

Cvič. č. 10. Stanovení krevních skupin

Pomůcky: Komerční séra (EXBIO Olomouc) anti-A (IgM) monoklonální 1:8, anti-B (IgM) monoklonální 1:32, lektin anti-H 1:2; náplav diagnostických erytrocytů A,B,O; fyziol. roztok 0,85% (0,15 mmol/l) NaCl, stojánky na epiny, malé epiny 0,5ml, nejmenší špičky, pipeta s rozměrem 1 μ l - 10 μ l, rukavice, odběrové pero, bodce, heparinové tubičky, fixy, skla, barvení, roztíratka, destičky s otvory, desinfekce

Krátké ilustrativní video

<https://www.youtube.com/watch?v=J5xSUhyXyIE>

Aglutinace je imunitní děj, reaguje protilátka s korpuskulárním antigenem, která vede ke vzniku aglutinátu „vločkové konzistence. U reakce zv. hemaglutinace jsou korpuskulárním antigenem erytrocyty. Výsledný shluk erytrocytů je dobře pozorovatelný pouhým okem a je dostatečně pevný při standardním způsobu třepání. Nevýhodou hemaglutinace je nízká citlivost a omezená životnost erytrocytů.

Aglutinační reakce se obvykle hodnotí vizuálně tzv. na čtyři křížky a jsou to metody jednoduché a levné, ale také málo citlivé. Používají se hlavně pro průkaz antigenů erytrocytů a celé řady bakteriálních antigenů.

Základem je reakce:

Aglutinogen (tj antigen) reaguje s aglutininem (tj protilátka) za vzniku aglutinátu – sraženiny (imunokomplexu).

krevní skupina antigen A B 0 AB

v membráně erytrocytů A B H A i B

Pomůcky: podložní víčka na diagnostiku krevních skupin s kulovitými otvory, desinfekce, vatičky, pero na odebírání krve z prstů, bodce, tubičky s heparinem, epiny, stojánek, roztírací umělohmotné tyčky, pipeta s rozměrem 1 μ l - 10 μ l, rukavice;

Červené krvinky všech skupin -

lahvičky s protilátkami proti krevním antigenům:

POUŽITÁ DIAGNOSTIKA

• Monoklonální diagnostikum anti-A (výrobce Sanquin, Holandsko; dodavatel EXBIO Olomouc s.r.o.), ředění 1:8

• Monoklonální diagnostikum anti-B (výrobce Sanquin, Holandsko; dodavatel EXBIO Olomouc s.r.o.), ředění 1:32

- Lektin anti-H (výrobce Sanquin, Holandsko; dodavatel EXBIO Olomouc s.r.o,
- Monoklonální diagnostikum anti-H (výrobce Immucor Gama, Německo; dodavatel APR Praha s.r.o., ředění 1.2

- **Postup:**

- Odběrovým perem v rukavicích odebereme kapky krve z prstu do heparinové tyčinky
- kapku krve nakapeme na podložní sklíčko a rozetřeme
- dále necháme krev stéci do epiny ve stojánku. Odtud 5 μ l krve napipetujeme do 500 μ l fyziol. roztoku
- z nařaděných protilátek anti A, B, H odebereme asi 3 μ l a pipetou nakapeme na podložní sklíčko s kulovitými prostory
- pak z odebrané krve nabere asi 3 μ l krve a nakapeme na sklíčko do nakapaných protilátek. Vezmeme umělohmotné roztírátko a kapku krve s kapkou protilátek smícháme a čekáme na výsledek, po každém míchání roztírátko umyjeme
- nachystáme kontrolní vzorky kr. skupin komerčně zakoupené k porovnání, pokud máme
- výsledek: Pokud došlo k aglutinaci, tj srážení krvinky s protilátkami za vzniku aglutinátu, jde o danou krevní skupinu. Pokud nedošlo k tomuto ději, krev patří do jiné krevní skupiny.
- vyhodnocení: vyhodnotíme citlivost reakce, tj. uvedeme, při kterém ředění byla reakce ještě pozitivní. Používáme hodnocení na čtyři křížky:

++++ (100% aglutinace) aglutinát se po protřepání vůbec nerozpadá +++ (75 %)
 ++ (50 %) + (25 %) 0 (bez aglutinace) lze snadno roztřepat až na původní erytrocytární suspenzi

Krev patří do skupiny....

