مناعة عملي

اختبار كومبس Commbs test

اختبار كومبس يدعى Commbs test وقد يشار الى تحاليل كومبس في بعض الكتب بأسم Antiglobuline test أو AGT وينقسم الى اختبارين وهما :

١- اختبار كومبس المباشر Direct Coombs test

٢- اختبار كومبس الغير مباشر Indirect Coombs test

وقد تم تسميته بأسم كومبس Coombs نسبة الى العالم الذي قام بأكتشافه في عام ١٩٤٥ ويهدف

الاختبار الى الكشف عن وجود الاجسام المضادة Antibody التي تعتبر من انواع المناعة المكتسبة وليست مناعة طبيعية (تظهر بعد التماس المباشر بين الخلايا المؤهلة مناعيا وبين العامل الغريب أو بقاياه) . وهناك طريقتان في ظهور المناعة المكتسبة النوعية :

A- المناعة المتوسطة بالخلايا حيث تتعرف بعض اللمفاويات على العامل الممرض وتصبح متحسسة له بحيث تستطيع قتله بذاتها أو تحرض البالعات او الخلايا الملتهمة الصغيرة والكبيرة على عمل ذلك.

B- المناعة الخلطية حيث تتعرف بعض اللمفاويات على مكونات اللعامل الممرض التي تسمى مستضدات Antigen وترد عليها بتصنيع أضداد خاصة ونوعية لهذه المستضدات تطلقها في الدم وتكون هذه الاضداد على خمسة أنواع أصغرها IgG واكبرها IgM .

*** مبدأ اختبار كومبس**

الاضداد التي نبحث عنها سواء مرتبطة على سطح الكريات الحمراء أو الجوالة في المصل تكون من نمط IgG وهي اضداد صغيرة غير قادرة على ربط الكريات الحمر ببعضها وبالتالي لا يحدث تراص بواسطتها فقط لذلك للكشف عن وجود هذه الاضداد يجب اضافة جزيئات أكبر ترتبط بها وتصل الكريات الحمر ببعضها وبالتالي يحدث التراص او التلازن Agglutination.

*** تتواجد هذه الانواع من الاجسام المضادة في حالات منها :**

١- في معظم حالات فقر الدم الانحلالي الذاتي المناعة Autoimmune hemolytic anemia.

٢- في الام ذات فصيلة سالبة -RH والجنين ذا فصيلة +RH تتكون اجسام مضادة في دم الام نتيجة لدخول كريات الدم الحمراء من الجنين عبر المشيمة الى الام هذه ينتج عنها تكون اجسام مضادة في دم الام ضد كريات الدم الحمراء للجنين ، تدخل هذه الاجسام المضادة الى الجنين وتلتصق بكرياته الحمراء أو ان يولد الجنين ميتاً وعادة ماتكون هذه الاجسام المضادة من نوع IgG لانها هي القادرة على العبور الى الام عبر المشيمة بحكم صغر حجمها .

*** الاسباب التي تؤدي الى تكوين الاجسام المضادة للكريات الحمراء :**

١- تتكون اجسام مناعية ضد انتيجينات خاصة بالجسم في ظروف غبر معروفة .

٢- تعرض الجسم لبعض الامراض الميكروبية وتتكون انتيجينات تشبه انتيجينات الموجودة على

سطح كريات الدم الحمراء فيبدأ الجسم بتكوين اجسام مناعية ضد هذه الانتيجينات وبالتالي تعمل ضد كريات الدم الحمراء.

*** كاشف كومبس Coombs reagent**

يستخدم كاشف كومبس المعروف ايضا باسم كومبس مضاد الكلوبيولين أو الكلوبيولين غير

البشري في كل من اختبار كومبس المباشر وغير المباشر . كاشف كومبس هو مضاد الكلوبيولين البشري .يصنع عن طريق حقن الكلوبيولين البشري في الحيوانات والتي تنتج الاجسام المضادة المحددة للمناعية البشرية وعوامل النظام المكمل البشري .

*** اختبار كومبس المباشر Direct Coombs test**

كريات دم حمراء على سطحها اضداد IgG + مصل كومبس الحاوي على اضداد IgM =

تراص أو تلازن.

لأجراء اختبار كومبس المباشر لابد من الحصول على دم المريض في انبوبة تحوي مادة مانعة للتخثر EDTA . ثم تغسل كريات الدم الحمراء للمريض بواسطة Normal salin ثلاث مرات وفي كل مرة يتم التخلص من الطافي لتبقى الكريات الحمراء المترسبة ، يؤخذ من الراسب بعد رج الانبوبة جيداً حوالي ١مل ويضاف له ٣ قطرات من كاشف كومبس Antihumen

globulin ، يجري طرد مركزي لمدة ٢٠ثانية ثم تحضن الانبوبة في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ١٠دقائق وتقرأ بعد ذلك من خلال وجود او عدم وجود التراص .

يستخدم اختباركومبس المباشر للكشف الاضداد أو بروتينات المتممة المرتبطة على سطح الكريات الحمر . نجري اختبار كومبس المباشر عندما نشك بوجود فقر دم انحلالي متوسط مناعياً ((تحطيم الكريات الحمر بتوسط الاضداد)) ، اختبار كومبس المباشر الايجابي يدل على وجود الية مناعية اصابت الكريات الحمر . أي يتم في هذه الحالات انتاج اضداد تلتصق على سطح الكريات الحمر مؤدية الى انحلالها وحدوث فقر دم انحلالي . قد يكون انحلال الدم وفق الية :

١- مناعية ذاتية Autoimmunityمثل الذئبة الحمامية الجهازية .

٢- Alloimmunity مثل امراض انحلال الدم عند حديثي الولادة (نتيجة اختلاف الزمر

الدموية بين الام والطفل سواء على اساس عامل RH أو ABO) انحلال بسبب نقل الدم .

٣- مناعة مسببة بالادوية drug - induced immune -mediated mechanism مثل

البنسلين ، الكوينيدين .

*** اختبار كومبس الغير مباشر Indirect**

مصل دم حاوي على اضداد IgG+ كريات دم يحدث تحسس للكريات الحمراء (أي ارتباط الاضداد بسطح الكريات) ثم نضيف مصل كومبس الحاوي على اضداد IgM = تراص الطريقة :

١- نجري اختبار لفصيلة دم المريض عن طريق الانبوبة .

٢- نأخذ من دم المتبرع الموجود في كيس الدم ونضع كمية منه في انبوبة ونقوم بغسل الدم ثلاث مرات .

٣- نقوم بطرد مركزي لعينة دم المريض للحصول على البلازما .

٤- بعد غسل دم المتبرع نضيف على الانبوبة محلول ملحي متعادل Normal salin ونعمل على خلطهم سوية لنحصل على معلق يدعى RBC suspension.

٥- نأخذ انبوبة بها بلازما المريض والمعلق ونضيف له Bovin albumin وتترك في حمام مائي لمدة ساعة .

٦- نأخذ انبوبة اخرى بها Anti A+ الخليط ،Anti B + الخليط ، Anti D + الخليط وهذا

الخليط هو بلازما المريض + المعلق + Bovinalbumin .

٧- يتم اضافة مصل كومبس على الانبوبة الاولى . ثم يتم عمل طرد مركزي لمدة نصف دقيقة ونأخذ قطرة من الانبوبة ونشاهد تحت المجهر فأذا وجد التخثر دل على نتيجة موجبة .

ملاحظة / يجب اجراء الاختبار بالسرعة الممكنة ولايجب تأخيره اكثر من ٧٢ ساعة كحد اقصى حيث تحفظ العينة في هذه الحالة مبردة في درجة من ٢-٨ مئوية ولاتجمد ابدا.

يستخدم اختبار كومبس الغير مباشر للكشف عن وجود تراكيز قليلة من اضداد الكريات الحمراء الجوالة في المصل والغير مرتبطة بسطح الكريات الحمر وذلك قبل اجراء نقل الدم او قبل الولادة عند الحامل أو بعد الولادة اذا كانت فصيلة دم الطفل تختلف عن فصيلة الام من ناحية RH .