

PRUEBA DE COOMBS

<i>Autores</i>	Dr. Adalberto Ballester Santovenia Dr. Jesús Diego de la Campa Lic. Mayra Pérez Pérez
<i>Servicio</i>	Banco de Sangre

OBJETIVOS

- Determinar la existencia de glóbulos rojos recubiertos con inmunoglobulinas y/o complemento *in vivo*, en particular IgG y C3d (Coombs directo)
- Determinar la presencia de anticuerpos irregulares en el suero del receptor (Coombs indirecto)
- Determinar la compatibilidad entre la sangre del donante y el receptor a transfundir (Coombs cruzado).

DESARROLLO

Alcance

- El Coombs directo se realiza a pacientes en los primeros momentos de una reacción hemolítica y en el diagnóstico de anemias hemolíticas auto inmunes, hemólisis inducidas por drogas, y enfermedad hemolítica del recién nacido.
- -El Coombs indirecto se realiza a pacientes politransfundidos, embarazadas, múltiparas.
- El Coombs cruzado es una variante del Coombs indirecto y se realiza a pacientes politransfundidos, pacientes con antecedentes de reacción post transfusional hemolítica y a múltiparas para escoger sangre compatible.

Responsabilidades

- Es responsabilidad de la Dirección del Banco garantizar los recursos indispensables para la realización de éste procedimiento
- Es responsabilidad del Jefe de Departamento implantar esta GP.
- Es responsabilidad del técnico el cumplimiento de lo establecido en el presente documento.

- Es responsabilidad de aseguramiento de la calidad velar por el cumplimiento de lo establecido en este documento mediante inspecciones y auditorias.

Condiciones de seguridad

- Use bata sanitaria y guantes de cirujano.

Equipamiento, locales, materiales y reactivos

- Centrífuga para tubos de mesa
- Neveras de conservación de sangre 4-6°C
- Aglutinoscopio.
- Tubos de ensayo de 13x100
- Gradillas para tubos de ensayo
- Jeringuillas de 10 o 20 mL
- Agujas 20 o 21
- Torundas
- Ligaduras
- Aplicadores de madera.
- Anticoagulante EDTA o heparina
- Alcohol al 70% o hibitane alcohólico
- Suero de Coombs poliespecífico
- Suero de Coombs monoespecífico anti IgG y anti C3d.
- Solución salina

Operaciones preliminares

- Prepare el área de trabajo con el material y reactivos que van a ser utilizados.
- Tome muestra de sangre del paciente compuesta de un tubo anticoagulado (con EDTA o heparina) y un tubo seco debidamente identificado y que no exceda las 72 horas de extraída.

Procedimiento

- **Coombs directo**
 - Lave tres veces los hematíes del paciente con solución salina fisiológica.
 - Haga una suspensión de hematíes lavados al 2-5 %.
 - Añada en un tubo debidamente rotulado dos gotas de la suspensión.
 - Añada dos gotas de Suero de Coombs poliespecífico.
 - Centrifugue un minuto a 1000 rpm.

- Lea desprendiendo suavemente el botón sobre la lámpara aglutinoscopio.
- **Coombs indirecto y cruzado**
 - Centrifugue la muestra de sangre 10 min a 3 000 rpm para obtener el suero y decántelo en un tubo debidamente identificado.
 - Prepare una suspensión al 2-5 % con la mezcla de hematíes **O** y en el caso del Coombs cruzado utilice una muestra de la sangre a transfundir para preparar la suspensión.
 - En un tubo debidamente rotulado añada dos gotas del suero y dos gotas de la suspensión y mezcle bien.
 - Prepare un tubo control rotulado **C+** (control positivo) y añada en él dos gotas de la suspensión de hematíes **O** y dos de suero hemoclasificador anti-D y mezcle bien
 - Incube ambos tubos en un Baño de María a 37°C por 30 minutos
 - Lave tres veces con solución salina escurriendo totalmente el sobrenadante del último lavado.
 - Añada dos gotas de suero de Coombs poliespecífico a cada tubo.
 - Centrifugue 1minuto a 1000 rpm.
 - Lea desprendiendo suavemente el botón en la lámpara aglutinoscopio.

Interpretación de los resultados

- Si en la prueba de Coombs directo observa aglutinación esto indica presencia de anticuerpos y /o complemento unidos a los hematíes *in vivo*, repita nuevamente el procedimiento pero utilizando los reactivos mono-específicos anti-IgG y anti-C3d.

Patrones de reacción

Reactivos mono-específicos	1	2	3	4
<i>anti Ig G</i>	+	+	-	-
<i>anti C3</i>	-	+	+	-

- Si en la prueba de Coombs indirecto se observa aglutinación significa que estamos en presencia de anticuerpos irregulares en el suero del receptor por lo que debe proceder al estudio e identificación de él o los anticuerpos adquiridos.
- Si en la prueba de Coombs cruzado se observa aglutinación indica que estamos en presencia de anticuerpos irregulares en el suero del receptor por lo que las unidades de sangre estudiadas que presenten este resultado no deben ser transfundidas al paciente en estudio.

Controles

- El jefe técnico controlará que en todos los casos se trabaje con muestra extraída con no más de 72 horas para lo que mantendrá la nevera donde se almacenan las mismas libre de muestras vencidas.
- El jefe técnico controlará que no ocurra en ningún caso omisión alguna de los pasos descritos anteriormente.
- El técnico que realiza el proceder debe verificar que el tubo control que se monta en paralelo muestre aglutinación lo cual garantiza que el reactivo de Coombs empleado mantiene su actividad biológica.

Bibliografía

1. American Association of Blood Bank. Manual Técnico .13.ed. Buenos Aires: Edigraf; 2001
2. Regulación 1-99 "Especificaciones de calidad para la sangre humana obtenida por donación".CECMED
3. Procederes de Banco de Sangre. Ministerio de Salud Pública. Grupo Nacional de Hematología y Banco de Sangre. 1989.
4. Estándares de Trabajo para Bancos de Sangre. Segunda Edición. Noviembre de1999.OPS. OMS.
5. Caribbean Regional Standards for Blood Banks and Transfusion Services. First Edition.2001. Caribbean Epidemiology Centre (CAREC).