

 <p>Gobierno de Chile</p> <p>SERVICIO SALUD AYSÉN HOSPITAL REGIONAL COYHAIQUE</p>	<p>PROCEDIMIENTO DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD+ KELL CON PRUEBA REVERSA</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 - 13
		Vigencia: 5 años

PROCEDIMIENTO DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD + Kell CON PRUEBA REVERSA

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	
 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	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 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 usuario con una suspensión de glóbulos rojos A₁ y B.

El antígeno K o KEL1 es el más importante dentro del Sistema Kell y su presencia se confirma, al observar aglutinación en el microtubo correspondiente.

La importancia de clasificar correctamente a todos los pacientes/donantes es debido a que son antígenos clínicamente importantes, que bajo ciertas condiciones se pueden generar anticuerpos los cuales están implicados en reacciones hemolíticas.

3. OBJETIVOS:

- Estandarizar el procedimiento técnico para la determinación de grupo sanguíneo ABO-RhD+Kell.

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.• Ejecutar técnicas.• Supervisión de las técnicas.
Técnicos Paramédicos	<ul style="list-style-type: none">• Conocer el procedimiento.• Colaborar en la ejecución de las técnicas.• Reclasificación primaria de donantes (CPD) y reclasificación de pacientes.
Personal administrativo	<ul style="list-style-type: none">• Mantener registros en planillas Excel.

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.

Ctl: Microtubo control en tarjeta de gel.



**SERVICIO SALUD AYSÉN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE**

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 Erytra Eflexis, Grifols: analizador automatizado para inmunohematología.

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

Tarjetas DG Gel Coombs, Grifols: tarjeta de gel Coombs

Serigrup Diana A₁/B, Grifols: GR testigos A₁ y B al 0.8%

Screen-Cyte Di^a 0.8%, 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.

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

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 solicitud de examen en orden correlativo.
- Centrifugar las muestras a 3000 rpm por 5 minutos.



**SERVICIO SALUD AISEN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE**

- 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 Adultos.
- Las muestras de donantes se identifican con el número de donación asignado por el sistema informático del Banco de Sangre, quedando registro en libro Grupo Donantes (etiqueta N° donación) al momento de la extracción.

8.2 DETERMINACIÓN AUTOMATIZADA DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD+Kell EN COLUMNA DE GEL CON PRUEBA REVERSA.

Es la técnica de rutina.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Equipo Erytra Eflexis de Grifols.
- Tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D) +Kell.
- Serigrup Diana A₁/B.
- DG Gel Sol.
- Soluciones de Lavado DG Fluids (Solución A y Solución B).

PROCEDIMIENTO:

**Responsable: TP Inmunohematología
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:
 - ✓ 01 ABO-RH KELL
- Iniciar procesamiento de muestras.
- Revisar resultados y registrar.
- Validar e informar.



**SERVICIO SALUD AYSÉN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE**

8.3 DETERMINACIÓN MANUAL DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD+Kell EN COLUMNA DE GEL CON PRUEBA REVERSA.

Se utilizará en caso que equipo Erytra Eflexis no se encuentre operativo.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Gradilla de trabajo.
- Tarjetas DG Gel ABO/Rh (2D)+ Kell.
- Serigrup Diana A₁/B.
- Micropipetas 10-100 µl.
- Puntas de micropipeta desechable.
- Centrífuga para tarjetas de gel, DG Spin Grifols.
- Caja de luz.

PROCEDIMIENTO:

Responsable: TM Inmunohematología y/o Turno

A) Determinación de los antígenos del sistema ABO/RhD (microtubos A/B/D/D'/Kell/Ctl.):

- Preparar una suspensión de hematíes al 5% en 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/D/D'/Kell/Ctl de la tarjeta previamente identificada con número correlativo de la muestra y fecha.

B) Determinación del grupo sérico (microtubos N):

- Homogeneizar los viales de hematíes A₁ y B; Serigrup Diana A₁/B.
- Dispensar en microtubo N/A1, 1 gota (50µl) de hematíes reactivo A₁. y en microtubo N/B, 1 gota (50µl) de hematíes reactivo B.
- Añadir 50 µl de plasma paciente.
- Centrifugar la tarjeta por 9 minutos en centrifuga para tarjetas de gel.

1. Leer y registrar los resultados en libro correspondiente.

2. Ingresar resultados en sistema informático.

3. Validar e informar.

LECTURA DE LOS RESULTADOS:

Negativo	0	Sedimento bien definido de hematíes aglutinados en el fondo de la columna de gel y ausencia de células aglutinadas visibles en el resto de la columna de gel.
Positivo	+/-	Pequeñas acumulaciones, apenas visibles, de células aglutinadas en la parte inferior de la columna de gel y un sedimento de células sin aglutinar en el fondo.
	1+	Pequeñas acumulaciones de células aglutinadas, principalmente, en la mitad inferior de la columna de gel. También podría observarse un pequeño sedimento en el fondo de la columna de gel.
	2+	Acumulaciones de tamaño mediano o pequeño de células aglutinadas a lo largo de la columna de gel. También podrían observarse algunas células no aglutinadas en el fondo de la columna.
	3+	Acumulaciones de tamaño mediano de células aglutinadas en la mitad superior de la columna de gel.
	4+	Banda bien definida de hematíes aglutinados en la parte superior de la columna de gel. También podrían observarse algunas células aglutinadas por debajo de la banda.
Doble Población		Doble banda de hematíes en la parte superior (o dispersos a lo largo de la columna de gel) e inferior del gel. También podrían observarse algunas células aglutinadas por debajo de la banda.
Hemólisis		Hemólisis en el microtubo con muy pocos o ningún hematíe en la columna de gel.

INTERPRETACIÓN:

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

TABLA 1. Sistema ABO:

Grupo ABO directo		Grupo ABO inverso		Grupo ABO
A	B	GR A ₁	GR B	
0	0	+	+	0
+	0	0	+	A
0	+	+	0	B
+	+	0	0	AB

TABLA 2. Antígeno D:

Microtubo D	Microtubo D'	Microtubo Ctl.	Interpretación
+	+	0	D positivo
0	0	0	D negativo
0	+	0	D débil o parcial
+	0	0	D débil o parcial

0 = Negativo + = Positivo

Antígeno K: Un resultado positivo en el microtubo correspondiente indica presencia de antígeno K o KEL1 (sistema Kell).



**SERVICIO SALUD AYSÉN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE**

NOTAS:

- 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.
- 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.
- Donantes que presenten variantes del antígeno D se consideraran como Rh D positivo.
- Pacientes (receptores), mujeres en edad fértil que presenten variantes del antígeno D, deben considerarse como Rh D negativo para efectos transfusionales hasta poder establecer la variante mediante biología molecular (envío ISP).
- Para más información consultar en inserto de tarjetas Grifols: DG Gel ABO/Rh (2D) + Kell.

8.4 DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO ABO-RhD EN TUBO CON PRUEBA REVERSA.

Esta técnica se realizará si:

- No se dispone de tarjetas de columna de gel.
- Existen resultados no concluyentes o discrepantes en columna de gel.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Gradilla de trabajo.
- Tubos de Khan de vidrio.
- Pipetas plásticas con bulbo.
- Antisueros Anti A₁, Anti B, Anti AB, Anti D IgG/IgM. PBS.
- Serigrup Diana A₁/B.
- DG Gel Sol.
- Centrífuga de inmunohematología.
- Caja de luz.

PROCEDIMIENTO:

Responsable: TM Inmunohematología y/o Turno

TP encargado debe identificar 7 tubos:

- Rotular 4 tubos (A, B, AB y D) e identificar con el número de la muestra:

Tubo (A): 2 gotas de suero Anti-A + 1 gota de GR al 4%.

Tubo (B): 2 gotas de suero Anti-B + 1 gota de GR al 4%.

Tubo (AB): 2 gotas de suero Anti-AB + 1 gota de GR al 4%.

Tubo (D): 2 gotas de suero Anti-D IgG/IgM + 1 gota de GR al 4%.

- Rotular 2 tubos (Rev A1 y Rev B) e identificar con el número de la muestra:

Tubo (Rev A1): 2 gotas de plasma paciente + 1 gota de reactivo A1.

Tubo (Rev B): 2 gotas de plasma paciente + 1 gota de reactivo B.

- Rotular 1 tubo para prueba autologa, como control:

Tubo (PA): 2 gotas de plasma paciente + 1 gota de GR al 4%.

- Centrifugar 10 segundos a 3000 RPM en centrifuga de lavado de GR y leer inmediatamente sobre caja de luz, agitando los tubos suavemente, en busca de aglutinación y/o hemólisis.
- Registrar reacción en cruces en libro correspondiente, e indicar que corresponde a técnica en tubo.



**SERVICIO SALUD AYSÉN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE**

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:

La asignación del grupo sanguíneo se realiza de acuerdo tabla 1 y 2.

8.5 TÉCNICAS ESPECIALES:

8.5.1 DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO 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.
 - Reclasificación de CGR pretransfusional.
 - Reclasificación de pacientes a pie de cama.
 - Reclasificación de pacientes que ya registran más de dos resultados de grupo sanguíneo ABO RhD + Kell en HRC.

MUESTRA:

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

MATERIALES:

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

TÉCNICA:

**Responsable: TM inmunohematología, turno o transfusiones.
TP transfusiones y/o atención de donantes.**

1. Identificar la tarjeta con nombre o número de donación.
2. La tarjeta contiene los antisueros secos en cada sección, marcados como anti A, anti B y anti D, y control.
3. Obtenida la muestra, depositar una gota de sangre o de glóbulos rojos en cada sección de la tarjeta, incluido el control, añadir una gota de PBS.
4. Mezclar usando una varilla agitadora.
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 según corresponda.

NOTAS:

- 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 control muestra aglutinación el ensayo no es válido y debe repetirse.



**SERVICIO SALUD AYSÉN
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, 2022
- Recomendaciones para la clasificación sanguínea RhD, ISP, 2018.
- Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios, ISP, diciembre 2014.
- Inserto tarjeta DG Gel ABO/RH (2D)+Kell, Grifols
- Inserto tarjeta DG Gel Coombs, Grifols
- Inserto tarjeta Serafol ABO+D

10. EVALUACION : N/A

11. INDICADORES: N/A

12. ANEXOS: N/A.