

<b>DISTRIBUCIÓN:</b>	
<b>DEPARTAMENTO</b>	<b>RESPONSABLE</b>
Dirección	Jefe de la Unidad de Calidad
Hematología	Jefe de la Unidad de Hematología
Enfermería	Coordinadora de Enfermería

<b>SUMARIO DE MODIFICACIONES</b>		
<b>REVISIÓN</b>	<b>FECHA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
A	29/01/07	Primera edición

<b>PREPARADO</b>	<b>REVISADO Y APROBADO</b>
<p>Nombre: Marga Alcover Cargo: Coordinadora de Enfermería Fecha: 29/01/07</p>	<p>Nombre: Joan Bargay Cargo: Jefe de Unidad de Hematología Fecha: 29/01/07</p>
<p>La documentación del Sistema de Gestión de la Calidad se encuentra en la Intranet de Hospital Son Llàtzer. Existe una única copia papel autorizada y controlada en poder del Coordinador de Calidad, por lo que cualquier otro documento papel se considerará copia no controlada.</p>	

## DEFINICIÓN

La determinación del grupo AB0 comprende dos pruebas distintas:

- 1) **Prueba celular:** realizada con los hematíes (investigación de los antígenos A y B)
- 2) **Prueba sérica:** realizada con el suero (investigación de anticuerpos anti-A y anti-B)

### 1.1. PRUEBA CELULAR

(Puede realizarse simultáneamente a la determinación del factor Rh)

#### 1.1.1. Técnica en placa:

**MATERIAL:** placa de metacrilato (o vidrio)  
Pipetas Pasteur  
Varillas o palillos para mezclar (puede utilizarse el fondo de un tubo de hemólisis)

**MUESTRA:** Sangre recogida en EDTA (tubo tapón lila)  
Homogenizar adecuadamente la sangre antes de realizar la prueba

**REACTIVOS:** Anti-A (azul)  
Anti-B (amarillo)  
Anti-AB (incolore)  
Solución de albúmina al 22-30 %

#### PROCEDIMIENTO

1. Anotar en la *Hoja de Trabajo* los datos del paciente
2. Sobre una placa de metacrilato bien limpia y seca dejar caer una gota de cada uno de los reactivos (mantener el orden que figura en la *Hoja de Trabajo*)



Anti A



Anti B



Anti AB

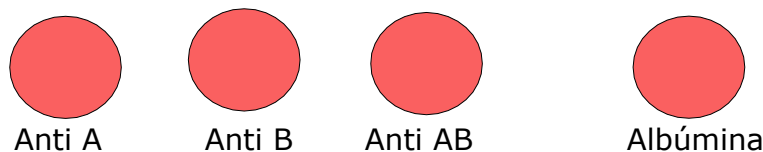


Albúmina

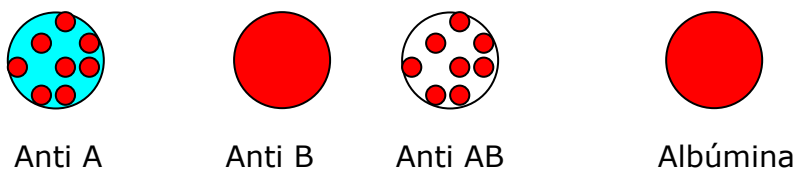
3. Añadir junto a cada gota de reactivo otra de la sangre a estudiar utilizando una pipeta Pasteur y procurando que sea más pequeña que aquella (Aproximadamente la mitad)  
(Ello se puede conseguir contactando la placa con la punta de la pipeta en lugar de dejarla caer)



4. Mezclar cada gota de reactivo con la de sangre utilizando un palillo, varilla de cristal o el fondo de un tubo de hemólisis. Si se utilizan palillos emplear uno distinto para cada mezcla. Si se utiliza varilla de cristal o tubo de hemólisis limpiarlo cuidadosamente entre mezcla y mezcla. Formar un círculo de 2 a 2,5 cm de diámetro.



5. Balancear la placa suavemente y observar durante 2 minutos la formación de aglutinados.



6. Anotar los resultados en la *Hoja de Trabajo*.

Si aglutina, el resultado es positivo y se anota: +  
Si no aglutina, el resultado es negativo y se anota: o

Si se forman aglutinados en la gota de albúmina o control la prueba no es válida. Repetirla usando hematíes lavados o con otra técnica (ver al final de este capítulo "conducta inicial ante una aglutinación con albúmina").

#### OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS

1. Comprobar la identificación de la muestra antes de comenzar.
2. Realizar la prueba con muestras y reactivos a temperatura ambiente
3. Efectuar la lectura bajo una buena fuente de luz (pero que no caliente)
4. No confundir la presencia de microcoágulos en la muestra con aglutinados
5. No valorar como aglutinados los agregados que se forman en los bordes por desecación.
6. No efectuar lecturas tardías (más de 2 minutos)
7. No interpretar el resultado hasta haber efectuado la prueba sérica.

### **1.1.2. Técnica en tubo:**

**MATERIAL:** tubos de vidrio de 12 x 75 mm (tubos de hemólisis)  
Pipetas Pasteur  
Centrífuga de inmunohematología

**MUESTRA:** sangre recogida en EDTA diluida al 5 %  
(2-3 gotas de sangre en 1 mL de solución salina)

**REACTIVOS :** los mismos de la técnica en placa

### **PROCEDIMIENTO**

1. Rotular cuatro tubos con las indicaciones "A", "B", "AB" y "Ctl" (si se analizan varias muestras simultáneamente anotar en los tubos los datos de identificación de cada una).
2. Depositar una gota de cada reactivo en los tubos correspondientes.
3. Añadir a cada tubo una gota de los hematíes suspendidos al 5 %
4. Centrifugar durante un minuto.
5. Resuspender suavemente el botón de hematíes y observar posibles aglutinaciones.
6. Anotar los resultados en la *Hoja de Trabajo*.

### **OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS**

1. Comprobar la identificación de la muestra antes de comenzar.
2. Realizar la prueba con muestras y reactivos a temperatura ambiente
3. Efectuar la lectura bajo una buena fuente de luz (pero que no caliente)
4. No confundir la presencia de microcoágulos en la muestra con aglutinados
5. Para la lectura agitar suavemente el tubo, observando como se deshace el botón de hematíes.
6. La sobrecentrifugación o la centrifugación insuficiente puede dar falsos positivos o negativos.

### **1.1.3. Técnica en gel:**

**MATERIAL:** tubo de vidrio de 12x75 mm (tubo de hemólisis)  
Pipetas automáticas de 50, 25 y 10 lmbdas.  
Incubador para tarjetas de gel.  
Centrífuga para tarjetas de gel.

**MUESTRA:** sangre recogida en EDTA  
(suspensión de hematíes al 5 % en solución liss modificada)

REACTIVOS: tarjetas DiaMed para determinación del grupo ABO (o combinada ABO/Rh)  
Diluyente 2 DiaMed (solución liss modificada)



### PROCEDIMIENTO

1. Rotular con el nombre del paciente un tubo de hemólisis y tarjeta DiaMed, y destapar los pocillos.
2. En el tubo de hemólisis depositar 0,5 ml del DILUYENTE 2.
3. Añadir al tubo 50 lambdas (1 gota) de sangre total o 25 lambdas del sedimento de hematíes.
4. De la suspensión de hematíes, depositar 10 lambdas en cada pocillo.
5. Centrifugar durante 10 minutos. No hace falta incubar.
6. Leer los resultados y anotarlos en la *Hoja de Trabajo*.

0,5 mL Diluyente 2 + 50  $\mu$ L sangre

10  $\mu$ l en cada pocillo

centrifugar y leer

**PROCEDIMIENTO (\*)**

<b>Preparar la suspensión de hematíes al 5%</b>	
ID-Diluyente 2	0,5 ml
Sangre total	50 µl
o bien	
Sedimento	25 µl
<b>Mezclar bien</b>	
La suspensión puede ser usada inmediatamente	
<b>Escribir la identificación en las tarjetas</b>	
Resuspender y añadir en los microtubos	10 µl
<b>Centrifugar 10 minutos</b>	
<b>Leer</b>	

**OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS**

- Si las tarjetas no han sido correctamente almacenadas en posición vertical pueden quedar gotas de antisuero en los bordes del pocillo, pudiendo producirse contaminación al añadir la suspensión de hematíes.
- El pocillo de control (Ctl) debe dar siempre reacción negativa.
- Para leer los resultados, observar que no haya doble población (presencia de fibrina en la parte superior del pocillo).

**1.2. PRUEBA SÉRICA**

**1.2.1 Técnica en tubo:**

**MATERIAL:** tubos de vidrio de 12 x 75 mm (tubos de hemólisis)  
 Pipetas Pasteur  
 Centrífuga de inmunohematología

**MUESTRA:** plasma o suero del paciente

**REACTIVOS:** hematíes A<sub>1</sub> y B al 0.8%

**PROCEDIMIENTO:**

1. Preparar 2 tubos de hemólisis rotulados con "A" y "B" respectivamente. (si se realizan varias determinaciones simultáneas anotar la identificación de cada uno)
2. Colocar 2 gotas del suero o plasma del paciente en cada tubo.

3. Añadir 1 gota de la suspensión de hematíes A<sub>1</sub> en el tubo "A"  
Añadir 1 gota de la suspensión de hematíes B en el tubo "B"
4. Mezclar por agitación suave.
5. Centrifugar durante 1 minuto.
6. Resuspender suavemente el botón de hematíes y observar la presencia o no de aglutinados.
7. Anotar los resultados en la *Hoja de Trabajo*.

#### OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS

Todas las recomendaciones de la técnica en tubo de la prueba celular son también válidas para la prueba sérica.

1. Es recomendable dejar incubar la mezcla 10 minutos a temperatura ambiente antes de centrifugar.
2. La presencia de anticuerpos anti-A o B muy potentes pueden hemolizar los hematíes (hemolisinas) pudiendo interpretar la prueba como negativa. Observar si hay hemólisis (sobrenadante uniformemente rojizo pero nítido)

#### 1.2.2 Técnica en gel:

**MATERIAL:** Pipeta 50 µl o pipeta Pasteur  
Centrífuga para tarjetas de gel (DiaMed)

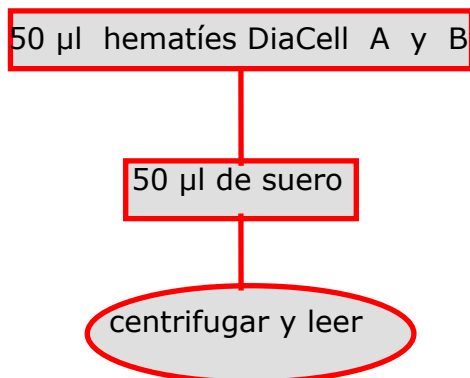
**MUESTRA:** Suero o plasma del paciente

**REACTIVO:** Tarjeta DiaMed ID-Salina-Enzimática (color naranja)  
Hematies A<sub>1</sub> y B al 0,8 % (ID-DiaCell ABO).  
Pocillos enzimáticos de tarjeta grupo ABO/Rh de diamed.



### PROCEDIMIENTO

1. Destapar 2 pocillos de la tarjeta DiaMed. Rotular con "A" y "B" y el nombre del paciente.
2. Depositar 50 µl (una gota) de hematíes A en el pocillo A. Depositar 50µl (una gota) de hematíes B en el pocillo B.
3. Añadir a cada pocillo 50 µl (una gota) del suero o plasma del paciente.
4. Centrifugar durante 10 minutos. Es preferible incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
5. Leer los resultados y anotarlos en la *Hoja de Trabajo*. (ver ficha de lectura de resultados en tarjetas DiaMed)



### OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS

1. Comprobar la identificación de las muestras antes de comenzar.
2. Realizar la prueba con hematíes y suero a temperatura ambiente.
3. Homogenizar adecuadamente las suspensiones de hematíes antes de utilizarlas.
4. Asegurarse de que el suero no contiene restos de fibrina.
5. No calentar las tarjetas a 37°C.
6. Asegurarse en la lectura de que no se ha producido hemólisis

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBA CELULAR Y SÉRICA

Prueba celular				Prueba sérica		GRUPO
anti-A	anti-B	anti-AB	Albúmina *	Hemat. A	Hemat. B	
0	0	0	0	+	+	<b>O</b>
+	0	+	0	0	+	<b>A</b>
0	+	+	0	+	0	<b>B</b>
+	+	+	0	0	0	<b>AB</b>

Una aglutinación con la albúmina invalida la prueba.

Si hay discrepancia entre la prueba celular y la prueba sérica, poner en conocimiento del hematólogo y seguir el apartado 3 de este manual.

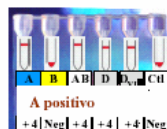
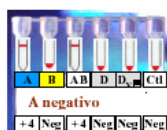


(En casos de A muy débiles puede darse la aglutinación con el Anti-AB y no con el Anti-A)

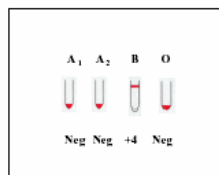
*Sistema de Grupo ABO*  
*(Grupo Hemático / Grupo Sérico)*

**GRUPO A**

**Grupo Hemático**

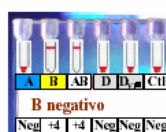


**Grupo Sérico de A**

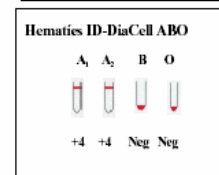


**GRUPO B**

**Grupo Hemático**

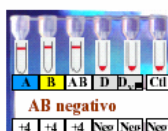


**Grupo Sérico de B**

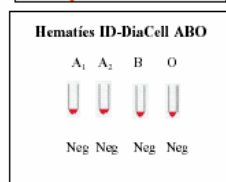


**GRUPO AB**

**Grupo Hemático**

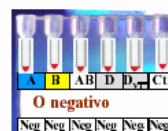


**Grupo Sérico de AB**

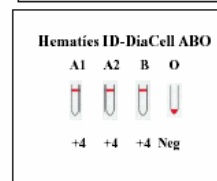


**GRUPO O**

**Grupo Hemático**



**Grupo Sérico de O**



## **AGLUTINACIÓN CON ALBÚMINA O CONTROL**

### **CAUSAS MÁS FRECUENTES DE AGLUTINACIÓN CON ALBÚMINA:**

- 1.- Formación de "pilas de monedas" (fenómeno de "rouleaux"). Se pueden producir cuando existen intensas disproteinemias: mielomas, cirrosis, VSG acelerada, etc.
- 2.- Defectos de la muestra: microcoágulos, gelatina de Wharton en las sangres de cordón, etc.
- 3.- Presencia de crioaglutininas o autoanticuerpos activos a temperatura ambiente (M,N,P,Lewis,etc.)
- 4.- Lecturas tardías (deseccación).
- 5.- Contaminación de la solución de albúmina.

### **CONDUCTA ANTE UNA AGLUTINACIÓN CON ALBÚMINA O RH CONTROL**

1. Comprobar la calidad de la muestra y el diagnóstico del paciente.
2. Repetir la prueba con hematíes lavados por tres veces en solución salina isotónica y resuspendidos al 20% (1 gota del sedimento de hematíes por cada 4 de solución salina).
3. Repetir la determinación por otra técnica (tubo o gel).
4. Realizar una prueba de antiglobulina directa (Coombs) a los hematíes (ver técnica)
5. Ponerlo en conocimiento del hematólogo.