

TRAVAUX PRATIQUES 4^{ÈME} ANNÉE PHARMACIE
Module hémobiologie

TP:

**Test direct et indirect à
l'antiglobuline**

Année universitaire 2019/2020

INTRODUCTION

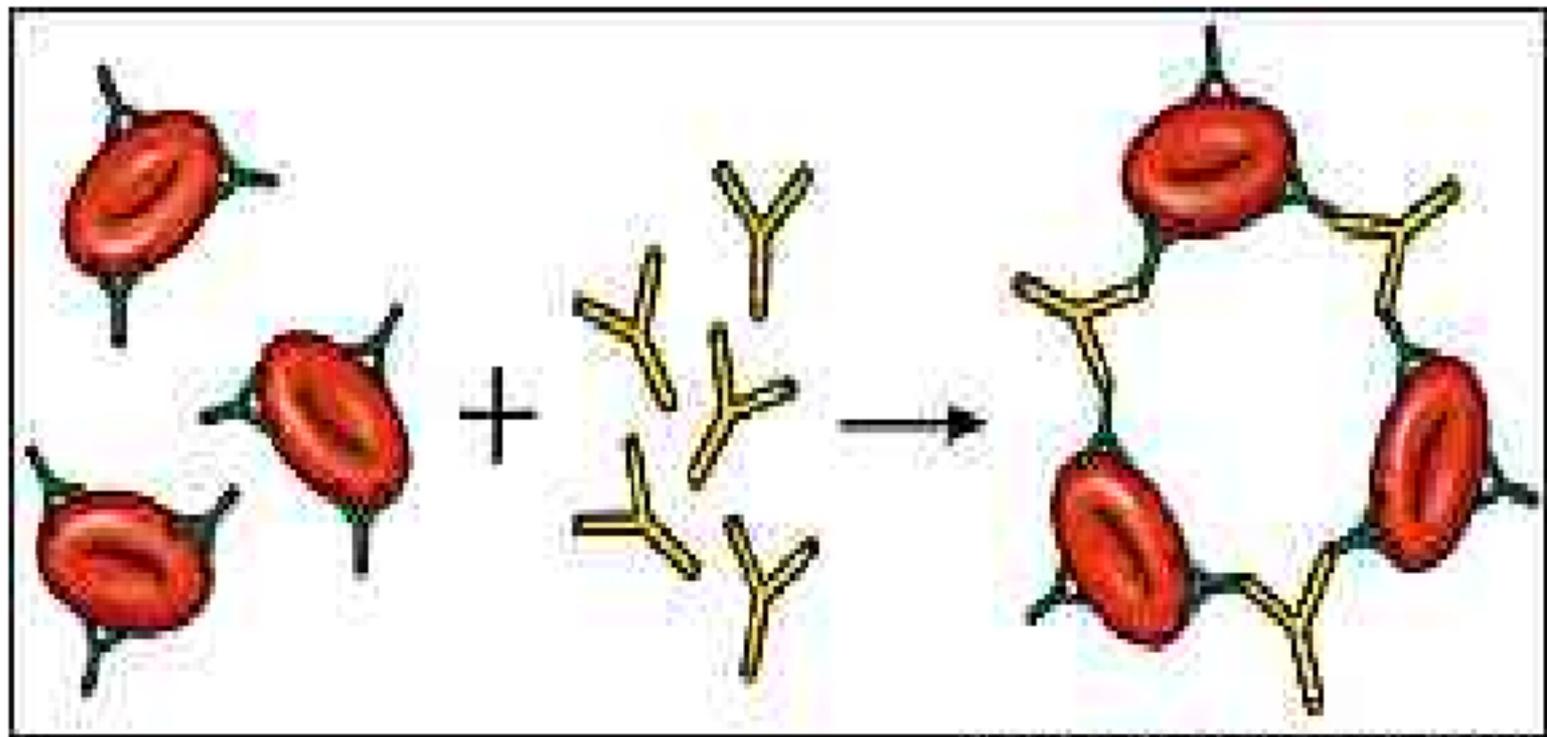
- * Les tests de Coombs direct et indirect sont les tests de base de l'immuno-hématologie. Ils servent à mettre en évidence la présence:
- d'anticorps anti-érythrocytaires ou de fractions du complément fixés à la surface des hématies (Coombs direct),
 - d'anticorps anti-érythrocytaires libres dans le plasma/sérum (Coombs indirect).
 - d'antigènes à la surface des hématies (Coombs indirect) (D faible).
 - La compatibilisation des unités de CGR à transfusées avec le plasma du receveur. (Coombs indirect)

Test de coombs direct

1- Principe:

- c'est la mise en évidence de la sensibilisation des hématies in vivo par des Ac (IgG) ou des fractions du complément (C3d).
- Ceci en utilisant des anti-globulines humaines (AGH) polyvalentes (anti-IgG + anti-C3d).
- Si réaction positive, recommencer le test avec les réactifs monospécifiques (anti-IgG) et (anti-C3d).

Test de Coombs direct: principe



1. Lavage de GR autologues sensibilisés (auto-ac. /C3)

2. Adjonction d'Antiglobulines (sérum de détection constitué d'anti-IgG humaine, anti C3 inclus dans un gel)



3. Agglutination = test ++ en IgG

- **2-Technique:**

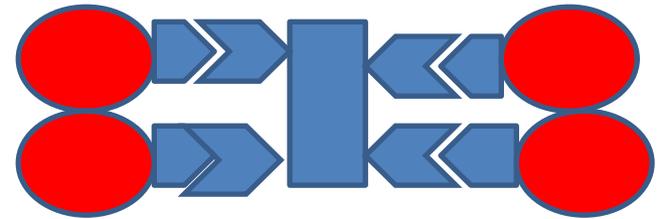
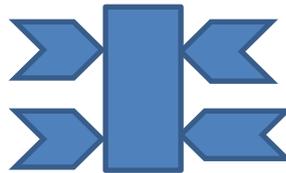
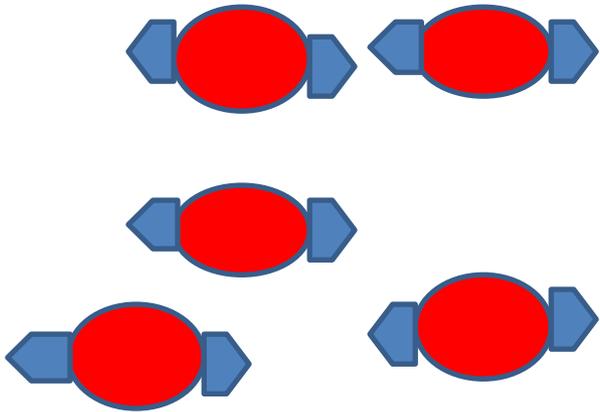
- Lavages des hématies à testées déjà sensibilisées en eau physiologique (plusieurs lavages).
- GR du patient sont mis en suspension saline à 05 %.
- Adjonction d'antiglobuline humaine polyvalente (02 gouttes suspension hématies 05% + 02 gouttes AGH).
- Réaliser une centrifugation à faible vitesse (1000 tr/min) pendant 01 min.

Présence d'agglutination ➡ **Coombs direct positif**
Absence d'agglutination ➡ **Coombs direct négatif**

- **Hématies sensibilisées**

AGH

Agglutination



- La réalisation des témoins négatifs et positifs est nécessaire pour la validation du test.
- Si test positif refaire avec des antiglobulines humaines monospécifiques. (anti-IgG) et (anti-C3d).
- Si positif avec anti-IgG donc l'Ac fixé à la surface des hématies est un IgG (hémolyse intra-tissulaire par fagocytose au niveau du foie et la rate).
- Si positif avec anti-C3d donc l'Ac fixé à la surface des hématies est un IgM qui c'est élué après fixation du complément (hémolyse intravasculaire par le CAM)
- Une positivité mixte est possible (les deux mécanisme à la fois).

3- Indication:

- Le test de Coombs direct est utilisé pour confirmer l'origine immunologique d'une hémolyse, par exemple dans les situations suivantes :
 - Bilan d'une incompatibilité foeto-maternelle (sang de foetus ou de nouveau-né, éventuellement sang de cordon).
 - Anémie hémolytique.
 - Réaction transfusionnelle (hémolyse post-transfusionnelle).
 - AHAI.

Test de coombs indirect

- **1- Principe** c'est la mise en évidence de la sensibilisation des hématies in vitro par des Ac, en utilisant des anti-globulines humaines (AGH) polyvalentes.

- **2-Technique:**

- Lavages des hématies Par l'eau physiologique (plusieurs lavages).
- Ces hématies peuvent être selon les cas:
 - * hématies test de groupe o utilisées pour la recherche d'un Ac irrégulier dans la sérum du patient.
 - * hématies à testés pour la recherche d'un Ag faible (D faible).
 - *hématies des unités à transfusées et nécessitant une compatibilisation préalable avec le sérum du malade.

- Réalisation d'une suspension à 05%.
- Incubation à 37 °C avec selon les cas (sérum du malade ou avec l'anti-D pour la recherche du D faible permettant la fixation de l'Ac à son Ag spécifique) pendant 45 min (15 min en solution liss).
- Lavage des hématies.
- Ajout de l'AGH polyvalente.
- Centrifugation à faible vitesse.

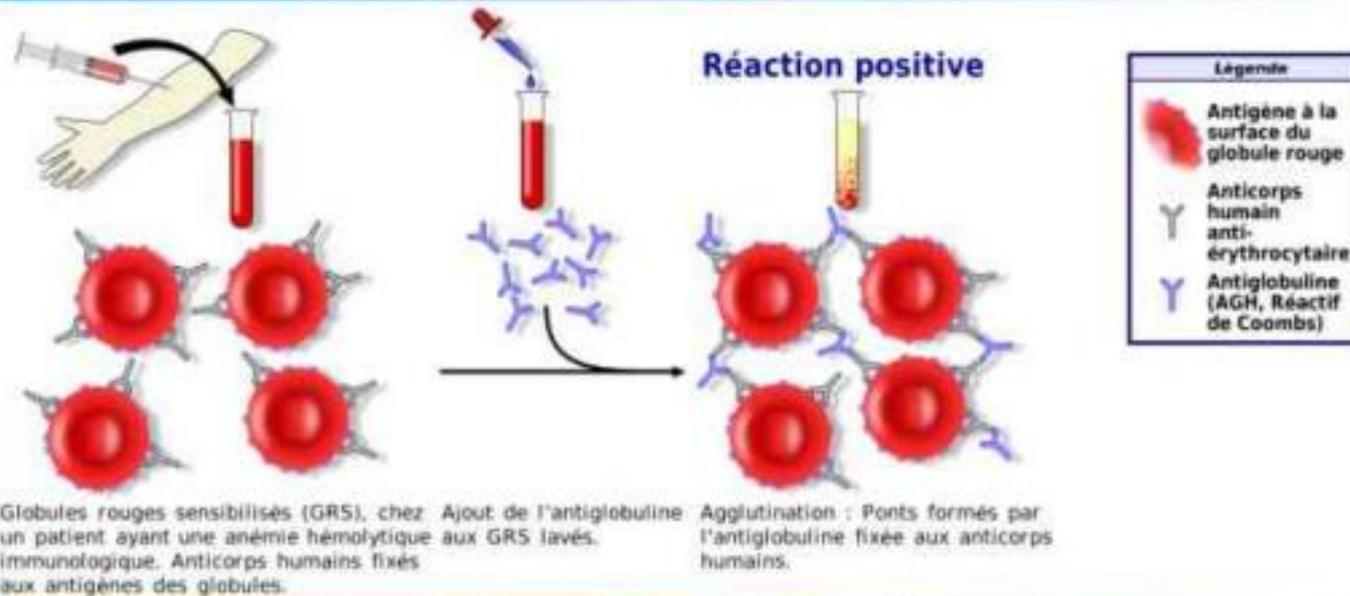
Présence d'agglutination ➡ **Coombs indirect positif**

Absence d'agglutination ➡ **Coombs indirect négatif**

3- Indication:

- Le test de Coombs indirect se fait, entre autres, dans les situations suivantes :
 - Test de compatibilité majeur : plasma/sérum du receveur et hématies du donneur.
 - Recherche d'anticorps irréguliers : plasma/sérum du patient et hématies d'un panel (antigènes connus). –
 - Recherche d'un phénotype érythrocytaire : érythrocytes du patient et antisérum connu (anticorps connus).

Test de Coombs direct / Test direct à l'antiglobuline



Test de Coombs indirect / Test indirect à l'antiglobuline

