

Szerológia gyakorlat I.

AB0 meghatározás kétoldalas technikával

RhD meghatározás

Vércsoport-szerológiai kompatibilitás – a recipiens savójában nem mutatható ki ellenanyag a donor vörösvérsejt antigénjei ellen

A kompatibilitási vizsgálat elemei:

- Laboratóriumi vércsoport-meghatározás, ennek része:
 - *AB0 meghatározás*
 - *RhD meghatározás*
 - *Ellenanyagszűrés* – pozitív ellenanyagszűrés esetén az ellenanyag azonosítása, sz.e. további vizsgálatok
 - *DAT vizsgálat*
- Laboratóriumi keresztpróba – vérválasztás igénylése esetén

A betegtől származó megfelelő vérminta

- 24 h belül levett minta szükséges:
 - Vércsoport meghatározáshoz: 1 db EDTA-s (lila) minta
 - Vérválasztáshoz: 1 db EDTA-s (lila) és 1 db natív (piros) minta szükséges
- A mintacsövön a beteg 3 azonosítójának kell szerepelnie (etikett vagy kézzel ráírva)
- A mintacsövön lévő adatoknak meg kell egyezniük a vizsgálatkérő lapon szereplő adatokkal

A vérmintákat vizsgálat előtt le kell centrifugálni

EDTA-s minta
centrifugálás után:

Blood Sample (centrifuged)

**Vérminta egyedi
azonosító száma**
vonalkóddal – ez az
OVSz-be érkezés után
kerül rá

Antitestek a savóban

Antibodies



Buffy coat vagy
másnéven
határréteg: a
fehérvérsejtek és a
trombociták nagy
része ide tömörül



Erythrocytes with antigens

Legalul a **vörösvérsejtek**
felszínükön az antigénekkal

AB0 vércsoport-tulajdonság meghatározása

- Laboratóriumi meghatározás ún. kétoldalas technikával történik
- A „bal oldalon” a vörösvérsejteken lévő AB0 antigéneket vizsgáljuk
- A „jobb oldalon” az AB0 antitesteket vizsgáljuk
- Landsteiner szabály:
 - az egyén savója normális körülmények között nem tartalmazhatja a saját vörösvértestjein található AB0 antigén(ek) ellen irányuló antitest(ek)et, de kötelezően tartalmazza a hiányzó antigén(ek) elleni antitestet.
- A bal és a jobb oldalon látott reakcióknak ennek a szabálynak kell megfelelnie, csak ebben az esetben tudunk nyilatkozni az AB0 tulajdonságról

A vizsgálathoz szükséges reagensek és tesztvörösvérsejtek

- A bal oldalhoz, tehát az antigén kimutatáshoz ismert antitest tartalmú reageneket használunk:

- Anti-A reagens – csak anti-A antitestet tartalmaz
- Anti-B reagens – csak anti-B antitestet tartalmaz

Anti-A,B reagens – mindkét antitestet tartalmazza,
tehát anti-A és anti-B antitestet

- Ezen antitestek, reagensek előállítását erre specializálódott cégek végzik
- Gyártói utasítás szerint kell használni őket, lejárati időn belül

Bal oldalhoz használt
reagensek



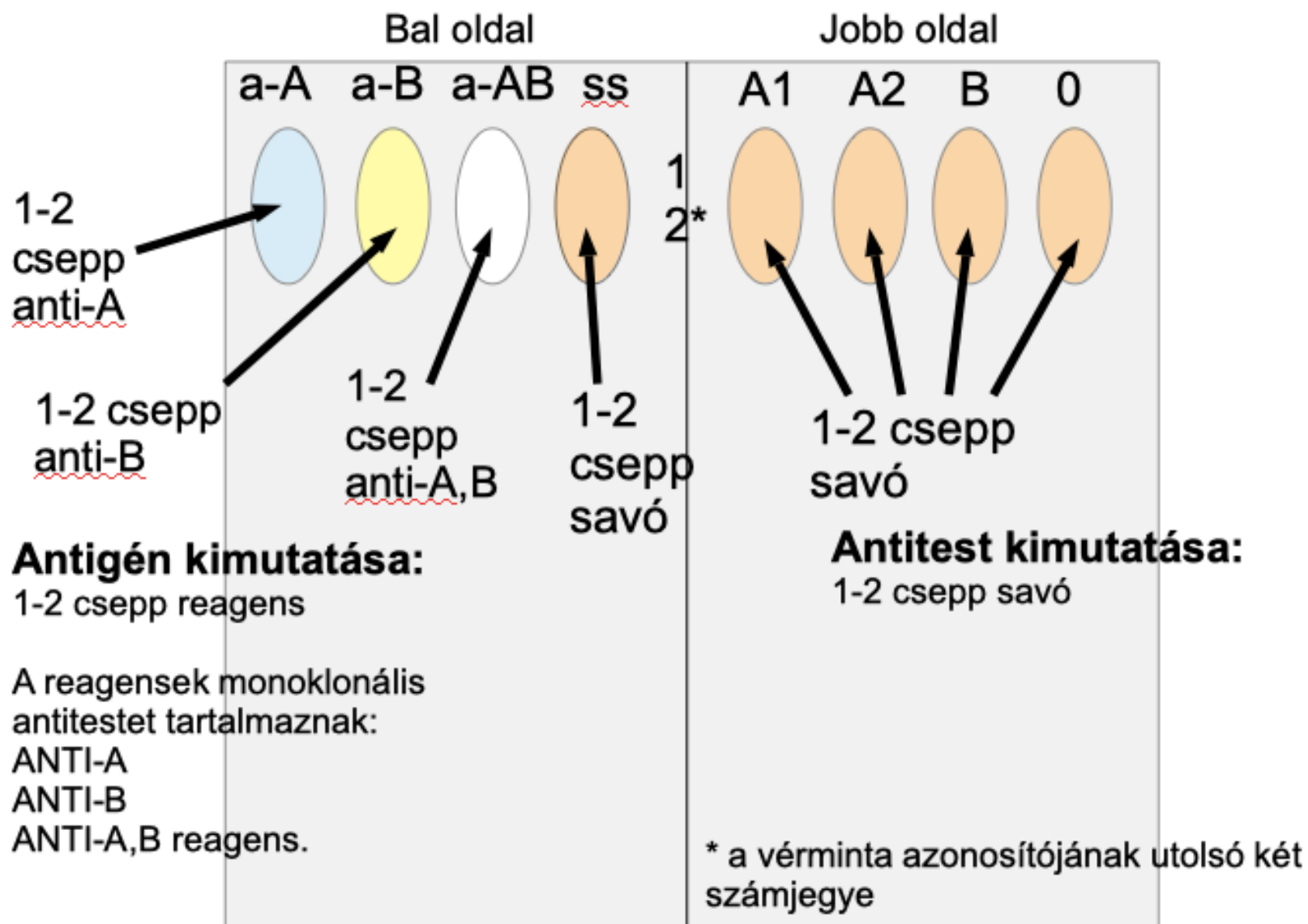
A vizsgálathoz szükséges reagensek és tesztvörösvérsejtek

- A jobb oldalhoz, tehát a savóban lévő AB0 antitestek kimutatásához ismert antigéntulajdonságú tesztvörösvérsejteket használunk
- Ezen tesztsejtek emberi vörösvérsejtek, szintén gyártói utasítás szerint kell alkalmazni őket a lejáratí idő belül
- A1, A2, B és 0 tulajdonságú sejteket használunk

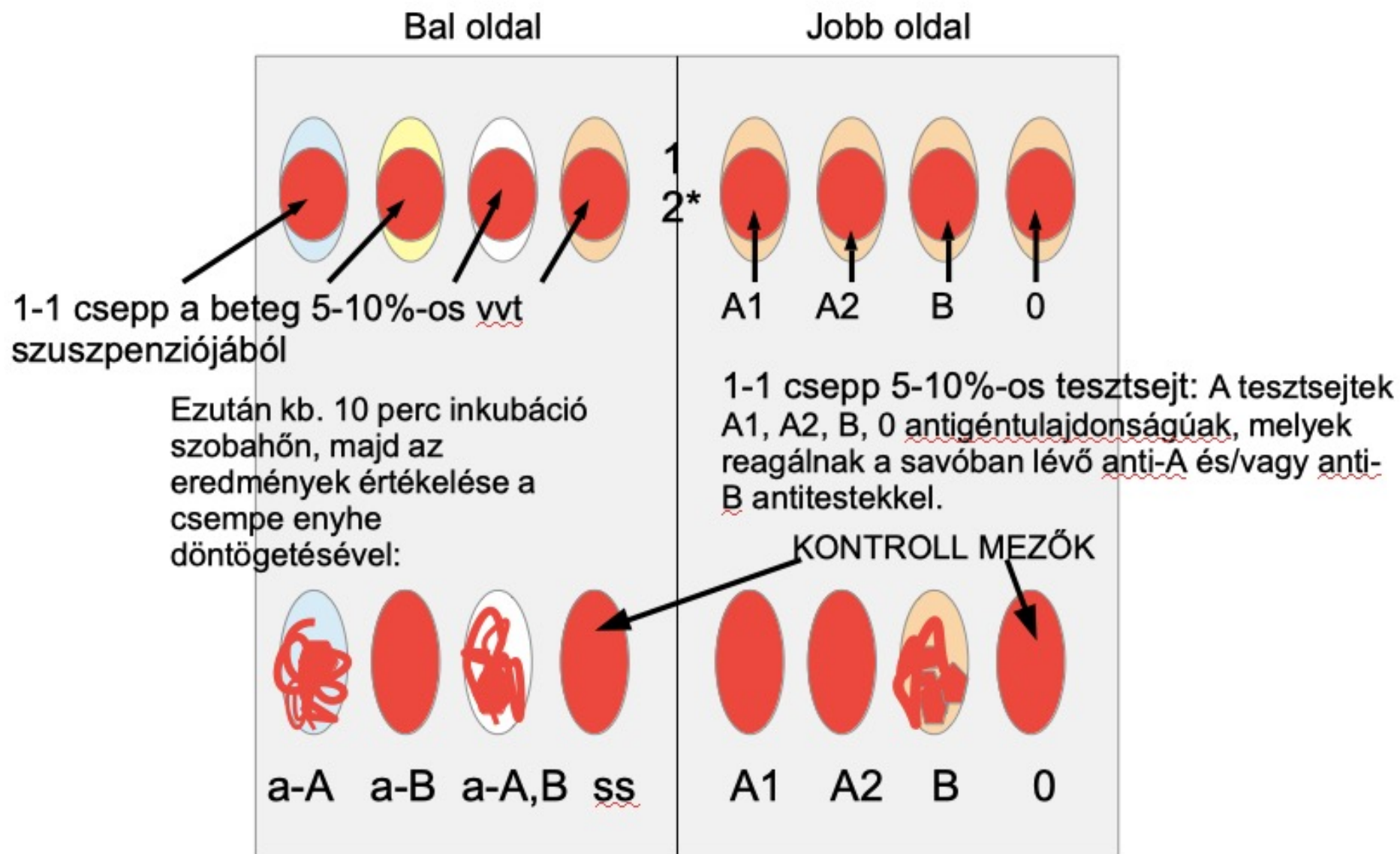
Jobb oldalhoz használt
tesztvörösvérsejtek



AB0 meghatározás – lemezes technika



AB0 meghatározás – lemezes technika

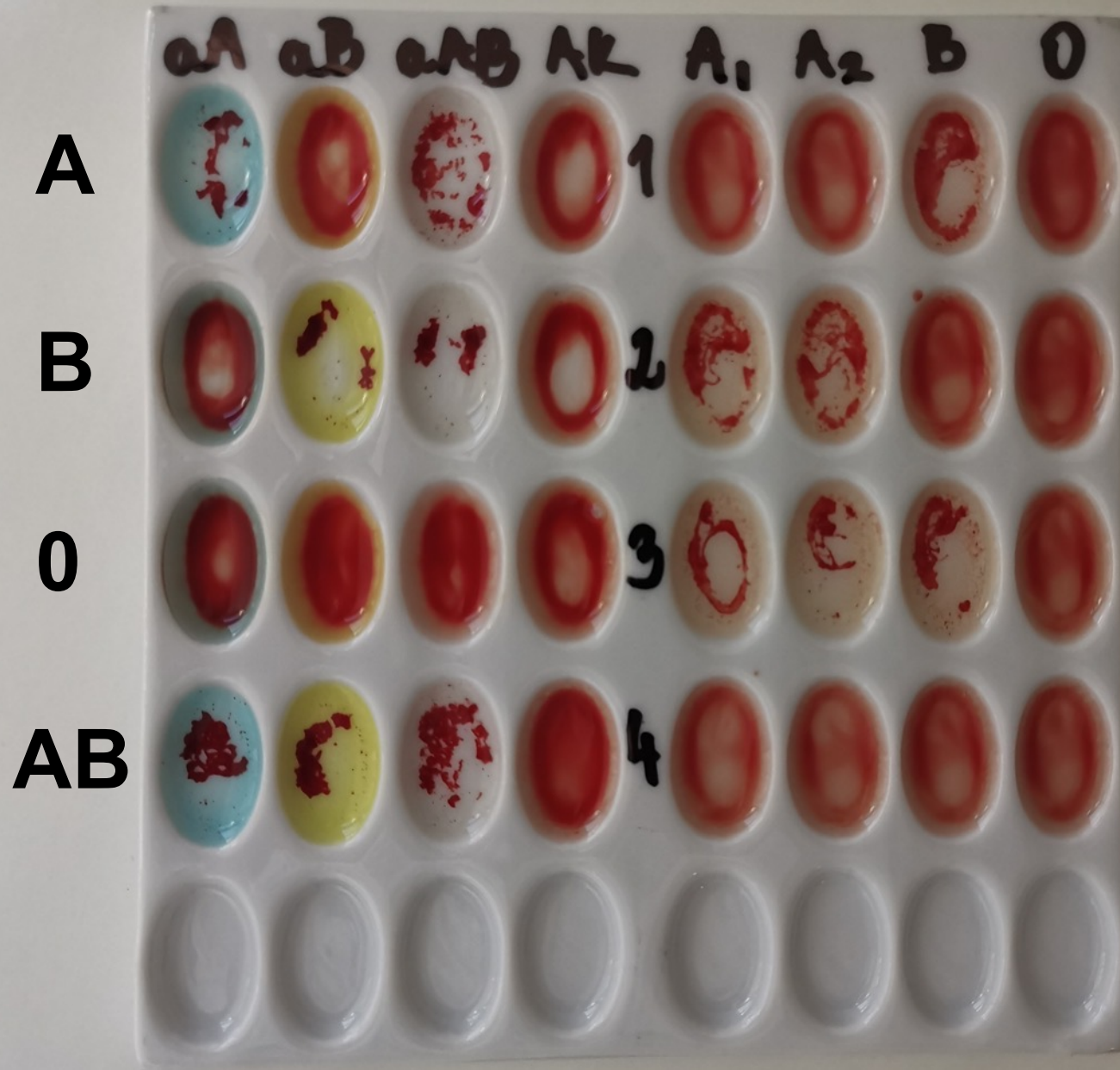


AB0 meghatározás – lemezes technika

	Bal oldal					Jobb oldal			
	a-A	a-B	a-AB	ss		A1	A2	B	0
A					1 2*				
B									
AB									
0									



= agglutináció



Kontroll mezők

- Bal oldalon: ss vagy AK (autokontroll)= saját sejt + saját savó
 - Ha pozitív, a vizsgálat nem értékelhető
 - Pl.: autoimmun betegségek (hideg AIHA, egyéb autoantitestek)
- Jobb oldalon: 0-s tesztsejttel végzett vizsgálat
 - A 0-s sejteken nincs A és B antigén, normális esetben negatív eredményt kapunk (nincs mivel reagálnia a savóban lévő anti-A, anti-B antitesteknek)
 - Ha pozitív, a vizsgálat nem értékelhető
 - Pl.: irreguláris antitest a savóban, hideg autoantitest, (Bombay vércsoport), anti-H antitest

RhD antigéntulajdonság meghatározása

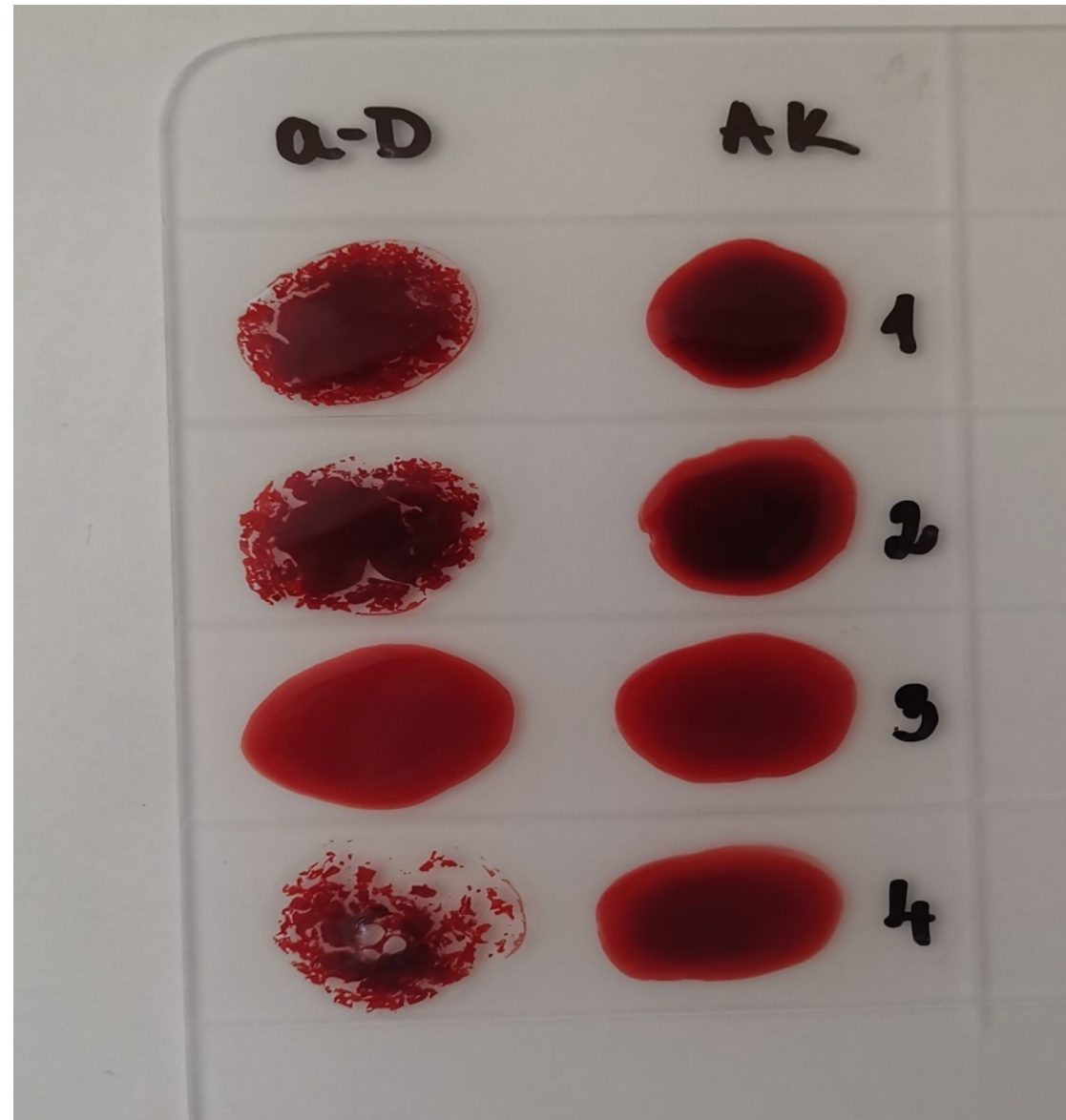
- A D antigén kimutatásához anti-D antitest tartalmú reagenst használunk



A lemezre 1 csepp anti-D reagens + 1 csepp tömény vvt, illetve az AK-hoz 1 csepp savó + 1 csepp tömény vvt. Elegyítés, majd értékelés a lemez enyhe döntésével.

RhD pozitív:
1,2 és 4-es minta

RhD negatív:
3-as minta



- Ha a beteg vörösvérsejtjén megtalálható a D antigén, akkor a reagensben található anti-D antitest rákötődik, kialakulnak az immunkomplexek, majd ezek térrácsba rendeződése, azaz az agglutináció, pozitív reakció látható = a beteg RhD pozitív
- Ha a beteg vörösvérsejtjei nem hordozzák a D antigént, nem lesz agglutináció, negatív reakciót kapunk = a beteg RhD negatív

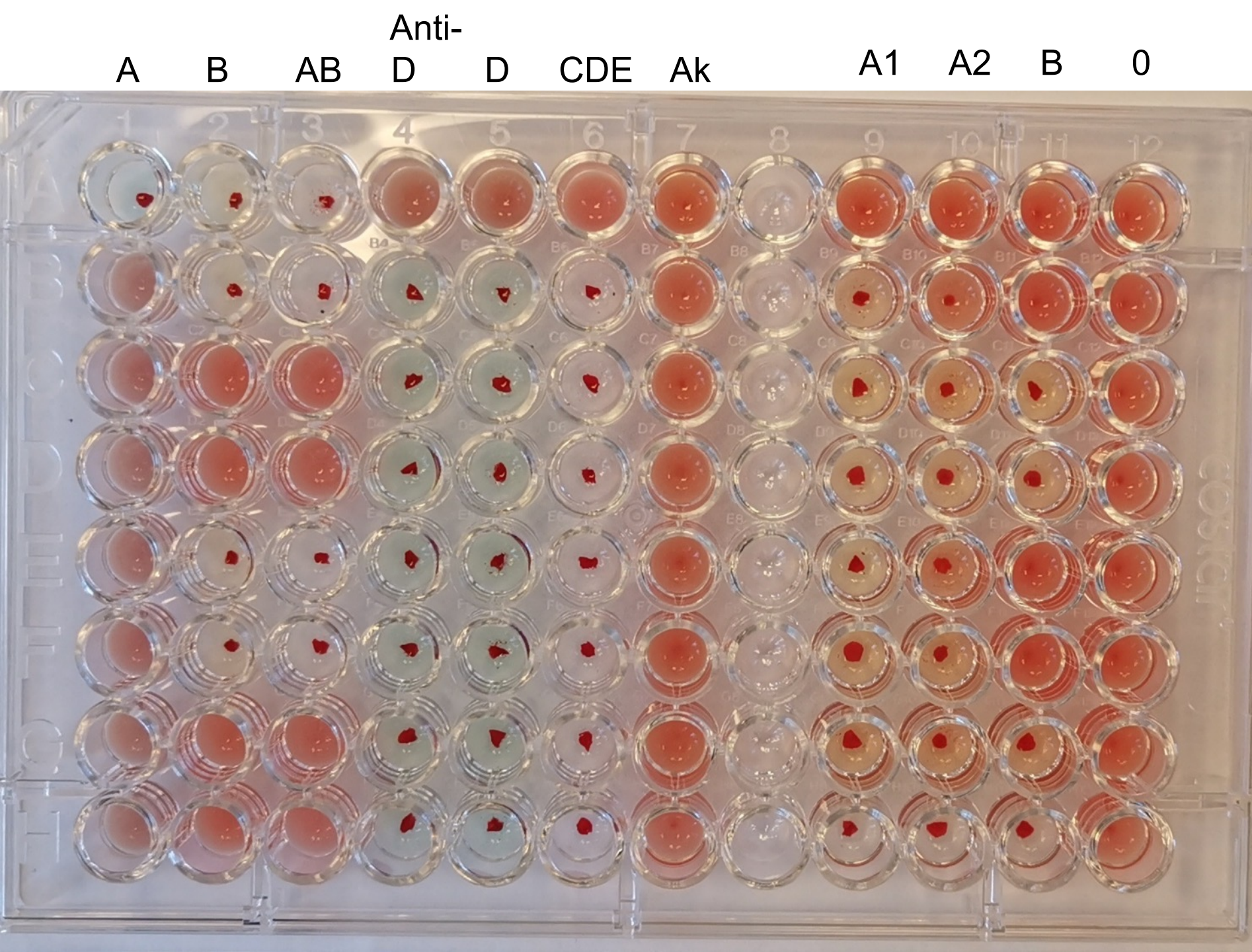
Microplate technika

- Lemezes technika, mikromódszer
- Részben automatizált
- 1 microplate-re 8 minta fér
- Gyors, költséghatékony vizsgálati technika



Microplate technika

[illegible]



Microplate
1 sor 1 beteg

AB RhD negatív

B RhD pozitív

0 RhD pozitív

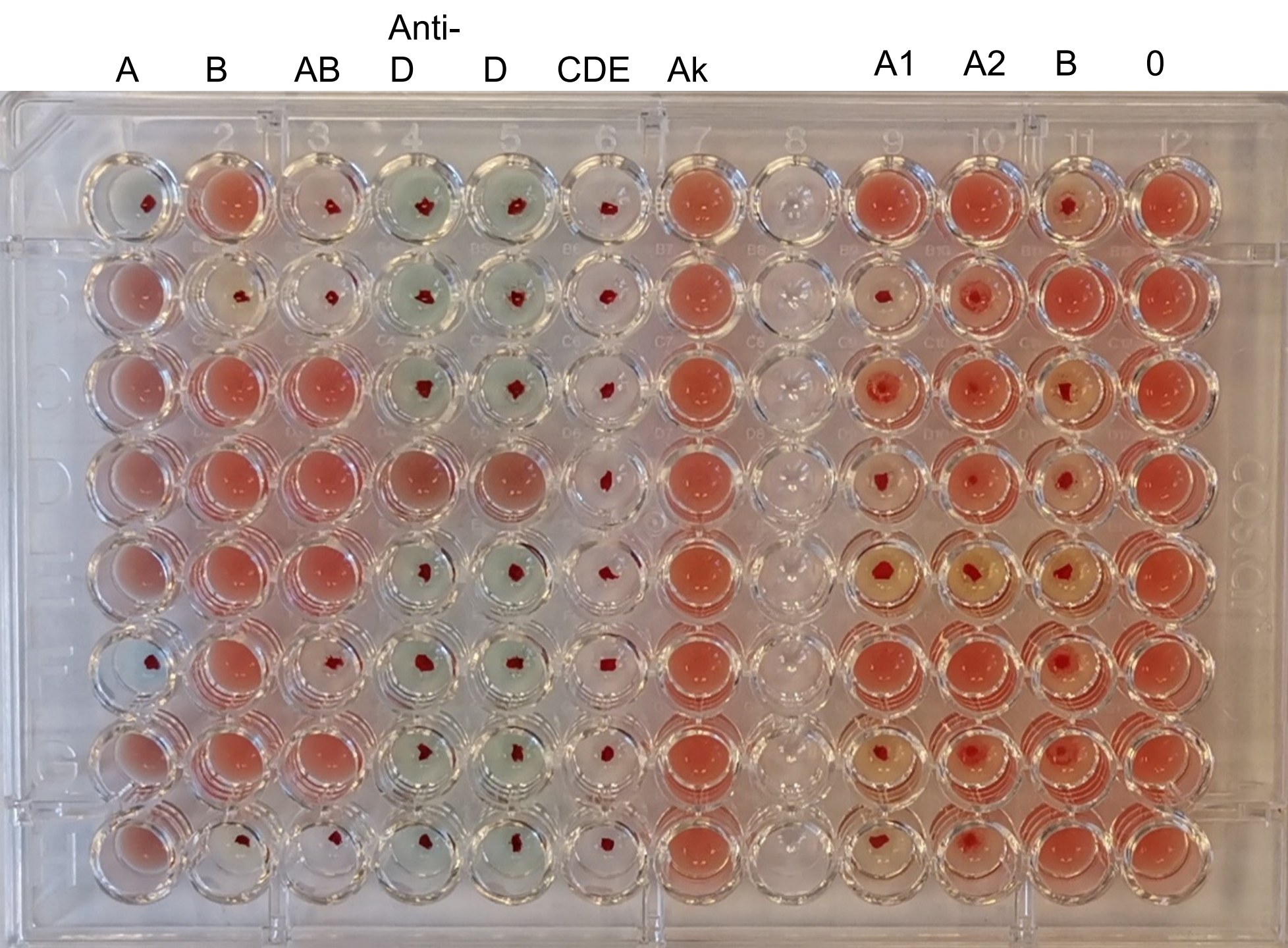
0 RhD pozitív

B RhD pozitív

B RhD pozitív

0 RhD pozitív

0 RhD pozitív



A RhD pozitív

B RhD pozitív

0 RhD pozitív

0 RhD negatív

0 RhD pozitív

A RhD pozitív

0 RhD pozitív

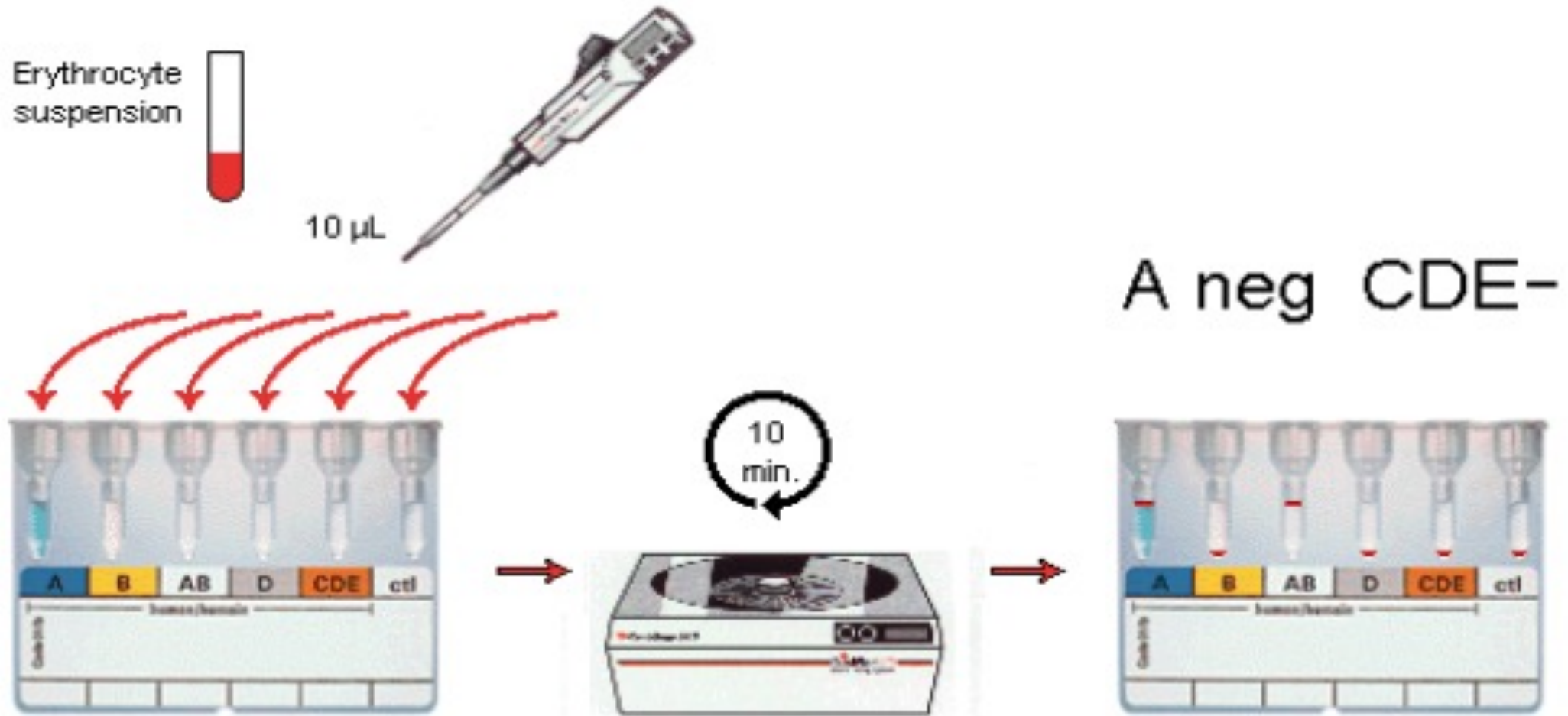
B RhD pozitív

D negatív, de C és/vagy E pozitív tulajdonság

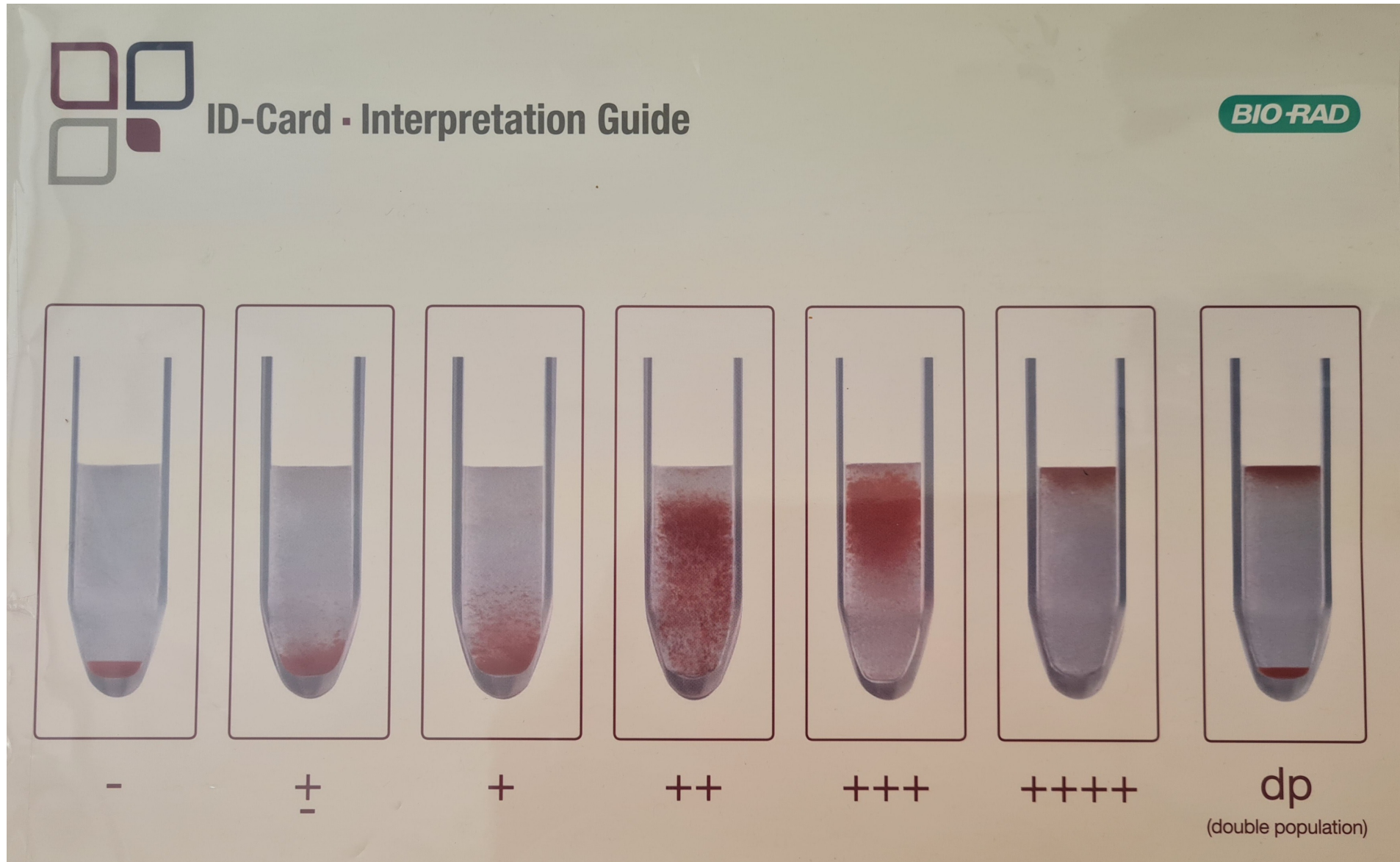
- Nincs D antigén a vvt membránban
- Általában ilyen fenotípusnál csak c és e antigén van a vvt felszínén
- Előfordulhat azonban, hogy az RhD negatívak C és/vagy E antigént hordoznak
 - Immunizáció szempontjából fontos az Rh antigének rutinszerű vizsgálata



AB0 és D antigén meghatározás gélkártyán, oszlopagglutinációs technikával:



Oszlopagglutinációs technika – reakciók





Gélkártya
bemérés után

A RhD pozitív
DAT negatív
Ctl=kontroll negatív





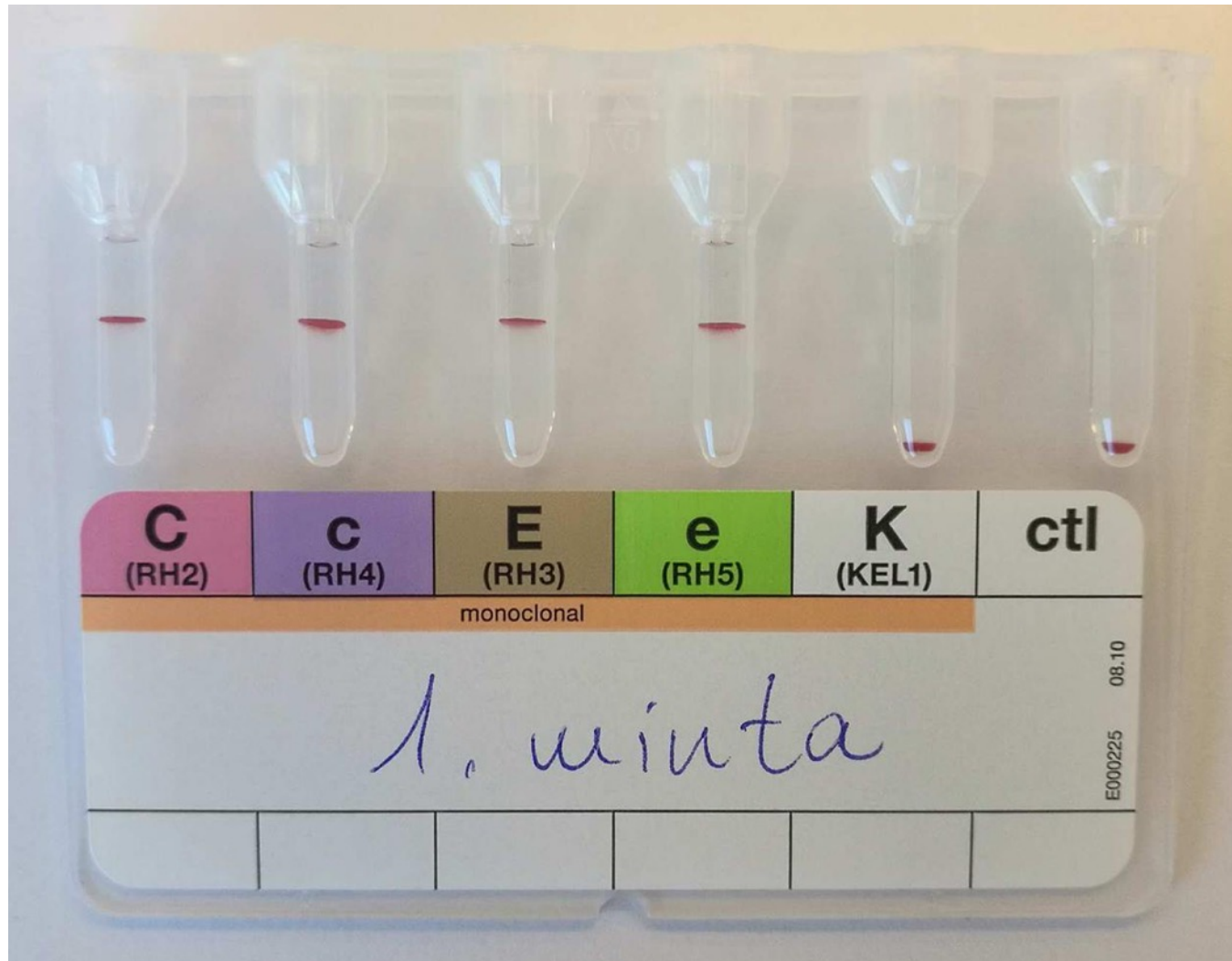
0 RhD pozitív

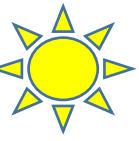
RhD variáns tulajdonság



A két anti-D antitestet tartalmazó géloszlopnál ++ erősségű agglutináció látható. A vvt-ken kevesebb D antigén található, így nem vesz részt az összes vvt az agglutinációban, centrifugálás során a géloszlop alja felé vándorolnak.

Rh fenotípus + Kell antigén meghatározása

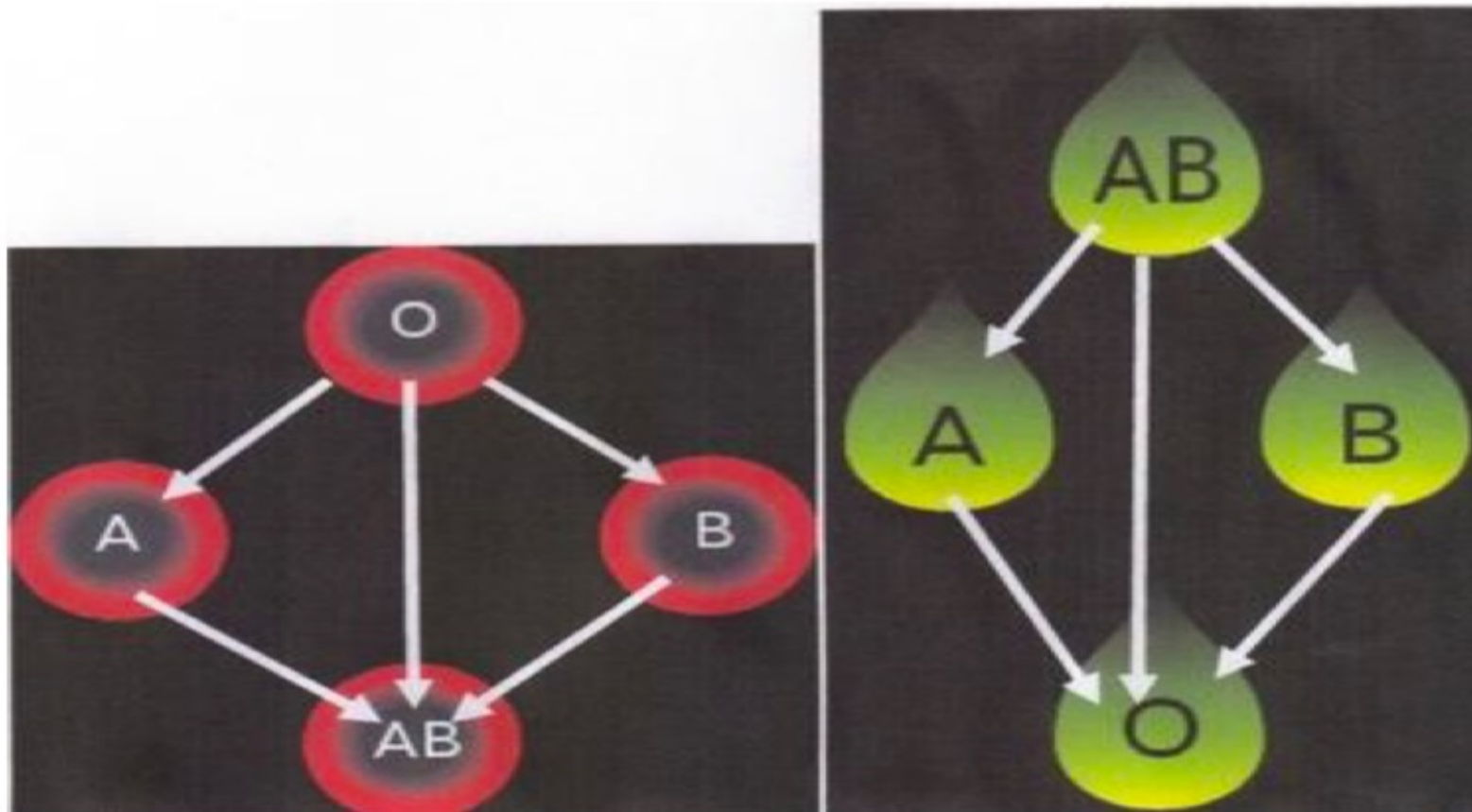




AB0 kompatibilitás

Vvt
Thr

Plazma



A nyíl mindig a donortól a recipiens felé mutat.