

UTILIDAD DIAGNOSTICA DEL COOMBS DIRECTO EN HEMATOPATOLOGÍAS

Leidy Alejandra Toro Espinosa. Asesora técnica científica DIAMED/BIORAD. Docente Universitaria – Investigadora grupo HEMO.

En 1945, Coombs, Mourant y Race describieron una técnica para poner en manifiesto la presencia de anticuerpos (acs) no aglutinantes IgG en el suero de los pacientes. Esta técnica, inicialmente conocida como técnica o prueba de la antiglobulina y con el paso de los años como técnica de Coombs, sigue siendo uno de los recursos más importantes, si no el que más, para el diagnóstico inmunohematológico de una serie de procesos clínicos de naturaleza inmune. (1)

Los acs de clase IgM, cuentan con una estructura pentamérica que les permite aglutinar directamente a los hematíes y activar eficientemente el complemento por la vía clásica sin ser necesario un método potenciador para ello. Los acs de clase IgG reaccionan con los hematíes sin llegar a aglutinarlos siendo necesario potenciar las reacciones con el reactivo conocido como suero antiglobulina el cual contiene una anti inmunoglobulina humana IgG que se une a la porción Fc de las inmunoglobulinas IgG estableciendo una conexión entre los diferentes acs IgG fijados a los hematíes, permitiendo la aparición de la aglutinación deseada, lo que confirma la presencia de acs IgG. (2)

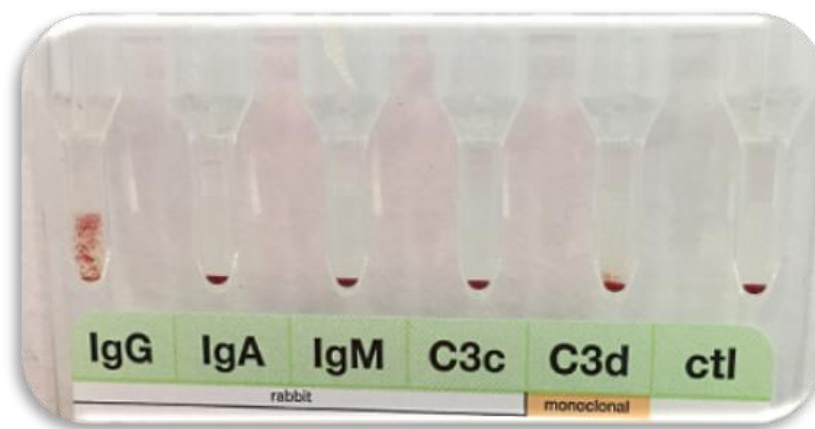
La prueba directa de la antiglobulina o prueba de **Coombs directo** fue concebida para demostrar la presencia de acs IgG o de fracciones del sistema complemento fijadas in vivo a los hematíes del paciente en diversas situaciones clínicas, tales como la anemia hemolítica autoinmune (AHAI), la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, las reacciones transfusionales y las anemias hemolíticas inducidas por fármacos. En este caso, la técnica no requiere de una fase de incubación puesto que los hematíes a examinar ya están sensibilizados in vivo. Las muestras de sangre extraídas sobre EDTA son las más adecuadas, ya que el EDTA previene la fijación in vitro de complemento a través de la acción quelante ejercida sobre el calcio, cuya intervención es necesaria para la activación de la fracción C1 del complemento. (1-8)

La obtención de un resultado positivo con el reactivo poliespecífico (anti IgG + C3) conduce a la repetición de la prueba con los reactivos mono-específicos (imagen 1) para conocer la naturaleza exacta de las moléculas fijadas a los hematíes examinados. Aunque no existe unanimidad se cree que el mínimo número de moléculas de IgG por hematíe que puede ser detectado por el reactivo antiglobulina es de alrededor de 100 a 200 moléculas, dependiendo en parte del tipo de IgG implicada y de la potencia del suero antiglobulina empleado. (2) Existe una cierta relación entre el número de moléculas de IgG fijadas a los hematíes y la intensidad de la reacción. Petz y Garratty (3) estimaron que la presencia de entre 25 y 120 moléculas IgG/hematíe suele conllevar un resultado negativo; con más de 200 moléculas se obtiene un resultado positivo con una intensidad de 1+; entre 300 y 500 de 2+; y con más de 500 suele ser de 3+ ó 4+. Las reacciones débiles (inferiores a 1+) se obtienen con un rango de entre 120 y 200 moléculas de IgG fijadas. En los casos en que la prueba es positiva para IgG y complemento debe excluirse una autoaglutinación espontánea de los hematíes incubando

éstos con un control salino. (3) La ausencia de aglutinación con este control asegura una interpretación correcta del resultado positivo obtenido y, por el contrario, si los hematíes son aglutinados con este control, el resultado previo queda invalidado y cabe pensar que la aglutinación de los hematíes del paciente viene producida por una fijación extrema de Igs de clase IgG o, más raramente, por Igs de clase IgM reactivas a 37°C o por autoaglutininas frías IgM que no se han disociado durante los lavados. La determinación de la prueba directa de la antiglobulina es un elemento fundamental para el diagnóstico de la AHA. El valor predictivo positivo es de un 83% en un paciente afecto de anemia hemolítica, y sólo de un 1.4% si el paciente no presenta anemia hemolítica. (4-5)

Interpretación del Coombs directo fraccionado:

Imagen 1: Coombs directo fraccionado mono específico.



- **Positividad en clase IgM:** Síndrome de aglutininas frías primario o secundario vs anemia hemolítica inducida por drogas. En estos casos las fracciones del complemento podrían estar o no dependiendo del tiempo de hemólisis, si las fracciones han sido consumidas en su totalidad o la respuesta inmune del paciente no es lo suficientemente eficaz para su activación. (8)
- **Positividad en clase IgG sola o acompañada de complemento:** Anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos reactivos en caliente, reacción hemolítica transfusional, anemia hemolítica del recién nacido, anemia hemolítica inducida por drogas. (7)
- **Positividad en fracciones de complemento:** Anemia hemolítica inducida por drogas, síndrome de aglutininas frías, soluciones endovenosas o transfusión. (8)
- **Positividad en IgM + IgG con o sin complemento:** anemia hemolítica mixta primaria o secundaria a Lupus Eritematoso Sistémico, Linfoma entre otros. (7)
- **Positividad en clase IgA:** Significado clínico incierto. Secundario a recambio bacteriano intestinal. (8)

Fuentes de error durante el montaje de pruebas:

Material de montaje sucio, diluyente contaminado, diluciones en la concentración inadecuada, deterioro del reactivo, errores de lectura y empleo de reactivos vencidos.

BIBLIOGRAFIA:

1. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and « incomplete » Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol* 1945; 26: 255-256.
2. Garratty G. The significance of IgG on the red cell surface. *Transfus Med rev* 1987; 1: 47-57.
3. Petz LD, Garratty G. *Immune haemolytic anemias*. "3rd edition. Philadelphia: Churchill-Livingstone, 2004.
4. Mayer B, Yürek S, Kiesewetter H and Salama A. Mixed-type autoimmune hemolytic anemia: differential diagnosis and a critical review of reported cases. *Transfusion* 2008; 48: 2229-2234.
5. Garratty G. Immune haemolytic anemia associated with negative routine serology. *Semin Hematol* 2005; 42: 156-164.
6. Sachs U, Roder L, Santoso S and Bein G. Does a negative direct antiglobulin test exclude warm autoimmune haemolytic anaemia? A prospective study of 504 cases. *British Journal of Haematology* 2006; 132: 651–661.
7. Packaman C. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. *El Sievier*. 2008, 22, 17-31.
8. American Association of blood banks. *Manual Técnico AABB*. 15 edición. 2007.