



Gobierno de Chile

SERVICIO SALUD AYSÉN  
HOSPITAL REGIONAL  
COYHAIQUE

**PROCEDIMIENTO  
DETERMINACIÓN DE GRUPO  
SANGUÍNEO ABO-RhD CON PRUEBA  
REVERSA Y ANTICUERPOS  
IRREGULARES**

**UNIDAD DE BANCO DE SANGRE Y  
MEDICINA TRANSFUSIONAL**

**DEPENDIENTE DE: SUBDIRECCIÓN  
MÉDICA**

**Código:**

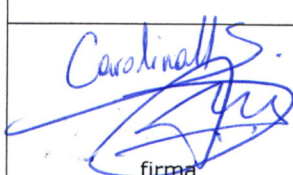
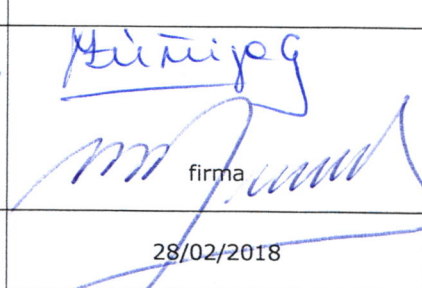
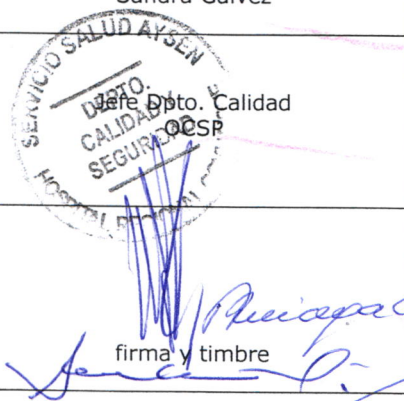
**Edición: 02**

**Fecha inicio  
vigencia:  
01/03/2018**

**Páginas: 1 - 13**

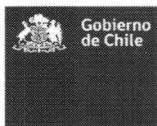
**Vigencia: 5 años**

# PROCEDIMIENTO DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO ABO-RhD CON PRUEBA REVERSA Y DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

ELABORACION	REVISION	APROBACION
Carolina LLanquilef Jaime Segura	Marta Zúñiga Walter Ramírez	Oswaldo Abarca Paulina Arriagada Sandra Gálvez
TM. Banco de Sangre TM. Banco de Sangre	TM. Encargada de Calidad TM. Jefe de Banco de Sangre	Jefe Dpto. Calidad OCSP
 firma	 firma	 firma y timbre
26/02/2018	28/02/2018	01/03/2018

**1. INDICE:**

<b>TITULO</b>	<b>Nº de pág.</b>
Introducción	03
Objetivos	03
Responsables	03
Alcance	03
Excepciones	03
Terminología	04
Descripción de las Actividades del Proceso	05
Referencias Bibliográficas	13
Evaluación	13
Indicadores	13
Anexos	13



## **2. INTRODUCCIÓN:**

El fenotipo ABO y Rh (D) de un individuo adulto es determinado por la aglutinación de sus glóbulos rojos en la presencia de suero Anti A, suero Anti B, suero Anti AB y Anti D (Rh), en tanto que la confirmación del grupo ABO (prueba inversa) se realiza haciendo reaccionar el suero del individuo con una suspensión de glóbulos rojos A<sub>1</sub> y B.

## **3. OBJETIVOS:**

- Estandarizar el procedimiento técnico para la determinación de grupo sanguíneo ABO-RhD con detección de Anticuerpos irregulares de importancia clínica.
- Detectar aloanticuerpos en forma rutinaria en pacientes que se les solicita dicho examen, en donantes de sangre y/o estudio pre transfusional.

## **4. RESPONSABLES:**

<b>RESPONSABLE</b>	<b>FUNCION</b>
Jefe del Banco de Sangre	<ul style="list-style-type: none"><li>• Evaluar y supervisar el procedimiento.</li></ul>
Tecnólogos Médicos Banco Sangre	<ul style="list-style-type: none"><li>• Conocer, cumplir y aplicar el procedimiento.</li><li>• Ejecutar técnicas.</li><li>• Supervisión de las técnicas.</li></ul>
Técnicos Paramédicos	<ul style="list-style-type: none"><li>• Conocer en el procedimiento.</li><li>• Colaborar en la ejecución de las técnicas.</li><li>• Clasificación primaria de donantes (CPD) y reclasificación de pacientes.</li></ul>
Personal administrativo	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mantener registros en Planillas.</li></ul>

## **5. ALCANCE:**

- Se aplicará a todas las muestras con solicitud de clasificación de grupo Sanguíneo ABO-RhD, en donantes de sangre y en pruebas pretransfusionales.

## **6. EXCEPCIONES: N/A**

## **7. TERMINOLOGIA:**

**GR:** glóbulos rojos.

**CPD:** clasificación primaria de donantes.

**CGR:** concentrado de glóbulos rojos.



**PBS:** buffer fosfato salino.

**TM:** Tecnólogo Médico.

**TP:** Técnico Paramédico.

**HRC:** Hospital Regional Coyhaique.

**UMT:** Unidad de Medicina Transfusional.

**ISP:** Instituto de Salud Pública de Chile.

**Equipo Wadiana de Grifols:** analizador automatizado para inmunohematología.

**Tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D), Grifols:** tarjetas de gel para determinación de grupo sanguíneo ABO-RhD con determinación de grupo sérico.

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

**Serigrup Diana A<sub>1</sub>/B, Grifols:** GR testigos A<sub>1</sub> y B al 0.8%

**Serascan Diana 2, Grifols:** GR panel I y II al 0.8%, para pesquisa de anticuerpos irregulares.

**Serascan Diana Diego Di<sup>a</sup>, Grifols:** GR 0.8% para pesquisa de anticuerpos irregulares, presenta el determinante antigénico más significativo de Diego.

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

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

## 8. DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES DEL PROCESO:

### 8.1 DETERMINACIÓN AUTOMATIZADA DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD EN COLUMNA DE GEL CON PRUEBA REVERSA Y DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES.

Es la técnica de rutina, se utilizará en:

- Todas las muestras con solicitud de clasificación de grupo sanguíneo ABO-RhD.
- Clasificación del donante de sangre.
- Pruebas pre transfusionales.

#### MUESTRA:

- 5 cc.de sangre con anticoagulante (EDTA), tubo tapa lila.
- Pacientes pediátricos 1 cc de sangre con anticoagulante (EDTA), tubo tapa lila pediátrico, traspasar muestra a un tubo de khan.
- Criterios de rechazo de muestra: muestra hemolizada, turbias, contaminadas o con presencia de coágulos, muestra mal rotulada, tubo con derrame exterior.



**SERVICIO SALUD AISEN  
HOSPITAL REGIONAL  
COYHAIQUE**

### **MATERIALES:**

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Equipo Wadiana de Grifols.
- Tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D).
- Tarjetas DG Gel Coombs.
- Serigrup Diana A<sub>1</sub>/B.
- Serascan Diana 2.
- Serascan Diana Di<sup>a</sup>.
- DG Gel Sol.
- Soluciones de Lavado DG Fluids (Solución A y Solución B).
- Gradilla de trabajo.




### **PREPARACION DE LA MUESTRA:**

**Responsable: TP Inmunoematología  
TM Turno**

- Recepcionar y verificar la identidad del paciente cotejando la solicitud de examen con la muestra de sangre correspondiente.
- Enumerar las muestras y solicitud de examen en orden correlativo.
- Centrifugar las muestras a 3000 rpm por 5 minutos.
- Ingresar solicitud de examen en el sistema informático e-Delphyn del Banco de Sangre, imprimir etiquetas para identificar:
  - ✓ Tubo de muestra.
  - ✓ Solicitud de examen.
  - ✓ Paciente en Libro Grupo Sanguíneo Adultos o libro Exámenes de Turno, según corresponda.
- Las muestras de donantes se identifican con el número de donación y se registran en el sistema informático e-Delphyn del Banco de Sangre y en el libro Grupos Donantes (etiqueta N° donación) al momento de la extracción.
- Preparar la gradilla de trabajo de trabajo:
  - ✓ **Determinación de grupo ABO-RhD:** numerar para cada muestra una tarjeta **DG Gel ABO/Rh (2D)**, en ésta además registrar la fecha.
  - ✓ **Detección de anticuerpos irregulares:** para cada muestra identificar en la tarjeta **DG Gel Coombs, 3 microtubos con I, II y Di<sup>a</sup>**, número de la muestra y fecha.
- Ingresar la prestación en módulo ATACERRA o RECAUDACIÓN, según corresponda.

## PROCEDIMIENTO:

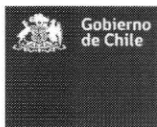
**Responsable: TM. Inmunohematología.  
TM. Turno**

1. Dejar atemperar (18-25 °C) muestras y reactivos antes de usar.
2. Abrir puerta del equipo Wadiana, seleccionando icono  en programa "Wadiana C" ubicado en la parte superior de la pantalla del monitor.
3. Cargar reactivos en carrusel de reactivos, según secuencia en hoja de trabajo.
4. Verificar que todos los tubos de muestra estén identificados con su etiqueta correspondiente.
5. Cargar muestras, en orden correlativo, en el carrusel de muestra.
6. Colocar tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D) en incubador a 24°C, según cantidad de muestras a analizar.
7. Colocar tarjetas DG Gel Coombs en incubador a 37°C. Considerar tres pocillos por cada muestra.
8. Cerrar suavemente la puerta del equipo, dirigirse a módulo Wadiana C, seleccionar icono  para abrir hoja de trabajo.
9. Seleccionar exámen a realizar por muestra, en botón "**Identificar**", ir a **Hoja** y seleccionar:
  - ✓ 01 I,II+ Di<sup>a</sup>
  - ✓ 02 ABO/RH (2D) Group
10. Iniciar procesamiento de muestras seleccionando icono .
11. Revisar resultados y registrar.
12. Transmitir resultados al sistema informático e-Delphyn.
13. Validar e informar.

## NOTA:

- El control (ctl) siempre debe mostrar una reacción negativa. Si el ctl da positivo, la prueba no es válida y se indica repetir previo lavado de la muestra con PBS.
- Se deben comprobar las reacciones negativas con el reactivo anti D, utilizando otros reactivos y técnicas capaces de detectar diferentes variantes del antígeno D (ver Procedimiento Detección D variantes).
- En caso de obtener resultados discordantes en los microtubos D y D' debe interpretarse como un antígeno D débil o parcial.





- **La presencia de variantes del antígeno Rh D debe ser interpretada como Rh D positivo (Variante).** Para efectos transfusionales o embarazos debe ser considerado como Rh D negativo.
- **Realizar identificación y titulación de anticuerpos irregulares positivos.**

## **8.2 DETERMINACIÓN MANUAL DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD EN COLUMNA DE GEL CON PRUEBA REVERSA y DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES.**

Se utilizará como alternativa a la técnica automatizada:

- Todas las muestras con solicitud de clasificación de grupo sanguíneo ABO-RhD.
- Clasificación del donante de sangre.
- Pruebas pre transfusionales.

### **MUESTRA:**

- 5 cc.de sangre con anticoagulante (EDTA), tubo tapa lila.
- Pacientes pediátricos 1 cc de sangre con anticoagulante (EDTA), tubo tapa lila pediátrico, traspasar muestra a un tubo de khan.
- Criterios de rechazo de muestra: muestra hemolizada, turbias, contaminadas o con presencia de coágulos, muestra mal rotulada, tubo con derrame exterior.

### **MATERIALES:**

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Gradilla de trabajo.
- Tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D) Grifols.
- Tarjetas DG Gel Coombs Grifols.
- Serigrup Diana A<sub>1</sub>/B Grifols.
- Serascan Diana 2 Grifols.
- Serascan Diana Diego Di<sup>a</sup> Grifols.
- Tubos de Khan de polipropileno.
- Micropipetas 10-100 µl.
- Puntas de pipeta desechable.
- DG Gel Sol Grifols
- Incubador termorregulado para tarjetas DG gel, DGTherm Grifols.
- Centrífuga para tarjetas de gel, DG Spin Grifols.
- Caja de luz.



## PREPARACION DE LA MUESTRA:

**Responsable: TP Inmunohematología  
TM Turno**

- Recepcionar y verificar la identidad del paciente cotejando la solicitud de examen con la muestra de sangre correspondiente.
- Enumerar las muestras y solicitud de examen en orden correlativo.
- Centrifugar las muestras a 3000 rpm por 5 minutos.
- Ingresar solicitud de examen en el sistema informático e-Delphyn del Banco de Sangre, imprimir etiquetas para identificar:
  - ✓ Tubo de muestra.
  - ✓ Solicitud de examen.
  - ✓ Paciente en Libro Grupo Sanguíneo Adultos o libro Exámenes de Turno, según corresponda.
- Las muestras de donantes se identifican con el número de donación y se registran en el sistema informático e-Delphyn del Banco de Sangre y en el libro Grupos Donantes (etiqueta N° donación) al momento de la extracción.
- Preparar la gradilla de trabajo:
  - ✓ **Determinación de grupo ABO-Rh(D):** numerar para cada muestra un tubo de dilución y una tarjeta **DG Gel ABO/Rh (2D)**, en ésta además registrar la fecha.
  - ✓ **Detección de anticuerpos irregulares:** para cada muestra identificar en la tarjeta **DG Gel Coombs, 3 microtubos con I, II y Diª**, número de la muestra y fecha.
- Ingresar la prestación en módulo ATACERRA o RECAUDACIÓN, según corresponda.

## TECNICA:

**Responsable: TM Inmunohematología.  
TM Turno**

### 1. Determinación de grupo sanguíneo con prueba reversa en tarjeta DG Gel ABO/Rh (2D).

- Determinación de los antígenos del sistema ABO/Rh (microtubos A/B/AB/D/D'/Ctl.):
  - Preparar una suspensión de hematíes al 5% en DG Gel Sol. (ej: 25 ul de sedimento o concentrado de hematíes en 500 ul de DG Gel Sol). Asegurar la resuspensión de los hematíes antes de utilizar.
  - Dispensar 10µl de los hematíes al 5% en cada uno de los microtubos A/B/AB/D/D'/Ctl de la tarjeta.



- Determinación del grupo sérico (microtubos N):
  - Homogeneizar los viales de hematíes **A<sub>1</sub> y B**; **Serigrup Diana A<sub>1</sub>/B**.
  - Dispensar en el microtubos **N/A<sub>1</sub>**, 1 gota (50µl) de hematíes reactivo **A<sub>1</sub>** y en el microtubo **N/B**, 1 gota (50µl) de hematíes reactivo B.
  - Añadir 50 µl de plasma.
  - Centrifugar las tarjetas en centrifuga para tarjetas de gel.

## 2. Detección de Anticuerpos Irregulares en la tarjeta DG Gel Coombs:

- Homogeneizar los viales de hematíes **Serascan Diana I, II y Di<sup>a</sup>**.
  - Dispensar en los microtubos correspondientes, 1 gota (50µl) de hematíes reactivo.
  - Añadir 25 µl de plasma del paciente.
  - Incubar 15 minutos a 37°C.
  - Centrifugar las tarjetas en centrifuga para tarjetas de gel.
3. Leer y registrar los resultados.
  4. Ingresar resultados en sistema e-Delphyn.
  5. Validar e informar.

## LECTURA DE LOS RESULTADOS:

<b>Negativo</b>	-	Banda de hematíes en el fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados visibles.
<b>Positivo</b>	+/-	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.
<b>DP</b>		Doble Población (doble banda de hematíes, en el fondo y en la parte superior de la columna)

### Nota:

- El control (ctl) siempre debe mostrar una reacción negativa. Si el ctl da positivo, la prueba no es válida y se indica repetir previo lavado de la muestra con PBS.
- Estabilidad de los resultados: se recomienda una lectura inmediata de los resultados después de la centrifugación de las tarjetas.
- No dejar tarjetas procesadas en posición horizontal.
- Para más información consultar en inserto de tarjetas Grifols: DG Gel ABO/Rh (2D) y DG Gel Coombs.
- **Realizar identificación y titulación de anticuerpos irregulares positivos**

## TABLA DE INTERPRETACIÓN:

La asignación del grupo sanguíneo debe realizarse de acuerdo a los resultados de la siguiente tabla.

### Sistema ABO:

Grupo Hemático microtubos				Grupo Sérico microtubos		Grupo ABO
A	B	AB	CTL	GR A <sub>1</sub>	GR B	
0	0	0	0	+	+	<b>0</b>
+	0	+	0	0	+	<b>A</b>
0	+	+	0	+	0	<b>B</b>
+	+	+	0	0	0	<b>AB</b>

### Sistema Rh (antígeno D)

Microtubo D	Microtubo D'	Microtubo Ctl.	Interpretación
+	+	0	<b>D positivo</b>
0	0	0	<b>D negativo</b>
0	+	0	<b>D débil</b>
+	0	0	<b>D débil</b>

**0 = Negativo      + = Positivo**

#### Nota:

- Se deben comprobar las reacciones negativas con el reactivo anti D, utilizando otros reactivos y técnicas capaces de detectar diferentes variantes del antígeno D (ver Procedimiento Detección D variantes).
- En caso de obtener resultados discordantes en los microtubos D y D' debe interpretarse como un antígeno D débil o parcial.
- **La presencia de variantes del antígeno Rh D debe ser interpretada como Rh D positivo (Variante).** Para efectos transfusionales o embarazos debe ser considerado como Rh D negativo

## 8.3 TÉCNICAS ESPECIALES

### 8.3.1 DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD EN TARJETA (Serafol ABO+D)

- La determinación de grupo sanguíneo ABO-RhD en tarjeta se utiliza en:
  - Clasificación primaria de donantes, al momento de la extracción.
  - Selección de donantes en requerimiento de grupo determinado.
  - Reclasificación de CGR.
  - Reclasificación de pacientes a pie de cama.
  - Reclasificación de pacientes que ya registran resultado de grupo sanguíneo en Banco de Sangre.



**SERVICIO SALUD AISEN  
HOSPITAL REGIONAL  
COYHAIQUE**

### **MUESTRA:**

- Sangre de punción capilar, sangre con anticoagulante (EDTA) o GR. de la tubuladura.

### **MATERIALES:**

- Tarjetas comerciales, Serafol ABO+D para determinación de grupo sanguíneo ABO-RhD.
- Lancetas.
- Alcohol pad.
- Algodón.
- Palitos de muestra.
- Pipetas plásticas con bulbo.
- PBS.

### **TÉCNICA:**

**Responsable: TM transfusiones.**

**TP transfusiones.**

**TP atención de donantes.**

1. Identificar la tarjeta con nombre o número de donación.
2. La tarjeta trae los antisueros secos en cada sección, marcados como anti A, anti B y anti D, más un autocontrol.
3. Obtenida la muestra, depositar una gota de sangre o de glóbulos rojos en cada sección de la tarjeta, incluido el autocontrol, añadir una gota de PBS.
4. Mezclar usando un palito de muestra.
5. Mover suavemente la tarjeta, en forma rotatoria y observar la reacción de aglutinación bajo una fuente de luz.
6. Leer en un tiempo máximo de 2 minutos.
7. Registrar resultado.

### **OBSERVACIONES:**

- Reacciones débiles no serán detectadas por éste método.
- La lectura no debe exceder los 2 minutos, ya que al secarse los reactivos puede interpretarse como falso positivo.
- Para la determinación de Grupo ABO-RhD la tarjeta debe estar a temperatura ambiente.
- Si el autocontrol muestra aglutinación el ensayo no es válido y debe repetirse.



### 8.3.2 DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO ABO-Rh EN TARJETA (MDmulticard ABO-D)

En esta tarjeta, de flujo lateral, los anticuerpos monoclonales de tipo IgM están impregnados en la membrana. Se utilizará para clasificación primaria del donante de sangre.

#### **MUESTRA:**

- Sangre con anticoagulante.

#### **MATERIALES:**

- Tarjetas comerciales, MDmulticard ABO-D para determinación de grupo sanguíneo ABO-RhD.
- Diluyente F
- Tubo de Khan de plástico.
- Pipetas plásticas con bulbo.

#### **TÉCNICA:**

##### **Responsable: TP atención de donantes.**

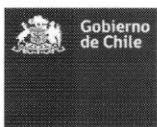
1. Identificar la tarjeta con el número de donación.
2. Mezclar 1 gota de sangre anticoagulada con 4 gotas de diluyente F en un tubo de Khan.
3. Quitar la etiqueta protectora de la tarjeta
4. Agregar 2 gotas de la suspensión resultante a la zona de aplicación de la tarjeta.
5. Esperar 30 segundos, luego agregar 6 gotas de diluyente F a la zona de aplicación.
6. Esperar 5 minutos, leer.
7. Registrar resultados.

#### **LECTURA:**

- Resultado positivo, una banda roja formada por hematíes acumulados en la zona impregnada con el anticuerpo correspondiente.
- Resultado negativo, la falta de banda indica la ausencia de los antígenos respectivos.

#### **OBSERVACIONES:**

- Para la determinación de Grupo ABO-RhD la tarjeta y la muestra deben estar a temperatura ambiente.
- Si el autocontrol muestra aglutinación el ensayo no es válido y debe repetirse.



**SERVICIO SALUD AISEN  
HOSPITAL REGIONAL  
COYHAIQUE**

## **9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

- Orientaciones para Centros de Sangre y Unidades de Medicina Transfusional del MINSAL
- Recomendaciones para la clasificación sanguínea ABO, ISP, enero 2013
- Recomendaciones para la clasificación sanguínea RhD, ISP, versión 1, 2018.
- Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios, ISP, diciembre 2014.
- Manual Técnico, Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunología, AABB, 13ª edición, 2001
- Inserto tarjeta DG Gel ABO/RH (2D), Grifols
- Inserto tarjeta DG Gel Coombs, Grifols
- Inserto tarjeta Serafol ABO+D
- Inserto tarjeta MDmulticard ABO-D, Grifols

**10. EVALUACION : N/A**

**11. INDICADORES: N/A**

**12. ANEXOS: N/A.**