

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.035 – Página 1/6	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: COOMBS DIRETO E INDIRETO	Emissão: 30/07/2026	Próxima revisão: 30/07/2028
		Versão: 03	

1. OBJETIVOS

- Descrever a técnica empregada na UACAP para a realização de coombs direto (CD) e indireto (CI).

2. MATERIAL

- Amostra de sangue em tubo EDTA e soro;
- Centrífuga para amostras;
- Centrífuga para cartões (DG Spin);
- Incubadora de cartões (DG Therm);
- Leitora de cartões (DG Reader);
- Pipetas automáticas de 10µl, 25 µl, 50µl e 1ml;
- Ponteiras;
- Tubos de acrílico para suspensões;
- Cartão DG Gel Coombs;
- Solução de baixa força iônica (DG Gel Sol);
- Hemácias para investigação/identificação de anticorpos irregulares (Serascan Diana 1 e 2 e Serascan Diana Di^a).

3. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Os exames de CD e CI são realizados diariamente em duas rotinas, no período matutino após as 11:00 (todas as amostras que entraram após as 18:00 do dia anterior) e no período vespertino entre 16:00 e 17:00.

3.1. Coleta e processamento da amostra

1º Coletar a amostra de sangue em tubos com anticoagulante EDTA (tampa roxa), conforme protocolo de coleta de amostras (PRT.UACAP.002). O exame de coombs indireto pode ser realizado em amostra de soro (tampa amarela);

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.035 – Página 2/6	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: COOMBS DIRETO E INDIRETO	Emissão: 30/07/2026	Próxima revisão: 30/07/2028
		Versão: 03	

2º Cadastrar o exame no sistema laboratorial e etiquetar a amostra (POP.UACAP.057- Cadastro de amostras);

3º Centrifugar o tubo de sangue com EDTA durante 5 minutos a 3400 rpm. Não devem ser utilizadas amostras hemolisadas, turvas ou com presença de coágulos. O tubo de soro deve ser centrifugado por 10 minutos;

4º Encaminhar a amostra junto da lista de pendência dos exames ao setor de imunologia (POP.UACAP.059 – Emissão de lista de pendência).

- Observações:

- Quando o CD e CI são realizados na mesma amostra de hemograma é necessário confirmar no setor da hematologia se a amostra já foi processada e se tem resultado liberado antes de centrifugá-la.
- Amostras guardadas sob refrigeração (2-8 °C) podem ser utilizadas para o exame até 48 horas após a coleta.

3.2. Procedimento dos testes

3.2.1. Coombs direto

- 1º Deixar as amostras e os reagentes atingirem temperatura ambiente (18-25 °C);
- 2º Inspeccionar o estado dos cartões (não utilizar Cartões DG Gel Coombs que estejam com o lacre de alumínio danificado, que tenham sinais de ressecamento, bolhas de ar no gel, gotas de gel ou sobrenadante na parte superior do microtubo) e centrifugá-los por 9 minutos;
- 3º Identificar tubos de acrílico e os cartões a serem utilizados com o número do paciente;
- 4º Preparar a suspensão de hemácias a 1% (pipetar 1 ml de DG Gel Sol e 10 µl de concentrado de hemácias no tubo de suspensão) e homogeneizar;
- 5º Retirar com cuidado o lacre de alumínio do microtubo a ser utilizado, mantendo o cartão na posição vertical;
- 6º Pipetar 50 µl da suspensão de hemácias a 1% nos microtubos identificados;
- 7º Centrifugar o cartão DG gel Coombs por 9 minutos na centrífuga DG Spin;
- 8º Realizar a leitura.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.035 – Página 3/6	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: COOMBS DIRETO E INDIRETO	Emissão: 30/07/2026	Próxima revisão: 30/07/2028
		Versão: 03	

3.2.1. Coombs Indireto

- 1º Deixar as amostras e os reagentes atingirem temperatura ambiente (18-25 °C);
- 2º Inspeccionar o estado dos cartões (não utilizar Cartões DG Gel Coombs que estejam com o lacre de alumínio danificado, que tenham sinais de ressecamento, bolhas de ar no gel, gotas de gel ou sobrenadante na parte superior do microtubo) e centrifugá-los por 9 minutos;
- 3º Identificar três microtubos da placa DG Gel Coombs como 1, 2 e Di^a para cada paciente;
- 4º Homogeneizar os frascos de hemácias Serascan Diana 1, 2 e Di^a e dispensar nos microtubos identificados 50 µl (1 gota);
- 5º **OBS:** É importante SEMPRE pipetar as hemácias antes do soro ou plasma.
- 6º Adicionar 25 µl de soro ou plasma do paciente em cada microtubo;
- 7º Incubar a 37°C por 15 minutos;
- 8º Centrifugar durante 9 minutos na centrífuga DG Spin;
- 9º Realizar a leitura.

3.2.2.1. Titulação de Coombs Indireto

A titulação de anticorpos tem por finalidade a determinação do título de anticorpo em um determinado soro ou plasma e consiste em uma serie de diluições duplas colocadas em contato com hemácias portadoras do antígeno correspondente.

O título do paciente é representado pela maior diluição onde se obteve a reação de aglutinação 1+.

- 1º Deixar as amostras e os reagentes atingirem temperatura ambiente (18-25 °C);
- 2º Inspeccionar o estado dos cartões (não utilizar Cartões DG Gel Coombs que estejam com o lacre de alumínio danificado, que tenham sinais de ressecamento, bolhas de ar no gel, gotas de gel ou sobrenadante na parte superior do microtubo) e centrifugá-los por 9 minutos.
- 3º Realizar as diluições do soro ou plasma do paciente utilizando DG gel sol (100 µl de DG gel sol e 100 µl de soro/plasma ou amostra de diluição anterior): 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 e 1:2048;
- 4º Identificar um microtubos do cartão DG Gel Coombs para cada diluição (realizar o teste com as hemácias que deram positivas no teste Coombs Indireto);

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.035 – Página 4/6	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: COOMBS DIRETO E INDIRETO	Emissão: 30/07/2026	Próxima revisão: 30/07/2028
		Versão: 03	

- 5º Homogeneizar os frascos de hemácias Serascan Diana 1, 2 e Diª e dispensar nos microtubos identificados 50 µl (1 gota);
- 6º Adicionar 25 µl de soro ou plasma correspondente a cada diluição, trocando a ponteira de um microtubo para o outro;
- 7º Incubar à 37°C por 15 minutos;
- 8º Centrifugar durante 9 minutos na centrífuga DG Spin;
- 9º Realizar a leitura manualmente ou por equipamento de leitura automatizada (DG Reader);

3.3. Leitura dos resultados automatizada (DG Reader)

- 1º. Clique no botão Criação Manual de Série  da janela Diana R, para selecionar um teste a ser lido. Os testes disponíveis serão exibidos na janela “Grelhas Definidas”.
- 2º. Selecionar o teste a ser lido (Coombs direto.pln ou Coombs Indireto.pln) e clicar no botão OK. Uma janela “Modificação de resultados” exibirá o cartão DG gel Coombs a ser lido;
- 3º. Encaixar o cartão no suporte de cartões com o código de barras virado para trás e a identificação do paciente para frente;
- 4º. Fechar o suporte de cartões deslizando-o para a esquerda;
- 5º. Na janela “Introduzir identificação da amostra”, que abrirá automaticamente após o fechamento do suporte de cartões, realizar a leitura do código de barras do paciente e clicar em OK;

3.4. Envio de Resultados da leitora automatizada (DG Reader)

- 1º. No software Diana O. Clicar no ícone de relatório “Resultados por amostra” .
- 2º. Selecionar o número de cadastro da amostra inicial e o da amostra final que você deseja enviar para o sistema (SIL);
- 3º. Selecionar o tipo de análise em “Grelha a utilizar” e clicar em OK;
- 4º. Abrirá uma janela com as fotos e leituras dos pacientes selecionados. Clicar em  “Enviar a Host” e em seguida clicar em “Enviar a host”.
- 5º. Os resultados serão enviados para o sistema SIL;

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.035 – Página 5/6	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: COOMBS DIRETO E INDIRETO	Emissão: 30/07/2026	Próxima revisão: 30/07/2028
		Versão: 03	

3.5. Leitura manual dos resultados

Resultados são considerados positivos quando as células aglutinam formando uma linha na superfície do gel ou dispersas ao longo do gel e negativos quando formam um botão compacto de células no fundo do microtubo, de acordo com o Quadro 1.

Recomenda-se a leitura imediata dos resultados após a centrifugação dos cartões, se necessário a leitura pode ser realizada até 24 horas após o processamento, porém os cartões devem ser mantidos na posição vertical, refrigerados (2-8 °C) e vedados.

Quadro 1 – Interpretação de Resultados

Negativo	-	Faixa de glóbulos vermelhos no fundo e na parte restante da coluna sem aglutinações visíveis.
Positivo	+/-	Escassas aglutinações de tamanho pequeno na metade inferior da coluna.
	1+	Algumas aglutinações de tamanho pequeno na coluna.
	2+	Aglutinações de tamanho pequeno ou mediano na extensão da coluna.
	3+	Faixa superior de aglutinações de tamanho médio na metade superior da coluna.
	4+	Faixa de glóbulos vermelhos aglutinados na parte superior da coluna.
DP (Dupla população)		Faixa dupla de glóbulos vermelhos, no fundo e na parte superior da coluna.

Fonte: GRIFOLS. Bula.

3.4. Limitações

- A presença de alguns medicamentos, soluções de dextranos, restos de gel de silicone do tubo de extração da amostra, podem induzir um resultado positivo no Coombs direto.
- Ao utilizar o plasma, não é possível detectar as reações hemolíticas dependentes do complemento.
- Restos de fibrina podem reter os glóbulos vermelhos não aglutinados, aparecendo uma capa rosada no alto do gel.
- A presença de elevadas concentrações de imunoglobulinas ou outras proteínas séricas na amostra pode neutralizar a antiglobulina humana polivalente inclusive após múltiplas lavagens.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.035 – Página 6/6	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: COOMBS DIRETO E INDIRETO	Emissão: 30/07/2026	Próxima revisão: 30/07/2028
		Versão: 03	

3.5. Liberação dos resultados

Os resultados são inseridos no sistema de interfaceamento laboratorial e deverão ser liberados após conferência por profissional de nível superior habilitado.

4. REFERÊNCIAS

GRIFOLS. **Bula - Bula DG Gel Coombs**. Diagnostic Grifols S.A: Espanha.

GRIFOLS. **Guia rápido para utilização de DG gel® card**. Diagnostic Grifols S.A: Espanha.

GRIFOLS. **Guia rápido DG reader**. Diagnostic Grifols S.A: Espanha

5. HISTÓRICO DE REVISÃO

VERSÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO
01	01/07/2021	Elaboração do POP
02	28/09/2023	Revisão do POP
03	30/01/2026	Revisão do POP

Elaboração Andressa Leite Ferraz de Melo Janaina Narcizo Rodrigues	Data: 01/07/2021
Revisão 2ª versão: Janaina Narcizo Rodrigues e Letícia Ayran Medina Yabunaka 3ª versão: Janaina Narcizo Rodrigues e Lucas Rodrigues Tomaz de Souza	Data: 28/09/2023 Data: 30/01/2026
Validação Fuad Fayez Mahmoud – STGQ	Data: 29/07/2026
Aprovação: Viviane Regina Noro – Chefe da UACAP Tiago Amador Correia – Gerente de Atenção à Saúde	Data: 22/06/2026 Data:30/07/2026

Assinado eletronicamente no processo SEI nº 23529.014068/2023-17.