



ORSZÁGOS VÉRELLÁTÓ SZOLGÁLAT

Cím: 1113 Budapest, Karolina út 19-21.

Telefon: (+36 1) 372 4100

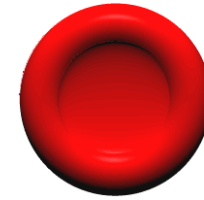
Telefax: (+36 1) 372 4189

E-mail cím: ovsz@ovsz.hu

Web: www.ovsz.hu

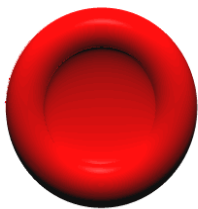
Transzfuziológiai szakképzés

2017.



VÉRCSPORTSZEROLÓGIA

Immunológiai alapfogalmak
Vércsoport antigének, antitestek
Alloimmunizáció mechanizmusa
Agglutináció



Dr. Nemes Nagy Zsuzsa
Szakképzés 2016.

Immunrendszer

Immunrendszer védi a szervezet önazonosságát.

Felismeri és eltávolítja a számára idegen anyagokat (mikroorganizmus, tumor) .

Antigén: minden olyan anyag, amelyet az immunrendszer idegenként ismer fel és **immunválaszt** indít ellene

Immunrendszer

Szerzett, adaptív immunitás

Specifikus védekező rendszer

- Immunválasz antigén függő, kialakulásához idő szükséges
 - Immunválasz sejtjei **limfoid** elemek
 - Immunológiai memória
-

Immunrendszer

Limfociták: csontvelői képződés

Érés: nyirokszervekben

Immunszervek:

- **Thymus**(**T**- limfociták)
- **Bursa*** ekvivalens szervek(nyirok csomók, tonsillák, bél, bőr nyirokszervei, **B**- limfociták)

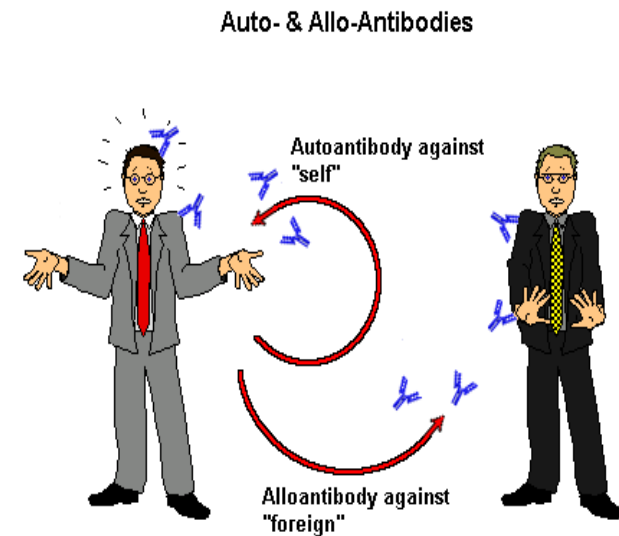
*Bursa Fabricii

Immunválasz

- **Celluláris**(sejtes védekezés)
főként T limfocitákhoz kötött
 - **Humorális**
főként B limfocitákhoz,
immunglobulinokhoz kötött
-

Az immunválasz részei

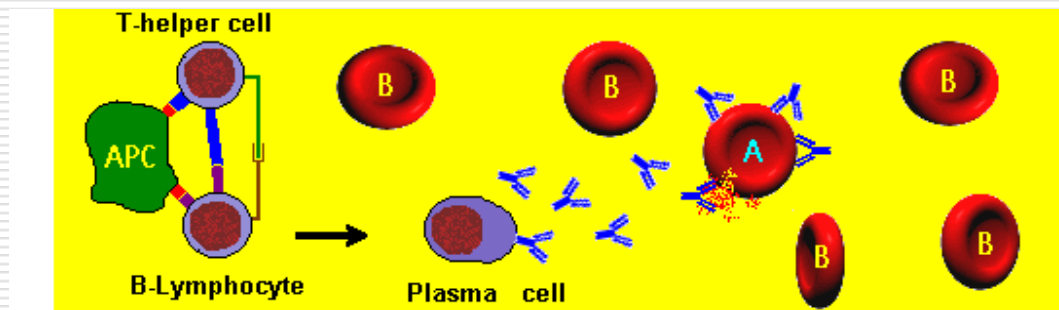
- ❑ Kognitív szakasz(az antigén felismerése, bemutatása)
- ❑ Centrális szakasz (specifikus immunsejtek, klónok aktiválása, memória sejtek képzése)
- ❑ Efferens szakasz
(antigén semlegesítése, elpusztítása, vagy toleranciája)



Az transfúzióhoz kapcsolódó alloimmunizáció

Humorális immunitás

- A bejutó **antigének**
 - Minősége
 - Mennyisége
 - Gyakorisága
- **Recipiens immunrendszere**



A vér antigén rendszerei

Sejtek:

- ❑ **Vörösvérsejtek**
- ❑ Fehérvérsejtek
- ❑ Trombociták

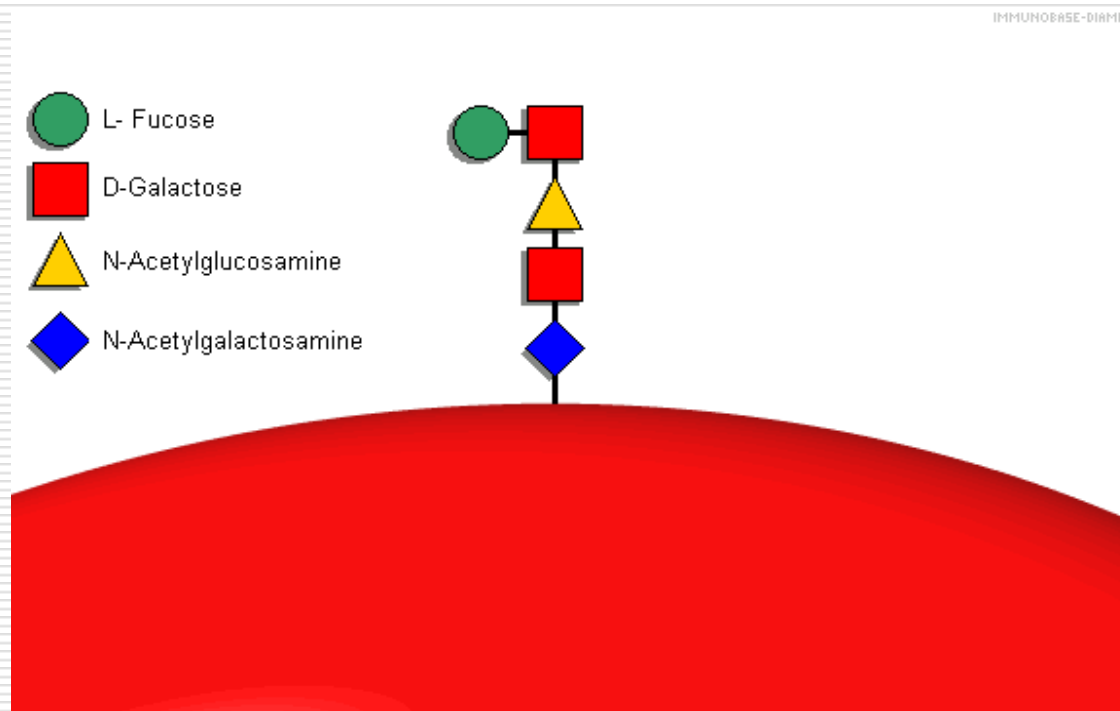
Szolubilis antigének(proteinek,
szénhidrátok, zsírok, nukleinsavak)

Vércsoportszerológia kezdetei



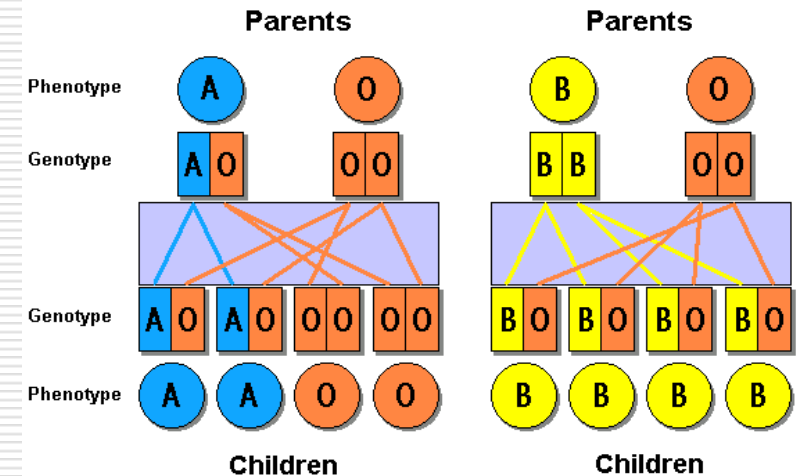
Karl Landsteiner

Vörösvérsejt antigének



Vércsoport antigének

- **Örökletes** tulajdonságok
- Genetikusan allélrendszerek és/ vagy kapcsolt gének határozzák meg
- Az egyedfejlődés során különböző időben jelennek meg



Vércsoportrendszerek

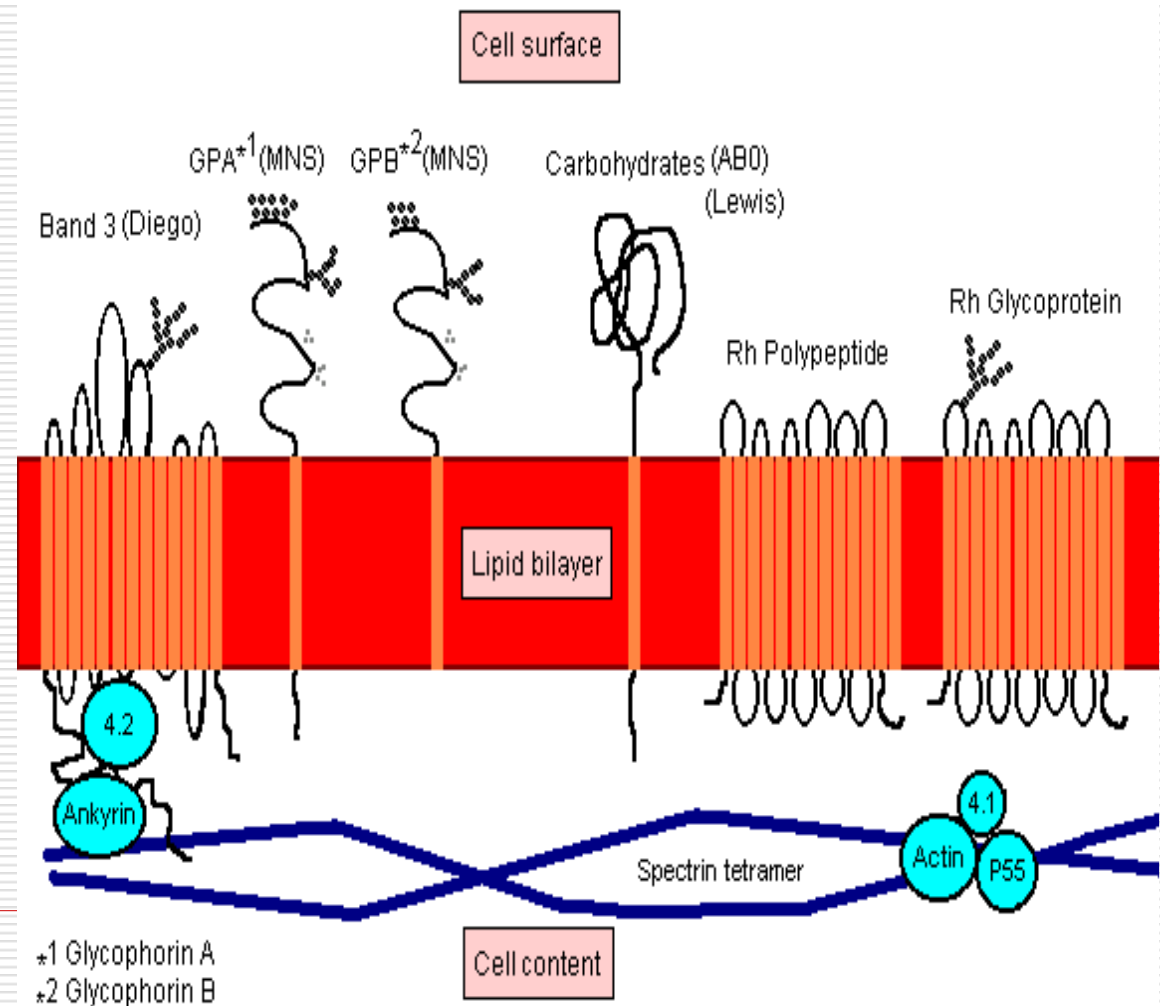
- A vörösvérsejtek felületén található antigéneket vércsoportrendszerekbe sorolták
 - Jelenlegi rendszerezés: **genetikai** alapú
 - ISBT(International Society for Blood Transfusion)
 - 35 vércsoport rendszer- több száz antigén
-

A vörösvérsejt antigének szerkezete

A vörösvérsejt
membrán alkotói

Kémiai tulajdonságuk
szerint:

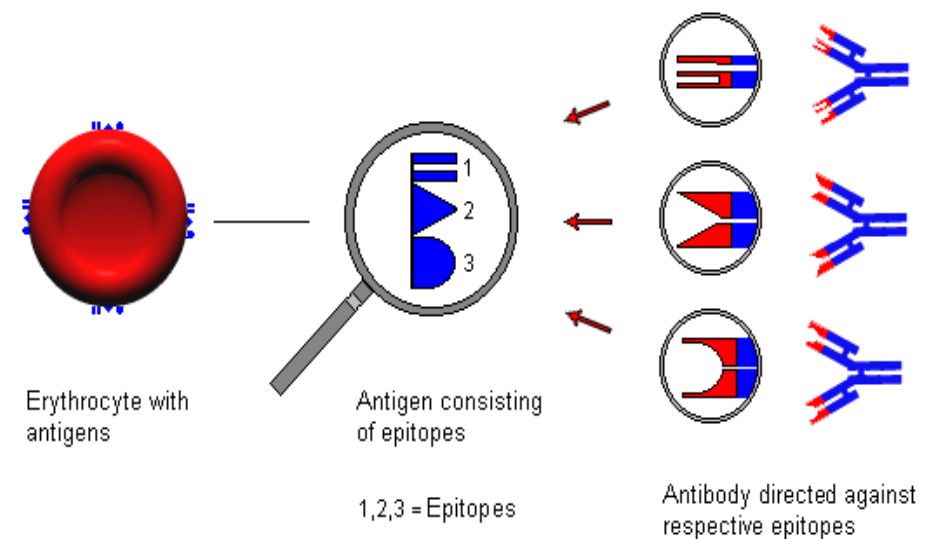
- szénhidrátok
- proteinek
- glikoproteinek
- glikolipidek



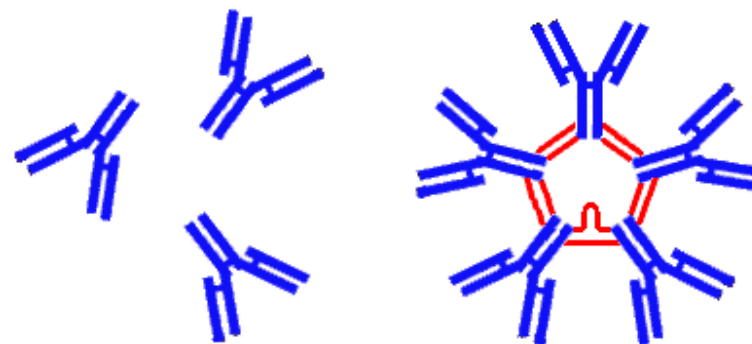
Az epitópok

Egy antigén több epitópból vagy antigén determinánsból épül fel.

Az immunválasz során a különböző epitópok más és más effektor sejtek és antitestek képződését váltják ki (poliklonális immunválasz)



Vércsoport antitestek



IgG

IgM

IMMUNOPRASE-DIAMED

Az antitestek osztályozása

- **ALLOANTITESTEK**

idegen, de saját fajon belüli antigénnel szemben termelődnek

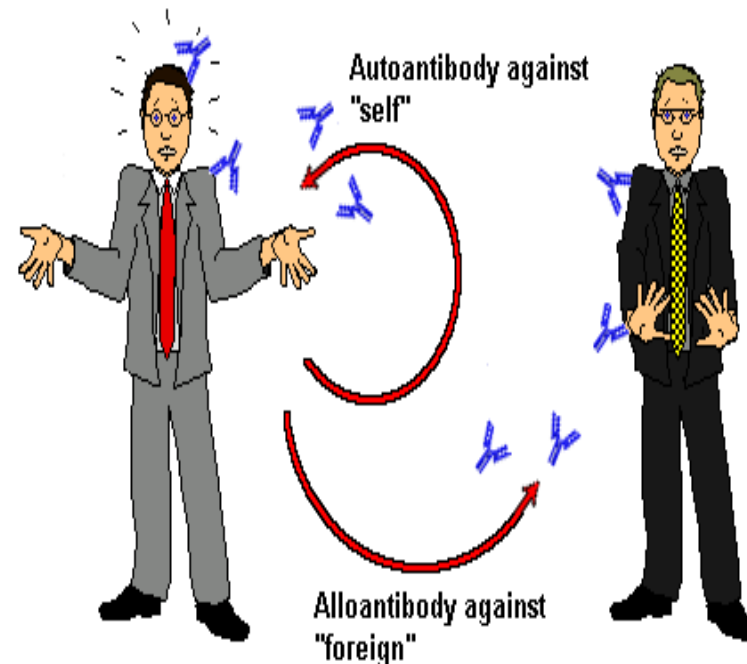
- **AUTOANTITESTEK**

saját antigénnel szemben termelődnek

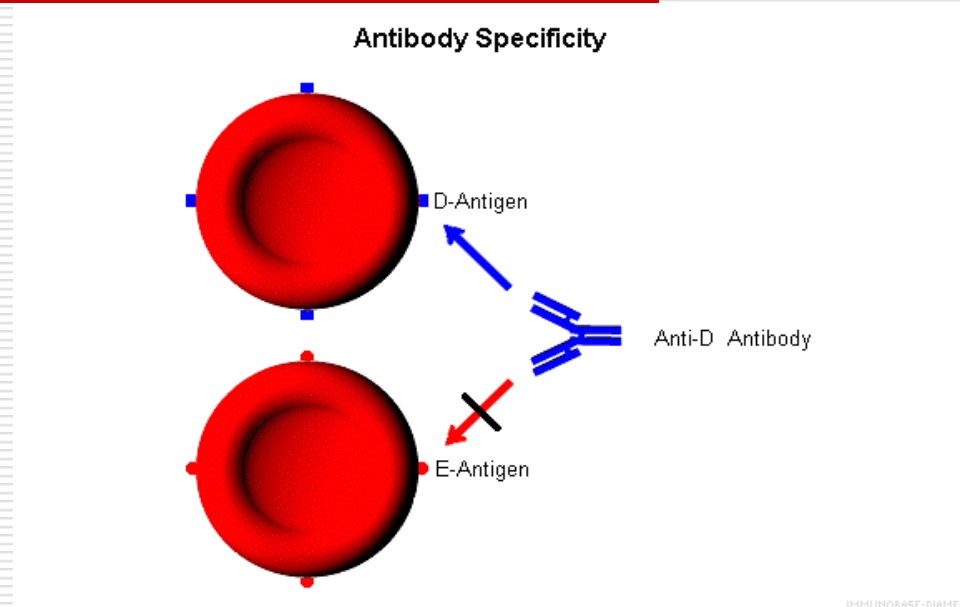
- **XENOANTITESTEK**

más fajon belüli antigénnel szemben termelődnek

Auto- & Allo-Antibodies



Vércsoport specifikus antitestek



A **specificitást** az antitest képződését kiváltó antigén határozza meg.

A vércsoport specifikus antitest mindig **csak** a kiváltó antigénnel lép reakcióba.

Az antitestek hőoptimuma

Antitestek: Meleg

Reakciók: +37°C

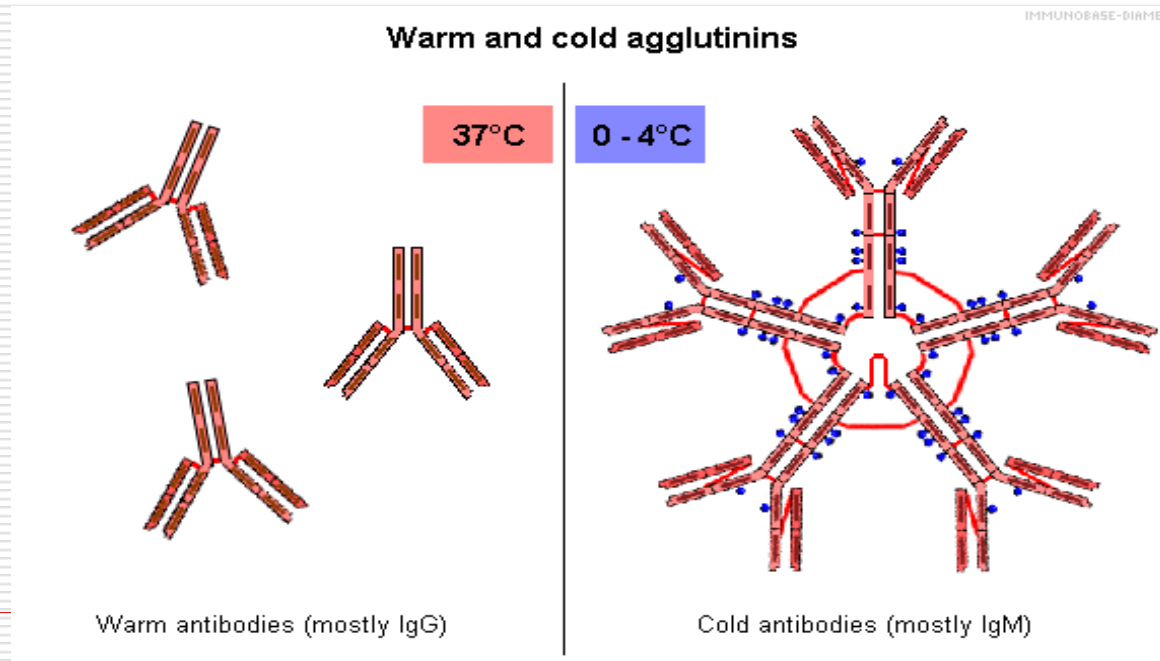
Immunglobulin típus:

IgG

Hideg

0; +4°C

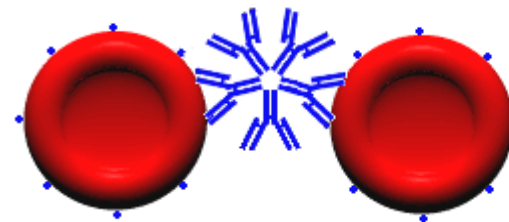
IgM



Az antitestek IN VITRO reakció mód szerint

Komplett vagy direkt
agglutinálók

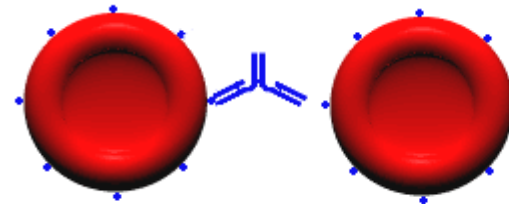
IgM →



Complete Antibody (IgM)

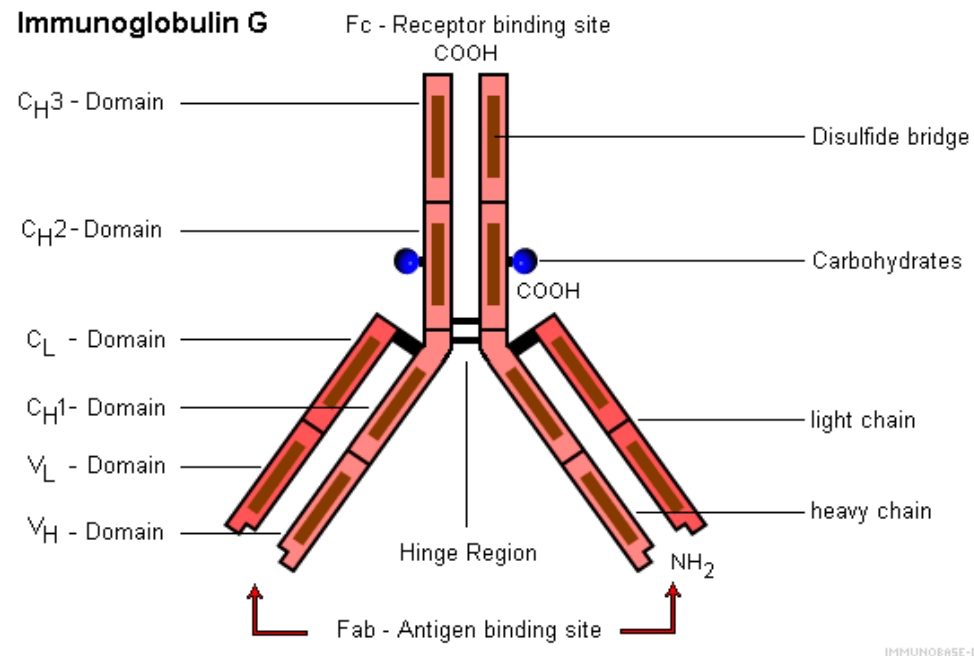
Inkomplett antitestek

IgG ↖ →



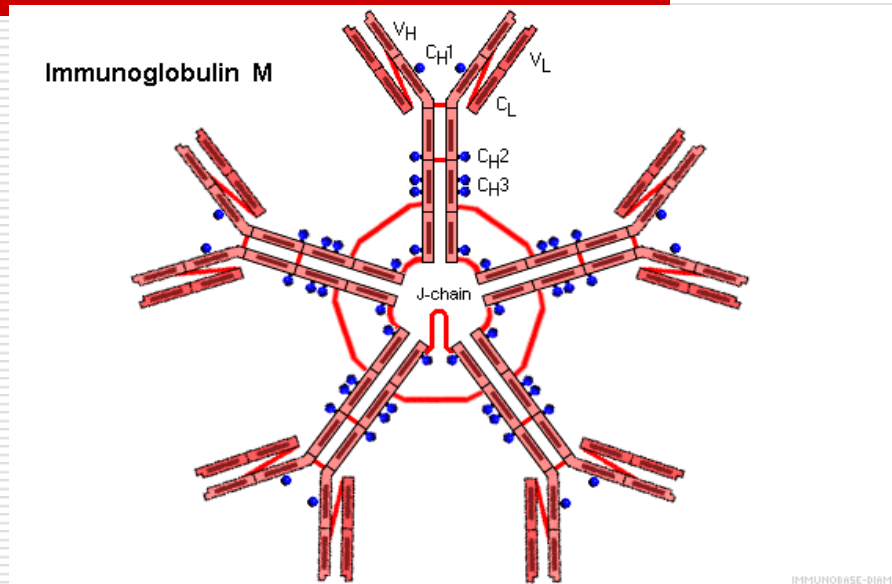
Incomplete Antibody (IgG)

Az IgG típusú ellenanyag



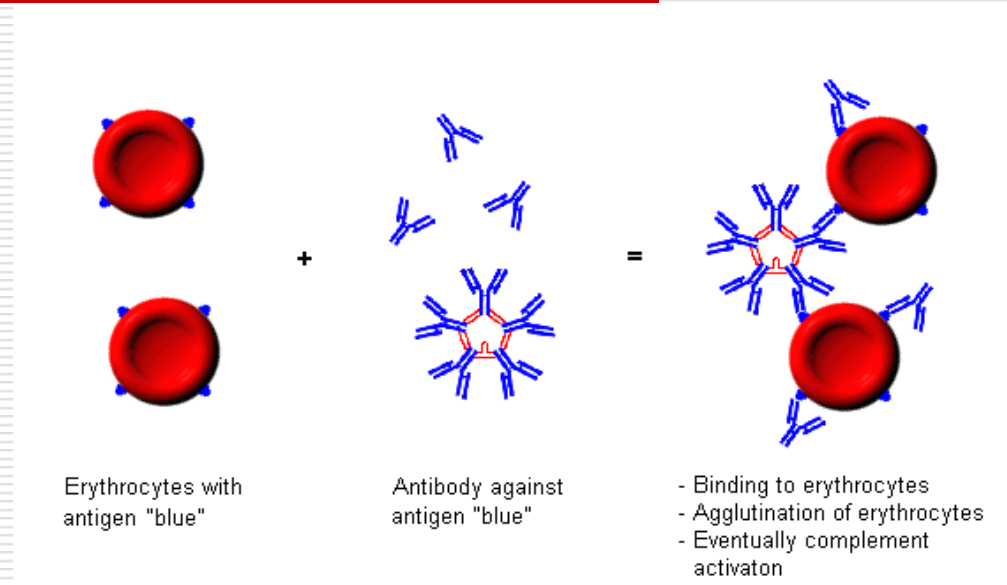
- Az ellenanyagok 75%-a
- 2 nehéz, 2 könnyű lánc
- A placentán átjut
- Inkomplett, meleg típusú, immuntitest

Az IgM immunglobulin



- Az immunglobulin készlet 10% -a
- Makromolekula: pentamer szerkezetű
- A korai immunválaszra jellemző
- Komplex, szénhidrát antigénekkal reagál
- Természetes, hideg típusú antitest

A vörösvérsejt antigénekkal szemben kialakuló alloimmunizáció mechanizmusa



vörösvérsejt **antigén** → APC → specifikus B sejt aktiváció →
specifikus **alloantitest** → immunkomplex →
komplement, fagocita rendszer aktiváció → antigén semlegesítése

Az immunválasz lefolyása

1.lag fázis: az antitest még nem mutatható ki

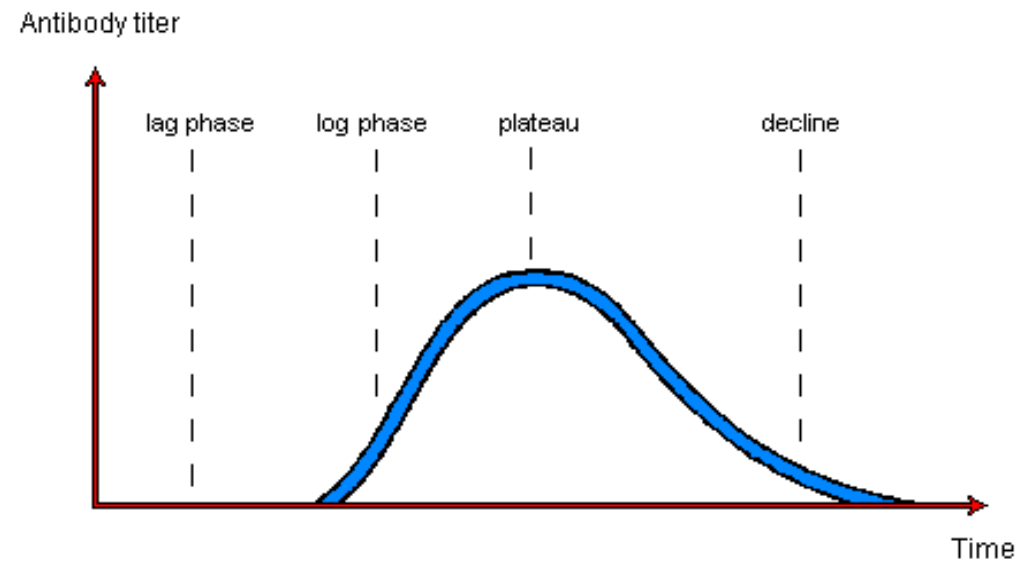
2.log fázis: az antitest titere logaritmusosan nő

3.plateau fázis: az antitest titere magas és állandó

4.leszálló fázis: az antitest titer csökken, vagy az antitest már nem mutatható ki

IDŐ: változó!**FÜGG:** antigéntől, egyéntől

Time course of immune response



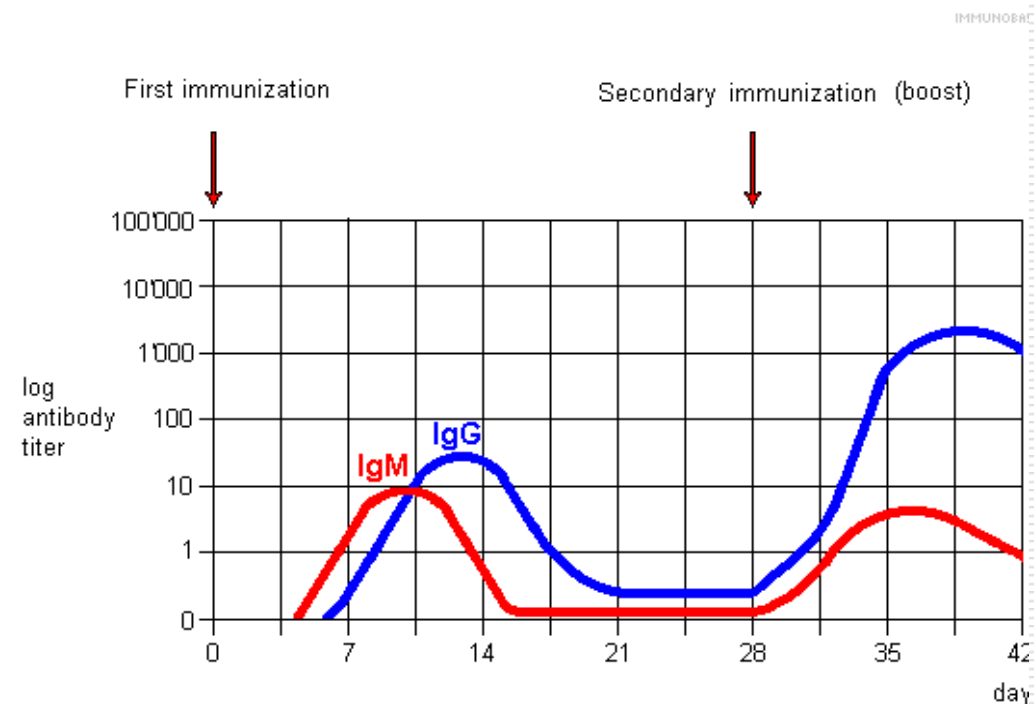
Az elsődleges és másodlagos immunválasz

Az elsődleges immunválasz

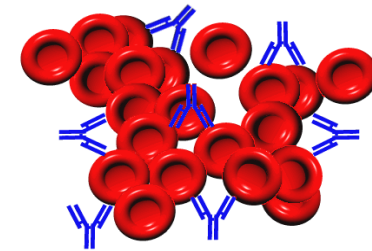
- első találkozás az antigénnel
- időben késik
- IgM típusú ellenanyagok dominálnak

A másodlagos immunválasz

- ismételt találkozás az antigénnel
- az ellenanyagok hamarabb jelennek meg
- titerük magas
- IgG típusú ellenanyagok dominálnak



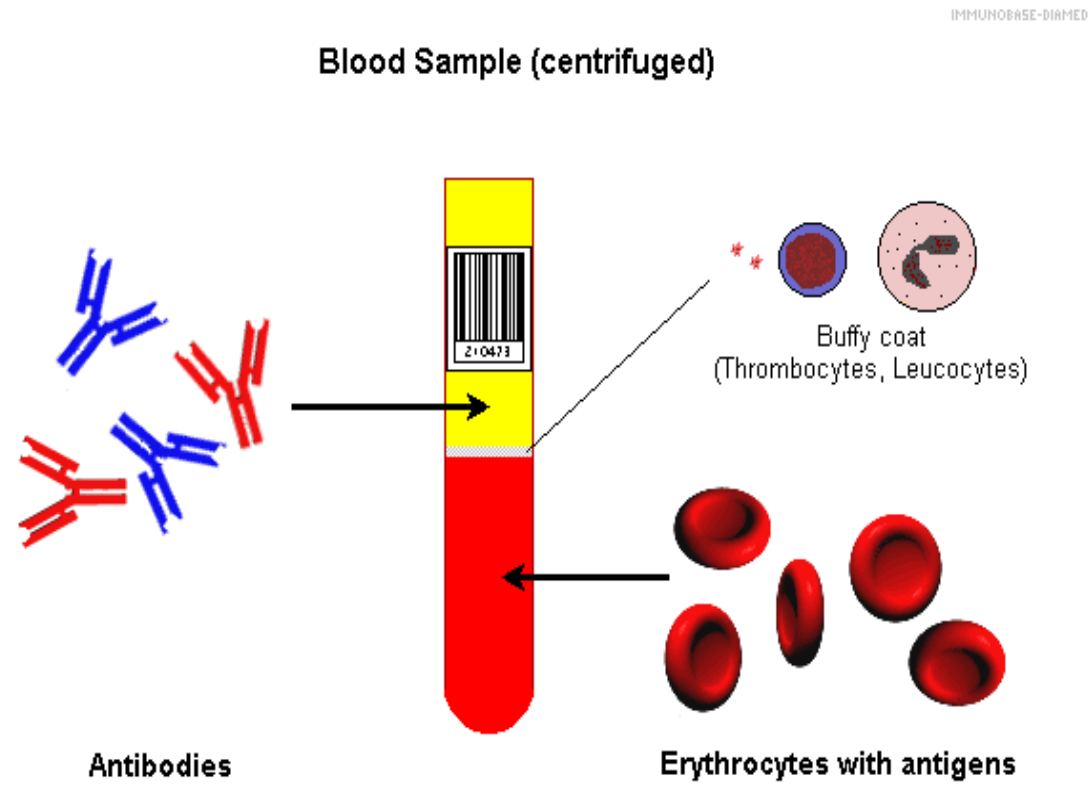
Vércsoport szerológiai vizsgálatok



- **Ismeretlen vörösvérsejt antigén**
kimutatása ismert antitest tartalmú reagenssel
 - **Ismeretlen antitest kimutatása**
a savóból/ plazmából ismert antigenitású teszt vörösvérsejtekkel
-

Vérminta (24 órán belüli)

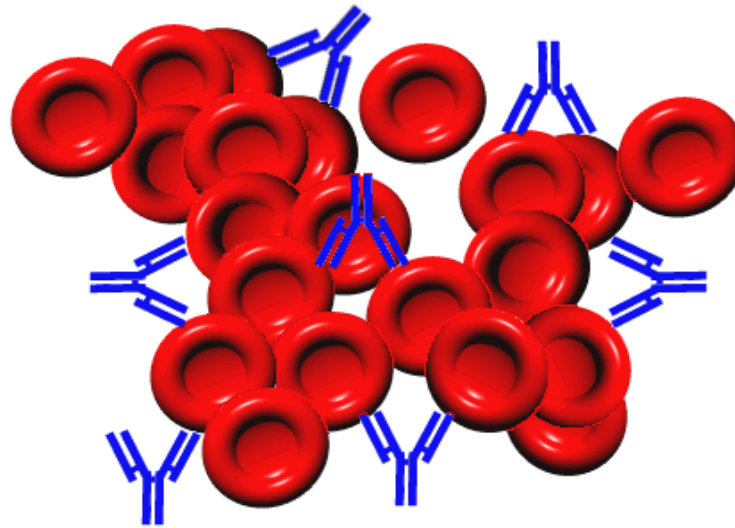
- **Natív**
- Citrátos
- EDTA- s



Heparinos nem megfelelő!

Az antigén- antitest reakciók IN VITRO formái

- Precipitáció
- Hemolízis
- **Agglutináció**
- Abszorpció
- Elúció



IMMUNOBASE-DIAMED

Az agglutináció Specifikus fázis

Specifikus antigén-antitest kötődés



Erythrocyte

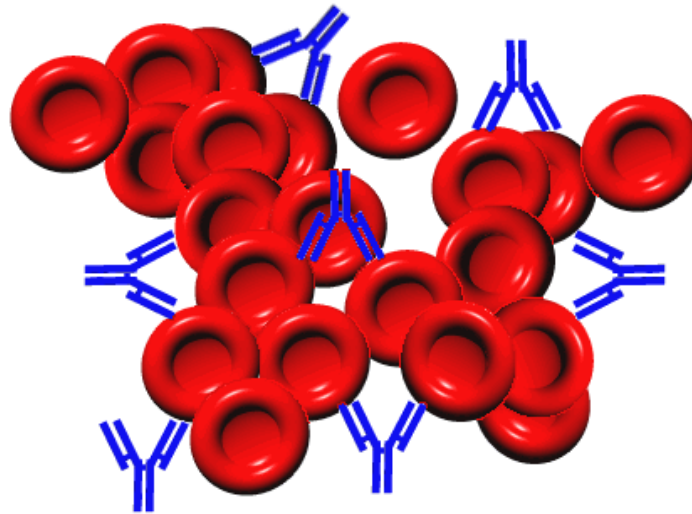
Antibody

Fc-Receptors (IgG 3 > IgG 1)
Lysis in the spleen

IMMUNOBASE-DIAMED

Az agglutináció Aspecifikus fázis

Az immunkomplexek összekapcsolódnak,
térács alakul ki.



IMMUNORASE-DIAMED

Az agglutinációt befolyásoló tényezők

1.Reakcióhő

- hideg ($0-4^{\circ}\text{C}$) típusú antitestek
- meleg (37°C) típusú antitestek

2.Reakció idő

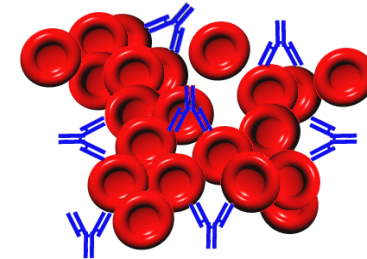
Az antigén-antitest kötődéshez és a térrács kialakításához szükséges idő

Függ:

- vércsoport rendszertől
- módszertől
- vizsgálati technikától

3.Antigén- antitest arány

Az antitest túlsúly az optimális



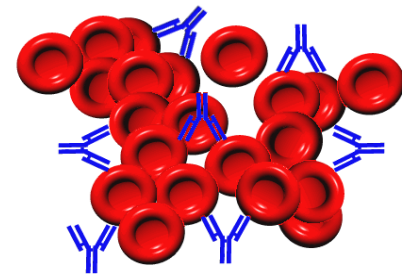
Az agglutinációt befolyásoló tényezők

4.Reakció közeg

Komplett agglutininek: fiz.só

Inkomplett agglutininek:

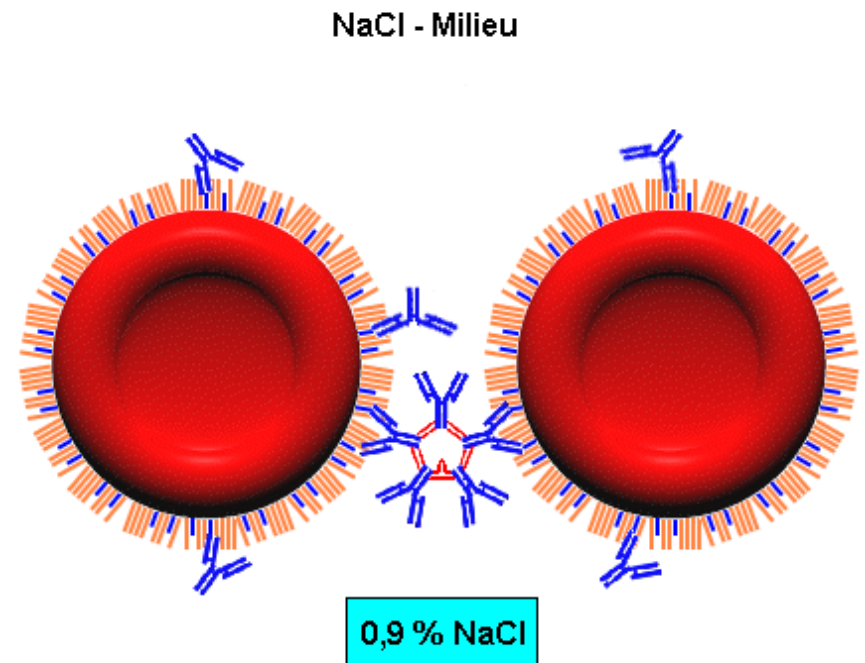
- LISS (alacsony ionerősségű közeg)
- albumin és egyéb makromolekulák
- proteolitikus enzimek (papain, bromelin)
- AHG (Coombs) technikák



Az agglutinációt befolyásoló tényezők/Reakció közeg

Fiziológiás sós közeg I.

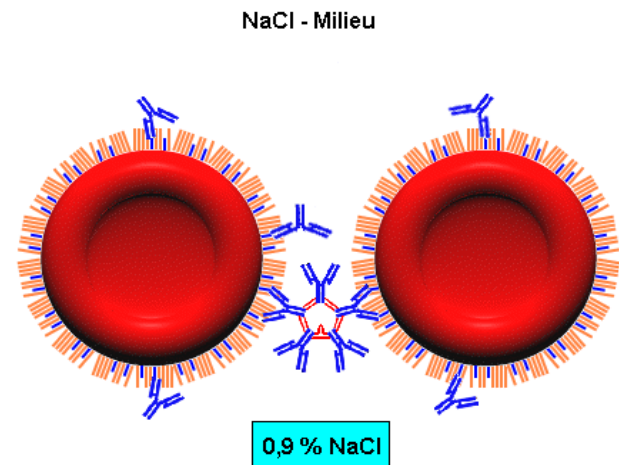
Az IgM típusú antitestek agglutinálnak, az IgG típusúak kötődnek az antigénhez, de nem agglutinálnak



Az agglutinációt befolyásoló tényezők/Reakció közeg

Fiziológiás sós közeg II. Alkalmazás:

- ABO rendszer vizsgálata
- Hideg típusú antitestek kimutatása
- Szalin típusú, IgM reagensok alkalmazása

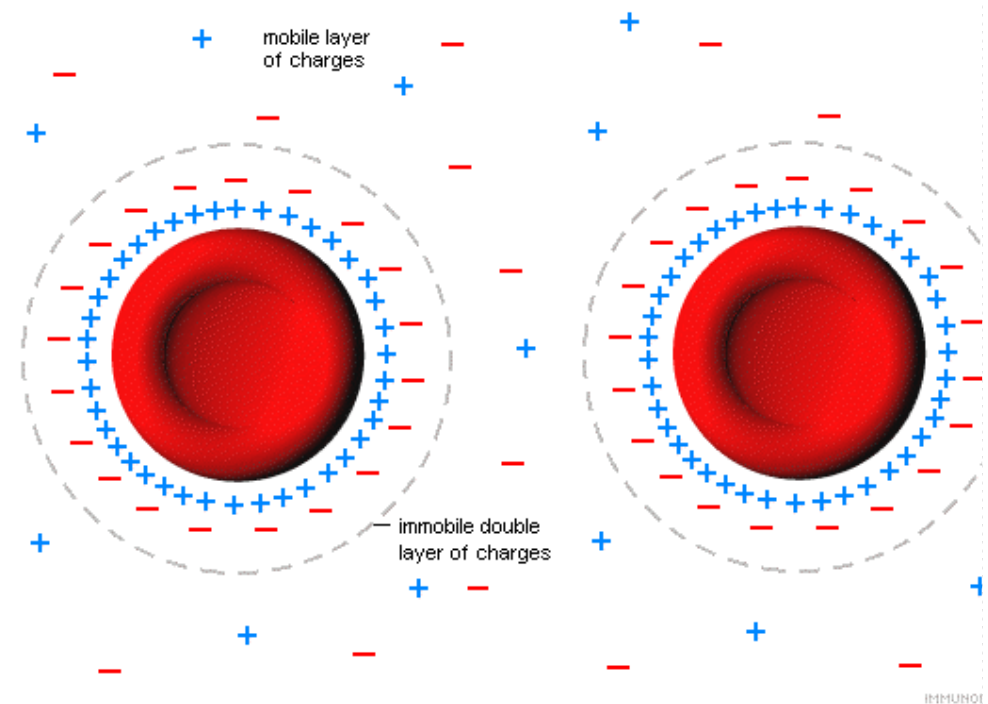


Az agglutinációt befolyásoló tényezők/Reakció közeg/LISS

LISS = low ionic strength solution

Hatása:

- növeli a sejt felszínt (a sejt megduzzad)
- csökkenti az elektromos kettős réteget
- közelebb hozza a sejteket
- szabaddá tesz antigéneket
- gyorsítja az antitestek kötődését



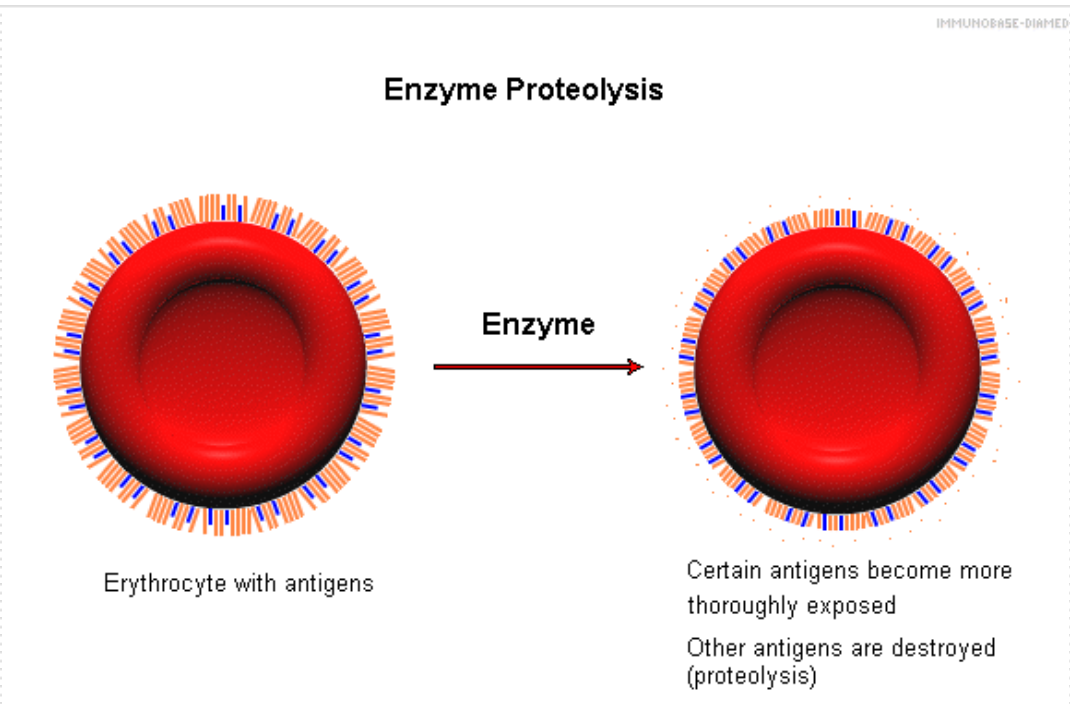
Az agglutinációt befolyásoló tényezők/Reakció közeg/Enzim

Proteolitikus enzimek

- papain
- bromelin
- ficin

Hatás:

- csökkentik a felszín negatív töltését
- szabaddá tesznek antigéneket (Rh, Kidd)
- Elroncsolnak antigéneket (Duffy, MNS)



ELLENANYAGSZŰRÉS

Az agglutinációt befolyásoló tényezők/Reakció közeg/ AHG (Coombs) technikák

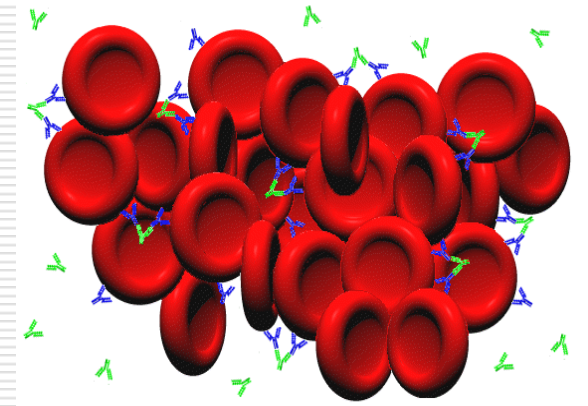
Direkt Coombs teszt

A vörösvérsejtek antitest fedettségének kimutatása

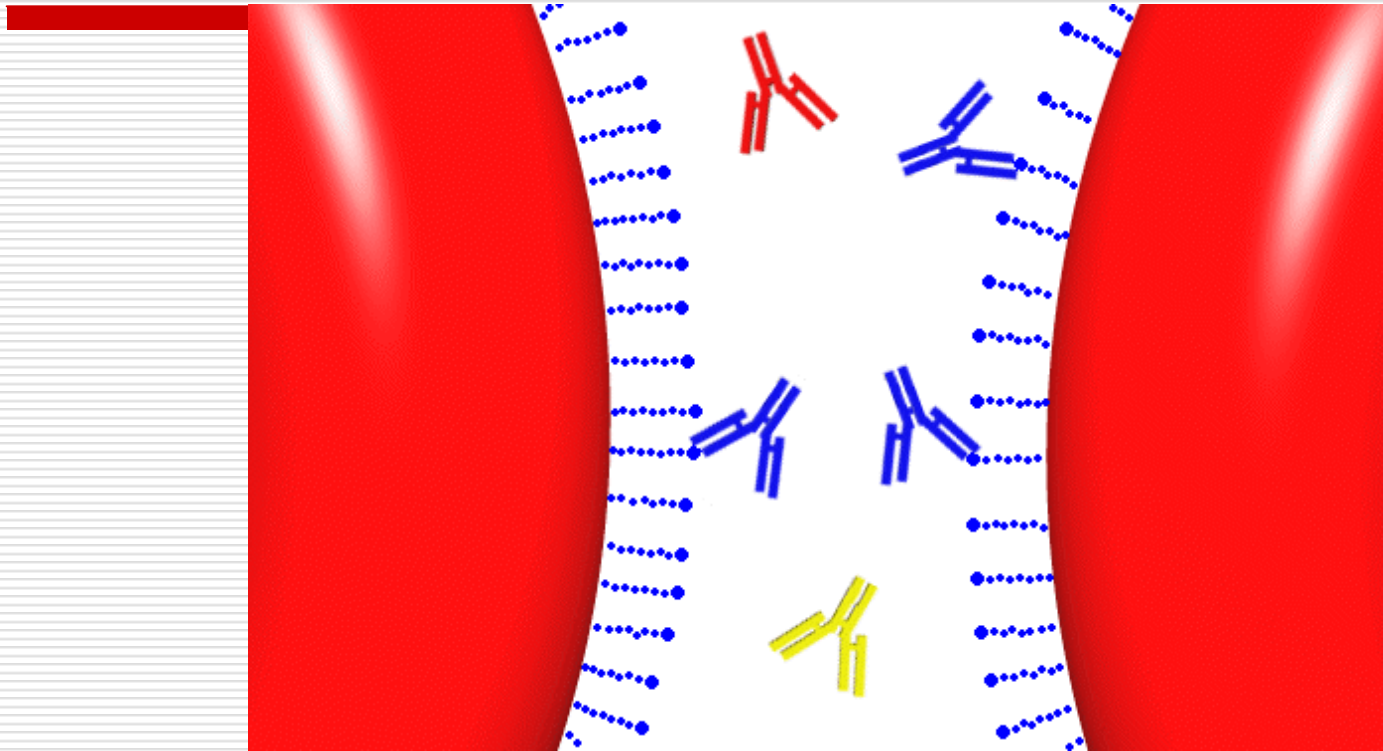
- alloantitestek
- autoantitestek
- gyógyszer elleni antitestek

Indirekt Coombs teszt

- A savó inkomplett antitestjeinek kimutatása(ellenanyagszűrés és azonosítás, kompatibilitási vizsgálatok)
 - Antigén vizsgálatok (Kell,Fy,Jk stb)
-

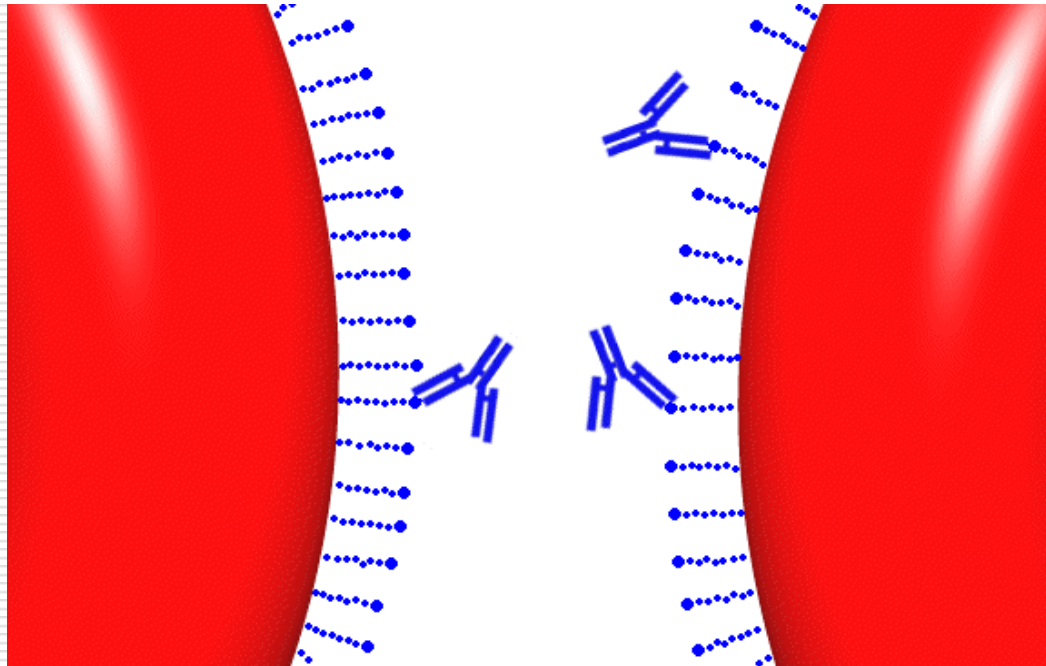


A direkt Coombs teszt (DAT)



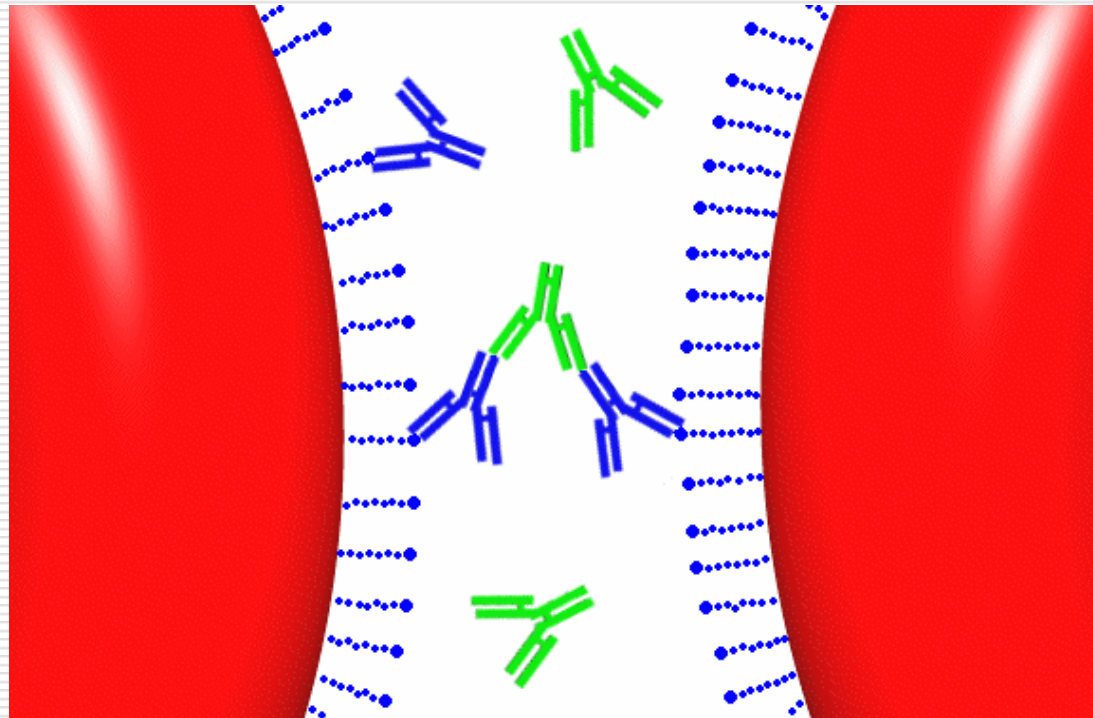
A sejtek immunglobulin és/ vagy komplement fedettségének vizsgálata (ÚHB, AIHA, transzfúziós szövődmény)

A direkt Coombs teszt (DAT)



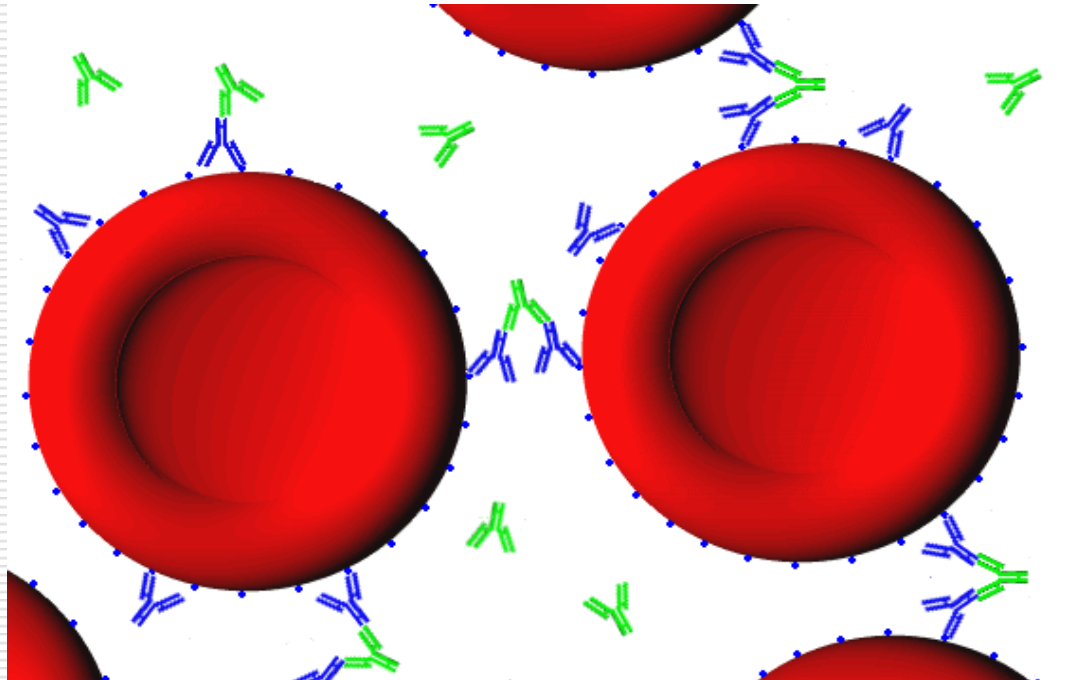
Mosás: a kötetlen immunglobulinok eltávolítása

A direkt Coombs teszt (DAT)



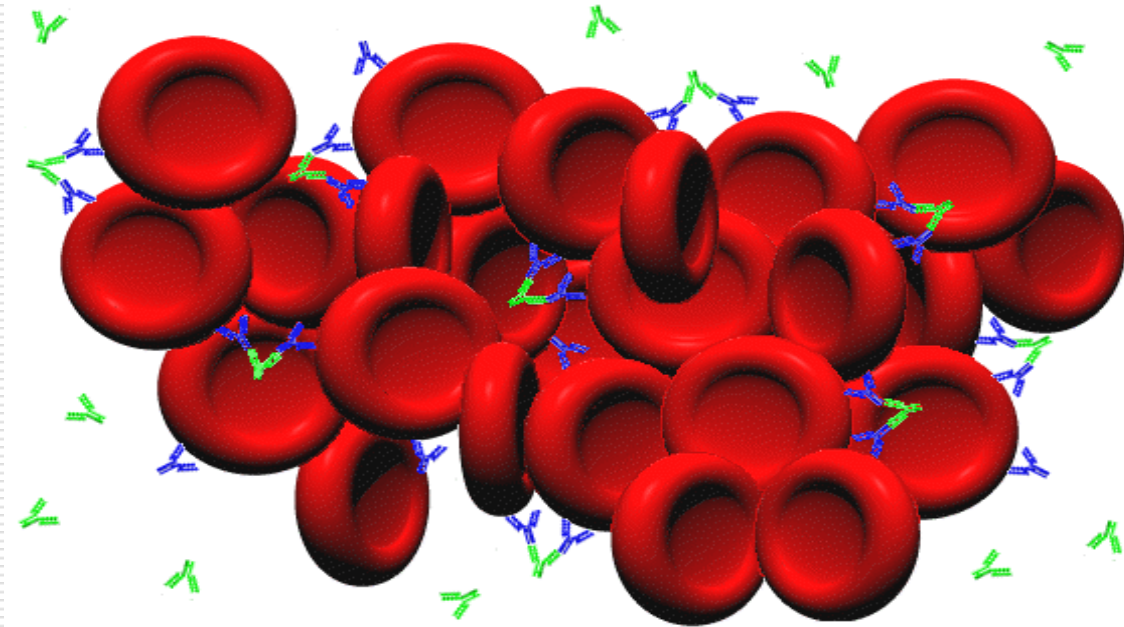
Coombs reagens (AHG) hozzáadása

A direkt Coombs teszt(DAT)



Az antihuman globulin hidat képez az antitesttel fedett sejtek között

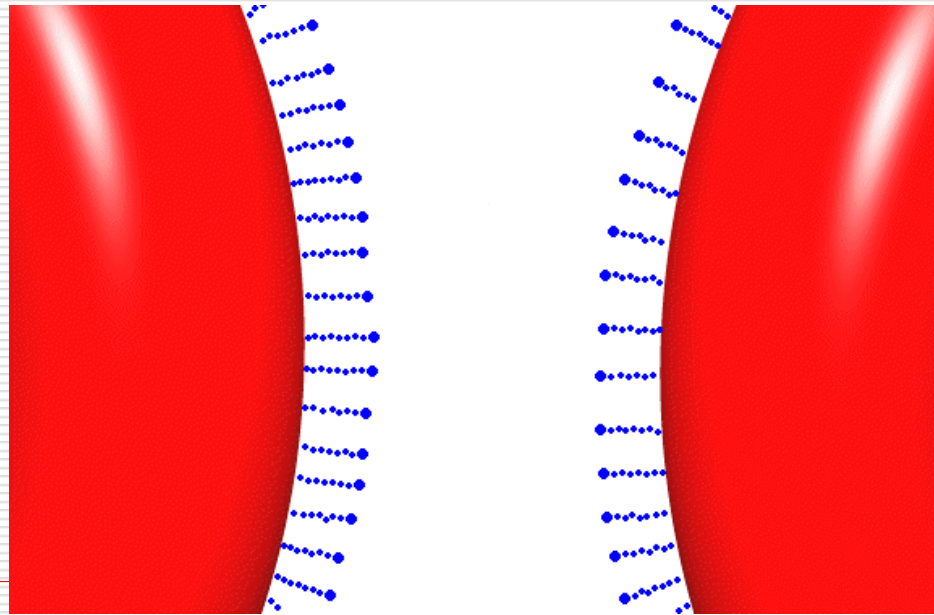
A direkt Coombs teszt(DAT)



Agglutináció jön létre

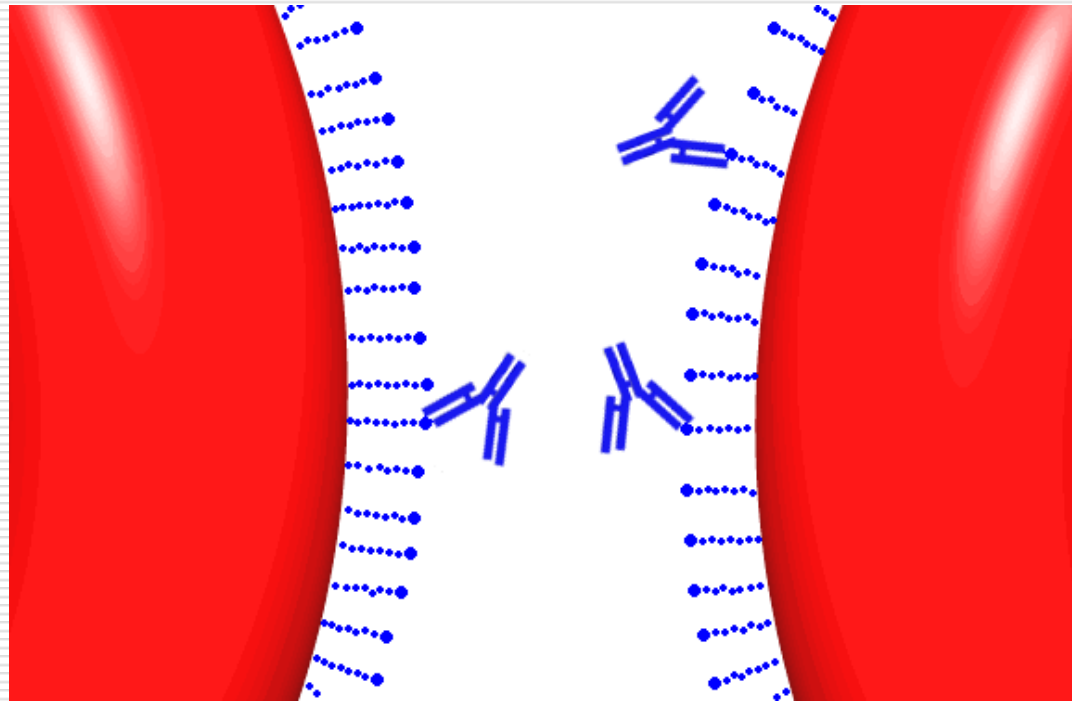
Az indirekt Coombs teszt

- **A savó inkomplett antitestjeinek** kimutatása (ellenanyagszűrés és azonosítás, vérválasztás)
- Antigének kimutatására (Kell, Duffy, Kidd)



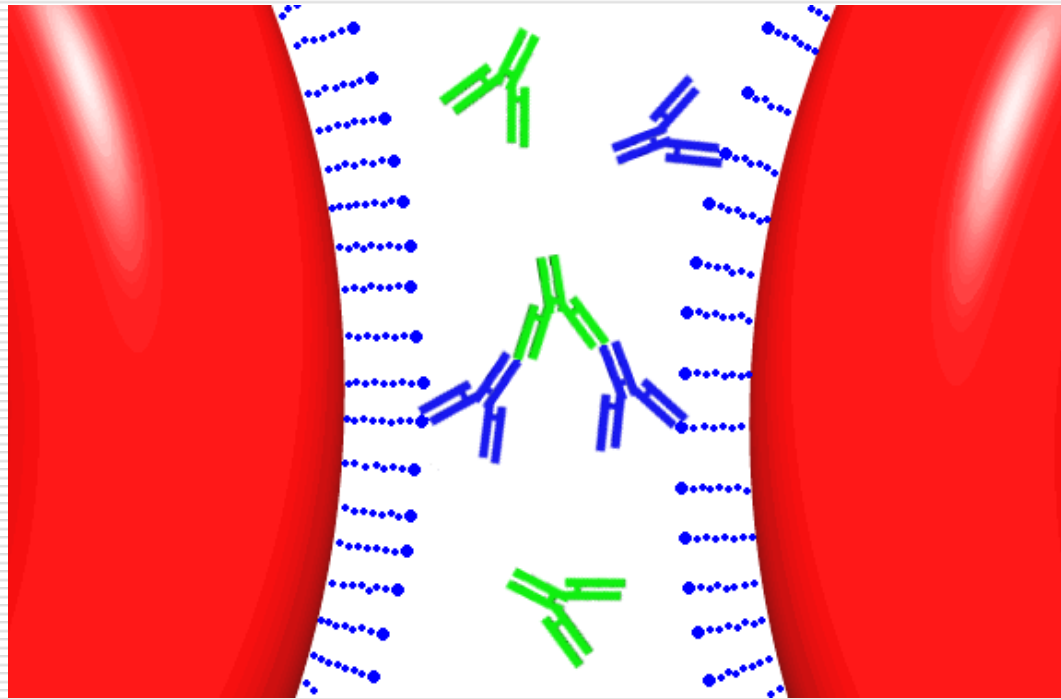
Ismert antigenitású teszt vörösvérsejtek

Az indirekt Coombs teszt



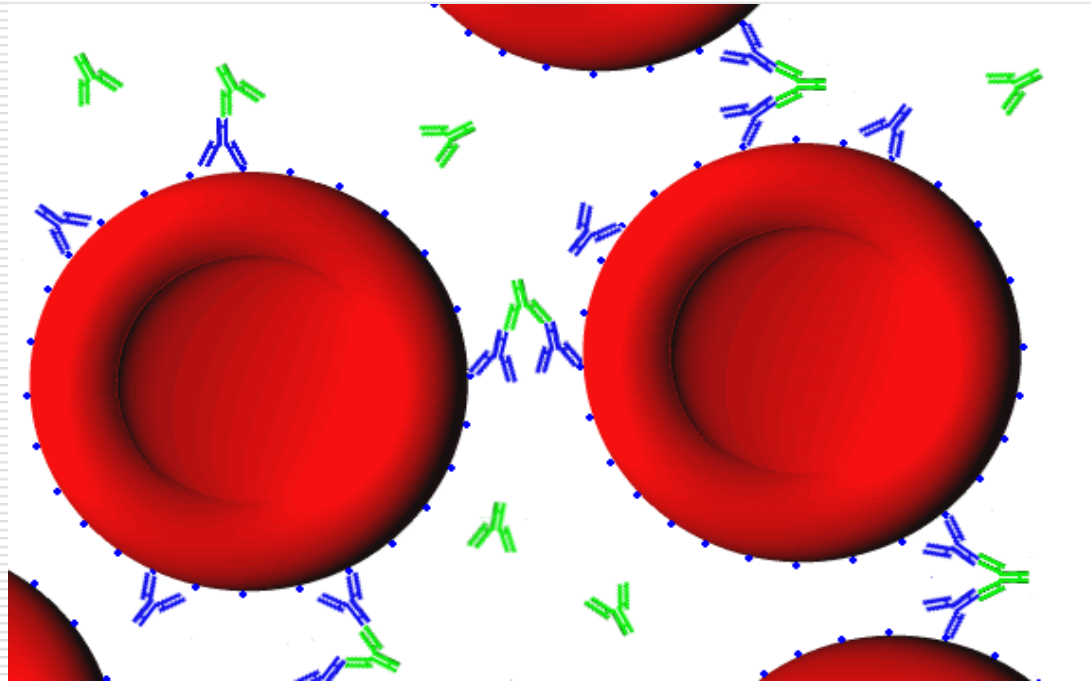
A savóból antitestek kötődnek a vörösvérsejtekre

Az indirekt Coombs teszt



Coombs reagens (AHG) hozzáadása

Az indirekt Coombs teszt



Az antihuman globulin híd képez az antitesttel fedett sejtek között

Az agglutinációt befolyásoló tényezők

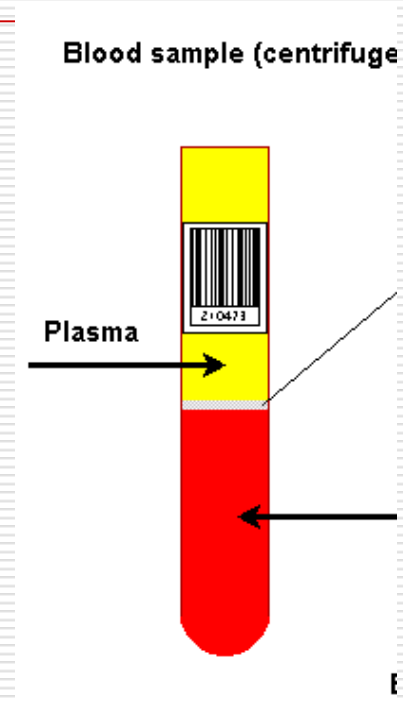
5.A vizsgált vérminta kora

Az agglutinabilitása idővel csökken

- a szobahőmérsékleten tárolt vérminta 24 óráig
- hűtőben tárolt natív vérminta 48-72 óráig
- CPD-A- s vérminta 35 napig
- fagyasztott vvs 1 (több) évig vizsgálható

6.A vizsgált egyén kora, állapota

- Újszülött,csecsemőkor: csökkent agglutináció
- Idős korban az agglutinabilitás csökken
- Bizonyos betegségekben csökken vagy nő



Az agglutinációt befolyásoló tényezők

7.A diagnosztikum, reagens

- fajta
- kor
- tárolási mód



Az agglutinációs reakciók értékelése

1. Pozitív reakció

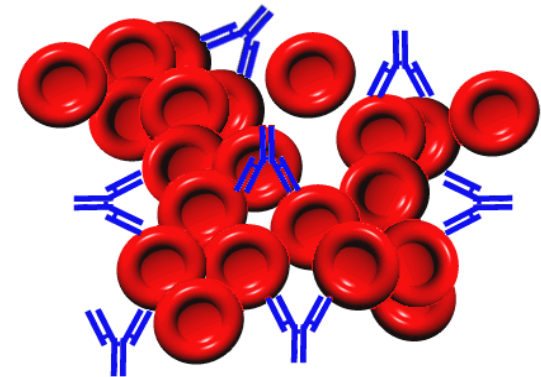
agglutináció jelenléte
(++++ → +, +/-)

2. Negatív reakció

agglutináció hiánya

3. Kevert mező

pozitív és negatív reakció egyidejű jelenléte

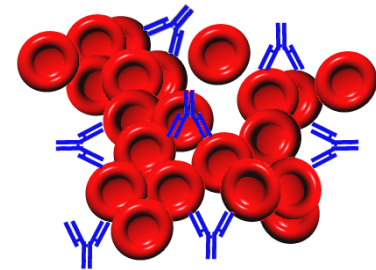


IMMUNOBASE-DIAGN

Az agglutinációs reakciók értékelése

Kevert mező

- nem csoport azonos vér transfúzióját követően
-szerológiai okok/ vérkészlet miatt
a beteg nem csoport azonos vért kapott
_transzfúziós szövődmény
- csontvelő transzplantációt követően
- haematológiai betegség esetén
- chimerizmus



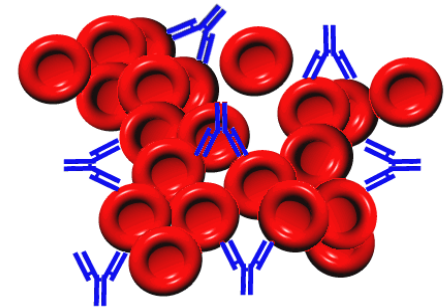
Autoagglutinációs kontroll

1. A vérminta sejtjének és savójának vizsgálata reagens nélkül
2. A vérminta sejtjének vizsgálata hatóanyag nélküli közegben

Értékelhető vizsgálat= autokontroll negatív

Az autokontroll pozitív, ha

- **a vörösvérsejtek fedettek**
- autoantitesttel
- alloantitesttel
- gyógyszerellenes antitesttel
- **sympexis képző savó**



©Pflanzengestaltung

Sympexis = pénztekercs képződés

Nem antigén- antitest reakció!

Az agglutinációtól elkülönítendő!

OKA: a vvs-ek lapszerinti összetapadása

- **A vizsgált csepp széli beszáradása**
- **A savó viszkozitása nő:**
 - albumin/globulin arány eltolódik
 - kóros fehérjék (myeloma, cirrhosis, tumor)
 - makromolekulák (dextrán, kontrasztanyag)

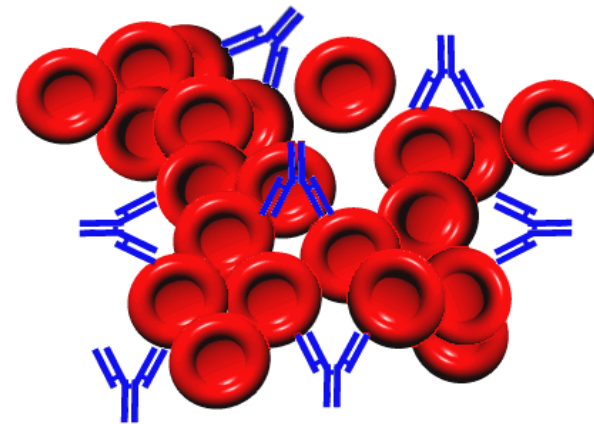


FIZIOLÓGIÁS SÓ → SYMPEXIS ↓

Poliagglutinabilitás

vörösvérsejt tulajdonság
T antigénhez kötött

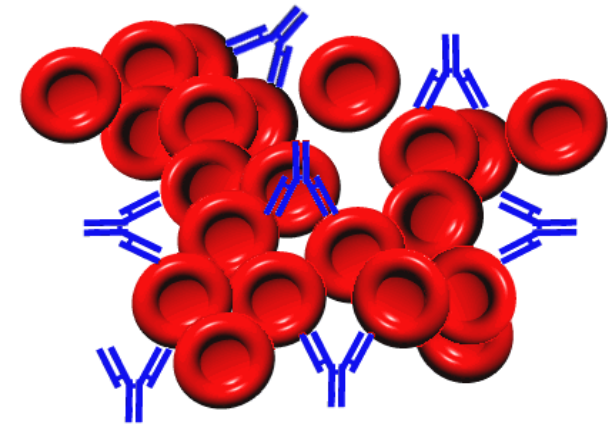
- **VELESZÜLETETT**
- **SZERZETT**
 - infekció
 - hematológiai betegség



IMMUNOBASE-DIAMED

Panagglutináció

- a savó tulajdonsága
- panantitestek okozzák
- a panantitesteknek nincs vércsoport specificitása
- autokontroll ált. pozitív



Összefoglalás

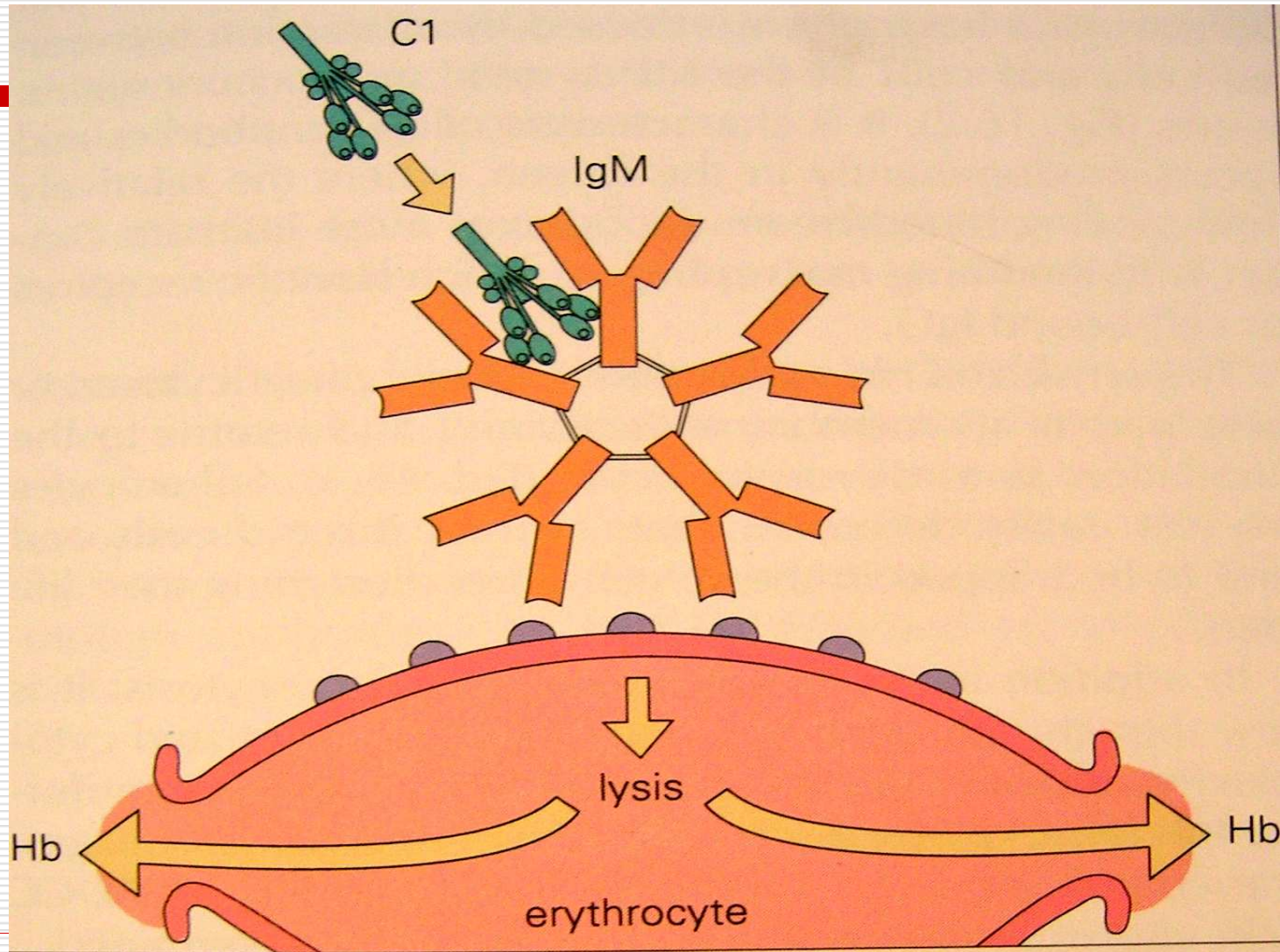
A vércsoport szerológia legfontosabb **in vitro** reakciója az **agglutináció**

Antigének vizsgálata: **ABO, Rh**, egyéb vvs antigének

Antitestek vizsgálata:

**ellenanyagszűrés/azonosítás,
keresztpróba**

Intravazális hemolízis



Extravazális hemolízis

