

## PROCOLO GRUPO SANGUÍNEO Y ANTIGLOBULINA HUMANA TECNICA EN TARJETA MANUAL

Servicio: Hematología y Hemoterapia. Servicio de Transfusión

Fecha de entrega: 16 junio 2009

Destinatario: Técnicos de Laboratorio y Facultativos del Servicio de Trasfusión

Reg: PCM PT 010

CONTROL DE MODIFICACIONES		
DESCRIPCION	Nº Versión	Fecha Edición
Creación: Servicio de Hematología y Hemoterapia. Dra. Perla Salama Bendayán	1	16 /06/2009

Revisado: Servicio de Hematología y Hemoterapia Fecha: 04/05/2009 Firma	Aprobado: Comisión de transfusión Fecha: 05/11/09 Firma
---	---

**INDICE:**

- 1. DATOS GENERALES**
  - 1.1 Aplicación
  - 1.2 Fundamento
  - 1.3 Especificaciones de la muestra
  - 1.4 Reactivos, materiales y equipamiento requeridos
  - 1.5 Indicadores de calidad
  - 1.6 Introducción en el Sistema Informático
  - 1.7 Finalización del trabajo
- 2. DETERMINACIÓN DEL GRUPO SISTEMA ABO**
  - 2.1 Objetivo
  - 2.2 Alcance
  - 2.3 Responsabilidades
  - 2.4. Fundamentos**
    - 2.4.1. Técnica en tarjeta para la determinación de grupo ABO Hemático**
      - 2.4.1.1. Material
      - 2.4.1.2. Técnica
      - 2.4.1.3. Interpretación
    - 2.4.2. Técnica en tarjeta para la determinación de grupo ABO sérico**
      - 2.4.2.1. Material
      - 2.4.2.2. Técnica
      - 2.4.2.3. Interpretación
- 3. TÉCNICA EN TARJETA PARA LA DETERMINACIÓN DEL RH**
  - 3.1 Objetivo
  - 3.2 Alcance
  - 3.3 Responsabilidades
  - 3.4 Fundamentos
    - 3.4.1. Material
    - 3.4.2. Técnica
    - 3.4.3. Interpretación
    - 3.4.4. Algunas consideraciones
    - 3.4.5. Resumen
- 4. ESCRUTINIO DE ANTICUERPOS IRREGULARES**
  - 4.1 Objetivo
  - 4.2 Alcance
  - 4.3 Responsabilidades
  - 4.4 Fundamentos
    - 4.4.1. Escrutinio de Anticuerpos Irregulares al 0.8%**
      - 4.4.1.1. Material
      - 4.4.1.2. Técnica
      - 4.4.1.3. Interpretación
    - 4.4.2. Escrutinio de anticuerpos irregulares al 3%**
      - 4.4.2.1. Material
      - 4.4.2.2. Técnica
      - 4.4.2.3. Interpretación

5. **PRUEBA DE ANTIGLOBULINA HUMANA DIRECTA O COOMBS DIRECTO**
  - 5.1 Objetivo
  - 5.2 Alcance
  - 5.3 Responsabilidades
  - 5.4 Fundamentos
    - 5.4.1. Material
    - 5.4.2. Técnica
    - 5.4.3. Interpretación
6. **PRUEBA CRUZADA**
  - 6.1 Objetivo
  - 6.2 Alcance
  - 6.3 Responsabilidades
  - 6.4 Fundamentos
    - 6.4.1. Material
    - 6.4.2 Técnica
    - 6.4.3. Interpretación
7. **IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES**
  - 7.1 Objetivo
  - 7.2 Alcance
  - 7.3 Responsabilidades
  - 7.4 Fundamentos
    - 7.4.1. Identificación de Anticuerpos Irregulares panel al 0.8%
      - 7.4.1.1 Material
      - 7.4.1.2 Técnica
      - 7.4.1.3 Interpretación
    - 7.4.2. Identificación de anticuerpos irregulares al 3%
      - 7.4.2.1. Material
      - 7.4.2.2 Técnica
      - 7.4.2.3. Interpretación
8. **RECIÉN NACIDO**
  - 8.1 Objetivo
  - 8.2 Alcance
  - 8.3 Responsabilidades
  - 8.4 Procedimiento
    - 8.4.1. Material
    - 8.4.2. Técnica
    - 8.4.3. Interpretación
9. **UTILIZACIÓN DE LA TARJETA NEUTRA**
  - 9.1 Material
  - 9.2 Técnica
10. **PRUEBA CRUZADA INMEDIATA EN TARJETA REVERSE**
  - 10.1 Objetivo
  - 10.2 Alcance
  - 10.3 Responsabilidades
  - 10.4 Fundamento
    - 10.4.1. Material
    - 10.4.2. Técnica
    - 10.4.3. Interpretación

## 11. IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES FRÍOS EN TARJETA REVERSE

### 11.1. Material

### 11.2. Técnica

### 11.3. Interpretación

## 1. DATOS GENERALES

### 1.1. Aplicación

Las técnicas manuales de determinación en tarjeta de grupo, antiglobulina, prueba cruzada e identificación de anticuerpos, se utilizan cuando los métodos automatizados no funcionan o pueden originar retrasos en caso de situación de extrema urgencia. También pueden utilizarse como comprobación de otras técnicas o complemento de las técnicas automatizadas.

### 1.2. Fundamento:

Todas las reacciones determinadas en estas pruebas se basan en la identificación de antígenos, sobre el hematíe y anticuerpos, generalmente en el suero o plasma, que son clínicamente significativos para valorar las pruebas e compatibilidad sanguínea o estudio de anticuerpos patológicos.

### 1.3. Especificaciones de la muestra

Un tubo de EDTA de 5 ml y un tubo de suero sin gel de 10 ml

### 1.4. Reactivos, materiales y equipamiento requeridos:

- Tarjetas específicas: anti-humano poliespecífico, neutra, reverse, ABO /D/ Reverse, recién nacido y ABD/ ABD de Ortho
- Células comerciales de grupo, cribado de anticuerpos o estudio de anticuerpos
- Células de unidades de sangre
- Incubador de tarjetas y centrífuga de tarjetas
- Pipeta automática

### 1.5. Indicadores de calidad:

Vienen determinados en el procedimiento de control de calidad de reactivos y técnicas

### 1.6. Introducción en el Sistema Informático:

Introducir los datos en PROGESA

### 1.7. Finalización del trabajo

El almacenaje de muestras y su conservación se realizará según está indicado en el procedimiento Utilidades y otras funciones.

Para la eliminación de residuos no se precisa de precauciones especiales.

## 2. DETERMINACIÓN DEL GRUPO SISTEMA ABO

### 2.1. Objetivo:

Determinar el grupo hemático y sérico ABO (antígenos del grupo ABO).

### 2.2. Alcance:

TEL de ST.

### 2.3. Responsabilidades:

Facultativo / TEL.

### 2.4. Fundamentos:

Se basa en una reacción antígeno-anticuerpo.

#### 2.4.1. Técnica en tarjeta para la determinación de grupo ABO hemático

##### 2.4.1.1. Material:

- Tubo de EDTA del paciente. Hematíes del paciente diluidos al 4 %.
- Tarjeta ABReverse de Ortho (anti-A, anti-B, columna uno y dos).
- Pipeta automática de Ortho.

##### 2.4.1.2. Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular la tarjeta con identificación del paciente y número de muestra.
- Centrifugar tubo de EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el plasma.
- Con pipeta automática de Ortho: Se aspiran 190 µl de suero salino 0.9% y 10 µl de hematíes del paciente (así se diluyen los hematíes al 4%).
- Añadir 10 µl de hematíes del paciente diluidos al 4% en la columna 1 (anti-A) y 2 (anti-B) (sobre la pared del pocillo).
- Centrifugar durante 5 minutos en centrifugadora.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

##### 2.4.1.3. Interpretación:

- La aglutinación en cualquiera de los pocillos se considera un resultado positivo

- Una suspensión uniforme de hematíes es un resultado negativo
- Esta técnica no puede determinar de una manera precisa el grupo, por lo que solo se utilizará para la confirmación del grupo una vez que se haya determinado anteriormente en tubo.(ver procedimiento PET-ST.01)
- La aglutinación y/ o hemólisis indica la presencia de un anticuerpo correspondiente al antígeno presente en los hematíes en estudio

Pocillo de tarjeta \ Hematíes pac.	Anti-A (1º columna )	Anti-B (2º columna)
Grupo O	No aglutina	No aglutina
Grupo A	<b>Aglutina</b>	No aglutina
Grupo B	No aglutina	<b>Aglutina</b>

#### 2.4.2. Técnica en tarjeta para la determinación de grupo ABO sérico

##### 2.4.2.1. Material:

- Suero/ plasma del paciente.
- Tarjeta ABReverse de Ortho (A1, B: la columna 5 y 6).
- Células A1 y B Affirmagen 3%
- Pipeta automática de Ortho.

##### 2.4.2.2. Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente y número de muestra
- Centrifugar tubo de EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el plasma.
- Añadir 10 µl del reactivo Affirmagen 3% A1 a la columna 5 (A1) y Affirmagen 3% B a la columna 6 (B) (sobre la pared del pocillo).
- Añadir 40 µl de suero/ plasma del paciente a la columna A1 (columna 5) y a la columna B (columna 6) de la tarjeta ABReverse (sobre la pared del pocillo).
- Centrifugar durante 5 minutos en centrifugadora.
- Leer la tarjeta por las dos caras.

##### 2.4.2.3. Interpretación:

- La aglutinación en cualquiera de los pocillos se considera un resultado positivo
- Una suspensión uniforme de hematíes es un resultado negativo.

Pocillos de la tarjeta \ Suero del paciente	HEMATÍES A1 (5ª Columna)	HEMATÍES B (6ª Columna)
Grupo A	No aglutina	<b>Aglutina</b>
Grupo B	<b>Aglutina</b>	No aglutina
Grupo AB	No aglutina	No aglutina
Grupo O	<b>Aglutina</b>	<b>Aglutina</b>

## 2. TÉCNICA EN TARJETA PARA LA DETERMINACIÓN DEL RH :

### 3.1. Objetivo:

Determinar el antígeno D correspondiente al grupo ABO. En sujetos con autoanticuerpos o proteínas séricas anormales los reactivos con alto contenido en proteínas pueden originar resultados no válidos. Por tanto, se hace necesario la utilización del control Rh

### 3.2. Alcance

TEL de ST.

### 3.3. Responsabilidades:

Facultativo / TEL.

### 3.4. Fundamentos

Se basa en una reacción antígeno-anticuerpo.

#### 3.4.1. Material:

- Tubo de EDTA del paciente. Hematíes del paciente diluidos al 4 %.
- Tarjeta ABR de Ortho (anti-D: columna tercera).
- Pipeta automática de Ortho.

#### 3.4.2. Técnica

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente.
- Centrifugar tubo de EDTA durante 5 minutos a 3000 rpm, para separar el plasma.
- Con pipeta automática de Ortho, se aspiran 190 µl de suero salino 0.9% y 10 µl de hematíes del paciente.
- Añadir 10 µl de hematíes del paciente diluidos al 4% en la columna tercera (anti-D) y cuarta (control Rh) (sobre la pared del pocillo).
- Centrifugar durante 5 minutos en centrifugadora.
- Leer la tarjeta por las dos caras.

### 3.4.3. Interpretación

- La aglutinación en el pocillo se considera un resultado positivo
- Una suspensión uniforme de hematíes es un resultado negativo.

Pocillos de la tarjeta Hematíes del pac.	Anti-D (3º Columna)	Control Rh (4º Columna)
Grupo Rh Pos.	<b>Aglutina</b>	<b>No aglutina</b>
Grupo Rh Neg.	<b>No aglutina</b>	<b>No aglutina</b>
Resultado no valorable	<b>Aglutina</b>	<b>Aglutina</b>
Resultado no valorable	<b>No aglutina</b>	<b>Aglutina</b>

El control Rh positivo invalida el grupo Rh.

### 3.4.4. Algunas consideraciones:

- En los casos en que al realizar el grupo hemático no se haya observado aglutinación y exista la duda de que se trate de un grupo débil, hay que enfrentar la célula problema a suero anti-AB con técnica en tubo (ver procedimiento PET-ST-01)
- En los casos en que la determinación del Rh (D) haya sido negativa
  - Determinar Rh en tubo, con otro anti-D (si está disponible) (ver procedimiento PET-ST-01)
  - Si es negativo realizar la prueba del Du en tubo (ver procedimiento PET-ST-01)

### 3.4.5. Resumen

Orden de columnas / pocillos

	A (1º)	B (2º)	D (3º)	Control Rh (4º)	A1 (5º)	B (6º)
Añadir 10µl de GR diluidos del paciente	X	X	X	X		
Añadir 40 µl del suero del paciente					X	X
Añadir 10µl de células comerciales					X	X
Contiene anti-suero	X	X	X			

  

GRUPO HEMÁTICO	RH Y CONTROL RH	GRUPO SÉRICO
----------------	-----------------	--------------

## 4. ESCRUTINIO DE ANTICUERPOS IRREGULARES

### 4.1. Objetivo

Detectar la presencia de anticuerpos irregulares (distintos a los del sistema ABO) circulantes en el suero o plasma del paciente. Detecta la sensibilización “in vitro”.

### 4.2. Alcance

TEL de ST.

### 4.3. Responsabilidades

Facultativo / TEL.

### 4.4. Fundamentos:

El anticuerpo presente en el suero o en el plasma, reaccionará cuando se enfrente a 3 muestras seleccionadas de hematíes del grupo O con carga antigénica conocida. La aglutinación de alguna de las muestras, tras incubación y centrifugación, en presencia de antiglobulina, indica la presencia de un anticuerpo específico.

#### 4.4.1. *Escrutinio de Anticuerpos Irregulares al 0.8%*

##### 4.4.1.1. Material

- Tubo seco (suero del paciente)/Tubo de EDTA (plasma del paciente).
- Surgiscreen 0.8% de Ortho (hematíes del grupo O (tres viales de hematíes: 1, 2, 3).
- Tarjeta AHC de Ortho (EAI 0.8% POLY)
- Pipeta automática de Ortho.
- Incubador de 37°C Ortho.
- Centrifuga.

##### 4.4.1.2. Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente, y en cada columna: 1, 2, 3.
- Llevar los reactivos a temperatura ambiente
- Centrifugar tubo seco/ EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el suero/plasma.
- Añadir 40 µl de suero/ plasma del paciente en las tres columnas de reacción (sobre la pared del pocillo).
- Añadir 50 µl de cada uno de los reactivos de hematíes al 0.8% (1, 2, 3) en la columna correspondiente (sobre la pared del pocillo).
- Incubar a 37 °C durante 10 minutos en incubadora de tarjetas.

- Centrifugar 5 minutos en la centrífuga de tarjetas.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

#### 4.4.1.3. Interpretación:

- Los resultados se darán por cruces 1-4 según la cantidad de hematíes que ascienda por la columna
- Se dará el resultado como negativo cuando estén todos los hematíes en el fondo.
- La aglutinación o hemólisis de los hematíes indica la presencia de uno o varios anticuerpos en el suero o plasma del paciente, que posteriormente habrá que identificar.
- Resultado 4+: Todos los hematíes se quedan arriba, y se considera coombs indirecto positivo (detecta la presencia de algún anticuerpo en el suero o plasma problema).
- Resultado (-): Todos los hematíes sedimentan en el fondo. Se considera coombs indirecto negativo (no existen anticuerpos en el suero o plasma del paciente frente a los antígenos de los hematíes)
- Resultado de 3+, 2+, 1+: Se quedan aglutinados a distinta altura. Indica positividad.
- En doble población, quedan arriba y abajo.

En caso de resultados positivos puede ser necesario enfrentar la muestra a paneles con mayor número de células para su identificación.  
No se realiza esta prueba en la transfusión de plasma o plaquetas.

#### 4.4.2. *Escrutinio de anticuerpos irregulares al 3%*

##### 4.4.2.1. Material

- Tubo seco (suero del paciente)/Tubo de EDTA (plasma del paciente).
- Surgiscreen de Ortho (hematíes del grupo 0 (tres viales de hematíes: 1, 2, 3).
- Tarjeta anti-IgG, C3D, Polyspecific
- Pipeta automática de Ortho.
- Incubador de 37°C Ortho.
- Centrífuga.
- BLISS

##### 4.4.2.2. Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente, y en cada columna: 1, 2, 3.
- Llevar los reactivos a temperatura ambiente
- Centrifugar tubo seco /EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el suero/plasma.
- Dispensar 50 µl de BLISS a todos los pocillos que se vayan a utilizar

- Añadir 40 µl de suero/ plasma del paciente en las tres columnas de reacción (sobre la pared del pocillo).
- Añadir 10 µl de cada uno de los reactivos de hematíes (1, 2, 3) en la columna correspondiente (sobre la pared del pocillo).
- Incubar a 37 °C durante 10 minutos en incubadora de tarjetas.
- Centrifugar 5 minutos en la centrífuga de tarjetas.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

#### 4.4.2.3. Interpretación:

- Los resultados se darán por cruces 1-4 según la cantidad de hematíes que ascienda por la columna
- Se dará el resultado como negativo cuando estén todos los hematíes en el fondo.
- La aglutinación o hemólisis de los hematíes indica la presencia de uno o varios anticuerpos en el suero o plasma del paciente, que posteriormente habrá que identificar.
- Resultado 4+: Todos los hematíes se quedan arriba, y se considera coombs indirecto positivo (detecta la presencia de algún anticuerpo en el suero o plasma problema).
- Resultado (-): Todos los hematíes sedimentan en el fondo. Se considera coombs indirecto negativo (no existen anticuerpos en el suero o plasma del paciente frente a los antígenos de los hematíes)
- Resultado de 3+, 2+, 1+: Se quedan aglutinados a distinta altura. Indica positividad.
- En doble población, quedan arriba y abajo.

En caso de resultados positivos puede ser necesario enfrentar la muestra a paneles con mayor número de células para su identificación.

No se realiza esta prueba en la transfusión de plasma o plaquetas.

## 5. PRUEBA DE ANTIGLOBULINA HUMANA DIRECTA O COOMBS DIRECTO

### 5.1. Objeto:

Determinar la existencia de anticuerpos o proteínas del complemento unidos “in vivo” al hematíe. Se realizará en:

- Estudio de anemia hemolítica autoinmune ( AHAI )
- Enfermedad hemolítica del recién nacido ( EHRN )
- Hemólisis inducida por fármacos
- Reacciones transfusionales aloinmunes.

## 5.2. Alcance:

TEL de ST.

## 5.3. Responsabilidades:

Facultativo/ TEL.

## 5.4. Fundamentos

El anticuerpo pegado al hematíe reacciona con el suero de Coombs poliespecífico.

### 5.4.1. Material

- Tubo de EDTA del paciente. Hematíes del paciente.
- Tarjeta AHC de Ortho (Coombs directo poliespecífico, que contiene anti IgG y anti C3d).
- Pipeta automática de Ortho.

### 5.4.2. Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente.
- Centrifugar tubo de EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el plasma.
- Diluir los hematíes del paciente en salino al 4% (10µl células + 190µl de solución salina)
- Añadir 10 µl de estos hematíes diluidos al 3% en una columna (sobre la pared del pocillo).
- Centrifugar 5 minutos en centrifugadora.
- Leer la tarjeta por las dos caras.

### 5.4.3. Interpretación:

El resultado es positivo si aparece aglutinación:

- 4+: Aglutinado único. No se detectan hematíes sueltos.
- 3+: Algunos aglutinados grandes.
- 2+: Grandes aglutinados en un mar de grupos de hematíes más pequeños.
- 1+. Muchos aglutinados medianos y pequeños con hematíes sueltos.
- Resultado negativo: suspensión de hematíes uniforme.

## 6. PRUEBA CRUZADA

### 6.1. Objeto:

Determinar que el suero del paciente no tiene ningún anticuerpo contra los hematíes de la bolsa a transfundir.

## 6.2. Alcance:

TEL de ST.

## 6.3. Responsabilidades:

Facultativo / TEL.

## 6.4. Fundamentos

Los hematíes del donante se mezclan con suero del paciente en presencia de un reactivo de antiglobulina. Si tras incubar y centrifugar aparece aglutinación, indica que algún anticuerpo del suero del receptor se ha unido a los hematíes del donante.

### 6.4.1. Material

- Hematíes del donante.
- Suero/ plasma del paciente.
- Diluyente BLISS de Ortho.
- Tarjeta AHC de Ortho (Prueba cruzada Poly).
- Pipeta automática de Ortho.

### 6.4.2. Técnica:

- Hacer la prueba cruzada (PC) de una en una, para evitar confusión de las muestras.
- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente, y en cada columna los números correspondientes a las bolsas seleccionadas.
- Diluir hematíes de la bolsa (se sacan del macarrón) al 4% con suero salino (10µl células + 190µl de solución salina)
- Se añaden en una columna 50 µl de diluyente BLISS + 40 µl del suero/plasma del paciente + 10 µl de hematíes del donante diluidos al 4%.
- Incubación a 37°C durante 10 minutos.
- Centrifugar 5 minutos en centrifugadora.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

### 6.4.3. Interpretación:

- La aglutinación en la columna se considera un resultado positivo.
- Una suspensión uniforme de hematíes es un resultado negativo

## 7. IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

### 7.1. Objetivo

Identificar qué anticuerpo o anticuerpos (distintos a los del sistema ABO) circula en el suero o plasma del paciente. Se realiza tras un escrutinio de anticuerpos irregulares positivo.

## 7.2. Alcance

TEL de BS

## 7.3. Responsabilidades

Facultativo / TEL.

## 7.4. Fundamentos:

El anticuerpo presente en el suero o en el plasma, reaccionará cuando se enfrente a un panel de 11 muestras seleccionadas de hematíes del grupo O con carga antigénica conocida. La aglutinación de alguna de las muestras, tras incubación y centrifugación, en presencia de antiglobulina, identificación la presencia de un anticuerpo específico.

### 7.4.1. Identificación de Anticuerpos Irregulares panel al 0.8%

#### 7.4.1.1. Material

- Tubo seco (suero del paciente)/ tubo EDTA (plasma del paciente).
- Reactivo de células Resolve C Ortho (dos paneles) o panel A. Se utilizará en primer lugar el panel de 11 células no tratadas
- Tarjeta Anti- IgG, C3D, polyspecific
- Pipeta automática de Ortho.
- Incubador de 37°C Ortho.
- Centrifuga eppendorf 5702.
- Hematíes del paciente

#### 7.4.1.2. Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente, y en cada columna: 1, 2, 3... hasta 11 y el pocillo 12 servirá de control
- Llevar los reactivos a temperatura ambiente
- Centrifugar tubo seco/EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el suero/plasma.
- Diluir hematíes del paciente al 4% con suero salino (10µl células + 190µl de solución salina)
- Añadir 40 µl de suero/ plasma del paciente en cada pocillo (12 pocillos) (sobre la pared del pocillo).
- Añadir 50 µl de células comerciales del 1 al 11 en la columna correspondiente (sobre la pared del pocillo).

- En el pocillo 12 dispensar 10µl de células del pacientes diluidas al 4% con suero salino.
- Incubar a 37 °C durante 10 minutos en incubadora de tarjetas.
- Centrifugar 5 minutos en la centrifuga de tarjetas.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

#### 7.4.1.3. Interpretación:

- Los resultados se darán por cruces 1-4 según la cantidad de hematíes que ascienda por la columna
- Se dará el resultado como negativo cuando estén todos los hematíes en el fondo.
- La aglutinación o hemólisis de los hematíes indica la presencia de un anticuerpo en el suero o plasma del paciente
- Resultado 4+: Todos los hematíes se quedan arriba, y se considera positivo (detecta la presencia de algún anticuerpo en el suero o plasma problema).
- Resultado (-): Todos los hematíes sedimentan en el fondo. Se considera negativo (no existen anticuerpos en el suero o plasma del paciente frente a los antígenos de los hematíes)
- Resultado de 3+, 2+, 1+: Se quedan aglutinados a distinta altura. Indica positividad.
- En doble población, quedan arriba y abajo.

Anotar los resultados positivos y negativos en la tabla que a tal efecto está en la caja del panel utilizado. Identificar el anticuerpo. Avisar al hematólogo que comprobará la identificación del anticuerpo

#### 7.4.2. Identificación de anticuerpos irregulares al 3%

##### 7.4.2.1. Material

- Tubo seco (suero del paciente) /plasma del paciente (tubo EDTA).
- Reactivo de células Resolve C Ortho (los 2 paneles) o panel A. Se utilizará en primer lugar el panel de 11 células no tratadas
- Tarjeta anti-IgG, C3D, Polyspecific
- Pipeta automática de Ortho.
- Incubador de 37°C Ortho.
- Centrifuga.
- BLISS
- Hematíes del paciente

##### 7.4.2.2. Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente, y en cada columna: 1, 2, 3... hasta 11 y el pocillo 12 servirá de control
- Llevar los reactivos a temperatura ambiente

- Centrifugar tubo seco/EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el suero/plasma.
- Diluir hematíes del paciente al 4% con suero salino (10µl células + 190µl de solución salina)
- Dispensar 50 µl de BLISS a todos los pocillos que se vayan a utilizar (12 pocillos)
- Añadir 40 µl de suero/ plasma del paciente en cada pocillo (12 pocillos) (sobre la pared del pocillo).
- Añadir 10 µl de células comerciales del 1 al 11 en la columna correspondiente (sobre la pared del pocillo).
- En el pocillo 12 dispensar 10µl de células del pacientes diluidas al 4% con suero salino.
- Incubar a 37 °C durante 10 minutos en incubadora de tarjetas.
- Centrifugar 5 minutos en la centrífuga de tarjetas.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

#### 7.4.2.3. Interpretación:

- Los resultados se darán por cruces 1-4 según la cantidad de hematíes que ascienda por la columna
- Se dará el resultado como negativo cuando estén todos los hematíes en el fondo.
- La aglutinación o hemólisis de los hematíes indica la presencia de un anticuerpo en el suero o plasma del paciente
- Resultado 4+: Todos los hematíes se quedan arriba, y se considera positivo (detecta la presencia de algún anticuerpo en el suero o plasma problema).
- Resultado (-): Todos los hematíes sedimentan en el fondo. Se considera negativo (no existen anticuerpos en el suero o plasma del paciente frente a los antígenos de los hematíes)
- Resultado de 3+, 2+, 1+: Se quedan aglutinados a distinta altura. Indica positividad.
- En doble población, quedan arriba y abajo.

Anotar los resultados positivos y negativos en la tabla que a tal efecto está en la caja del panel utilizado. Identificar el anticuerpo. Avisar al hematólogo que comprobará la identificación del anticuerpo

## 8. RECIÉN NACIDO

### 8.1. Objetivo

Determinar el grupo sanguíneo, Rh y el Coombs directo del recién nacido

### 8.2. Alcance

TEL de BS

### 8.3. Responsabilidades

Facultativo / TEL.

#### 8.4. Procedimiento:

##### 8.4.1. Material

- Tarjeta tipo anti-A/ Anti-B/ Anti-AB /Anti-D / Control /Anti-IgG, C3d, poliespecífico
- Hematíes del recién nacido diluidos al 4% en solución salina (10µl células + 190µl de solución salina)
- Si se trata de sangre de cordón umbilical lavar 5 veces las células en salino y realizar la misma dilución.

##### 8.4.2. Técnica:

- Identificar la muestra y situarla en la gradilla.
- Identificar la tarjeta
- Destapar los pocillos a utilizar
- Dispensar 10µl de hematíes del recién nacido diluidos al 4% en cada uno de los pocillos
- Centrifugar 5 minutos en la centrífuga de tarjetas
- Interpretar los resultados observando la aglutinación (por las 2 caras)

##### 8.4.3. Interpretación

- Los cuatro primeros pocillos corresponden al grupo sanguíneo y Rh.
- El quinto pocillo es un control que debe ser siempre negativo.
- El sexto pocillo (poly) es la prueba de Coombs directo

### 9. UTILIZACIÓN DE LA TARJETA NEUTRA

#### 9.1. Material:

- Tarjeta neutra
- Suero/ plasma del paciente
- Reactivo de células (puede ser Surgiscreen, Resolve C, células del donante para prueba cruzada....).Las que el hematólogo determine para el estudio, con frecuencia se utilizan en los estudios de anticuerpos que reaccionan mejor con células tratadas con enzimas.

#### 9.2. Técnica

- Identificar la muestra y situarla en la gradilla.
- Llevar los reactivos a temperatura ambiente
- Identificar en la tarjeta los pocillos
- Destapar los pocillos a utilizar
- Dispensar 40µl de suero /plasma del paciente en cada uno de los pocillos

- Añadir 10µl de las células seleccionadas a los pocillos respectivos
- Incubar 10 minutos a 37°C en el incubador de tarjetas
- Centrifugar 5 minutos en la centrífuga de tarjetas
- Interpretar los resultados observando la aglutinación (por las 2 caras)

## 10. PRUEBA CRUZADA INMEDIATA EN TARJETA REVERSE

### 10.1. Objeto:

Determinar que el suero del paciente no tiene ningún anticuerpo contra los hematíes de la bolsa a transfundir

### 10.2. Alcance:

TEL de ST.

### 10.3. Responsabilidades:

Facultativo / TEL.

### 10.4. Fundamentos

La prueba cruzada inmediata equivale a un salino inmediato perfeccionado y no sustituye a la prueba cruzada tradicional.

#### *10.4.1. Material*

- Hematíes del donante (bolsa a transfundir).
- Suero/ plasma del paciente.
- Tarjeta Reverse
- Pipeta automática de Ortho.

#### *10.4.2. Técnica:*

- Hacer la prueba cruzada (PC) de una en una, para evitar confusión de las muestras.
- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente, y en cada columna los números correspondientes a las bolsas seleccionadas.
- Diluir hematíes de la bolsa (se sacan del macarrón) al 4% con suero salino (10µl células + 190µl de solución salina)
- Dispensar en cada pocillo 40 µl del suero/plasma del paciente + 10 µl de hematíes del donante diluidos al 4%.
- No incubar
- Centrifugar 5 minutos en centrifugadora.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

#### *10.4.3. Interpretación:*

- La aglutinación en la columna se considera un resultado positivo.
- Una suspensión uniforme de hematíes es un resultado negativo

## 11. IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES FRÍOS EN TARJETA REVERSE

### 11.1. Material

- Hematíes del paciente
- Suero/ plasma del paciente.
- Tarjeta Reverse
- Pipeta automática de Ortho.
- Reactivo de células Resolve C ó A al 0,8% Ortho. Se realiza en células no tratadas.

### 11.2 Técnica:

- Seleccionar las tarjetas, comprobando que no están destapadas o secas.
- Rotular con identificación del paciente, y en cada columna: 1, 2, 3... hasta 11 y el pocillo 12 servirá de control
- Llevar los reactivos a temperatura ambiente
- Centrifugar tubo seco/EDTA durante 5 minutos a 3500 rpm, para separar el suero/plasma.
- Diluir hematíes del paciente al 4% con suero salino (10µl células + 190µl de solución salina)
- Añadir 40 µl de suero/ plasma del paciente en cada pocillo (12 pocillos) (sobre la pared del pocillo).
- Añadir 10 µl de células comerciales del 1 al 11 en la columna correspondiente (sobre la pared del pocillo).
- En el pocillo 12 (control) poner 10 µl de células del paciente diluidas al 4%
- Incubar 15 minutos a 22°C (pueden recomendarse otras temperaturas o sin incubación)
- Centrifugar 5 minutos en centrifugadora.
- Leer la tarjeta por ambos lados.

### 11.3 Interpretación:

Interpretar los resultados observando la aglutinación (por las 2 caras)  
Este método detecta con preferencia anti- Le, Anti-M, Anti-N y Anti-P1. Puede ser utilizado cuando hay sospecha y no se detecte por la identificación de anticuerpos convencional.