

Metoda: Coombsův test

Kateřina Živná, 3. ročník oboru Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví
Školitelé: Bc. Patrik Spitzbart, Transfuzní oddělení, FN Plzeň

Princip metody a její úskalí: Jako Coombsovy testy jsou označovány dva klinické krevní testy, které se používají v imunohematologii a imunologii. Mohou být nazývány též jako antiglobulinové testy, a to přímý a nepřímý. Pomocí tohoto vyšetření lze určit přítomnost protilátek proti erytrocytům.

Na přímý antiglobulinový test (PAT) potřebujeme pouze červené krvinky pacienta, ke kterým se přidá protilátka proti imunoglobulinům (lidským protilátkám). Pokud jsou na erytrocytech navázány imunoglobuliny, dojde v důsledku navázání námi podané protilátky na tyto imunoglobuliny ke shlukování erytrocytů. Aglutinace značí pozitivitu, tedy že na pacientových krvinkách jsou přítomny navázané protilátky, které krvinky poškozují.

U nepřímého antiglobulinového testu (NAT) se používá sérum, které neobsahuje červené krvinky. Zjišťujeme tedy pouze přítomnost protilátek v plazmě, které nejsou navázány na erytrocyty. K séru se následně přidají krvinky určitého typu. Pokud jsou v séru přítomny protilátky proti červeným krvinkám tohoto typu, navážou se na přidané červené krvinky a způsobí jejich shluknutí. Pozitivita značí, že jsou v pacientově séru přítomné protilátky, které mohou poškodit určitý typ červených krvinek.

U obou testů hodnotíme nakapaná sklíčka makroskopicky i mikroskopicky. Pokud nedojde k aglutinaci (protilátky nejsou přítomny), ověříme si správnost testu přidáním kontrolních erytrocytů (sensibilizované erytrocyty – mají navázanou protilátku). S těmito erytrocyty by reakce měla vyjít pozitivně, což znamená, že předešlý negativní výsledek nebyl falešný a protilátky na erytrocytech či v plazmě se opravdu nevyskytují.

Za úskalí tohoto testu můžeme zařadit lidskou chybu, jako je nedodržení postupu (jiné poměry, špatný čas inkubace), anebo nefunkčnost sér s protilátkami.

Uplatnění metody: Přímý antiglobulinový test (PAT) slouží k detekci IgG protilátek a/nebo složek komplementu navázaných na membráně erytrocytů. Pokud jsou protilátky přítomny, nastává hemolýza a může se tak jednat například o autoimunitní hemolytickou anémii, hemolytické onemocnění novorozence, hemolytickou potransfuzní reakci, nebo o jinou autoimunitní chorobu (například systémový lupus erythematoses).

Nepřímý antiglobulinový test (NAT) detekuje protilátky a/nebo C3 složku komplementu, ale na rozdíl od přímého antiglobulinového testu se zde nacházejí v krevní plazmě. Využívá se k určení antierytrocytárních protilátek v krevní plazmě u pacientů po opakovaných krevních transfuzích, nebo u těhotných žen, především Rh negativních. Dále se uplatňují při testech kompatibility, anebo k určování některých antigenů pomocí diagnostických sér s inkompletní protilátkou (např. RhD(w/v)).

Potřebné přístrojové vybavení: K provedení testů potřebujeme pouze centrifugu (k oddělení jednotlivých složek krve), termostat a mikroskop.

Podmínky odběru a transportu materiálu: K vyšetření potřebujeme nesrážlivou žilní krev. Při odběru je důležité dodržet podmínky odběru jako jsou identifikace pacienta, dezinfekce místa, dodržet ve

zkumavce správný poměr krve a antikoagulantu (nejčastěji činidlo EDTA), vyplnění žádanky k vyšetření a správné označení zkumavky.

Při transportu je nutné se vyvarovat teplotním extrémům – mrazu i teple, řešením je použití termoboxu. K separaci plné krve musí dojít do 2 hodin od odběru. K provedení testů PAT i NAT se pak používají jiné složky krve.