

Immunhämatologie

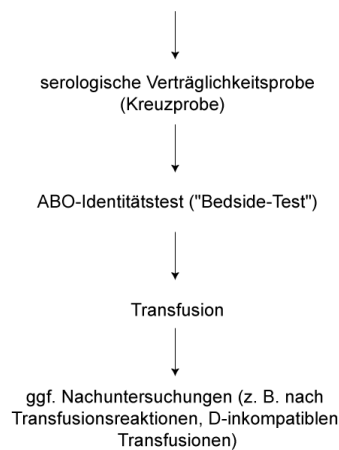
Klinisch-chemische und physikalische Untersuchungsmethoden für Zahnmediziner,
6. Semester, SS 2019

Prof. Dr. med. Volker Kiefel
Institut für Transfusionsmedizin
Universitätsmedizin Rostock

Bestimmung von Blutgruppen, erythrozytären Antikörpern

- Untersuchungen zur Vorbereitung einer Transfusion
- Untersuchung von Transfusionsreaktionen
 - akute hämolytische Transfusionsreaktionen
 - verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen
- Abklärung einer (hämolytischen!) Anämie unklarer Ursache
- *morbus haemolyticus neonatorum* (MHN)

Blutgruppenbestimmung, Antikörperscreening



Auto-, Alloimmunreaktionen

- **erythrozytäre Autoantikörper** (AIHA, medikamentinduzierte Immunhämolyse)
 - reagieren mit autologen und fremden Zellen
 - sorgen oft für eine positive serologische Verträglichkeitsprobe („Kreuzprobe“)
 - induzieren einen beschleunigten Abbau transfundierter Erythrozyten,
- **erythrozytäre Alloantikörper** (blutgruppenspezifische Antikörper)
 - gerichtet gegen Blutgruppen (= genetisch determinierte erythrozytäre Alloantigene)
 - verursachen positive Verträglichkeitsproben, können hämolytische Transfusionsreaktionen verursachen
 - reagieren in entsprechenden Kontrollansätzen nicht mit den autologen Erythrozyten

Blutgruppen

- Alloantigene auf Erythrozyten, infolge eines genetisch bedingten Polymorphismus
- Biochemisch unterschieden werden
 - Determinanten aus Oligosacchariden (ABO-, Lewis-Antigene, Hh)
 - proteinbasierte Blutgruppen (Rh CcDEe, Kell, Fy, Jk, Vel, ...)
- **Blutgruppensystem**: von einem Genort aus gesteuerte Gruppe von Blutgruppen

ABO (Histo-) Blutgruppensystem

- Wichtigstes Blutgruppensystem (A, B, AB, O), weil
- fast immer Anti-A, -B (Isoagglutinine) gebildet werden, soweit noch auf den eigenen Zellen exprimiert (Landsteinersche Regel)
- breite Gewebeverteilung
- Prinzip der ABO-Blutgruppenbestimmung:

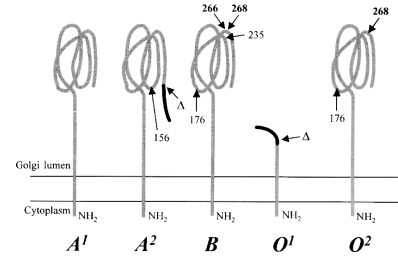
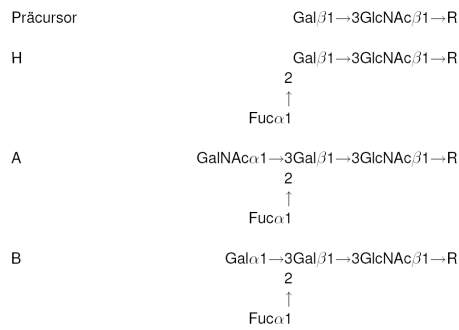
Serumgegenprobe				Antigenbestimmung			Blutgruppe
Probanderserum + Testerythrozyten				Probanderserum + Testserum			
O-Ery.	A1-Ery.	A2-Ery.	B-Ery.	Anti-A	Anti-B	neg. Ko ⁺	
-	+	+	-	-	+	-	B
-	-	-	+	+	-	-	A
-	-	-	-	+	+	-	AB
-	+	+	+	-	-	-	O

	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A cells	B cells	O cells
A						
B						
AB						
O						

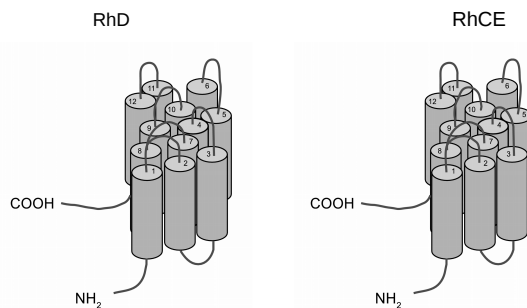
Blutgruppe Häufigkeit (%)

0	41.21
A ₁ , A ₂	43.26
B	10.71
A ₁ B, A ₂ B	4.82

ABO-Determinanten

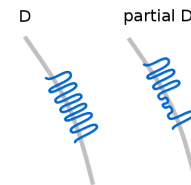


Rhesus-Blutgruppensystem



Rhesus-Blutgruppensystem

- Wichtigstes Merkmal D (85%). Wenn D fehlt => dd (15%)
- D extrem immunogen
- Quantitative Varianten (0,23..0,5%) mit geringerer D-Antigendichte: D^{weak}
- Qualitative Varianten mit strukturellen Unterschieden: Partial D, (Kategorie-D). Partial-D-Individuen scheinen D-positiv, können aber Anti-D bilden!



Rhesus-Blutgruppensystem

- Weitere Merkmale C (C^w), c, E, e
- Alloantikörper Anti-D, -C, -c, -E, -e
- Prinzip der serologischen Bestimmung der Rhesusantigene

Anti-C	Anti-c	Anti-C ^w	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Phänotyp
+	+	-	+	-	+	CcD.ee
-	+	-	-	+	+	ccd.ee
+	+	+	+	-	+	C ^w cD.ee
-	+	-	-	+	+	ccddEe

- Klinische Bedeutung: MHN, Transfusionsreaktionen, Autoantikörper reagieren mit Rh-Proteinen

Blutgruppensysteme 2017*

No.	System name	System symbol	Gene name(s)*	Chromosomal location	CD numbers	017	Chido/Rodgers	CH/RG	C4A, C4B	6p21.3	
001	ABO	ABO	ABO	9q34.2		018	H	H	FUT1	19p13.33	CD173
002	MNS	MNS	GYP A, GYP B, GYP E	4q31.21	CD235a, CD235b	019	Kx	Kx	Kx	2p21.1	
003	PIPK	PIPK	AAGALT	22q13.2	CD77	020	Gerbich	GE	GYP C	2q14-q21	CD236
004	Rh	RH	RHD, RHCE	1p36.11	CD240	021	Cromer	CROM	CD55	1q32	CD55
005	Lutheran	LU	BCAM	19q13.2	CD239	022	Knops	KN	CR1	1q32.2	CD35
006	Kell	KEL	KEL	7q33	CD238	023	Indian	IN	CD44	11p13	CD44
007	Lewis	LE	FUT3	19p13.3		024	Ok	OK	B50	19p13.3	CD147
008	Duffy	FF	ACYP1	1q21-q22	CD234	025	Raph	RAPH	CD151	11p15.5	CD151
009	Kidd	JK	SLC14A1	18q11-q12	CD233	026	John Milton Hagen	JMH	SEMA7A	15q22.3-q23	CD108
010	Diego	DI	SLC4A1	17q21.31	CD233	027	I	I	GCNT2	6p24.2	
011	Yt	YT	ACHE	7q22		028	Globoside	GLOB	B3GALNT1	3q25	
012	Xg	YG	YG, MIC2	Xp22.32	CD99*	029	Gill	GIL	AQP3	9p13	
013	Scianna	SC	ERMAP	1p34.2		030	Rh-associated glycoprotein	RHAG	RHAG	6p12.3	CD241
014	Dombrock	DO	ART4	12p13-p12	CD297	031	FOR5	FOR5	GBG71	9q34.13-q34.3	
015	Colton	CO	AQP1	7p14		032	JR	JR	ABC G2	4q21.1	CD338
016	Landsteiner-Wiener	LW	ICAM4	19p13.2	CD242	033	LAN	LAN	ABC B6	2q36	
						034	Vel	VEL	SMIM1	1p36.32	
						035	CD59	CD59	CD59	11p13	CD59
						036	Augustine	AUG	SLC28A1	6p21.1	

316 Blutgruppen in 36 Systemen
15 Blutgruppen in 6 Kollektionen
331 Σ

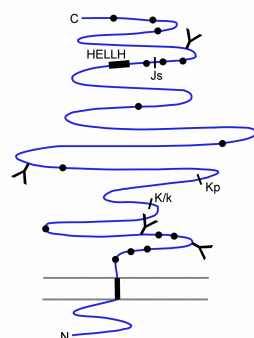
*As recognised by the HUGO Gene Nomenclature Committee
<http://www.genenames.org/>
*MIC2 product
(i) no gene product on normal RBCs

*ISBT 2017

Kell-System

- Wichtigste Merkmale K, k („Cellano“)
- K mit relativ hoher Immunogenität
- Klinische Bedeutung: Transfusionsreaktionen, MHN
- Merkmalfrequenzen:

Genotyp	Frequenz
K/K	0.2 %
K/k	8.8 %
k/k	90.9 %



Duffy (Fy) Antigenensystem

Phänotyp	Frequenz (%) Weiße	Afrikaner
Fy(a+b-)	17	9
Fy(a+b+)	49	1
Fy(a-b+)	34	22
Fy(a-b-)	< 0,1	68

- Anti-Fy(a), -Fy(b) verursacht starke Hämolyse
- Menschen mit dem Phänotyp Fy(a-b-) sind gegenüber der Malaria tertiana (*Plasmodium vivax*) resistent
- Das Duffy-GP hat die Funktion eines Chemokinrezeptors auf Erythrozyten

Kidd (Jk) Blutgruppensystem

Phänotyp	Frequenz
Jk(a+b-)	27,5
Jk(a+b+)	49,5
Jk(a-b+)	23,1
Jk(a-b-)	< 0,1

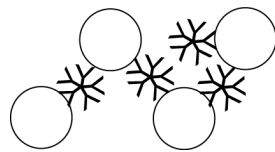
- Anti-jk(a), -Jk(b) verursacht starke Hämolyse
- Die Jk-Merkmale sind auf einem Harnstofftransporter lokalisiert

Methoden zur Bestimmung von Blutgruppen, erythrozytären Ak

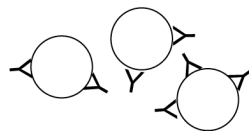
- Blutgruppen
 - Agglutinationstests
 - Röhrchentest
 - Gelkartentest
 - Mikrotiterplatte etc.
 - molekularbiologische Bestimmung
- Ak-Bestimmungen
 - Agglutinationstests
 - Agglutinationshemmtests, ELISA
- Elutionsverfahren, Adsorption/Elutionsverfahren

Komplette, inkomplette Ak

Komplette Antikörper, meist IgM
Beispiel: Anti-A, -B



„Inkomplette“ Antikörper, meist IgG
Beisp. Anti-D, Anti-Kell

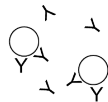


Nachweis „inkompletter“ erythrozytärer Antikörper

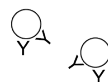
- Supplemente: Erythrozytensuspension in Rinderalbuminlösung
- Behandlung der Erythrozyten mit Proteasen (Bromelain, Ficin)
- indirekter Antiglobulintest

Indirekter Antiglobulintest

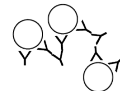
1) Serum und Testerythrozyten



2) Waschen
(freies Ig entfernen)



3) Antihumanglobulin
(Coombs)



Ak-Differenzierung

[illegible]

Ak-Differenzierung

	D	C	E	c	e	K	k	...	Resultat
1	+	+	-	-	+	+	+	...	0
2	+	+	-	+	+	-	+	...	0
3	+	+	-	-	+	-	+	...	0
4	+	+	+	+	+	-	+	...	3
5	-	+	-	+	+	-	+	...	0
6	-	-	-	+	+	-	+	...	0
7	-	-	+	+	+	+	+	...	4

Bewertung: Anti-E

Ak-Differenzierung

[illegible]

Ak-Differenzierung

	D	C	E	c	e	K	k	...	Resultat
1	+	+	-	-	+	+	+	...	4
2	+	+	-	+	+	-	+	...	0
3	+	+	-	-	+	-	+	...	0
4	+	+	+	+	+	-	+	...	3
5	-	+	-	+	+	-	+	...	0
6	-	-	-	+	+	-	+	...	0
7	-	-	+	+	+	+	+	...	4
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...

Bewertung: Anti-E und Anti-Kell

Alloantikörper haben verschiedene biologische Relevanz

Sehr hoch/hoch

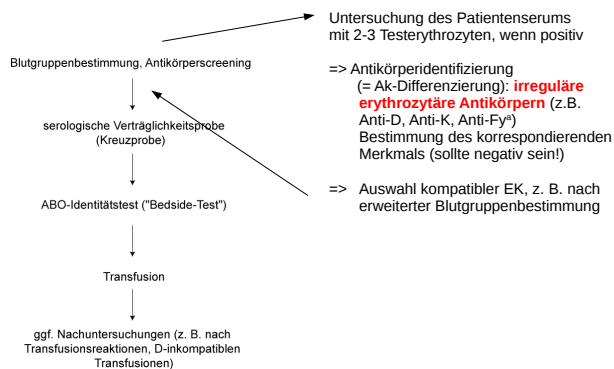
Anti-A, B
Anti-Jk (Kidd)
Anti-Fy (Duffy)
Anti-Kell
Anti-D, -c
Anti-Vel
Anti-Lan

mittelgradig/gering

Anti-Le^{a,b}
Anti-M

(meist) keine

Anti-P1
Anti-LW



ABO-Identitätstest (Bedside-Test)

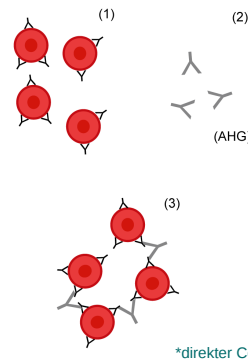
- Überprüfung der ABO-Merkmale des Patienten vor Transfusion erythrozytenhaltiger Blutprodukte (Bestimmung der Konserven-Blutgruppe fakultativ)
- Nicht zu verwechseln mit der „Kreuzprobe“



Unterschiedliche Strategien bei der prätransfusionellen Diagnostik

- Deutschland:**
 - ABO/Rhesus/K-Bestimmung
 - Ak-Screening
 - ggf. Ak-Differenzierung
 - Auswahl kompatible EK nach erweiterter Blutgruppenbestimmung
 - serologische Verträglichkeitsprobe (immer!)
 - Type and screen (in Deutschland nicht zugelassen!)**
 - ABO/Rhesus/K-Bestimmung
 - Ak-Screening
 - ggf. Ak-Differenzierung
- pos. Ak-Befund: serologische Verträglichkeitsprobe vor Transfusion
- neg. Ak-Befund: Transfusion ohne vorangegangene serologische Verträglichkeitsprobe

Direkter Antihumanglobulintest (DAT, DCT*)

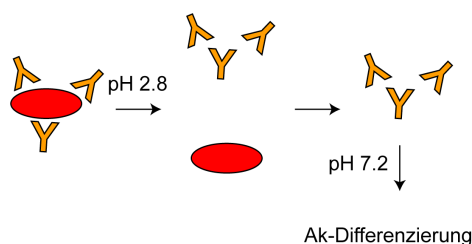


AHG: Anti-IgG, C3d (monospezifisch)
IgG, IgM etc. (monospezifisch)

Fragestellung:
sind zirkulierende Erythrozyten (alle/eine Teilmenge) mit IgG, C3d/g (, ... IgM, IgA) beladen?

Hauptindikationen:
- hämolyt. Transfusionsreaktionen
- nach D-inkompatibler Transfusion
- MHN
- AIHA

Elution erythrozytärer Ak



Akute hämolytische TR: immunologische Konstellation

- Typische Konstellation:** Alloantikörper (Patient) reagieren mit Antigen auf transfundierten Erythrozyten => (intravasale) Hämolyse
- In Einzelfällen:** Transfusion (ABO) „minor“-inkompatibler plasmahaltiger Blutpräparate (Thrombozytenkonzentrate) => intravasale Hämolyse. Problem: keine eindeutigen „Grenzwerte“ (Anti-A/B)

Verzögerte hämolytische TR („delayed hemolytic transfusion reaction“)

- Transfusion vorimmunisierter Patienten bei nicht mehr nachweisbaren Alloantikörperkonzentrationen mit Ag-positiven Ek => anamnestische Immunantwort => Hämolyse (transfundierte Erythrozyten) =>
 - Hb-Abfall
 - Ikterus, Fieber (!) 5-7 Tage nach Transfusion
 - teilweise werden eigene Erythrozyten lysiert
- Konsequenz: einmal festgestellte irreguläre Antikörper in Blutgruppenpaß des Patienten eintragen!

Untersuchung hämolytischer Transfusionsreaktionen

- **Akute hämolytische TR**
 - Blutgruppenbestimmung von Patient (vor/nach Tr.) wiederholen, Konservenrest
 - Ak-Screening, wenn post => Differenzierung
 - DAT Patient (wenn pos., => Elution (+ Ak-Differenzierung))
- **Verzögerte hämolytische TR (DHTR)**
 - Ak-Screening, wenn pos. => Differenzierung
 - **DAT Patient (wenn pos., => Elution (+ Ak-Differenzierung))**
 - DD: (Übergänge zu) WT-AIHA

Morbus haemolyticus neonatorum

- Während der Schwangerschaft:
 - Blutgruppenbestimmung, einschl. Rh-Antigenen (Rh-Prophylaxe)
 - Ak-Screening/ ggf -Differenzierung
- Neugeborenes: ABO/Rhesus-Merkmale, DAT (Ak-Status der Mutter?)
- Besonderheiten
 - Blutgruppe für Transfusion beim Neugeborenen?
 - Serologische Verträglichkeitsprobe ggf. (auch) mit dem Serum der Mutter
 - Problem: Nachweis von Anti-D der Rhesus-Prophylaxe

Diagnostik bei AIHA

- AIHA vom Wärmetyp
 - DAT
 - wenn positiv => Eluat + Differenzierung
 - cave:
 - DD verzögerte hämolyt. Transfusionsreaktion/WT AIHA
 - Blutgruppenbestimmung kann erschwert sein (ggf. molekularbiologische Bestimmung!)
 - serologische Verträglichkeitsprobe häufig positiv
 - biologische Wertigkeit Auto-Ak vs Allo-Ak
- Kälteagglutininkrankheit
 - Titerbestimmung Kälteagglutinine

Immunreaktionen gegen Granulozyten

- Autoimmunreaktionen
 - Autoimmunneutropenie
- Alloimmunreaktionen
 - Alloimmune neonatale Neutropenie
 - Transfusionsassoziierte hämolytische Transfusionsreaktion: TRALI