

## Indirecte en directe Coombs

**Het is belangrijk elke zwangere, en niet enkel de Rhesus-negatieve, te screenen naar de aanwezigheid van irreguliere antistoffen.**

### 1. Indirecte Coombs

#### Achtergrond

De indirecte Coombs wordt gebruikt voor het opsporen van **irreguliere of onregelmatige antistoffen**. Dit zijn antistoffen gericht tegen RBC-antigenen (bloedgroepen) die **niet** natuurlijk voorkomen. De enige natuurlijk voorkomende antistoffen (reguliere antistoffen) tegen RBC-antigenen zijn anti-A en anti-B (ABO-bloedgroepsysteem) bij personen bij wie het overeenkomstig antigeen ontbreekt.

Irreguliere antistoffen verschijnen wanneer een **immunisatie** is opgetreden. Dit kan enkel na contact met lichaamsvreemde RBC-antigenen, zoals bij een zwangerschap, transfusie of transplantatie. Of en wanneer een immunisatie optreedt is enerzijds afhankelijk van het immuunsysteem van het individu en anderzijds van het bloedgroepantigeen zelf. Zo is een Rhesus D antigeen het meest immunogeen, wat wil zeggen dat 80 tot 90% van de D-negatieve personen die in contact komen met het D-antigeen een anti-D zullen ontwikkelen. Dit zal daarom niet bij het eerste contact gebeuren, maar kan ook pas na meerdere contacten.<sup>2</sup>

Irreguliere antistoffen zijn van het IgG type en zijn dus kleine antistoffen die op zichzelf niet in staat zijn de RBC te agglutineren omdat de negatieve elektrische lading rond de RBC te groot is. Om in vitro toch de aanwezigheid van die IgG antistoffen aan te tonen wordt gebruik gemaakt van de indirecte coombs test. Er worden test-RBC aan het plasma van de patiënt toegevoegd waarop de eventueel aanwezige antistoffen op die test-RBC zullen binden. De test-RBC zijn zo samengesteld dat alle klinisch relevante bloedgroepsystemen op de testcellen aanwezig zijn. Het coombsreagens is een anti-humaan IgG dat de brug maakt tussen de gecoatete RBC en op die manier een agglutinatiereactie teweegbrengt.<sup>1</sup>

In vivo kunnen IgG antistoffen wel hemolyse veroorzaken mits complementbinding of met behulp van macrofagen in de milt of de lever. Het gaat dan meestal om extravasculaire hemolyse. Doordat IgG moleculen klein zijn kunnen ze wel door de placenta migreren en hemolytische ziekte van de foetus of van de pasgeborene veroorzaken. De natuurlijke antistoffen zijn meestal van het IgM type, dit zijn grote moleculen, die niet door de placenta kunnen passeren maar wel vaker intravasculaire (en ernstigere) hemolyse veroorzaken.<sup>1</sup>

#### Toepassing

In de praktijk worden irreguliere antistoffen opgespoord bij zwangere patiënten en in geval van transfusie. Er wordt aanbevolen 1x te screenen **vóór of in het begin van de zwangerschap**<sup>3</sup>, dit om de aanwezigheid van antistoffen naar aanleiding van een vroegere zwangerschap of transfusie aan te tonen. Indien geen irreguliere antistoffen worden aangetoond dan wordt een volgende screening aanbevolen **op 24-28 weken van de zwangerschap**<sup>4</sup> om een eventuele immunisatie die in de loop van deze zwangerschap is ontstaan aan te tonen. Naarmate de zwangerschap vordert wordt de kans namelijk groter dat een foetomaternele 'transfusie' plaatsvindt en zeker indien er een traumatisch voorval of een obstetrische ingreep (vbamniocentese) is geweest is dit aangewezen. Het is belangrijk om **élke zwangere (en niet enkel de Rhesus-negatieve!)** te screenen naar aanwezigheid van irreguliere antistoffen<sup>3,4</sup>. Deze screening gebeurt best **vóór eventueel anti-D immunoglobulines worden toegediend**, want anders wordt uiteraard anti-D opgespoord (in lage titer weliswaar) en is het niet met 100% zekerheid uit te sluiten dat er geen materneel anti-D aanwezig is. Van zodra de screening naar irreguliere antistoffen positief wordt bevonden, moet een identificatie uitgevoerd worden. Dit gebeurt in het referentielaboratorium (labo Immunohematologie, Rode Kruis Vlaanderen). Vanaf dan moet de zwangerschap van nabij opgevolgd worden met echografie om tekenen van hemolyse bij de foetus tijdig op te sporen.

Veelal echter zal een immunisatie pas optreden na de geboorte omdat de moeder pas tijdens de bevalling in contact komt met het foetaal bloed. Vandaar dat de problemen zich meestal stellen in volgende zwangerschappen en op voorwaarde dat de foetus van die volgende zwangerschap eveneens drager is van het betreffende antigeen. Indien de vader homozygoot is voor het betreffende antigeen dan kan men zeker zijn dat ook een volgende foetus positief zal zijn. Voor het D-antigeen is het mogelijk om via het plasma van de moeder met behulp van PCR het D-genotype van de foetus te bepalen.

Wat betreft het D-antigeen kan een immunisatie voorkomen worden door het toedienen van **anti-D immunoglobulines (Rhogam, 1500IU)** rond 28 weken zwangerschap<sup>3,4</sup>. Op die manier zal het toegediende anti-D de D-positieve RBC van de foetus afbreken in de bloedbaan van de moeder en krijgt het immuunsysteem van de moeder niet de kans om zelf anti-D aan te maken. Indien de pasgeborene Rhesus-positief blijkt te zijn, volgt een tweede toediening van anti-D immunoglobulines binnen de 72u na de bevalling. Indien de vader ook D-negatief is (en men 100% zeker kan zijn over de identiteit van de vader) of wanneer de moeder met zekerheid weet dat ze geen volgend kind wil, dan zijn deze anti-D immunoglobulines niet nodig. Ook indien de vrouw reeds geïmmuniseerd is voor het D-antigeen heeft het geen zin meer om nog anti-D immunoglobulines toe te dienen. Anti-D immunoglobulines zijn van humane oorsprong, maar kunnen wel als zeer veilig beschouwd worden.

Sinds het gebruik van anti-D immunoglobulines kunnen zeer veel immunisatieproblemen voorkomen worden, maar er zijn uiteraard nog met andere bloedgroepsystemen immunisaties mogelijk, zoals bijvoorbeeld met het **Kell-systeem (K), rhesusondergroepen (C,c,E,e), Duffy (Fya),....**<sup>2</sup> Voornamelijk anti-K kan aanleiding geven tot zeer ernstige hemolytische ziekte van de foetus of pasgeborene, maar gelukkig is dit minder frequent (ongeveer 10% van de bevolking is K-positief).

Hoewel de antistoffen van het ABO systeem voornamelijk van het IgM type zijn, circuleren bij veel mensen ook anti-A en anti-B antistoffen van het IgG type. Deze kunnen dus eveneens door de placenta passeren en immuunhemolytische ziekte veroorzaken, maar om nog niet volledig opgehelderde redenen verloopt dit veel milder en manifesteren eventuele problemen zich steeds na de geboorte. Er is dus geen extra opvolging van de zwangerschap noodzakelijk in geval van ABO-incompatibiliteit tussen moeder en foetus.<sup>1</sup>

## **2. Directe Coombs**

De directe coombs wordt gebruikt voor het aantonen van antistoffen op de RBC van de patiënt. Dit is het geval bij de aanwezigheid van autoantistoffen (autoimmuun hemolytische anemie) of bij een transfusiëreactie of bij pasgeborenen in geval van foetomaternele incompatibiliteit (immuun hemolytische ziekte van de pasgeborene). Dit betreft ook voornamelijk IgG antistoffen, die met behulp van het coombsreagens in vitro aangetoond worden door een agglutinatiereactie. De test wordt 'direct' genoemd omdat de antistoffen reeds in vivo op de RBC gecoat zijn, dit in tegenstelling tot de 'indirecte' coombs.<sup>1</sup>

H. Castryck, E. De Schouwer

### Referenties

1. Hematologie, Hoffmann J.J.M.L., Akkerman J.W.N., Nieuwenhuis H.K., Overbeeke M.A.M., 1998
2. Technical Manual AABB 16th edition, Roback J.D., Combs M.R., Grossman B.J., Hillyer C.D., 2008
3. Nationale richtlijn prenatale zorg: een basis voor een klinisch pad voor de opvolging van zwangerschappen, Federaal Kenniscentrum, 2004
4. Zwangerschapsbegeleiding, Seuntjens L et al, Aanbeveling voor goede medische praktijkvoering, 2006