

Директен антиглобулинов тест; диференциран директен антиглобулинов тест. Индиректен антиглобулинов тест и модификации

Д-р Жанина Йорданова Иванова дм,



Антиглобулинови тестове

- ▶ Карло Мореси първи описва принципа на антиглобулиновата техника през 1908 година.
- ▶ Кумбс, Муран и Рейс са тези, които предлагат въвеждане на антиглобулиновия тест в рутинната лабораторна практика.
- ▶ Кумбс и сътрудници показват, че теста който може да се използва за откриване на кръвногрупови антитела в серум, е индиректния антиглобулинов тест (ИАГТ), а теста за доказване на сесибилизирани ин виво еритроцити, е директният антиглобулинов тест (ДАТ).

Антиглобулинови тестове

- ▶ В полиспецифичния античовешки глобулин трябва да има единствено anti-IgG и anti-C3d. За автоматизираните техники на работа се изисква кръв, взета с антикоагулант. За откриване на антитела с потенциално клинично значение се използва само anti-IgG. Антитела anti-C3d, от които зависи откриване на компоненти от системата на комплемента върху еритроцитите без съпътстващи IgG антитела, се използва рядко.
- ▶ Има корелация между броя на свързаните IgG молекули и силата на реакцията при ИАТ и ДАТ. За да бъдат открити антитела, минималният брой на свързаните IgG молекули е между 100-150 на участък от еритроцитната мембрана. Ако този брой расте, то и силата на реакцията расте.

Индиректен антиглобулинов тест (ИАГТ)

- ▶ Съществуват различни вариации на антиглобулиновия NISS (Normal Ionic Strength Saline) тест, но най-използваният LISS метод е предложен през 1970 година от Лоу и Месетер. Понижаването на йонната сила във физиологичен разтвор повишава скоростта на свързване с антиялото. Това позволява времето за инкубация при ИАГТ да се намали от 1 час на 15 минути.
- ▶ ИАГТ може да се изпълни или като се добави LISS или реагиращите клетки да се суспендират в LISS. При LISS техниката от важно значение е съотношението между серума и клетките. Увеличаването на обема на серума може да доведе до намаляване чувствителността на теста, защото добавения серум повишава крайната йонна сила в тест системата и намалява количеството на уловените антитела.

Индиректен антиглобулинов тест (ИАГТ)

- ▶ Други техники включват използване на Polyethylen Glycol (PEG), за да се повиши шанса за откриването на слаби антитела. За този метод трябва да се използват само Anti-IgG, защото еритроцитите улавят комплемента неспецифично, когато са суспендирани в PEG среда.
- ▶ Първоначално антиглобулиновия тест се е изпълнявал върху добре почистени плочки със замразен античовешки глобулин разреден с физиологичен разтвор в лабораторни условия. Методът е бил подобрен с въвеждане на техниката в епруветка с центрофугиране, по-късно се въвежда техника в твърда фаза, метод на натоварените микроплаки.

Индиректен антиглобулинов тест (ИАГТ)

► Необходими реагенти и разтвори

1. Тест-еритроцити от кр. Група O, чиято комбинация от антигени да бъде пълна по отношение на Rh фенотипа
2. Тест-еритроцити от кр. Група O Rh $/-/$ отр.
3. Кръв от изследваното лице взета с или без антикоагулант
4. ID карти (гел карти) с 6 или 8 микроепруветки с гел
5. Пипети - автоматични
6. Термостат на 37 C
7. Центрофуга за гел карти
8. AHG реагент
9. Разтвор на LISS

Индиректен антиглобулинов тест (ИАГТ)

► Процедура

Преди работа тест еритроцитите и серумите да се темперират на стайна температура.

1. Надписваме карта с името (номера) на пациента.
2. Накапва се по 50 мкрл еритроцитна суспензия в LISS във всяка микроепруветка
3. Накапва се по 25 мкрл от серума (плазмата) на пациента във всяка микроепруветка
4. Инкубира се за 15 мин на 37 С.
5. Във всяко гнездо се накапва по 25 мкрл АНГ реагент.
6. Центрофугира се за 10 мин и се отчита резултата.

Директен антиглобулинов тест (ДАГТ)

- ▶ Директният антиглобулинов тест се използва за доказване на ин виво протекла сенсibiliзация на еритроцитите с имуноглобулини и/или комплемент. При теста в епруветка също се извършва промиване с цел отстраняване на несвързаните с еритроцитите имуноглобулини. Към промитите с физиологичен разтвор еритроцити се добавя античовешки глобулин, който предизвиква хемаглутинация след центрофугиране. Този метод се използва при АИХА и ХБН. ДАГТ може да се позитивира и след извършена хемотрансфузия на кръв носеща антиген, срещу който приемателя притежава антитела.

Директен антиглобулинов тест (ДАГТ)

► Процедура

1. Надписва се карта с името (номера) на пациента
2. Накапват се 50 мкрл 1% суспензия от кръвта на пациента
3. Накапва се по 25 мкрл АНГ реагент
4. Центрофугира се и се отчита резултата.

Интерпретация на резултатите

- ▶ Негативна реакция - липсват уловени антитела в серума на пациента. Несенсибилизираните клетки преминават матрикса и оформят топче на дъното на микроепруветката.
- ▶ Позитивна реакция - Сенсибилизираните клетки във фазата на инкубация реагират с античовешкия глобулин. Образуваните аглутинати се задържат в горната част на гел матрикса.

БЛАГОДАРЯ

ЗА ВНИМАНИЕТО

