Simulierte ABO-Blutgruppenbestimmung / Schülerversuch

INHALT des Kits

- ✓ _ 1 Flasche synthetisches Blut der Blutgruppe A
- ✓ _ 1 Flasche synthetisches Blut der Blutgruppe B
- ✓ _ 1 Flasche synthetisches Blut der Blutgruppe AB
- ✓ _ 1 Flasche synthetisches Blut der Blutgruppe 0
- ✓ _ 2 Flaschen Antiserum: Anti-A und Anti-B
- ✓ _ 1 Flasche Rhesusfaktor
- ✓ _ 48 Objektträger mit Mulden zum Mischen (Testdurchführung)
- ✓ _ 40 Zahnstocher

Folgende Materialien werden zusätzlich benötigt:

- ✓ _ Mikroskop mit 400x Vergrößerung
- ✓ _ Markierstift

Die Lagerung kann bei Raumtemperatur erfolgen und hat keine Verfallszeit.

Was soll man sich unter einer Blutgruppe vorstellen?

Die Blutgruppe wird durch bestimmte Moleküle (Glykoproteine, Glykolipide) auf der Oberfläche der roten Blutkörperchen definiert. Hat jemand Blutgruppe A, dann hat er andere Moleküle als jemand, der Blutgruppe B hat. Hat jemand AB, dann hat er beide Molekülarten. Hat jemand 0, dann hat er keines der beiden Moleküle. Der Rhesusfaktor D beschreibt wieder ein anderes Molekül, das man haben kann (Rhesus-positiv = D) oder auch nicht (Rhesus-negativ = dd). Ein Blutgruppenmerkmal kommt auf einem roten Blutkörperchen nicht einmal sonder zig- bis hunderttausende Male vor (z.B.: das A-Merkmal ca. 1000000 mal, Rhesus D ca. 20000 mal pro rotem Blutkörperchen).

Was versteht man unter "der Blutgruppe"?

Unter Blutgruppe versteht man meist die Eigenschaften im AB0-System und den Rhesusfaktor D. So unterscheidet man die Blutgruppen A, B, AB, und 0, sowie Rhesusfaktor positiv oder negativ. Manchmal gibt man noch ein anderes Merkmal an, den sog. Kell-Faktor. Es gibt noch eine Vielzahl anderer Merkmale auf den roten Blutkörperchen, diese haben aber eine geringere Bedeutung.

Wo liegt die größte Bedeutung der Blutgruppe?

Die größte Bedeutung haben die Blutgruppenmerkmale bei der Bluttransfusion. Blutgruppenmerkmale wirken als Antigene und gegen Merkmale, die man selbst nicht hat, hat man Antikörper oder kann Antikörper bilden. Und dadurch verträgt man nicht jedes Blut, wenn man es transfundiert bekommt: Jeder Mensch mit Blutgruppe 0 hat Antikörper gegen die Blutgruppen A und B, und verträgt solches Blut daher auch nicht. Jemand mit A hat Antikörper gegen B, jemand mit B hat Antikörper gegen A. Menschen mit AB haben normalerweise keine Antikörper gegen A oder B.

Beim Rhesusfaktor ist es etwas anders: normalerweise hat auch ein Rhesus-negativer Mensch keine Antikörper gegen das Merkmal Rhesus D (=positiv). Er kann aber sehr wohl Antikörper dagegen bilden. Z.B. wenn er einmal Rhesus-positives Blut bekommen hat oder wenn eine Frau ein Rhesus-

positives Kind bekommen hat. Für die Transfusion verwendet man daher Blut, dessen AB0-Gruppe und Rhesusfaktor mit denen des Empfängers übereinstimmen. Auch gegen das Merkmal K (Kell) hat man normalerweise keine Antikörper, kann aber nach Transfusion Kell-positiven Blutes oder bei Kell-positiver Schwangerschaft Antikörper entwickeln. Deswegen bestimmt man bei der Blutgruppe neben AB0 und Rhesus auch meist noch den Kell-Faktor. Wenn möglich, vermeidet man die Transfusion Kell-positiven Blutes bei bestimmten Kell-negativen Patienten (z.B. Mädchen oder Frauen im gebärfähigen Alter).

Bedeutung von Blutgruppenbestimmungen

Wie schon in der obigen Tabelle zu sehen, können Menschen je nach eigener Blutgruppe nur Blutspenden von bestimmten Blutgruppen erhalten. Wenn miteinander unverträgliche Blutgruppen vermischt werden, kann es zur Zerstörung von Erythrozyten, Verklumpung und anderen Problemen kommen. Wenn zum Beispiel eine Person mit der Blutgruppe B eine Transfusion der Blutgruppe A erhält, werden die Anti-A-Antikörper des Empfängers die eingeführten Erythrozyten der Blutgruppe A angreifen. Dadurch werden diese Erythrozyten der Blutgruppe A agglutiniert und Hämoglobin wird im Blutplasma freigesetzt. Außerdem könnten mit dem Blut der Blutgruppe A eingeführte Anti-B-Antikörper auch die Erythrozyten der Blutgruppe B des Empfängers angreifen, was zu ähnlichen Resultaten führen würde. Dieses Problem muss keine ernsthaften Folgen haben, solange keine größeren Blutmengen übertragen werden. Die ABO-Blutgruppen und andere erbliche Antigen-Eigenschaften der roten Blutkörperchen kommen häufig in medizinisch-rechtlichen Situationen zum Tragen, in denen es um eine angezweifelte Vaterschaft geht. Ein Vergleich der Blutgruppen der Mutter, des vermeintlichen Vaters und des Kindes kann u. U. den Mann als Vater ausschließen. Allerdings kann die Blutgruppenbestimmung nicht zum eindeutigen Nachweis einer Vaterschaft verwendet werden, da Du nur deren Möglichkeit bzw. Unmöglichkeit anzeigt. Ein Kind mit der Blutgruppe AB, dessen Mutter die Blutgruppe A hat, kann zum Beispiel keinen Mann mit der Blutgruppe O zum Vater haben.

Genetik der Blutgruppen

Die Blutgruppen des Menschen (A, B, AB und O) werden durch multiple Allele vererbt, die auftreten, wenn drei oder mehr Gene einen einzelnen Genlokus auf einem Chromosom besetzen. Das Gen IA codiert für die Synthese des Antigens (Agglutinogens) A in den roten Blutkörperchen, das Gen IB für die Bildung des Antigens B und das Gen i stellt keine Antigene her. Die in der nachfolgenden Tabelle aufgeführten Phänotypen entstehen durch die verschiedenen Kombinationen der drei unterschiedlichen Allele IA, IB und i. Wenn eine Person über die Gene IB und IA verfügt, werden beide vollständig exprimiert. Da sowohl IA als auch IB dem Gen i gegenüber dominant sind, muss der Genotyp eines Menschen mit der Blutgruppe O folglich ii sein.

Phänotyp	Mögliche Genotypen
A	$I^A I^A$ $I^A i$
B	$I^B I^B$ $I^B i$
AB	$I^A I^B$
O	ii

I_A steht für Antigen A, I_B für Antigen B und i für die Abwesenheit von Antigenen. Die Gene I_A und I_B sind dominant über i. Die Blutgruppe AB ergibt sich aus dem Vorhandensein der Gene I_A zusammen mit I_B.

Bestandteile des Blutes

Zu den Elementen des Blutes, die eine feste Form haben, gehören die Erythrozyten oder roten Blutkörperchen (RBK), verschiedene Arten von Leukozyten oder weißen Blutkörperchen (WBK) und die Blutplättchen.

Erythrozyten sind runde, bikonkave Scheiben mit einem Durchmesser von 5 bis 8 Mikrometer. Ihre Hauptfunktion liegt im Transport von Sauerstoff (O2) und Kohlendioxid (CO2). Dieser O2- und CO2-Transport hängt in entscheidendem Maße vom Hämoglobingehalt der Erythrozyten ab. Die bikonkave Form steht auch insofern im Zusammenhang mit der Funktion der Erythrozyten beim Transport von Gasen, weil Du der Gasdiffusion eine größere Oberfläche bietet. Die Anzahl der zirkulierenden RBK hängt eng mit der Fähigkeit des Blutes zusammen, Sauerstoff zu transportieren. Jegliche Schwankung im roten Blutbild kann von Bedeutung sein. Es ist Routinepraxis, bei der Diagnose und Auswertung verschiedener Krankheitsverläufe die RBK zu zählen

Die Größe von **Leukozyten** schwankt zwischen ungefähr 9 und 25 Mikrometern. Ihre Hauptfunktion ist die Abwehr verschiedener Krankheiten. Leukozyten können nicht nur durch amöboide Zellbewegung in Gegenrichtung zum Blutstrom wandern, sondern auch die Blutgefäßwände durch- und ins Gewebe eindringen. Die Gesamtzahl der WBK im Körper schwankt normaler Weise zwischen 5.000 und 10.000/mm³. Bestimmte Infektionskrankheiten werden von einer Erhöhung der Anzahl der WBK begleitet. Wenn die Anzahl der WBK 10.000/mm³ überschreitet, leidet die betreffende Person an einer akuten Infektion. Wenn ihre Anzahl unter 5.000/mm³ sinkt, könnte der Mensch an Beschwerden wie Masern oder Windpocken leiden. Bei bestimmten Erkrankungen können sich auch die jeweiligen Prozentanteile der verschiedenen Arten von Leukozyten im Blut ändern. Dieses Blutbild ist äußerst wichtig für diagnostische Zwecke und wird als Differentialblutbild bezeichnet.

Man darf kein Blut transfundieren, gegen das der Empfänger Antikörper hat!

Werden einem Menschen rote Blutkörperchen transfundiert, gegen die er Antikörper hat, kann es zu Transfusionsreaktionen kommen, die in schweren Fällen sogar zum Tod des Patienten führen können. Daher ist eine korrekte Blutgruppenbestimmung des Spenders und des Empfängers von größter Wichtigkeit. Zusätzlich muss die Verträglichkeit des Spenderblutes mit Hilfe der sog. Kreuzprobe überprüft.

BESTIMMUNG:

Ursprünglich verwendete man menschliche Blutflüssigkeit (Serum) zur Bestimmung der Blutgruppe. Serum der Blutgruppe 0 verklumpt Blut der Gruppen A, B und AB, Serum der Gruppe A verklumpt B und AB, Serum der Gruppe B verklumpt A und AB. Die Verklumpung ist mit bloßem Auge sichtbar. Heute verwendet man anstelle der menschlichen Seren im Labor hergestellte Produkte.

Blutgruppenbestimmung AB0 mit Testseren

Blut der Gruppe B wurde mit Anti-A, Anti B und Anti-AB Serum zusammengebracht und verrührt. Eine Verklumpung erfolgte mit dem Anti-B und dem Anti-AB Serum (mittleres und rechtes Feld).

Blutgruppenbestimmung Rhesusfaktor mit Testseren

Man verwendet Anti D (Rhesus Hauptmerkmal), Anti CDE (umfasst auch die Nebenmerkmale C und E) und Kontrollserum (sollte nie verklumpen, wenn doch, sind alle anderen Verklumpungen fragwürdig). Der Rhesus-positive reagiert meist mit Anti-D und Anti-CDE Serum (linkes und mittleres Feld).

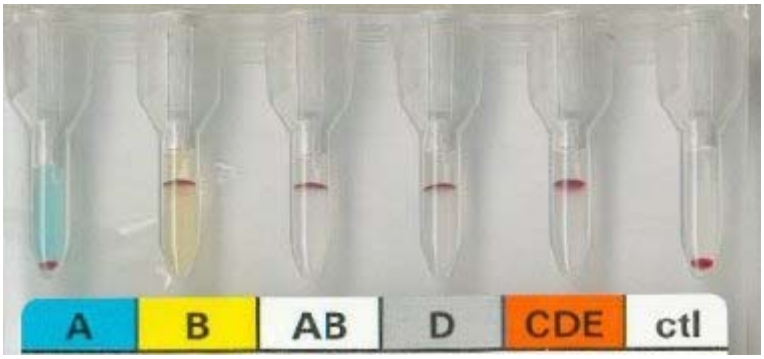
Da Verklumpungen manchmal auch aus anderen Gründen auftreten können, muss zur Absicherung der Blutgruppenbestimmung immer auch eine sog. Serumgegenprobe durchgeführt werden. Dabei wird das Serum der Patienten mit Testblutkörperchen der Gruppen A1, A2, B und 0 zusammengebracht. Serum der Blutgruppe AB verklumpt keine Testblutkörperchen, Serum der Gruppe A nur B und Serum der Gruppe B nur A1 und A2, Serum der Gruppe 0 alle außer 0.

Blutgruppenbestimmung Teil 2: Serumgegenprobe

Serum der Gruppe B wurde mit A, B- und 0 Testblutkörperchen zusammengebracht und verrührt. Eine (zarte) Verklumpung erfolgte mit den A-Blutkörperchen (linkes Feld).

Neuere Techniken

Heute verwendet man im Blutgruppenlabor vor allem die sog. Gelzentrifugationstechniken. In kleinen Röhrchen ist ein Gel, an das die Testseren gebunden sind. Man gibt das zu testende Blut in das Röhrchen und zentrifugiert (schleudert) es. Wenn die Testseren mit den roten Blutkörperchen nicht reagieren, werden diese beim Zentrifugieren zu Boden sinken. Wenn die Testseren reagieren, werden die Blutkörperchen zurückgehalten und bleiben oben. Blutgruppenbestimmung AB0 und Rhesus mit Gelzentrifugationsmethode



Hier sind 6 Röhrchen auf einer Plastik-Karte zusammengefasst. In jedem Röhrchen sind Testseren. Nach Zugabe von Blut in die trichterförmige Öffnung wurde zentrifugiert. Die roten Blutkörperchen haben mit den Testseren gegen B, AB, D und CDE reagiert und sind daher beim Zentrifugieren nicht zu Boden gesunken. Mit Testseren gegen A und mit dem Kontrollserum erfolgte keine Reaktion. Die Blutgruppe ist B-positiv. Auch für die Serumgegenprobe gibt es vorgefertigte Karten. Genauere Info zu den Techniken Duhe Kapitel Transfusionsmedizin.

ERGEBNIS:

In Mitteleuropa haben etwa 45% aller Menschen Blutgruppe A, 40% Blutgruppe 0, 10% Blutgruppe B und 5% Blutgruppe AB. Etwa 85% aller Mitteleuropäer sind Rhesus-positiv, 15% Rhesus-negativ. Die seltenste Blutgruppe ist also AB-negativ. Anmerkung: d.h. aber nicht, dass für diese Blutgruppe im Notfall kein Blut vorhanden ist, denn einerseits haben größere Blutbanken auch meist genug AB-negatives Blut und andererseits haben AB-Menschen den Vorteil Universalempfänger zu sein.

A2

Es gibt verschiedene Varianten der Blutgruppe A. Die häufigste ist A1. A2 ist die zweithäufigste Untergruppe, nur wird Du meist nicht untersucht: etwa 20% der Menschen mit den Blutgruppen A oder AB haben genauer betrachtet eigentlich A2 bzw. A2B. Für die Transfusion hat das aber außer in Spezialfällen keine Bedeutung.

Du (Dweak)

Das Rhesusmerkmal D (Rhesus positiv) kommt manchmal aus verschiedenen Gründen in abgeschwächter Form vor. Es wird dann als Du oder Dweak (=Dschwach) bezeichnet. Für die Transfusion stellen solche Patienten gewissermaßen ein Mittelding zwischen Rhesus positiv und Rhesus negativ dar: wenn Du Blut bekommen, gibt man ihnen Rhesus negatives Blut; wenn Du Blut spenden, gilt ihr Blut als Rhesus positiv.

Universalspender

Blutgruppe 0 wird manchmal als Universalspender bezeichnet, was für Notfälle auch zutrifft. Ist blutgruppengleiches Blut vorhanden, ist dieses in jedem Fall vorzuziehen.

Universalempfänger

Menschen der Blutgruppe AB können im Notfall auch mit der Blutgruppe A, B oder auch 0 transfundiert werden. Ist blutgruppengleiches Blut vorhanden, ist dieses in jedem Fall vorzuziehen.

Erbgang AB0

Die Blutgruppenmerkmale A und B sind kodominant, während 0 stumm ist. Hat jemand Blutgruppe 0 ist er genetisch 00. Hat jemand Blutgruppe A, kann er genetisch A0 oder AA sein. Hat jemand Blutgruppe B, kann er genetisch B0 oder BB sein. Bei Blutgruppe AB ist auch der Genotyp AB.

Daraus folgt: Elternteil 1	Elternteil 2	Mögliche Gruppen des Kindes*
0	0	0
A	0	A, 0
B	0	B, 0
AB	0	A, B
0	A	A, 0
A	A	A, 0
B	A	A, B, 0, AB
AB	A	A, B, AB
0	B	B, 0
A	B	A, B, 0, AB

B	B	B, 0
AB	B	A, B, AB
0	AB	A, B
A	AB	A, B, AB
B	AB	A, B, AB
AB	AB	A, B, AB

*Selten aber manchmal doch stehen falsche Blutgruppen in den Blutgruppenausweisen, Mutter-Kind-Pässen oder ähnlichen Dokumenten. Auch gibt es seltene Blutgruppenvarianten, z.B. solche, die wie AB aussehen, in Wirklichkeit aber nicht AB sind (sog. cis-AB). Bevor man also Verdächtigungen erwägt, sollte man die Befunde mit einer genetischen Untersuchung absichern. Außerdem kann nach Spezialbehandlungen (Knochenmarkstransplantation) die Blutgruppe eines Menschen wechseln.

Erbgang Rhesus

Sind beide Elternteile Rhesus-negativ, ist auch das Kind Rhesus-negativ. Ist ein Elternteil negativ und der andere positiv, dann wird (je nach Genotyp des positiven Teils) jedes oder statistisch betrachtet jedes 2. Kind Rhesus positiv. Sind beide Elternteile Rhesus-positiv wird (je nach Genotyp der Eltern) jedes oder 3 von 4 Kindern Rhesus-positiv.

Rhesusinkompatibilität, Morbus haemolyticus neonatorum

Ist eine Rhesus-negative Mutter mit einem Rhesus-positiven Kind schwanger, kann Du Antikörper gegen die Rhesus-positiven Blutkörperchen des Kindes bilden. Meist schadet das erst dem zweiten Rhesus-positiven Kind. Diese Krankheit nennt man auch Morbus haemolyticus neonatorum. Durch rechtzeitige sog. Rhesusprophylaxe kann man diese Probleme heute vermeiden, sofern die vorgeschlagenen Schwangerschaftsuntersuchungen eingehalten werden.
Ist das Kind Rhesus-negativ, die Mutter aber Rhesus-positiv oder haben beide den gleichen Rhesusfaktor, gibt es keine Probleme.

AB0-Inkompatibilität (=AB0-"Nicht-Übereinstimmung")

Äußerst selten kann es zu meist geringen Problemen kommen, wenn die Mutter Blutgruppe 0 hat, das Kind aber nicht.

AUFGABEN

- ✓ Was ist Agglutinogen und Agglutinin?
- ✓ Wie wird eine Blutgruppenbestimmung durchgeführt?
- ✓ Beobachtung der Antigen-/Antikörper-Reaktion im Kunstblut
- ✓ Ermittlung der ABO- und Rhesus-Blutgruppe von vier unbekannten Proben
- ✓ Herstellung eines Feuchtpräparats von Kunstblut
- ✓ Wie hoch ist die Anzahl von Erythrozyten und Leukozyten in normalem Blut?
- ✓ Was ist bei Bluttransfusionen zu beachten?

Versuch 1: Bestimmung der ABO- und Rhesus-Blutgruppe (Versuchsdauer: 30 Minuten)

- Beschrifte alle vier Blutgruppenbestimmungsträger auf den Objektträgern
- Trage in den Vertiefungen für A und B des ersten Blutgruppenbestimmungsträgers jeweils drei bis vier Tropfen von Flasche 1 auf.
- Trage in den Vertiefungen für A und B des zweiten Blutgruppenbestimmungsträgers jeweils drei bis vier Tropfen von Flasche 2 auf.
- Trage in den Vertiefungen für A und B des dritten Blutgruppenbestimmungsträgers jeweils drei bis vier Tropfen von Flasche 3 auf.
- Trage in den Vertiefungen für A und B des vierten Blutgruppenbestimmungsträgers jeweils drei bis vier Tropfen von Flasche 4 auf.
- Gib den A-Kammern aller vier Träger jeweils zwei bis drei Tropfen des simulierten Anti-A-Serums zu.
- Gib den A-Kammern aller vier Träger jeweils zwei bis drei Tropfen des simulierten Anti-B-Serums zu.
- Nehme zwei Zahnstocher für jeden Blutgruppenbestimmungsträger. Rühre 30 Sekunden lang die Mischung in jeder Kammer jeweils mit einem neuen, sauberen Zahnstocher um. Zur Prüfung ob eine Agglutinations vorliegt, solltest du versuchen durdch die vermischte Probe hindurch einen Text zu lesen. Wenn Du den Text nicht lesen kannst, ist davon auszugehen, dass eine positive Agglutinationsreaktion vorliegt.

Versuch 2: Blutbilder (Versuchsdauer: 20 Minuten)

- Schüttel einen Behälter mit dem Kunstblut kräftig durch, trage einen Tropfen auf einen Objektträger auf und decke ihn mit einem Plättchen ab. Leg das Plättchen dabei so langsam auf, dass sich zwischen den Scheiben keine Luftblasen bilden.
- Untersuche den Objektträger mit der kleinsten Vergrößerung unter dem Mikroskop (100x Vergrößerung). Finden Sie einen Bereich mit einer gleichmäßigen Zellenverteilung.
- Schalte jetzt auf eine stärkere Vergrößerung (400x Vergrößerung) um, stell das Bild wieder scharf und zähl die roten Blutkörperchen (roten Kügelchen) im Blickfeld.
- Zähl nun die weißen Blutkörperchen (blauen Kügelchen) und trag deren Anzahl ebenfalls in eine Tabelle ein.
- Wiederhol das Zählverfahren mit zwei weiteren Untersuchungsbereichen Errechne den Durchschnittswert der drei roten und drei weißen Blutbilder. Trag die Ergebnisse in eine Tabelle ein.

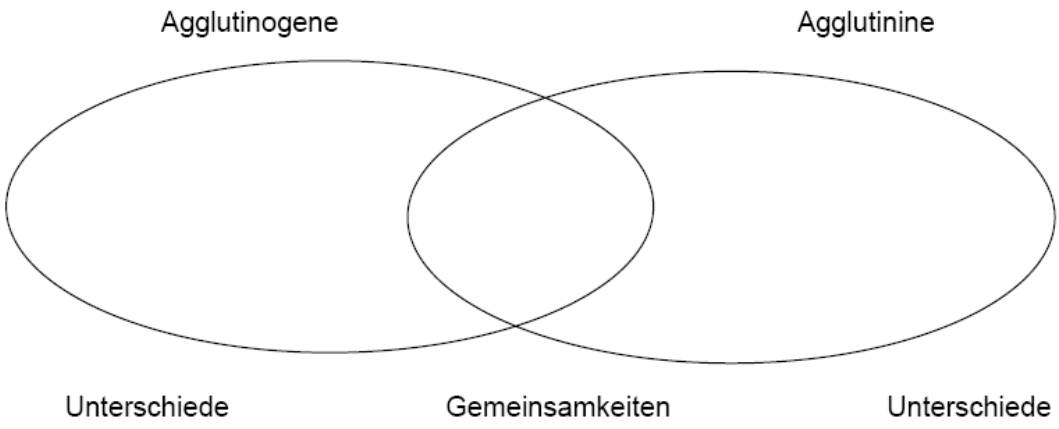
- Multipliziere den Durchschnittswert für die roten und weißen Blutkörperchen mit dem Verdünnungsfaktor, um die Anzahl von roten und weißen Blutkörperchen pro Kubikmillimeter zu bestimmen.

Blutzellenart	Blutbild			Gesamtzahl der Blutkörperchen (bzw. Gesamtzahl/3)	Durchschnitt	Verdünnungsfaktor	Anzahl pro mm³ (bzw. Durchschnitt x Verdünnungsfaktor)
	1	2	3				
Rot (rot)						150.000	
Weiß (blau)						5.000	

1. *Wähle einen der Patienten aus / Tragen den Namen des Patienten/der Patientin ein:*
2. *Unter Verwendung der in Abbildung 1 aufgeführten Informationen über die Blutgruppen und der in Tabelle 1 eingetragenen Werte: welche Agglutinogene befinden sich in den RBK des Patienten?*
3. *Welches Agglutinin bzw. welche Agglutinine sind in dem Plasma des Patienten zu finden?*
4. *Was ist die Blutgruppe des Patienten?*
5. *Falls dieser Patient eine Transfusion benötigt, welche Blutgruppe stellt für ihn keine Gefahr dar?*
7. *Welche Blutgruppen können gefahrlos eine Blutspende von dem Patienten erhalten?*

8. *Die Blutgruppenanalyse eines anderen Patienten wird auf eine Zeitung gelegt, und unterhalb der Kammern für A kann der Text nicht gelesen werden, aber unterhalb der Kammer für B schon. Um welche Blutgruppe handelt es sich?*

9. *Vergleiche anhand eines Schnittmengen-Diagramms die Agglutinogene und Agglutinine und stelle die Unterschiede fest. Demonstriere in Deinem Diagramm mindestens zwei Gemeinsamkeiten und zwei Unterschiede.*



4. *Stell Dir vor, du besuchst mit deiner Klasse ein das Hämattogielabor eines örtliches Krankenhaus. Der medizinisch-technische Assistent führt vor, wie die Blutgruppe*

bestimmt wird. Jetzt sollst du für die Schulzeitung in einem kurzen Text von der Länge eines Absatzes zusammenfassen, was Du über die Bestimmung der ABO- und evtl. Rhesus-Blutgruppen erfahren hast.

5. *Mit welchen möglichen Konsequenzen muß man im klinischen Umfeld rechnen, wenn man kontaminiertes Blut nicht vorschriftsmäßig entsorgt?*
6. *Nenne eine Situation in Deinem Leben, in der es lebensnotwendig sein könnte, über Blut und seine Bestandteile Bescheid zu wissen.*