

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS	Código: IT-IS-BS-33
		Página 1 de 10
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión vigente: 02

INDICE

Pág.

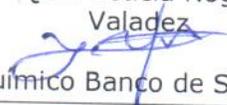
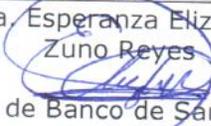
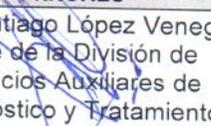
1.0 ALCANCE.....	1
2.0 DOCUMENTOS APLICABLES.....	1
3.0 DEFINICIONES.....	2
4.0 MATERIAL Y EQUIPO.....	2
5.0 DESARROLLO.....	3
6.0 ANEXOS.....	6
7.0 CONTROL DE CAMBIOS.....	10

1. Alcance:

Aplica a las muestras de pacientes que presentan pruebas de compatibilidad que resultan incompatibles y/o en las muestras en las que se detecte la presencia de un anticuerpo irregular. Se realizara a todos los receptores que tengan antecedentes de aloinmunizacion, con el fin de identificar anticuerpos irregulares de importancia clínica y Fenotipos Eritrocitarios, para dar cumplimiento a la N/A NOM 253 SSA1-2012 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

2. Documentos Aplicables:

- FT-IS-BS-03- Solicitud de Hemocomponentes sala de operaciones
- FT-IS-BS-04- Solicitud de Hemocomponentes
- IT-IS-BS-30 Instrucción de Trabajo Prueba de Compatibilidad/Prueba Cruzada
- N/A NOM 253 SSA1-2012 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos
- N/A Manual de Resoluciones de Discrepancias ABO y de Rh/Pruebas Cruzadas Incompatibles
- N/A Sistema informático
- N/A Lista de Quirófanos
- N/A Manual del equipo automatizado (Erytra)
- N/A Manual del equipo automatizado (Wadiana)
- N/A Libro de eventos adversos del acto transfusional
- N/A Libreta de seguimiento a pruebas cruzadas incompatibles
- N/A Rastreo de Anticuerpos

	Elaboró	Revisó	Autorizó
COPIA NO CONTROLADA	QFB. Leticia Nogal Valadez  Químico Banco de Sangre	Dra. Esperanza Elizabeth Zuno Reyes  Jefe de Banco de Sangre	Dr. Santiago López Venegas  Jefe de la División de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS	Código: IT-IS-BS-33
		Página 2 de 10
		Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 02
DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIGNÓSTICO Y TRATAMIENTO		

3. Definiciones:

Aglutinación: Reacción caracterizada por agrupación de células o partículas resultante de la interacción entre antígenos y anticuerpos.

Anticuerpo: Inmunoglobulina resultante de una respuesta inmune o un antígeno propio o ajeno al individuo.

Auto-anticuerpo: Inmunoglobulina producido por el mismo individuo.

Antígeno: Sustancia capaz de estimular una respuesta inmune con la formación de anticuerpos.

Inmunoglobulina: Proteína presente en el plasma, de mayor peso molecular que la albúmina, que actúa como anticuerpo.

Inmunohematología: El estudio de los antígenos y anticuerpos de los grupos sanguíneos y problemas asociados.

Muestra: Alícuota de sangre, plasma, suero o de un producto extraído del conjunto por métodos que permitan considerarla como representativa del mismo, empleada para fines diagnóstico, comprobación o investigación, no utilizable para fines terapéuticos.

Reactivo de antiglobulina humana (Coombs directo): Producto empleado para la detección de globulinas humanas adheridas a los eritrocitos. El poliespecífico, también detecta actividad de complemento humano (C3d y C3b).

Prueba de coombs indirecto (Rastreo de anticuerpos): Análisis que permite detectar en suero o en plasma anticuerpos específicos contra algún antígeno de fenotipo conocido de la membrana del eritrocito, mediante el uso de anticuerpo contra la gamaglobulina humana (suero de coombs).

Prueba de Compatibilidad: estudio practicado in vitro, empleando muestras de sangre del donante y del receptor, para comprobar su afinidad inmunológica recíproca entre las células de uno y el suero del otro, para efectos transfusionales.

Eluido: Medio fluido que contiene anticuerpos que fueron separados deliberadamente de un antígeno celular.

4.0 Material y Equipo:

- Reactivo de antiglobulina humana (Suero Coombs) poliespecífico.
- Reactivo de anti-globulina humana (Suero Coombs) monoespecífico. Anti-IgG.
- Células control positivo (eritrocitos sensibilizados).
- Tarjetas de gel Coombs.
- Kit para eluido
- Solución salina isotónica
- Diluyente para suspensión (solución salina fisiológica tamponada)



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS
INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS
DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-IS-BS-33

Página 3 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

- Semipanel de 2 células con fenotipo conocido (I y II)
- Panel de 11 o 6 células con fenotipo conocido
- Tarjeta de Gel fenotipo Rh
- Sueros para fenotipo eritrocitario
- Equipo semiautomático para pruebas de hemoclasificación y hemocompatibilidad
- Incubador
- Centrifugas para tubo
- Centrifuga serológica
- Tubo de 12 x 75 mm
- Pipeta Pasteur
- Pipeta semiautomática de volumen variable (100-1,000 uL y 10-200 uL).
- Puntas desechables para pipeta semiautomática
- Gasas

5. Desarrollo:

No.	Responsables	Descripción de la Actividad						
5.1	Químico/TLC	<p>Recibe muestra de paciente para estudio de resolución de prueba cruzada incompatible y aquellos pacientes señalados en N/A Lista de Quirófanos</p> <p>Revisa que la muestra esté debidamente rotulada y coteja que los datos coincidan con FT-IS-BS-03- Solicitud de Hemocomponentes sala de operaciones/FT-IS-BS-04- Solicitud de Hemocomponentes con solicitud de Coombs Indirecto</p>						
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>¿Coinciden?</th> <th>Entonces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SI</td> <td>Inicia estudio de la muestra, pasa a 5.2</td> </tr> <tr> <td>NO</td> <td>Informa al área que deriva para su estudio y solicita corrección del error o en caso necesario nueva muestra.</td> </tr> </tbody> </table>	¿Coinciden?	Entonces	SI	Inicia estudio de la muestra, pasa a 5.2	NO	Informa al área que deriva para su estudio y solicita corrección del error o en caso necesario nueva muestra.
		¿Coinciden?	Entonces					
SI	Inicia estudio de la muestra, pasa a 5.2							
NO	Informa al área que deriva para su estudio y solicita corrección del error o en caso necesario nueva muestra.							



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS
INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS
DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-IS-BS-33

Página 4 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

5.2	Químico/TLC	<p>Identifica los goteros de los frascos de células conocidas I, como I, y células conocidas II, como II, para evitar confusiones y contaminación. Realiza Prueba de Coombs Indirecto (Rastreo de anticuerpos) , ver Anexo1</p>	
		Resultado	Entonces
		Negativo	<p>Registra en FT-IS-BS-03- Solicitud de Hemocomponentes sala de operaciones/FT-IS-BS-04- Solicitud de Hemocomponentes, N/A Bitácora Rastreo de Anticuerpos Irregulares y documentos aplicables según el caso (N/A Libro de eventos adversos del acto transfusional, N/A Libreta de seguimiento a pruebas cruzadas incompatibles, N/A Sistema Informático , N/A Lista de Quirófanos (Cuando aplique). Imprime reporte, N/A Rastreo de anticuerpos, y pone a disposición para el manejo del médico tratante.</p>
Positivo	<p>Solicita historia clínica completa del paciente con datos del tratamiento médico que esté recibiendo para identificar posibles causas de interferencia con la técnica, ver N/A Manual de Resoluciones de Discrepancias ABO y de Rh/Pruebas Cruzadas Incompatibles. Pasa a 5.3</p>		

***NOTA:** De primera instancia se realiza en Técnica en gel.



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS
INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS
DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

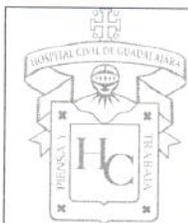
Código: IT-IS-BS-33

Página 5 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

5.3	Químico/TLC	Realiza panel de 11 células con fenotipo conocido, Ver Anexo 1	
		¿Identifico el Anticuerpo?	Entonces
		SI	Pasa a 5.6
		NO O INDETERMINADO	Realiza panel de 6 células Técnica en tubo y de ser necesario (En caso de 2 o más anticuerpos) realizarlo con diferentes potenciadores para la identificación (Ver Anexo 2 y 3), continua en 5.4
5.4	Químico/TLC	Revisa resultado de técnica en tubo:	
		¿Identifico el Anticuerpo?	Entonces
		SI	Pasa a 5.6
		NO O INDETERMINADO	Pasa a 5.5
5.5	Químico/TLC	Realiza técnica de eluido con muestra en estudio para identificación de anticuerpos irregulares. Ver inserto de reactivo utilizado. Realiza panel de 11 células con fenotipo conocido, Ver Anexo 1	
		¿Identifico el Anticuerpo?	Entonces
		SI	Pasa 5.6
		NO	Registra como "INDETERMINADO" en Registra en FT-IS-BS-03-Solicitud de Hemocomponentes sala de operaciones/FT-IS-BS-04- Solicitud de Hemocomponentes, N/A Bitácora Rastreo de Anticuerpos Irregulares y documentos aplicables según el caso (N/A Libro de eventos adversos del acto transfusional, N/A Libreta de seguimiento a pruebas cruzadas incompatibles, N/A Sistema Informático, N/A Lista de



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS
INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS
DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-IS-BS-33

Página 6 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

			Quirófanos (Cuando aplique). Imprime reporte N/A Rastreo de anticuerpos, y pone a disposición para el manejo del médico tratante. Anota nombre y firma de quien realiza las pruebas.
5.6	Químico/TLC	Fenotipa para corroborar la ausencia del antígeno responsable de la aloinmunización (Ver inserto de fabricante Tarjeta de gel Fenotipo Rh o inserto antisueros para fenotipos Eritrocitarios).	
		¿Carece del antígeno?	Entonces:
		SI	Registra en FT-IS-BS-03- Solicitud de Hemocomponentes sala de operaciones/FT-IS-BS-04- Solicitud de Hemocomponentes, N/A Bitácora Rastreo de Anticuerpos Irregulares y documentos aplicables según el caso (N/A Libro de eventos adversos del acto transfusional, N/A Libreta de seguimiento a pruebas cruzadas incompatibles, N/A Sistema Informático, N/A Lista de Quirófanos (Cuando aplique). Imprime reporte N/A Rastreo de anticuerpos, y pone a disposición para el manejo del médico tratante. Anota nombre y firma de quien realiza las pruebas.
NO	Investiga con la historia clínica del paciente, posibles causas de interferencia de medicamentos con la técnica utilizada.		

6. Anexos

Anexo 1 Métodos para prueba de Coombs indirecto (Rastreo de anticuerpos y/o Panel de 11 células) técnica en gel.



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-IS-BS-33

Página 7 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

Se puede realizar la determinación de Coombs Indirecto (Rastreo de anticuerpos o Panel de 11 células) en tarjetas de gel de manera manual (ver instrucciones de uso de las tarjetas de gel Coombs: Método manual Coombs Indirecto en el inserto) o en Equipo semi-automatizado ver N/A Manual del equipo automatizado que utiliza un proceso automático continuo e integrado con las siguientes funciones:

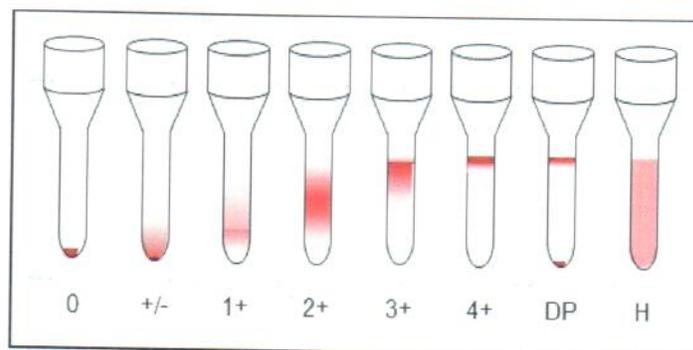
- Identificación de muestras y reactivos (identificar los goteros de la frascos Células I y Células II)
- Resuspensión de los eritrocitos, dilución y dispensación de muestras y reactivos.
- Incubación, centrifugación, lectura e interpretación de resultados.

Verifica y coteja resultados del Rastreo de anticuerpos con la carta de referencia del Semipanel en uso.

***NOTA: realizar panel de 11 células en caso de que el rastreo de anticuerpos sea positivo y cotejar resultados con la carta de referencia del panel en uso para la identificación del Anticuerpo.**

Lectura e interpretación de resultados:

Imagen en microtubo de tarjeta de Gel Coombs



Interpretación de resultados:

Negativo	0	Banda de hematíes en el fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados visibles
----------	---	---



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-IS-BS-33

Página 8 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

Positivo	+/-	Escasos aglutinados de pequeño tamaño en la mitad inferior de la columna.
	1+	Algunos aglutinados de pequeño tamaño en la columna.
	2+	Aglutinados de tamaño pequeño o mediano a lo largo de la columna.
	3+	Banda superior de aglutinados, de tamaño mediano en la mitad superior de la columna.
	4+	Banda de hematíes aglutinados en la parte superior de la columna.
DP		Doble población (Doble banda de hematíes, en el fondo y en la parte superior de la columna).
Positivo	H	Fuerte reacción Antígeno-Anticuerpo, se observa hemólisis en microtubo

Anexo 2. Rastreo de Anticuerpos Técnica en tubo

- Lavar 3 veces con solución salina los eritrocitos del panel de 6 células y del paciente
- Preparar suspensión al 5% de cada una de ellas
- Identificar una serie de tubos del 1-6 y un AT (Autocontrol) y proceder como se indica en la siguiente tabla:

TUBO	1	2	3	4	5	6	AT
SUSPENSIÓN DE ERITROCITOS PANEL	1 GOTAS	-					
SUERO O PLASMA DEL PACIENTE	2 GOTAS						
SUSPENSIÓN DE ERITROCITOS DEL PACIENTE	-	-	-	-	-	-	1 GOTAS

- Incubar a 37°C según el potenciador utilizado (Salina y Albumina 1 hora, LISS y enzimas 15 minutos)
- Mezclar y centrifugar a 3,400 rpm durante 20 segundos, en caso de que se utilizara albumina como potenciador, se Centrifugara por 40 segundos.
- Leer y registrar las aglutinaciones
- Lavar 3 veces con solución salina 3 minutos a 3500 rpm
- En el último lavado eliminar todo el sobrenadante.



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS
INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS
DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-IS-BS-33

Página 9 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

- Agregar una gota de reactivo suero de coombs
- Mezclar, centrifugar 20 segundos a 3500 rpm
- Leer y registrar resultados en el formato de Semipanel de acuerdo al orden de los tubos.

INTERPRETACION DE RESULTADOS:

¿AGLUTINA?	ENTONCES
SI	Positivo
NO	Negativo

- A todos los tubos con lecturas negativas agregar una gota de eritrocitos sensibilizados
- Mezclar y centrifugar 20 segundos a 3500 rpm
- Leer y registrar los resultados
- Deben aglutinar todos los tubos, en caso de no aglutinación se invalida la prueba y repetir la técnica.
- Cotejar resultado con la carta de referencia del panel utilizado e identificar el Anticuerpo presente.

NOTA: Cuando se desarrolla una técnica en tubo es muy importante tener en cuenta las posibles causas de error.

Anexo 3 Causas de error

Falsos negativos

- Suero de Coombs diluido, caducado o contaminado (desechar el vial) y realizar nuevamente las diluciones).
- Lavado de material por pH inadecuado del agua bidestilada.
- Muestras de sangre vieja o en condiciones inadecuadas de conservación.
- Lavado inadecuado de eritrocitos.
- Concentración inadecuada de eritrocitos.
- Mala centrifugación.
- No adicionar (el antisuero) eritrocitos correspondientes.
- No adicionar el reactivo de Coombs.



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PRUEBA DE COOMBS
INDIRECTO E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS
DIRIGIDOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-IS-BS-33

Página 10 de 10

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión Vigente: 02

Falsos positivos

- Muestras con roleaux o aglutinación espontánea.
- Material sucio por no eliminar partículas contaminantes o por restos de jabón líquido.
- Muestra contaminada con soluciones o medicamentos aplicados vía intravenosa.
- Muestras de neonatos lavados incorrectamente que contenga gelatina de Wharton.
- Mala centrifugación.

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
0	Abril del 2016	Alta del procedimiento
01	Julio de 2018	Mejoras en el procedimiento
02	Septiembre 2019	Revisión y actualización anual