelv: a beteg savóját inkubáljuk a donor(ok) vörösvérsejtjeivel, majd antiglobulin savó hozzáadásával meggyőződünk róla, létrejött-e antigén-antitest reakció.

A vizsgálat klasszikus módja a „csöves metodika”: ekkor kémcsőben játszadjuk le a reakciót.

A huszadik század végén új módszerek törtek be, a reakciót szilárd, illetve fél-szilárd közegben hozzák létre, gélben, microplate-en.

A transzfúziót közvetlenül megelőző, betegágy melletti vizsgálatok célja annak kizárása, hogy adminisztratív tévedés (beteg-csere, a cső elcserélése, a papírok elcserélése, rossz címkézés stb.) következtében a beteg AB0 és/vagy Rh-inkompatibilis vért kapjon. A „Transzfuziológiai Szabályzat” által előírt vizsgálatok:

- Egyoldalas, klinikai vércsoport-kontroll a beteg- és donorvérből,
- Rh(D) antigén-meghatározás a beteg- és donorvérből,
- Betegágy melletti keresztpróba elvégzése és értékelése

A vércsoport-meghatározás módszerét a rendelkezésre álló reagens szabja meg, a vizsgálatot a mindenkor használati utasítás szerint kell elvégezni.

### Kontrollok a vércsoport-szerológiában

1. *Reagens kontroll:* a laboratóriumban használt reagenseket (teszt savó, tesztsejt) használat előtt ellenőrizni kell, megfelelnek-e a gyártó által előírt tulajdonságoknak: a savók a megfelelő antigént hordozó sejtekkel reagálnak, csak azokkal reagálnak, a gyenge antigénnel is reagálnak, a sejtek a megfelelő savókkal és csak azokkal reagálnak. A negatív reakciók (negatív kontroll). Azt, hogy egy savó a gyenge antigénnel is reagál-e, úgy ellenőrizzük, hogy ismeretlen gyenge (heterozigóta) sejtet próbáljuk ki.
2. *Autokontroll:* autoimmun betegségekben, újszülöttkori hemolitikus betegségben, transzfúziós szövödményben előfordul, hogy a beteg vörösvérsejtjei a reagens hozzáadása nélkül is agglutinálódnak. Ha ezt nem ellenőrizzük az „autokontrollal” (saját savók kontrollal), akkor hamisan pozitív eredményeket kaphatunk. Az autokontrollt pontosan olyan körülmények között kell beállítani, mint a vizsgálatot, csak a reagenst kell a beteg saját savójával helyettesíteni. Pozitív autokontroll esetében a vércsoportot, kompatibilitást csak szaklaboratórium határozhatja meg.
3. *Mosási kontroll:* Az antiglobulin teszt legérzékenyebb fázisa az inkubáció után, Coombs savó hozzáadása előtti mosás, melynek minden, sejtekhez nem

kötött, fehérjét el kell távolítani a szuszpenzióból. Az AGT-hez ezért egy olyan vizsgálatot is be kell állítani kontrollként, amely csak akkor reagál, ha a mosás teljesítette feladatát.

### **A BETEGÁGY MELLETTI (BED-SIDE) VÉRCSOPORT-KÁRTYÁK ALKALMAZÁSA**

A transzfúzió előtt szükséges betegágy melletti vizsgálatok az utolsó ellenőrzési lehetőséget biztosítják a beteg és donor AB0 és Rh(D)-meghatározására.

Erre alkalmasak az ún. „BED-SIDE kártyák”, melyeket több cég forgalmaz. A különböző gyártmányú kártyák általában csak a kiserelésben, az egy kártyán levő vizsgálatok számában különböznek.

Minimális eltérés lehet a használati utasításban is.

#### **I. A KÁRTYA JELLEMZŐI:**

Légmentesen, alufóliában egyenként vagy ötösével csomagolt műanyag kártya, melyen egy, vagy két vércsoport-vizsgálat végezhető el egyszerre.

A kártyán levő jelzések értelmében a recipiens és/vagy a donor vérminta vércsoport-meghatározásra van kialakítva AB0- és Rh(D)-meghatározási lehetőség.

A kártyán a következő beszárított reagensek vannak:

- anti-A tesztcsavó (ált. kék színű)
- anti-B tesztcsavó (ált. sárga színű)
- anti-D tesztcsavó (ált. fehér színű)

A mellettük kijelölt hely a vérminta kicseppentésére szolgál, de mivel a „Transzfuziológiai Szabályzat” előírja, hogy minden beteg vércsoport-meghatározáskor autokontrollt kell alkalmazni, erre a helyre az autokontroll feltehető.

#### **II. A KÁRTYA TÁROLÁSA:**

Az egyéb vércsoport-meghatározó reagensekhez hasonlóan (2–8 °C) hűtőszekrényben kell tárolni.

#### **III. A KÁRTYA FELHASZNÁLHATÓSÁGA:**

1. A kártyát betegágy melletti (klinikai) vércsoport-vizsgálatra (AB0 és Rh(D), a dobozon feltüntetett LEJÁRATI IDŐN BELÜL LEHET felhasználni.
2. A kártya csak közvetlenül a transzfúzió előtt, a beteg és donorvér vércsoport-kontrolljául szolgál.  
Az eredmény a LABORATÓRIUMI AB0- és Rh(D)-meghatározás eredményének ismeretében, azzal összehasonlítva értékelhető.

#### **IV. HASZNÁLATI UTASÍTÁS:**

A kártyákhoz mellékelt használati utasítás szerint használható.

#### **V. A VÉRMINTÁK ELŐKÉSZÍTÉSE:**

A módszer alkalmazásához 48 órán belüli BETEG-vérminta szükséges. Alvadt vagy alvadásban gátolt (EDTA-s vagy citrátos) vérminta egyaránt alkalmazható. HEPARINOS vér NEM használható, a folyamatos alvadás miatt téves pozitív eredményt adhat.

A vizsgálathoz legalkalmasabb (a hagyományos betegágy melletti Rh(D) meghatározáshoz, illetve betegágy melletti keresztprobához használatos) szabályosan le-savózott, kb. 40–50%-os savós szuszpenzió.

Ennél hígabb vagy sűrűbb vörösvérsejt-szuszpenzió alkalmazása esetén a vizsgálati eredmény nehezen értékelhető.

#### VI. A VIZSGÁLAT MENETE:

A használati utasítás szerint.

#### VII. ÉRTÉKELÉS:

Pozitív reakció esetén agglutináció jön létre a megfelelő tesztsavó mezőben.

Negatív reakció esetén nincs agglutináció.

A vércsoport: agglutináció az anti-A-val

B vércsoport: agglutináció az anti-B-vel

AB vércsoport: agglutináció az anti-A-val és az anti-B-vel

0 vércsoport: agglutináció nincs sem az anti-A-val sem az anti-B-vel

„Gyenge” A alcsoportot ( $A_3$ -Ax) tévesen 0-s vércsoportúnak értékelhetünk, ezért a LABORATÓRIUMI VÉRCSOPORT MEGHATÁROZÁS ELENEDHETETLEN!

Rh(D) pozitív agglutináció az anti-D-vel

Rh(D) negatív agglutináció az anti-D-vel nincs.

RhD<sup>u</sup> variáns tévesen negatívnak értékelhetünk, ezért a LABORATÓRIUMI VÉRCSOPORT MEGHATÁROZÁS ELENEDHETETLEN!

A meghatározás hibaforrásai és azok kiküszöbölésének módjai a kártyákhoz mellékelt iratban megtalálhatók.

Mivel száradás után a kártyák a hozzájuk mellékelt fóliával lefedhetők, a beteg dokumentációjában megőrizhetők.

Amennyiben a laboratóriumi és betegség melletti AB0 meghatározás eredménye EGYEZIK, a beteg és a donor vércsoportja azonos, vagy kompatibilis, a betegség melletti keresztpróba negatív, a transzfúzió elvégezhető.

AMENNYIBEN BÁRMILYEN ELTÉRÉS VAN, akkor az eltérés okát a transzfúzió előtt, friss vérmintából, megfelelő módszerekkel tisztázni kell!

#### *Megjegyzés:*

A vércsoport-szerológiai vizsgálatra szánt vérminták levétele, előkészítése  
L.: „Transzfuziológiai Szabályzat” 1. sz. függelék.

Klinikai (betegség melletti, „egyoldalas”) vércsoport-meghatározások technikája  
L.: „Transzfuziológiai Szabályzat” 2. sz. függelék.

Laboratóriumi vércsoport-meghatározási módszerek  
L.: „Transzfuziológiai Szabályzat” 3. sz. függelék.