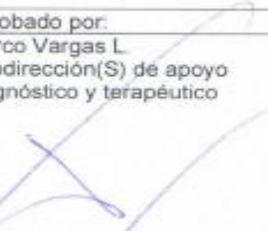


 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SAN ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 1 de 20
		Fecha: agosto 2023

“Procedimiento determinación grupos ABO/Rh(D) y detección de anticuerpos irregulares”

Modificado por: Karin Navea G Tecnóloga Médica UMT   fecha: agosto 2023	Revisado y autorizado por: Rubén Pérez E. Jefe Unidad de Medicina Transfusional   Carmen Molina E. Profesional Unidad de Calidad y Seguridad del Paciente  fecha: agosto 2023	Aprobado por: Marco Vargas L. Subdirección(S) de apoyo diagnóstico y terapéutico   fecha: agosto 2023
---	---	--

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA <small>SAN ANTONIO</small>	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 2 de 20
		Fecha: agosto 2023

INDICE

Ítem	Contenido	Página
1.	Objetivos	3
2.	Alcance	3
3.	Documentos relacionados	3
4.	Responsables	3
5.	Definiciones	3
6.	Desarrollo	4
6.1	Determinaciones automatizadas y manuales en gel BIO-RAD	4
6.1.1	Clasificación de grupo ABO/RhD para adultos automatizada	4
6.1.2	Clasificación de grupo ABO/RhD manual	5
6.1.3	Clasificación de grupo ABO/RhD para recién nacidos automatizada	6
6.1.4	Clasificación de grupo ABO/RhD manual	6
6.1.5	Confirmación de RhD automatizada	7
6.1.6	Confirmación de RhD manual	7
6.2	Detección de anticuerpos irregulares automatizado	8
6.2.1	Detección de anticuerpos irregulares manual	9
6.3	Test de antiglobulina directa automatizada	10
6.3.1	Test de antiglobulina directa manual	10
6.4	Prueba de compatibilidad automatizada y manual en gel BIO-RAD	11
6.4.1	Prueba de compatibilidad automatizada	12
6.4.2	Prueba de compatibilidad manual	13
6.5	Clasificación de grupo ABO/RhD en ABD PAD	13
6.6	Clasificación de grupo ABO/RhD en lámina	15
6.7	Clasificación de grupo ABO adulto y recién nacido en tubo	17
6.8	Confirmación de RhD	18
6.9	Prueba autóloga	18
6.10	Detección de anticuerpos irregulares	19
6.11	Test de antiglobulina directa	19
7	Criterios de Calidad	20
8	Flujograma	20
9	Distribución	20
10	Anexos	20
11	Formulario de control de cambios	20

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SANTO ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 3 de 20
		Fecha: agosto 2023

1. Objetivo: Estandarizar técnicas para determinación de grupos A, B, O, Rh-D y detección de anticuerpos irregulares, realizadas en forma rutinaria en la Unidad de Medicina transfusional del Hospital Claudio Vicuña.

2. Alcance: Manual aplicable y conocido por todo el personal de la Unidad de Medicina Transfusional, tanto Tecnólogos Médicos que se desempeñen en la unidad como también Técnicos paramédicos.

3. Documentación:

- Recomendaciones para la clasificación sanguínea ABO, ISP.
- Recomendaciones para la clasificación sanguínea Rh-D, ISP.
- Orientaciones para Centros de Sangre y Unidades de Medicina Transfusional, Minsal.
- Insertos Biorad ID-Cell
- Manual del usuario IH-Com.
- Manual del usuario Ih-500.

4. Responsables:

Actividad	Responsable
Evaluar cumplimiento de protocolos	Encargado de UMT
Determinación de Grupos Sanguíneos, detección de anticuerpos irregulares, prueba autóloga, confirmación de antígeno Rh-D, interpretación de resultados, registros en programa e-Delphyn.	Tecnólogo Médico
Recepción de solicitud exámenes, de Recepción de muestras, centrifugación de muestras, registro en libro de Grupos A B O/Rh-D de adultos y recién nacidos	Técnico paramédico

5. Definiciones:

- UMT: Unidad de Medicina Transfusional.
- Variante Du: Ausencia o modificación del mosaico D, codificador para antígenos Rh (D).
- Antisuero: Es una solución que contiene anticuerpos que reaccionan específicamente con un antígeno.
- Crioaglutininas: Autoanticuerpos IgM cuya presencia en el suero provoca la aglutinación de los hematíes propios a bajas temperaturas.
- GR: Glóbulos rojos.
- EDTA: Acido etilendiaminotetraacético.
- RPM: Revoluciones por minuto.
- RN: Recién nacido.
- Aglutinación: Unión antígeno-Anticuerpo que se puede apreciar a simple vista.
- Ag: Antígeno.
- Ac: Anticuerpo.
- TAI: Test de anticuerpos irregulares.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA <small>SAN ANTONIO</small>	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 4 de 20
		Fecha: agosto 2023

6. Desarrollo:

En la UMT del hospital Claudio Vicuña se utiliza rutinariamente el equipo IH-500 DE BIO RAD, el cual en su configuración da la posibilidad de realizar las siguientes pruebas: Grupo ABO/Rh-D, detección de anticuerpos irregulares, test de antiglobulina directa, confirmación de Rh-D, prueba autóloga; pudiendo llevar a cabo dichas determinaciones tanto en adultos como en recién nacidos.

Tipo de muestra: Sangre con anticoagulante EDTA K3.

Reactivos Líquidos: ID-DiaCell ABO A₁, B; ID-DiaCell I, II; ID-DiaClon Anti-D; ID-Diluent 2; Wash Solution A Concentrate; Titripac (NaOH 0.5M)

Tarjetas: DiaClon ABO/D + Reverse Grouping; LISS/Coombs; DiaClon ABO/Rh for Newborns.

6.1 Determinaciones automatizadas y manuales en gel BIO-RAD

6.1.1 Clasificación de grupo ABO/Rh(D) para adultos automatizada:

Para la realización de esta técnica se utilizarán tarjetas Bio-Rad Id-Card “DiaClon ABO/D+Reverse Grouping”, las cuales contienen: anti-A monoclonal, anti-B, anti-D en la matriz gel. Un microtubo control negativo “ctl”, además de dos microtubos con gel neutro que sirven para la prueba inversa del grupo sanguíneo con hematíes A1 y B.

Preparación de la muestra: Técnica a realizar en pacientes mayores a 4 meses de vida, este tipo de muestras debe ser previamente centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos, el volumen mínimo recomendado de muestra son 3 ml. Por otra parte, la cantidad mínima de muestra para el procesamiento de un Grupo A B O Rh-(D) adulto es de 3mL

Procedimiento:

- Depositar la muestra que necesite analizar en el rack de muestras, procurando que el código de barra de los tubos siempre quede de frente hacia el usuario.
- Presione en la pantalla la opción que indica Grupo de adulto, seguido del botón “Confirmar” y espere 15 minutos a que el equipo lleve a cabo la petición.
- Interpretación: Se debe observar cada una de las columnas de gel que nos presenta la imagen dada por el equipo IH-Com, donde se debe confirmar que la cantidad de cruces por columna que nos indica el equipo sea la correcta, una vez que todo el análisis visual este correcto se debe presionar el botón “Aceptar todos” y luego el botón “Guardar”. De esta forma el resultado confirmado del paciente será enviado al programa BiosLis-Net para su pronta firma y autorización.

Procurar que la columna de gel de control de la tarjeta SIEMPRE tenga un resultado NEGATIVO, si esto no sucede, la tarjeta debe ser invalidada y la prueba se debe volver a realizar.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA <small>SAN ANTONIO</small>	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 5 de 20
		Fecha: agosto 2023

También se debe tener en consideración que la prueba inversa debe ser concordante con el isogrupo que nos indica la prueba globular.

6.1.2 Clasificación de grupo ABO/Rh(D) manual:

Para la realización de esta técnica se utilizarán tarjetas Bio-Rad Id-Card “DiaClon ABO/D +Reverse Grouping”, las cuales contiene: anti-A monoclonal, anti-B, anti-D en la matriz gel. Un microtubo control negativo “ctl”, además de dos microtubos con gel neutro que sirven para la prueba inversa del grupo sanguíneo con hematíes A1 y B.

Procedimiento:

Para llevar a cabo este procedimiento debemos tener en cuenta las diferentes suspensiones de glóbulos rojos que se requieren para cada tipo de procedimiento

- Centrifugue la muestra anti coagulada con EDTA a 3500 rpm por 5 minutos, el volumen mínimo recomendado de muestra son 1.5 ml.
- Utilice la tarjeta DiaClon ABO/D + Reverse Grouping.
- Identificar las tarjetas con el número de folio o nombre del paciente y quitar el aluminio que recubre los pocillos de la tarjeta.
- Agregue 50 µl de suspensión de GR A1 en el pocillo N° 5 y 50 µl de suspensión de GR B en el pocillo N° 6, previamente homogenizadas. (Debemos tener en consideración que dichas células comerciales traen la concentración al 0.8% que se necesita para el procedimiento, NO es necesario re suspenderlas).
- Agregue 50 µl de plasma del paciente a los pocillos N° 5 y N° 6.
- Prepare una suspensión de GR al 5%, a partir de GR del paciente, para esto agregue 500 µl de Diluyente-II y 25 µl de GR de la muestra, homogenizar cuidadosamente.
- Agregue 12.5 µl de suspensión al 5% de GR del paciente a los pocillos N° 1, 2, 3 y 4
- Centrifugue por 10 min en la centrifuge 6 S de BIORAD.
- Lea en el equipo BANJO e interprete en equipo IH-Com.

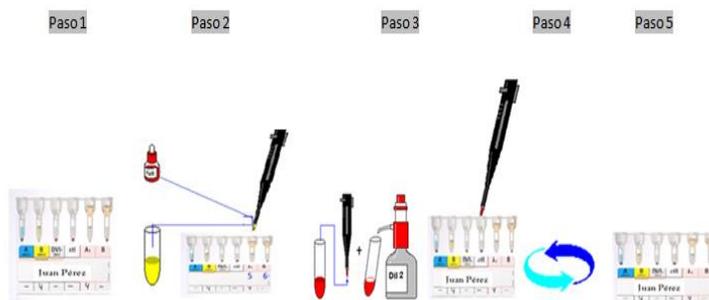


Imagen 1. Clasificación ABO Rh(D) manual

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SAN ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 6 de 20
		Fecha: agosto 2023

6.1.3 Clasificación de grupo ABO/Rh(D) para recién nacidos automatizada:

Técnica a realizar en pacientes menores a 4 meses de vida. Para las muestras de RN que requieran determinación de grupo ABO Rh(D) además del test de inmunoglobulina directa.

Preparación de la muestra: No es necesaria su centrifugación, mientras que, si es solicitada la determinación de anticuerpos irregulares, dicha muestra debe ser centrifugada por 5 minutos a 3500 rpm. La cantidad mínima para el procesamiento de muestras pediátricas es de 1.5 mL.

Procedimiento:

- Depositar la muestra que necesite analizar en el rack de muestras, procurando que el código de barra de los tubos siempre quede de frente hacia el usuario.
- Presione en la pantalla la opción que indica Grupo recién nacido, seguido del botón “Confirmar” y espere 15 minutos a que el equipo lleve a cabo la petición.
- Interpretación: Se debe observar cada una de las columnas de gel que nos presenta la imagen dada por el equipo IH-Com, donde se debe confirmar que la cantidad de cruces por columna que nos indica el equipo sea la correcta, una vez que todo el análisis visual este correcto se debe presionar el botón “Aceptar todos” y luego el botón “Guardar”. De esta forma el resultado confirmado del paciente será enviado al programa BiosLis-Net para su pronta firma y autorización.

Procurar que la columna de gel de control de la tarjeta SIEMPRE tenga un resultado NEGATIVO, si esto no sucede, la tarjeta debe ser invalidada y la prueba se debe volver a realizar.

6.1.4 Clasificación de grupo ABO/Rh(D) para recién nacidos manual:

Para llevar a cabo este procedimiento debemos tener en cuenta las diferentes suspensiones de glóbulos rojos que se requieren para cada tipo de procedimiento.

Preparación de la muestra: Centrifugue la muestra anti coagulada con EDTA a 3500 rpm por 5 minutos, el volumen mínimo que podemos aceptar es de 0.5 ml.

Procedimiento:

- Utilice la tarjeta DiaClon ABO/Rh para recién nacidos DVI+.
- Identifique la tarjeta de RN con el número de folio del RN y retire el aluminio que recubre la tarjeta.
- Prepare una suspensión de GR al 0.8%, para esto agregue 1 ml de Diluyente-II y 12.5 µl de concentrado de GR del paciente.
- Agregue 50 µl de suspensión de GR del paciente a cada uno de los 6 pocillos de la tarjeta.
- Centrifugue por 10 minutos en la Centrifuge 6 S DE BIORAD.
- Lea en el equipo BANJO e interprete en equipo IH-Com.

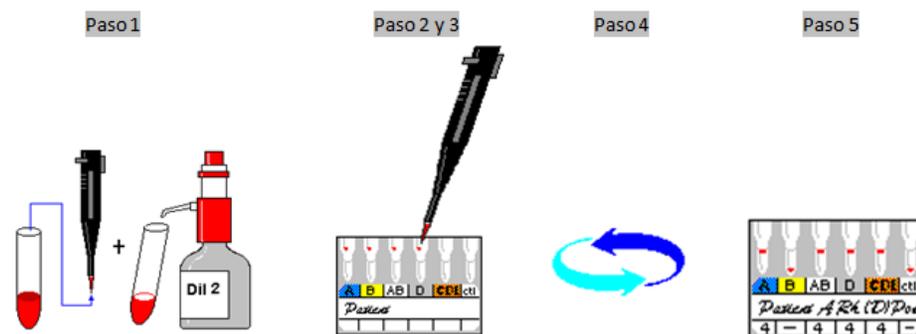


Imagen 2. Clasificación ABO Rh(D) para recién nacidos manual

6.1.5 Confirmación de Rh(D) automatizada:

Esta prueba tiene como finalidad poder confirmar los casos de pacientes con grupo Rh-D negativo, para esto existen dos formas de realizar la petición al equipo para que lo lleve a cabo. La primera es cuando se le indica al IH-500 realizar un grupo de adulto y el resultado del gel que nos indica el Rh-(D) es inferior a dos cruces, en este caso, el equipo lo hace automáticamente.

En el caso que necesite pedirle al equipo la confirmación del Rh-(D), debe depositar la muestra que necesite analizar en el rack de muestras, procurando que el código de barra de los tubos siembre quede de frente hacia el usuario.

Presionar en la pantalla la opción que indica “Confirmación Rh-D”, seguido del botón “Confirmar” y espere 30 minutos a que el equipo lleve a cabo la petición.

Interpretación: Se debe observar cada una de las columnas de gel que nos presenta la imagen dada por el equipo IH-Com, donde se debe confirmar que la cantidad de cruces por columna que nos indica el equipo sea la correcta, una vez que todo el análisis visual este correcto se debe presionar el botón “Aceptar todos” y luego el botón “Guardar”. De esta forma el resultado confirmado del paciente será enviado al programa bioslis-net para su pronta firma y autorización.

6.1.6 Confirmación de Rh-(D) manual:

Para llevar a cabo este procedimiento debemos tener en cuenta las diferentes suspensiones de glóbulos rojos que se requieren para cada tipo de procedimiento, para el caso de la confirmación de Rh-D manual debemos:

Preparación de la muestra: Centrifugar la muestra anti coagulada con EDTA a 3500 rpm por 5 minutos, el volumen mínimo recomendado de muestra son 1.5 mL.

Procedimiento:

- Utilice la tarjeta LISS/Coombs.
- Identificar las tarjetas con el número de folio o nombre del paciente y quitar el aluminio que recubre los pocillos de la tarjeta.
- Prepare una suspensión de GR al 0.8%, para esto agregue 1 mL de Diluyente-II y 12.5 µL de concentrado de GR del paciente.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA <small>SAN ANTONIO</small>	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Edición: Quinta
		Página 8 de 20
		Fecha: agosto 2023

- Agregue 50 µL de la suspensión del paciente al pocillo que destinó para la determinación.
- Agregue 50 µL de reactivo Anti-D monoclonal al pocillo utilizado.
- Incube 15 minutos a 37° C en el Incubador 37 S II de BIORAD.
- Saque del incubador y centrifugue la tarjeta por 10 minutos en la Centrifuge 6 S.
- Lea en el equipo BANJO e interprete en equipo IH-Com.

Tabla 1. Interpretación de resultados Rh(D)

Rh-(D) Positivo	Rh-(D) débil/parcial DÉBIL/PARCIAL	Rh-(D) negativo
++++	+ a +++	(-)

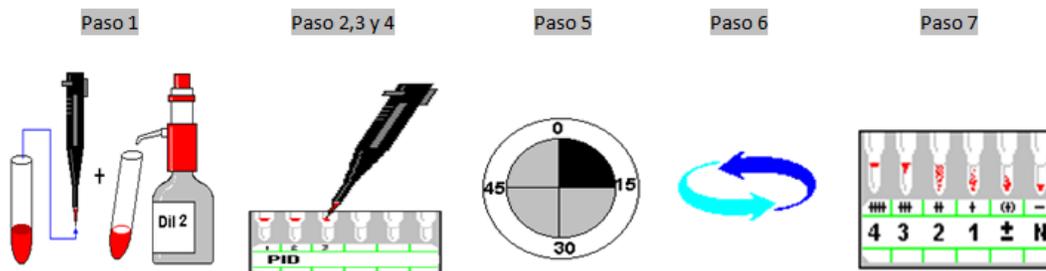


Imagen 3. Confirmación Rh(D) manual

6.2 Detección de anticuerpos irregulares automatizada

La detección de anticuerpos irregulares tiene como principal objetivo detectar anticuerpos presentes en el suero o plasma del paciente al cual le solicitaron el examen, dichos anticuerpos pueden interferir en el procedimiento de transfusiones sanguíneas, por lo que es solicitado y realizado a toda persona que requiera una transfusión, que se le solicite el Grupo ABO-RhD O pacientes a los que solamente se le solicita TAI.

La muestra requerida para llevar a cabo esta determinación es plasma, a partir de un tubo con anticoagulante EDTA, debe ser procesada antes de las 72 horas posteriores a su extracción.

Preparación de la muestra: La muestra debe ser centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos.

Procedimiento:

- Una vez la muestra tiene separada la parte globular del plasma se debe incorporar la muestra en cualquiera de los racks de muestra pertenecientes al equipo, con la etiqueta hacia el frente, donde sea visible completamente, introducir el rack de muestras en el equipo, esperar a que lo reconozca y solicitar la realización del test en el enunciado que dice “Coombs Indirecto”.
- El equipo demora 30 minutos en realizar la determinación, una vez transcurrido el tiempo, el rack puede ser retirado para la validación de la muestra.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA <small>SAN ANTONIO</small>	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Edición: Quinta
		Página 9 de 20
		Fecha: agosto 2023

- Interpretación: En el IH-Com debemos aceptar o rechazar el resultado de la muestra, teniendo en cuenta que la cantidad de cruces otorgadas por el equipo es la correcta, para esto, debemos dar al botón “Aceptar todos” y posteriormente al botón “Guardar”.

6.2.1 Detección de anticuerpos irregulares manual

Para llevar a cabo este procedimiento debemos tener en cuenta las diferentes suspensiones de glóbulos rojos que se requieren para cada tipo de procedimiento, para la Detección de anticuerpos irregulares manual debemos:

Preparación de la muestra: Centrifugue la muestra anti coagulada con EDTA a 3500 rpm por 5 minutos, el volumen mínimo recomendado de muestra son 1.5 mL.

Procedimiento:

- Utilice la tarjeta LISS/Coombs.
- Identificar las tarjetas con el número de folio o nombre del paciente y quitar el aluminio que recubre los pocillos de la tarjeta.
- Agregue 50 µl de suspensión de células comerciales I y II en los pocillos que determinó para la reacción.
- Agregue 25 µl de plasma del paciente en cada uno de los pocillos.
- Incube 15 minutos a 37° C en el Incubador 37 S II de BIORAD.
- Saque del incubador y centrifugue la tarjeta por 10 minutos en la Centrifuge 6 S.
- Lea en el equipo BANJO e interprete en equipo IH-Com.

Observación: En el caso que sospeche de una aglutinina fría, incube la muestra a 4°C.

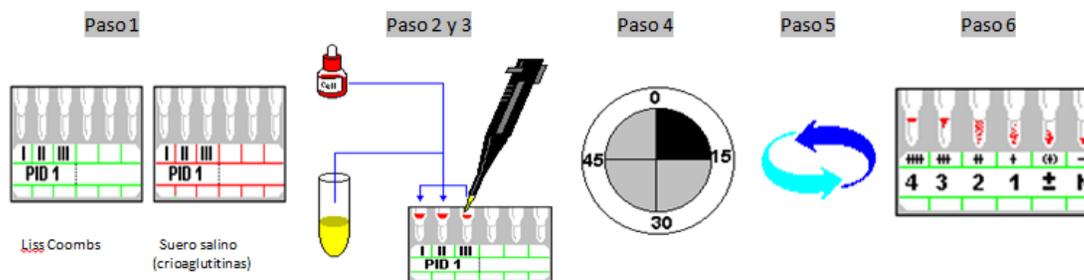


Imagen 4. Detección de anticuerpos irregulares manual

6.3 Test de antiglobulina directa automatizada

El test de antiglobulina directa se utiliza para demostrar el recubrimiento *in vivo* de eritrocitos con Anticuerpos (IgG, IgM) y/o fracciones del complemento (C3d). Para evidenciar esta sensibilización se deben enfrentar los glóbulos rojos de la muestra contra el reactivo de Antiglobulina humana (AGH).

Esta prueba es solicitada para pacientes pediátricos con el fin de descartar una enfermedad Hemolítica, así como también a pacientes con sospecha de anemia hemolítica autoinmune

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SANTO ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 10 de 20
		Fecha: agosto 2023

y hemolisis inducida por drogas. Otra ocasión donde es posible solicitar la prueba es en pacientes que requieren una transfusión sanguínea.

Preparación de la muestra: Para llevar a cabo esta determinación debemos usar sangre total anticoagulada con EDTA, luego de una centrifugación a 3500 rpm por 5 min.

Procedimiento:

- Una vez la muestra tiene separada la parte globular del plasma se debe incorporar la muestra en cualquiera de los racks de muestra pertenecientes al equipo, con la etiqueta hacia el frente, donde sea visible completamente, introducir el rack de muestras en el equipo, esperar a que lo reconozca y solicitar la realización del test en el enunciado que dice “Coombs directo”.
- El equipo demora 15 minutos en realizar la determinación, una vez transcurrido el tiempo, el rack puede ser retirado para la validación de la muestra.
- Interpretación: En el IH-Com debemos aceptar o rechazar el resultado de la muestra, teniendo en cuenta que la cantidad de cruces otorgadas por el equipo es la correcta, para esto, debemos dar al botón “Aceptar todos” y posteriormente al botón “Guardar”.

6.3.1 Test de antiglobulina directa manual

Para llevar a cabo este procedimiento debemos tener en cuenta las diferentes suspensiones de glóbulos rojos que se requieren para cada tipo de procedimiento, para el caso del Test de antiglobulina directa manual debemos:

Preparación de la muestra: Centrifugue la muestra anti coagulada con EDTA a 3500 rpm por 5 minutos, el volumen mínimo que podemos aceptar es de 0.5 mL.

Procedimiento:

- Utilice la tarjeta LISS/Coombs.
- Identificar las tarjetas con el número de folio o nombre del paciente y quitar el aluminio que recubre los pocillos de la tarjeta.
- Prepare una suspensión de GR al 0.8%, para esto agregue 1 mL de Diluyente-II y 12.5 µl de concentrado de GR del paciente.
- Agregue 50 µl de la suspensión del paciente al pocillo que destinó para la determinación.
- Centrifugue la tarjeta por 10 minutos en la Centrifuge 6 S.
- Lea en el equipo BANJO e interprete en equipo IH-Com.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA <small>SAN ANTONIO</small>	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Edición: Quinta
		Página 11 de 20
		Fecha: agosto 2023



Imagen 5. Test de antiglobulina directa manual

6.4 Prueba de compatibilidad automatizada y manual en gel BIO-RAD

Sólo se realizarán pruebas de compatibilidad a unidades de glóbulos rojos, las cuales serán registradas en libro “Pruebas de compatibilidad” y programa e-delphyn.

Las transfusiones de plasmas, crioprecipitados serán en primera opción isogrupo, y segunda opción ABO compatibles los registros de estas serán directamente en el programa e-delphyn.

Las transfusiones de plaquetas serán en primera opción isogrupo, y segunda opción ABO compatible y en última opción de cualquier grupo, serán registradas directamente en programa e-delphyn.

Las clasificaciones inmunohematológicas serán registradas en sistema informático e-delphyn.

La prueba de compatibilidad es utilizada para determinar si la/s unidad/es de glóbulos rojos, ya sean leucodepletados o leucorreducidos, del donante son compatibles con el plasma del paciente que requiere la transfusión.

Para dicha prueba es necesario enfrentar los glóbulos rojos del donante contra el plasma del paciente, con la función de brindar una transfusión lo más segura posible.

Para la realización de las pruebas de compatibilidad en sistema automatizado o manual, se debe tener en cuenta que la cantidad de muestra requerida es de 3 mL, los cuales deben venir en tubo lila con anticoagulante EDTA, el cual debe ser centrifugado a 3500 rpm por 5 minutos, dejando así separados el plasma del paquete globular de la muestra.

La muestra debe ser corroborada con los datos de la solicitud de transfusión y con el consentimiento informado firmado por el paciente y el médico tratante (en el caso de que el paciente no se encuentre consciente, sea menor de edad y/o tenga discapacidad mental puede firmar su tutor legal o en su defecto el médico tratante).

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SANTO ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 12 de 20
		Fecha: agosto 2023

La bolsa a elegir debe ser del mismo isogrupo del paciente al que se le solicita la transfusión, en el caso de no tener en stock bolsas con el mismo isogrupo se debe solicitar el centro de sangre y/o si el paciente lo requiere en poco tiempo, elegir con otro isogrupo que sea compatible con el paciente.

Antes de realizar el procedimiento, se debe ingresar los datos del paciente al registro manual de pruebas de compatibilidad, en el cual se debe escribir:

- Fecha del procedimiento.
- Nombre del paciente.
- Grupo ABO/Rh-D del paciente.
- Procedencia.
- Diagnóstico.
- Porcentaje de hematocrito.
- Resultados en cruces de prueba de compatibilidad, prueba autóloga, detección de anticuerpos irregulares I y II.
- Numero de matraz con el que se enfrenta el plasma del paciente.
- Fecha de extracción del matraz.
- Grupo ABO/Rh-D del matraz.
- Firma del responsable del procedimiento.

6.4.1 Pruebas de compatibilidad automatizada

Una vez corroborados los datos del paciente donde concuerdan con los datos de la solicitud de transfusión y el consentimiento informado, la muestra debe ser incorporada en cualquiera de los rack de muestra pertenecientes al equipo, con la etiqueta hacia el frente, donde sea visible completamente, introducir el rack de muestras en el equipo, esperar a que lo reconozca y solicitar la realización del test en el enunciado que dice “*PRUEBAS CRUZADAS*” luego presionar el código de la muestra, seguido del botón “*PRUEBAS CRUZADAS*” e indicar cuales son las muestras que quiere enfrentar al plasma del donante. El equipo demora 35 minutos en realizar la determinación, una vez transcurrido el tiempo, el rack puede ser retirado para la validación de la muestra.

Interpretación: En el IH-Com debemos aceptar o rechazar el resultado de la muestra, teniendo en cuenta que la cantidad de cruces otorgadas por el equipo es la correcta, para esto, debemos dar al botón “Aceptar todos” y posteriormente al botón “Guardar”.

Dejar registro de los resultados en el libro de pruebas de compatibilidad.

IMPORTANTE: Cualquier cantidad de cruces igual o mayor a +/- debe ser considerada como un donante incompatible y debe realizar el procedimiento con otra bolsa.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SANTO ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 13 de 20
		Fecha: agosto 2023

6.4.2 Pruebas de compatibilidad manual

Para la realización de este procedimiento, debemos tener confirmado que la información de la muestra del paciente corresponde a la información de la solicitud de transfusión y a la del consentimiento informado.

Una vez tenemos la muestra del paciente, centrifugada debemos tener en consideración la concentración de glóbulos rojos que enfrentaremos contra el plasma del paciente.

Procedimiento:

- Utilice la tarjeta LISS/Coombs.
- Identificar las tarjetas con el número de folio o nombre del paciente y quitar el aluminio que recubre los pocillos de la tarjeta.
- Prepare una suspensión de GR al 0.8%, para esto agregue 1 ml de Diluyente-II y 20 µl de concentrado de GR del donante.
- Agregue 50 µl de la suspensión en el pocillo previamente identificado.
- Agregue 25 µl de plasma del paciente al pocillo.
- Incube 15 minutos a 37° C en el Incubador 37 S II de BIORAD.
- Saque del incubador y centrifugue la tarjeta por 10 minutos en la Centrifuge 6 S.
- Lea en el equipo BANJO e interprete en equipo IH-Com.

Interpretación: En el IH-Com debemos aceptar o rechazar el resultado de la muestra, teniendo en cuenta que la cantidad de cruces otorgadas por el equipo es la correcta, para esto, debemos dar al botón “Aceptar todos” y posteriormente al botón “Guardar”.

Dejar registro de los resultados en el libro de pruebas de compatibilidad.

IMPORTANTE: Cualquier cantidad de cruces igual o mayor a +/- debe ser considerada como un donante incompatible y debe realizar el procedimiento con otra bolsa.

6.5 Clasificación de grupo ABO/Rh(D) EN ABD PAD (DIAGAST)

Los dispositivos PAD utilizan la tecnología M-TRAP patentada la cual permite detectar, a partir de una muestra de sangre, una reacción entre un antígeno eritrocitario y un anticuerpo dirigido específicamente contra este antígeno.

Esta técnica se fundamenta en un test de inmuno-fijación por círculos (spots). Los hematíes testeados que son portadores de un antígeno, interaccionan con los anticuerpos correspondientes, revelando un círculo de color rojo. Los hematíes que no portan un antígeno, no interaccionan con los anticuerpos y atraviesan una membrana. El spot aparecerá blanco.

Dicha implementación se aplica solamente para la reclasificación de un paciente y/o bolsa de GR a transfundir, por ningún motivo sirve como determinación ni confirmación de grupo ABO, por lo que su uso debe ser limitado.

Para la determinación y/o confirmación de un grupo ABO/Rh-D debe realizarse a través de las técnicas estandarizadas para estos procedimientos.

Procedimiento:

- Corroborar el nombre y Rut del paciente con la orden de transfusión, en el caso de un paciente inconsciente mirar el brazalete de identificación.
- Tener a mano todos los implementos a utilizar, algodón con alcohol, lancetas, algodón limpio seco, pipeta para depositar la sangre, DIAGAST ABD PAD, PAD BUFFER.
- Agregar 3 gotas de PAD BUFFER en cada uno de las almohadillas a utilizar (A,B,D).
- Limpiar el dedo del paciente mediante algodón empapado de alcohol.
- Dejar que se evapore el alcohol.
- Pinchar el dedo con la lanceta elegida, presionar un poco el dedo hasta obtener la cantidad de sangre necesaria.
- Tomar la gota de sangre y depositarla en la almohadilla A, B y D.
- Agregar 3 gotas de PAD BUFFER en cada uno de las almohadillas a utilizar (A,B,D).
- Interpretar según corresponda, si la almohadilla es de color rojizo esta positivo, si queda en color blanco la reacción es negativa.
- Poner un algodón limpio en el dedo del paciente y/o limpiar el dedo para eliminar restos de sangre.

Tabla 2. Interpretación de resultados ABD (DIAGAST)

A	B	D	RESULTADO
			A Positivo
			B Positivo
			AB Positivo
			O Positivo
			A Negativo
			B Negativo
			AB Negativo
			O Negativo

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SANTO ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 15 de 20
		Fecha: agosto 2023

6.6 Clasificación de grupo ABO/Rh(D) en lámina

La técnica de clasificación de grupo en lámina nos permite la determinación de distintos grupos sanguíneos del sistema ABO y Rh(D), mediante la detección de los antígenos A, B, los cuales pueden ser interpretados como grupo A, B, AB Y O, mientras que para el grupo Rh-D este puede ser Positivo como Negativo.

Actualmente se recomienda la utilización de técnicas manuales, semi-automatizadas y automatizadas de tubo, sistema de geles y sistema de microplaca.

La utilización de técnica en lámina para la clasificación ABO no constituye una metodología reconocida por el Instituto de Salud Pública de Chile, debido a que la técnica es menos sensible para la clasificación de ABO y puede presentar errores, involucra solamente la parte globular para la clasificación, no permite detectar discrepancias y/o subgrupos.

Es por esto que la técnica de clasificación ABO/Rh-D en lámina solamente sirve para reclasificar y verificar un grupo previamente establecido, como lo son la reclasificación a los pies del paciente que será transfundido y/o la reclasificación de bolsas de GR a transfundir.

Para este procedimiento, ya sea para reclasificación de paciente y/o bolsa necesitará los siguientes reactivos: Antisuero anti-A (color azul), Antisuero anti-B (color amarillo), Antisuero anti-AB (transparente) y Antisuero anti-D (transparente), una placa de vidrio asignada para su procedimiento o en su defecto portaobjetos limpios.

Se debe tener en cuenta la realización de inspección visual de todos los reactivos y láminas a utilizar, confirmar la fecha de vencimiento, láminas limpias, portaobjetos sin fisuras ni quebrados.

En el caso de la determinación de los grupos a pacientes que serán transfundidos.

Procedimiento:

- Corroborar el nombre y Rut del paciente con la orden de transfusión, en el caso de un paciente inconsciente mirar el brazalete de identificación
- Tener a mano todos los implementos a utilizar, algodón con alcohol, lancetas, algodón limpio seco, lámina o portaobjetos, pipeta para depositar la sangre, antisueros A, B, AB y D.
- Limpiar el dedo del paciente mediante algodón empapado de alcohol.
- Dejar que se evapore el alcohol.
- Pinchar el dedo con la lanceta elegida, presionar un poco el dedo hasta obtener la cantidad de sangre necesaria.
- Tomar la gota de sangre y depositarla en la lámina o portaobjetos.
- Agregar una gota de cada antisuero a las 4 gotas de sangre que depositó en la lámina o portaobjetos.
- Homogenizar la muestra y el antisuero con otro porta objetos, teniendo en cuenta que para cada antisuero debe ser una parte diferente del portaobjetos.
- Realizar movimientos circulares con la lámina o portaobjetos.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SAN ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 16 de 20
		Fecha: agosto 2023

- Interpretar la aglutinación de cada uno de los antisueros.
- Poner un algodón limpio en el dedo del paciente y/o limpiar el dedo para eliminar restos de sangre.

IMPORTANTE: la interpretación del grupo ABO Rh-D en lámina es a través de positivo o negativo y no a través de cruces como es en la técnica en gel y/o tubo.

Tabla 3. Interpretación de resultados en lámina, sistema ABO

ANTI-A	ANTI-B	ANTI-AB	RESULTADO
+	-	+	A
-	+	+	B
+	+	+	AB
-	-	-	O

Tabla 4. Interpretación de resultados en lámina sistema Rh(D)

ANTI-D	RESULTADO
+	D POSITIVO
-	D NEGATIVO

Tabla 5. Interpretación de resultados en lámina sistema ABO

Grupo sanguíneo Suero Clasificador	A	B	AB	O
	Anti-A	+	(-)	+
Anti-B	(-)	+	+	(-)
Anti-AB	+	+	+	(-)

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA <small>SAN ANTONIO</small>	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTr 1.2
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Edición: Quinta
		Fecha: agosto 2023

6.7 Clasificación de grupo ABO adulto y recién nacido en tubo

Procedimiento:

- En una gradilla colocar 6 tubos Khan, 4 de ellos rotulados con letras A, B, AB y D respectivamente y dos tubos rotulados como GA1 y GB.
- Agregar 2 gotas de suero clasificador: anti-A al tubo marcado A, 2 gotas anti-B al tubo marcado B, 2 gotas AB al tubo marcado AB y dos Gotas anti-Rh(D) al tubo marcado D (prueba directa).
- En los tubos marcados como GA1 y GB agregar 2 gotas del suero del paciente.
- Hacer una suspensión de los glóbulos rojos del paciente, suspendidos en una concentración de 2 al 4% en su propio suero (buffer PBS o NaCl 0,9%) y dispensar una gota a los tubos marcados con la letra A, B, AB, D.
- Con glóbulos rojos testigos A y B suspendidos a una concentración de 2 al 4 % agregar 1 gota de los glóbulos rojos A al tubo marcado como GA1 y una gota de los glóbulos rojos B al tubo marcado como GB (prueba inversa).
- Incubar en la misma gradilla a temperatura ambiente durante 1 hora, en caso de necesitar resultados con premura, centrifugar durante 1 minuto a 1000 rpm, leer en fuente de luz agite suavemente y observe si existe o no aglutinación macroscópica, registrar en cruces.

Interpretación de resultados: los resultados obtenidos para la prueba directa e inversa deben ser analizados según lo expuesto en el siguiente cuadro:

Tabla 6. Interpretación de resultados clasificación ABO adulto y recién nacido

Grupo sanguíneo / Suero Clasificador	A	B	AB	O	GA1	GB
Anti-A	+	(-)	+	(-)	(-)	+
Anti-B	(-)	+	+	(-)	+	(-)
Anti-AB	+	+	+	(-)	(-)	(-)

Falsos Positivos:

- Prueba autóloga positiva en pacientes con autoanticuerpos.
- Presencia de crioaglutininas o panaglutininas.

Falsos Negativos:

- No agregar el suero clasificador a la lámina.
- Suspensión de los glóbulos rojos en concentración incorrecta.
- No observación de hemolisis

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SANTO ANTONIO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 18 de 20
		Fecha: agosto 2023

6.8 Confirmación de Rh(D)

Utilizada para determinar la presencia en forma parcial o débil, o confirmar la ausencia del antígeno D en la membrana de los glóbulos rojos del paciente. Realizar en pacientes que al momento de realizada la determinación de antígeno D resulten negativos en determinación en tubo.

Procedimiento:

- El mismo tubo en que se realizó la clasificación Rh(D) y que resultado negativo, se agrega nuevamente 1 gota de suero anti Rh(D) se centrifuga por 1 minuto a 1000 rpm y se lee sobre una fuente de luz.
- De ser negativo se agrega LISS y se incuba por 15 minutos a 37 °C en baño termostático.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación se centrifuga por 1 minuto a 1000 rpm y se lee. De constatar la ausencia de aglutinación se procede a lavar los glóbulos rojos 3 a 5 veces con NaCl 0,9% (o Buffer PBS).
- Posterior al último lavado, se deja que escurra la mayor cantidad de NaCl 0,9% por las paredes del tubo.
- Luego de lavar tres veces los glóbulos se secan completamente, invirtiéndolo sobre papel absorbente y se les añaden dos gotas de suero anti globulina humana. Se centrifuga por 1 minuto a 1000 rpm, leer en fuente de luz, agite suavemente y observe si existe o no aglutinación macroscópica, registrar en cruces.

Interpretación de Resultados: Los resultados obtenidos deben ser analizados según la presencia o ausencia de aglutinación que así mismo indica presencia o ausencia de antígeno en la membrana del glóbulo rojo.

Falsos Negativos:

- No agregar el suero clasificador al tubo
- Suspensión de los glóbulos rojos en concentración incorrecta.

Falsos Positivos:

- Prueba autóloga positiva en pacientes con autoanticuerpos.
- Presencia de Crioaglutininas o Panaglutininas.
-

Registro de resultados: en sistema informático Bioslis.

6.9 Prueba autóloga:

Es utilizada para determinar la presencia de autoanticuerpos y corroborar que la aglutinación obtenida en los procedimientos realizados sea por positividad de la prueba y no un falso positivo.

- En un tubo Khan marcado como PA agregar dos gotas de suero paciente.
- Luego agregar una gota de glóbulos rojos suspendidos en el mismo suero del paciente en una concentración entre 2 al 4 %
- Dejar a temperatura ambiente por 1 hora o centrifugar a 1 minuto a 1000 rpm.
- Leer en fuente de luz, agite suavemente y observe si existe o no aglutinación macroscópica, registrar en cruces.

 HOSPITAL CLAUDIO VICUÑA SANTO DOMINGO	Hospital Claudio Vicuña	Código: APTTr 1.2
		Edición: Quinta
	Protocolo determinación ABO/Rh-D y detección de anticuerpos irregulares	Página 19 de 20
		Fecha: agosto 2023

6.10 Detección de anticuerpos irregulares

Se utiliza para detectar anticuerpos irregulares de tipo IgG presentes en el suero del paciente frente a antígenos específicos conocidos.

Procedimiento:

- Rotular dos tubos de Khan con números romanos I y II y agregar dos gotas de suero paciente en cada uno de ellos.
- Añadir al tubo I, 1 gota de glóbulos rojos de panel comercial I
- Añadir al tubo II, 1 gota de glóbulos rojos de panel comercial II
- Centrifugar a 1 minuto a 1000 rpm, leer en fuente de luz, agite suavemente y observe si existe o no aglutinación macroscópica, registrar en cruces.
- De ser negativa la lectura anterior, a los tubos I y II agregar 2 gotas de LISS e incubar a 37°C por 15 minutos.
- Centrifugar a 1 minuto a 1000 rpm, leer en fuente de luz, agite suavemente y observe si existe o no aglutinación macroscópica, registrar en cruces.
- De seguir siendo negativa la lectura lavar los glóbulos rojos de los tubos I y II con NaCl 0,9% (o PBS) por 3 veces, en el último lavado eliminar la mayor cantidad de sobrenadante decantando en papel absorbente todo el NaCl 0,9% posible y agregar una gota de SAGH y re suspender el botón de eritrocitos.
- Centrifugar a 1 minuto a 1000 rpm, leer en fuente de luz, agite suavemente y observe si existe o no aglutinación macroscópica, registrar en cruces.

Falsos Negativos:

- No agregar el suero del paciente a cada tubo.
- Suspensión de los glóbulos rojos en concentración incorrecta.

Falsos Positivos:

- Prueba antóloga positiva en pacientes con autoanticuerpos.
- Presencia de crioaglutininas o panaglutininas.

Registro de resultados: en sistema informático Bioslis.

6.11 Test de antiglobulina directa

Se utiliza para la pesquisa de anticuerpos de tipo IgG o fracciones del complemento adherido a la membrana del glóbulo rojo del paciente *"in vivo"*.

Procedimiento:

- Lavar glóbulos rojos del paciente con suero fisiológico (o buffer PBS) 3 a 5 veces, en el último lavado re suspender los glóbulos en suero fisiológico a una concentración entre 2 al 4 %.
- Colocar una gota de ésta suspensión en un tubo de khan previamente marcado como "CD" y agregar 1 gota de SAGH.
- Centrifugar a 1 minuto a 1000 rpm, leer en fuente de luz, agite suavemente y observe si existe o no aglutinación macroscópica, registrar en cruces.



Imagen 6. Test de antiglobulina directa

7. **Criterios de Calidad:** N/A

8. **Flujograma:** N/A

9. **Distribución:**

- Unidad de Medicina Transfusional

10. **Anexos:** N/A

11. **Formulario de control de cambios:**

Número de edición	Cambios	Fecha	Firma