

SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

V. Hradecká pracovní imuno hematologická konference
20.1.2015 Hradec Králové

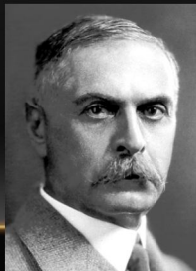
RNDr. Miromila Hanzlíková, Ph.D.

SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ



OBJEV KREVNÍCH SKUPIN

- Objev krevních skupin **AB0** je všeobecně připisován vídeňskému vědci Karlu Landsteinerovi který v roce 1901 objevil tři krevní skupiny A, B a C (dnes A, B a 0).
- V roce 1907 krevní skupiny nezávisle na tomto objevu popsal český psychiatr Jan Janský čtvrtou krevní skupinu, která obsahuje znaky A i B. Janský používal označení skupin I, II, III a IV.
- Roku 1921 dává americká lékařská komise přednost Janskému, jehož objev byl pozdější, ale na rozdíl od Landsteinera popsal všechny čtyři KS.
- Ve třicátých letech 20. století se sjednotilo označování krevních typů A, B, AB a 0 (podle označení Landsteinerova).



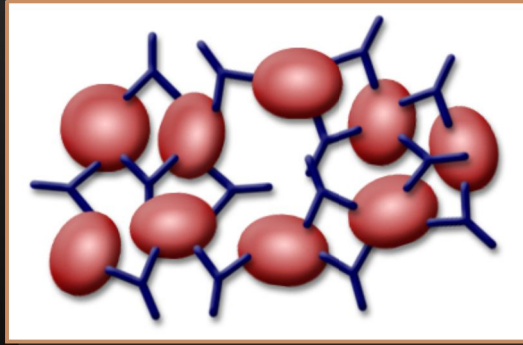
SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

Sérologické metody

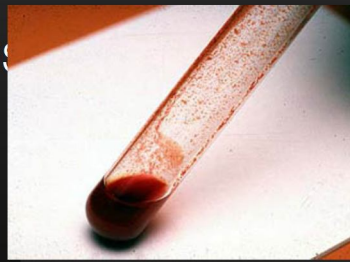
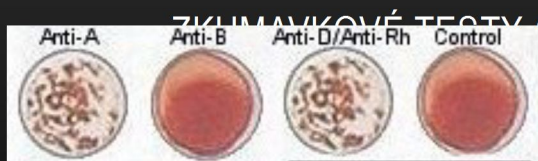
SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

Při stanovení krevních skupin hodnotíme reakci antigenů přítomných na povrchu červených krvinek s protilátkami obsaženými v séru.

-

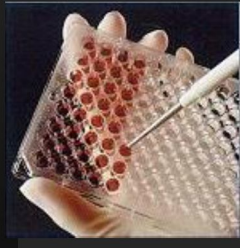


SÉROLOGICKÉ METODY



SÉROLOGICKÉ METODY

VYŠETŘOVÁNÍ NA MIKROTITRAČNÍ DESTIČCE A METODA PEVNÉ FÁZE



SÉROLOGICKÉ METODY

METODA SLOUPCOVÉ AGLUTINACE



SÉROLOGICKÉ METODY

- Rutinní použití
- Možnost automatizace (destičky, pevná fáze, sloupcová aglutinace)
- Cenová dostupnost
- Časová dostupnost
- Nejsou třeba zvláštní nároky na edukaci personálu
- Mají svá omezení

SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

Omezení sérologických metod:

- Polytransfundovaní pacienti
- Pacienti se silným pozitivním PAT
- Zeslabené, variantní a vzácné antigeny

SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

J.G.Mendel je považován za „zakladatele“ genetiky.
Formuloval tři genetická pravidla.
1866 publikoval své výsledky křížení hrachu.
Uznání doznal až po smrti začátkem 20. století.



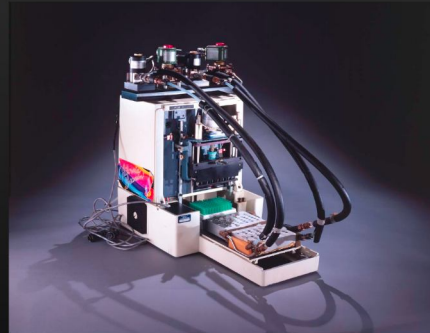
SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

- **1953 Watson a Crick** s na základě dat **Franklinové a Wilkinse** poprvé prostulovali model sekundární struktury molekuly DNA - model dvoušroubovice DNA



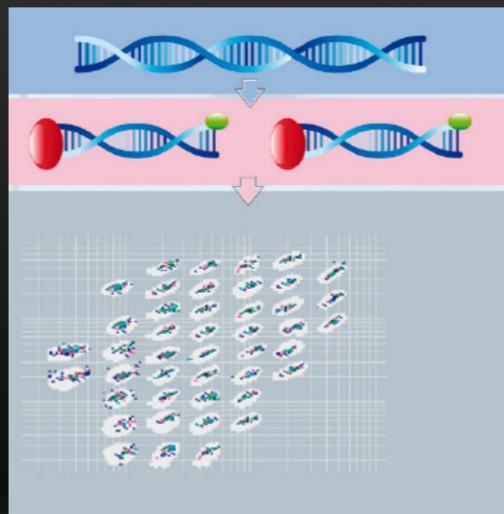
SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

- PCR (Polymerázová řetězová reakce) – vyvinuta Kary Mullis v Cetus Corporation v roce 1983. Vychází ze znalosti replikace DNA v živých organismech. Umožňuje amplifikovat krátký úsek DNA na milióny kopií během několika hodin a tím jeho další analýzu.
- 90. léta použití termálních cyklérů v molekulárně biologických laboratořích laboratořích.
- 21. stol. genetická analýza erytrocytárních a destičkových antigenů



SÉROLOGIE VERSUS GENOTYPOVÁNÍ

- Extrakce DNA
- Amplifikace
- Hybridizace
- Značení
- Kvantifikace



GENOTYPOVÁNÍ V PRAXI

- Stanovení fenotypu komplikovaných pacientů (opakovaná substituce)
- Podrobné typování dárců (pokrytí potřeb komplikovaných pacientů)
- Vytvoření databáze vzácných dárců – banka vzácných kreví
- Fenotypizace „in-house“ diagnostických krvinek
- Použití jako nadstavba sérologických metod (např. PAT pozitivní, polytransfundovaní pacienti, variantní/zeslabené antigeny)

-

GENOTYPOVÁNÍ V PRAXI

Nejedná se v současnosti o metody pro rutinní použití, které by nahradily sérologické metody.

- Časová náročnost
- Finanční náročnost
- Finančně nákladné přístrojové vybavení
- Nároky kladené na edukaci pracovníka

GENOTYPOVÁNÍ V PRAXI

NRL pro imunohematologii ÚHKT

Systém genotypování erytrocytárních antigenů použit pro detekci antigenů:

- U pacientů se silným pozitivním PAT (nebylo možné z kapilár egovat ery)
- U polytransfundovaných pacientů (vytvoření protilátky/protilátek)
- U pacientů, kde nebylo z jiného důvodu stanovit sérologicky
- Potvrzení výsledku sérologie (vyloučení určitých genotypů)

GENOTYPOVÁNÍ V PRAXI

- **Pacientka 1**
 - silný PAT (senzibilizace IgG1/IgG3, IgM, C3D)
 - v séru nespecifické autoprottilátky silnější v enzymu bez určené specificity
 - fenotyp Fy (a-b+), S+s+ stanoven pomocí genotypizace
- **Pacientka 2**
 - silný PAT
 - nespecifické prottilátky s enzym i LISS
 - genotypizací potvrzen Fy(b-weak) fenotyp

GENOTYPOVÁNÍ V PRAXI

Ověření sérologie

Pacientka 3

- Silný PAT, podařila se EGA
- Genotypování potvrdilo výsledky sérologie: S-s+, Fy(a+b-weak)

Pacientka 4

- Silný PAT, podařila se EGA
- Genotypování potvrdilo výsledky sérologie (vyloučení FYGATA a FYX) : predikovaný fenotyp Fy(a+b+)
-

Děkuji za pozornost!

