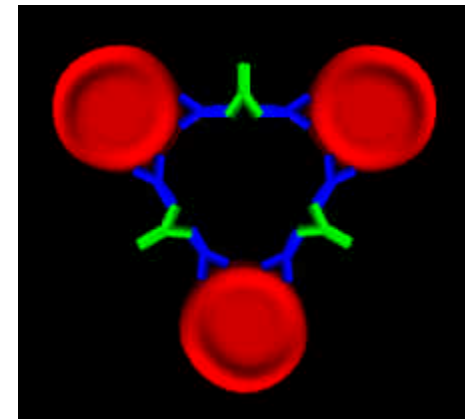
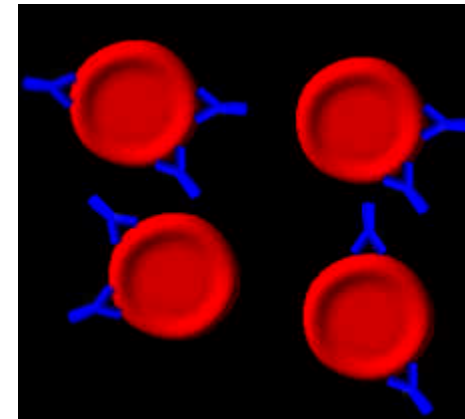


Test direct à l'Antiglobuline (TDA ou Coombs direct)

- Mise en évidence par le réactif de Coombs polyspécifique d'une fixation des anticorps (Igs) ou des fractions du complément (C3d) sur les hématies du patient in vivo.



TDA ou Coombs direct

Principe:

- Lavage des globules rouges du patient (pour se débarrasser des immunoglobulines plasmatiques).
- Addition de l'antiglobuline humain: Réactif de Coombs polyspécifique qui contient des anti-IgG et anti-C3d humains.



TDA ou Coombs direct

Principe:

- Centrifugation et lecture (agglutination)
- Support:
 - Méthode tube
 - Méthode en Gel test.



DAT negative positive



TDA ou Coombs direct

Si le TDA est positif:

- Spécification du TDA et une titration
- Élution
- Dépistage d'anticorps irréguliers chez le patient. (RAI)

TDA ou Coombs direct

- Spécification du TDA: utilisation des sérums Coombs spécifiques (tubes et gel test):
 - anti-IgG
 - anti-C3d
 - anti-IgA
 - anti-IgM





TDA ou Coombs direct

Est-ce qu'il y a une variation entre les deux techniques (tube et gel test)?

- Publication de JD Tissot et al Vox Sanguinis 1999

Comparaison entre technique Tube et Gel test pour TDA				
	Gel Test	Technique en tube		Total
		Positif	Négatif	
Positif		178	7	185
Négatif		51	162	213
Total		229	169	398



TDA ou Coombs direct

The direct antiglobulin test: Still a place for tube technique

Puplication de JD Tissot et all Vox Sanguinis 1999

- La concordance entre les deux méthodes étaient de 85.4 % (340/398 E) avec le sérum de Coombs polyspécifiques.
- Cette concordance dimine à 21.4 % (85/398 E) si la comparaison est effectuée avec des sérums monspécifiques.
- En utilisant des réactifs différents les deux méthodes ne sont pas équivalentes.



TDA ou Coombs direct

Le TDA est demandé par les médecins :

- Recherche d'une incompatibilité foeto-maternelle.
- Recherche d'anémie immuno-hémolytique (bilan d'anémie hémolytique).
- Après une réaction transfusionnelle.

Le TDA est effectué par le labo

- Lors des tests de compatibilité si l'auto-contrôle est positif.
- Complément dans le Type & Screen : en général recommandé seulement chez les patients transfusés, mais pour uniformiser est effectué systématiquement.



Élution du TDA ou Coombs direct

Techniques:

- La chaleur
- La congélation – la décongélation
- Modification de PH
- Solvants organiques
- Sonication ou micro-ondes
- Chloroquine diphosphate
- ZZAP (papaine, cystéine et DTT)



Élution du TDA ou Coombs direct

Choix de la technique:

- Le choix de la technique est influencé par la nature de l'anticorps recherché:
 - Elution à la chaleur si DAT C3d (anticorps froids).
 - Elution avec solvant ou acide si DAT est de spécificité IgG.
- Le choix de la technique est-il influencé par le titre du DAT ?
- Faut-il faire une élution si le DAT positif, titre faible et sans signe d'hémolyses.



TDA ou Coombs direct

DAT positif avec RAI positif

DAT positif avec RAI négatif

- Tous les anticorps sont fixés à la surface des hématies du patient. Élu­tion.
- Les anticorps fixés à la surface ne sont pas spécifiques aux globules rouges : hyper-gamma-globulinémie, injection d'Ig, myélome.
- Médicaments, cause fréquente de la présence des IgG et C3d sur la surface des hématies sans ou avec hémolyse clinique. Élu­tion.
- Donath- landsteiner.
- DAT positifs qui sont mis en évidence chez des personnes en bonne santé. Incidence du DAT positif chez les donneurs varie, selon les publications, entre 1/9000 à 1/14000.



Test de Coombs direct

Faux négatifs:

- Erreur technique. Oubli d'ajouter le sérum Coombs d'où l'importance du Coombs contrôle.
- Densité d'anticorps inférieure à 100 - 150 molécules d'Ig.
- Fixation des IgA (3% des AHAI).
- Lavage insuffisant des globules rouges avant le test neutralisant le sérum de Coombs.
- Contamination des tubes ou du flacon compte-gouttes avec du sérum humain neutralisant le sérum de Coombs.
- Echantillon de sang qui n'a pas été fraîchement prélevé (présence insuffisante de complément).



Test de Coombs direct

Dépistage d'anticorps irréguliers chez le patient ou la mère

- Auto-anticorps chauds non spécifiques ou spécifiques IgG .Parfois ces auto-anticorps ne sont pas associés à des hémolyses in vivo (1/3000).
- Auto-anticorps froids non spécifiques IgM.
- Allo-anticorps : réactions transfusionnelles ou incompatibilité foeto-maternelle.



Test de Coombs direct

Si le test de Coombs direct est positif intéressez-vous aux tests qui témoignent d'hémolyses des globules rouges

- Hémoglobine
- Retic
- Haptoglobuline
- Bilirubine indirecte
- LDH