	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO	84 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO EN TUBO	CODIGO

20 DETERMINACION DE GRUPO SANGUINEO EN TUBO

20.1 OBJETIVO

Determinar el grupo sanguíneo ABO.Rh

20.2 ALCANCE

En muestras de sangre entera (sangre con o sin anticoagulante).

20.3 RESPONSABILIDADES

Personal: Bioquímico y Técnico.

20.4 CONDICIONES DE SEGURIDAD

- Protección del personal: vestuario adecuado (guardapolvos), uso de guantes, antiparras y gorros y de más medios de protección e inmunización de Hepatitis B y Tétanos.
- Aplicar las precauciones estándar (incluyendo las universales y referentes a sangre y líquidos corporales) para la manipulación de sangre y tejidos.

20.5 LOCALES

Ambiente con mesón de material apropiado para soportar y no corroerse por líquidos desinfectantes como el Hipoclorito de Sodio al 5 %, debe contar con iluminación natural, la iluminación artificial debe ser complementaria a la luz natural.

20.6 EQUIPOS


- Centrífuga.
- Lámpara de aglutinoscopio.
- Reloj (cronómetro).
- Baño María (con control de temperatura).

20.7 MATERIALES

- Tubos de hemólisis.
- Pipetas Pasteur de plástico.
- Gradillas para tubos de hemólisis.

20.8 REACTIVOS

- Sueros hemoclasificadores:
 - anti-A monoclonal
 - anti-B monoclonal

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO	85 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO EN TUBO	CODIGO

- anti-A,B opcional
- Previamente aprobados por un control de calidad de reactivos, todos los reactivos deben de utilizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- Solución salina (solución de cloruro de sodio al 0.9% o 0.15 M +/- 0.005 M, con un PH de 6.0 a 8.0.
- Hipoclorito de sodio al 5%.
- Suspensión de hematíes de grupo A del 2 al 5 % en solución salina normal o EDTA-solución salina.
- Suspensión de hematíes de grupo B del 2 al 5 % en solución salina normal o EDTA-solución salina.
- Suspensión de hematíes de grupo O del 2 al 5 % en solución salina normal o EDTA-solución salina.

20.9 MUESTRA

Suspensión de hematíes del 2 al 5 % en solución salina normal o EDTA-solución salina del hemocomponente seleccionado para la transfusión y del receptor en estudio (la muestra del hemocomponente debe obtenerse de un segmento sellado de la tubuladura).

Suero del paciente o receptor en estudio.

20.10 PRINCIPIO DE PROCEDIMIENTO


- La aglutinación de los glóbulos rojos con sueros tipificadores anti-A y anti-B indica la presencia del correspondiente antígeno. La ausencia de aglutinación indica la ausencia de este.
- La aglutinación resulta de la fijación de los anticuerpos a los antígenos de varios eritrocitos que forma una red o trama que mantiene unidas a las células.

20.11 OPERACIONES PRELIMINARES

Glóbulos rojos A y B. es factible adquirirlos o preparar una suspensión al 2% - 5% el día del empleo.

Lavado de células:

- Suspender tres gotas de sangre (muestra) en un tubo de hemólisis en solución fisiológica (+/- 3ml.)
- Centrifugar por el periodo de 3 a 4 min descartando el sobre nadante.
- Proceder de la misma manera por tres veces.
- Una vez realizado los lavados suspender las células en una concentración al 2% - 5% en solución fisiológica (eritrocitos con los cuales se debe trabajar)

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO	86 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO EN TUBO	CODIGO

20.12 PROCEDIMIENTO

- a) Colocar en una gradilla tres tubos de hemólisis limpios y rotulados con las letras A, B y AB.
- b) Colocar una gota de anti-A, anti-B y anti-AB en los tubos correspondientes.
- c) Agregar una gota de una suspensión al 2 - 5% (en solución salina) de los glóbulos rojos en estudio. También es posible transferir la cantidad equivalente de glóbulos rojos con varillas limpias
- d) Mezclar el contenido de los tubos con suavidad de acuerdo con las instrucciones, casi siempre 15 a 30 segundos a 900-1000 x g.
- e) Resuspender con suavidad las células y examinar en el aglutinoscopio en busca de aglutinación.
- f) Leer, interpretar y registrar los resultados anotando la intensidad de reacción de 1+ a 4+.
- g) Comparar los resultados de la prueba con los obtenidos en el suero.


20.13 PRUEBA INVERSA O ESTUDIO EN EL SUERO PARA TIPIFICACION ABO

Procedimiento:

- a) Rotular cuatro tubos limpios como A, B, O y autocontrol.
- b) Agregar dos a tres gotas del suero en estudio a cada tubo.
- c) Agregar una gota de suspensión de células del 2% - 5% al tubo rotulado como A agregar una gota de suspensión de células del 2% - 5% al tubo rotulado como B y agregar una gota de suspensión de células del 2% - 5% al tubo rotulado como O respectivamente. Y una gota de suspensión celular al 2% - 5% del receptor para el autocontrol.
- d) Mezclar el contenido de los tubos con suavidad de acuerdo con las instrucciones, casi siempre 15 a 30 segundos a 900 - 1000 x g.
- e) Examinar el suero sobrenadante en busca de signos de hemólisis. Resuspender las células con suavidad y examinar en busca de aglutinación.
- f) Leer, interpretar y registrar los resultados anotando la intensidad de reacción de 1 a 4 cruces.
- g) Comparar los resultados con las pruebas obtenidos en los glóbulos rojos.

20.14 INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- La aglutinación de los glóbulos rojos en estudio y la hemólisis o aglutinación en el suero constituyen resultados positivos.
- La suspensión uniforme después de la resuspensión de las células constituye un resultado negativo.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO	87 DE 4
	PROCEDIMIENTO: DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO EN TUBO	CODIGO

- La interpretación de la tipificación ABO del suero y los glóbulos rojos se ilustran en la siguiente tabla:

Tabla Nº 1: Tipificación ABO de rutina

Reacción de la células evaluadas con:		Reacción del suero evaluado con:			Interpretación
Anti-A	Anti-B	GR A	GR B	GR O	Grupo ABO
O	O	+	+		O
+	O	O	+		A
O	+	+	O		B
+	+	O	O		AB

Fuente: Fuente: Elaborado por Laboratorio Clínico, "Tipificación ABO de rutina", SSU, 2010.

+ = aglutinación; O = sin aglutinación

- Todas las discrepancias entre los resultados de las pruebas en el suero y las células deben resolverse antes de registrar la interpretación del tipo ABO del paciente.
- El resultado del autocontrol debe ser siempre negativo.

NOTA. Cuando se utilizan anticuerpos ABO, las reacciones positivas suelen mostrar aglutinación 3+ a 4+; las reacciones entre los glóbulos rojos y el suero en estudio son más débiles. Las pruebas en suero podrían incubarse a temperatura ambiente durante 5 a 15 minutos.