

 <p>Gobierno de Chile</p> <p>SERVICIO SALUD AISEN HOSPITAL REGIONAL COYHAIQUE</p>	<p>PROCEDIMIENTO DETECCION DE ANTICUERPOS IRREGULARES</p> <p>UNIDAD DE BANCO DE SANGRE Y MEDICINA TRANSFUSIONAL</p> <p>DEPENDIENTE DE: SUBDPTO. APOYO DIAGNOSTICO Y TERAPEUTICO</p>	Código
		Edición: 03
		Fecha inicio Vigencia: 02/03/2023
		Páginas: 1 - 9
		Vigencia: 5 años

PROCEDIMIENTO PRUEBA DE ANTIGLOBULINA INDIRECTA

ELABORACION/ ACTUALIZACIÓN	REVISION	APROBACION
Carolina Llanquilef	Camila Barrientos S. Andrea Gómez C.	Paulina Arriagada Sandra Gálvez-
TM. Banco de Sangre	TM. Encargada Calidad Banco Sangre TM. Jefe (s) Banco de Sangre	OCSP
 Firma	 Firma	 Firma y timbre
Fecha: 27/02/2023	Fecha: 02/03/2023	Fecha: 06/03/2023

1. INDICE:

TITULO	Nº de pág
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	3
RESPONSABLES	3
ALCANCE	3
EXCEPCIONES	3
TERMINOLOGÍA	3
DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES DEL PROCESO	4
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
EVALUACIÓN	9
INDICADORES	9
ANEXOS	9



2. INTRODUCCIÓN:

La prueba de antiglobulina indirecta (PAI) permite la detección de anticuerpos irregulares adquiridos, ya sea por transfusión sanguínea o durante el embarazo. Estos anticuerpos (generalmente son de tipo IgG) se encuentran en el suero del paciente y producen hemólisis extravascular en el bazo o en el hígado mediante la fagocitosis del complejo eritrocito más anticuerpo.

3. OBJETIVOS:

- Estandarizar el procedimiento técnico para la detección de anticuerpos irregulares en columna de gel y en tubo.

4. RESPONSABLES:

RESPONSABLE	FUNCION
Jefe del Banco de Sangre	<ul style="list-style-type: none">• Evaluar y supervisar el procedimiento.
Tecnólogos Médicos Banco Sangre	<ul style="list-style-type: none">• Conocer, cumplir y aplicar el procedimiento.• Ejecución de la técnica.• Supervisión de las técnicas.
Técnicos Paramédicos	<ul style="list-style-type: none">• Conocer el procedimiento.• Colaborar en la ejecución de las técnicas.
Personal administrativo	<ul style="list-style-type: none">• Mantener registros en planillas Excel.

5. ALCANCE:

- Este procedimiento se aplicará a todas las muestras de pacientes que tengan solicitado este examen, en todos los donantes de sangre y en pruebas pre-transfusionales, cuando corresponda.

6. EXCEPCIONES: N/A

7. TERMINOLOGIA:

GR: glóbulos rojos.

TP: técnico paramédico

Screen-Cyte 0.8% Di^a, Grifols: GR panel I, II y III al 0.8%, para pesquisa de anticuerpos irregulares.

DG Gel Sol, Grifols: solución de baja fuerza iónica que se utiliza para la suspensión de los hematíes.

PAI: Prueba de Antiglobulina Indirecta. O también denominado Test de Coombs Indirecto.

Tarjetas DG Gel Coombs, Grifols: tarjeta de gel Coombs.

Soluciones de Lavado, Grifols: DG Fluids (Solución A y Solución B)

TM: tecnólogo médico

8. DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES DEL PROCESO:

8.1 CONSIDERACIONES GENERALES:

MUESTRA:

- Tubo tapa lila con anticoagulante EDTA, (adulto o pediátrico) que cumpla con el volumen requerido.

PREPARACION DE LA MUESTRA:

**Responsable: TP Inmunohematología
TM Inmunohematología y/o Turno**

- Recepcionar y verificar la identidad del paciente cotejando la solicitud de examen con la muestra de sangre correspondiente. (Referirse a Manual de toma de muestras de banco de sangre vigente).
- Enumerar las muestras y la solicitud de examen en orden correlativo.
- Centrifugar las muestras a 3000 rpm por 5 minutos.
- Ingresar solicitud de examen en el sistema informático del Banco de Sangre, imprimir etiquetas para identificar:
 - ✓ Tubo de muestra.
 - ✓ Solicitud de examen.
 - ✓ Paciente en Libro Inmunohematología Adulto o Grupo Donantes, según corresponda.



8.2 DETECCION DE ANTICUERPOS IRREGULARES AUTOMATIZADA EN COLUMNA DE GEL.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Equipo Erytra Eflexis.
- DG Gel Sol.
- Tarjetas DG Gel Coombs.
- Screen-Cyte Dia 0.8%, Grifols.
- Soluciones de Lavado DG Fluids (Solución A y Solución B).

PROCEDIMIENTO:

Responsable: TM Inmunohematología y/o turno

- Dejar muestras y reactivos a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usar.
- Verificar estado de reactivos, tarjetas y soluciones en el equipo. Rellenar en caso de ser necesario.
- Verificar que todos los tubos de muestra estén identificados con su etiqueta correspondiente.
- Cargar muestras, en orden correlativo, en rack de muestras.
- Seleccionar exámenes a realizar por muestra, en Hoja y seleccionar:
 - ✓ 02 COOMBS IND
- Iniciar procesamiento de muestras.

LECTURA DE RESULTADOS:

- ✓ **Resultado negativo**, registrar en libro correspondiente y transmitir a sistema informático del Banco de Sangre, validar e informar.
- ✓ **Resultado positivo**, realizar identificación y titulación de anticuerpos irregulares, registrar en libro correspondiente y en sistema informático del banco de sangre, validar e informar.

8.3 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES MANUAL EN COLUMNA DE GEL.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Gradilla de trabajo.
- Tarjetas DG Gel Coombs.
- DG Gel Sol.
- Screen-Cyte 0.8% Di^a, Grifols.
- Micropipeta 10 -100 ul.
- Puntas de pipeta desechables.
- Incubador termorregulado para tarjetas DG gel, DGTherm Grifols.
- Centrífuga para tarjetas de gel, DG Spin Grifols.
- Caja de luz.

PROCEDIMIENTO:

Responsable: TM Inmunohematología y/o turno

- Depositar una gota (50µl) de cada vial de **Screen-Cyte 0.8% Di^a** en el microtubo correspondiente, previamente identificado en la tarjeta DG Gel Coombs.
- Agregar 25µl de plasma del paciente a cada pocillo.
- Incubar durante 15 minutos a 37°C en el incubador Grifols.
- Centrifugar la tarjeta DG Gel Coombs durante 9 minutos en la centrifuga Grifols.
- Leer sobre caja de luz.

LECTURA DE RESULTADOS:

- Las muestras positivas se presentan con una línea roja en la superficie del gel (4+) o dispersas a través del pocillo (3+ a 1+).
- Las muestras negativas forman un botón compacto en el fondo del pocillo

INTERPRETACION DE RESULTADOS:

- Resultado negativo, registrar en libro correspondiente y en sistema informático del Banco de Sangre, validar e informar.
- Resultado positivo, realizar identificación y titulación de anticuerpos irregulares, registrar en libro correspondiente y en sistema informático del banco de sangre, validar e informar.
- Guardar las tarjetas de gel como respaldo por 3 días.

8.4 DETECCION DE ANTICUERPOS IRREGULARES EN TUBO

Esta técnica se realizará cuando no se disponga de tarjetas de columna de gel.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras.
- Gradilla para tubos.
- Tubos de Khan de vidrio.
- Suero de Coombs.
- Screen-Cyte 0.8% Di^a, Grifols.
- Pipetas de plástico con bulbo.
- Centrífuga de inmunohematología.
- DG Gel Sol.
- PBS.
- Baño termorregulado.

PROCEDIMIENTO:

Responsables: TM Inmunohematología y/o turno

- TP encargado debe rotular 3 tubos (I, II y III) e identificar con el número de la muestra:

Tubo 1: 1 gota de Panel 1 + 2 gotas de plasma del paciente/donante

Tubo 2: 1 gota de Panel 2 + 2 gotas de plasma del paciente/donante
Tubo 3: 1 gota de Panel 3 + 2 gotas de plasma del paciente/donante

- Centrifugar todos los tubos por 10 segundos a 3000 rpm. En esta primera etapa, la reacción de los tubos para detección de Anticuerpos Irregulares, corresponde a fase en medio de reacción SALINO.
- Leer sobre caja de luz, agitando los tubos suavemente, en busca de aglutinación y/o hemólisis.
- Registrar los resultados en el libro correspondiente.
- Incubar los tubos por 15 minutos a 37°C en Incubador termorregulado DGTherm Grifols.
- Centrifugar a 3000 rpm por 10 segundos y leer. Si su lectura es negativa, los tres tubos se lavan 3 veces con PBS.
- Agregar a cada tubo 2 gotas de suero Coombs, centrifugar a 3000 rpm por 10 segundos y leer. Esta reacción corresponde a fase en medio de COOMBS.
- Registrar los resultados en libro y en sistema informático, indicando técnica en tubo
- Validar e informar resultados.

LECTURA DE LOS RESULTADOS:

INTENSIDAD DE REACCIÓN (CRUCES)	ASPECTO
4+ (++++)	Botón (aglutinado) único. Fondo claro. Ausencia de células libres.
3+ (+++)	Presencia de aglutinados grandes. Fondo claro. Sin células libres.
2+ (++)	Muchos Aglutinados de tamaño medio. Fondo claro, Sin células libres.
1+ (+)	Muchos aglutinados pequeños. Fondo turbio por células libres.
(+/-)	Aglutinación apenas visible. Pocos aglutinados macroscópicos, pero numerosos aglutinados microscópicos. Fondo turbio por células libres
0 (-)	Ausencia de aglutinación.

INTERPRETACION DE RESULTADOS:

- **Reacción positiva**, Presencia de aglutinación y/o o hemólisis en cualquiera de las fases. Realizar identificación y titulación de anticuerpos irregulares.
- **Reacción negativa**, Ausencia de aglutinación. Controle la técnica agregando a los tubos 1 gota de células control. Centrifugar y leer.

PRECAUCIONES EN EL DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE PAI EN TUBO.

A) FALSOS POSITIVOS:

- ✓ Presencia de polvo o partículas en los tubos (mal lavados).
- ✓ Presencia de sustancias en el salino que aglutinen los GR en forma inespecífica (sílica, coloides, iones metálicos).
- ✓ Contaminación cruzada de un tubo a otro.

B) FALSOS NEGATIVOS:

- ✓ No se agrega suero de Coombs (cuando se realizan muchos test).
- ✓ Reactivo de Coombs inactivo por conservación inadecuada, contaminado o vencido.
- ✓ Coágulos de fibrina, estos exudan suero e inactivan el SAGH.
- ✓ Tiempo de incubación o temperatura de incubación inadecuada.

OBSERVACIONES:

- El DG Gel Sol, los GR suspendidos en DG Gel Sol y el suero de Coombs deben estar a temperatura ambiente del laboratorio antes de su uso.
- Si se sospecha la presencia de Crioaglutininas ponga el suero del paciente y la suspensión de GR al 3% en DG Gel Sol a 37°C por unos minutos antes de usar.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios, ISP diciembre 2014.
- Inserto tarjetas DG Gel Coombs, Grifols.
- Inserto Screen-Cyte 0.8% Di^a, Grifols.
- Manual Técnico Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, AABB, 13^a edición, 2001.

10. EVALUACION: NA

11. INDICADORES. NA

12. ANEXOS: NA