

# RECOMENDACIONES PARA LA CLASIFICACIÓN SANGUÍNEA ABO

Versión 1, 2022

## **AUTOR**

**TM. Andrés Aburto Almonacid.**  
Sección Hematología e Inmunoematología.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

## **REVISORES INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE**

**Dra. Verónica Ramírez Muñoz.**  
Subdepartamento Coordinación Externa.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

**BQ. Hugo Moscoso Espinoza.**  
Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

**TM. Eduardo Retamales Castelletto.**  
Sección Hematología e Inmunoematología.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

**TM. Diego Zapata Tapia.**  
Sección Hematología e Inmunoematología.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

## **REVISORES EXTERNOS**

### **Comité de Expertos PEEC Inmunoematología.**

**TM. Guillermo Herrera Calderón.**  
Red Salud UC Christus.

**TM. María Antonieta Núñez Ahumada.**  
Clínica Santa María.

**Dra. María Cristina Martínez Valenzuela.**  
Centro de Sangre Concepción.

**TM. Ramón Schifferli Salazar.**  
Centro de Sangre y Tejidos de Valparaíso.

**TM. Carolina Villalobos Urbina.**  
Hospital Barros Luco Trudeau.

---

# RECOMENDACIONES PARA LA CLASIFICACIÓN SANGUÍNEA ABO

---

## RESUMEN

Este documento presenta una actualización de las recomendaciones para el procedimiento de clasificación sanguínea ABO. Está dirigido a los Centros de Sangre, Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Laboratorios Clínicos, y ha sido consensuado con el Comité de Expertos PEEC del área de Inmunohematología del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia del Instituto de Salud Pública de Chile. Se entregan las directrices para la realización de una adecuada clasificación sanguínea ABO, a fin de contribuir en la calidad de los procesos de cada institución para otorgar medicina transfusional segura. Esta versión del documento incluye las recomendaciones para el análisis de muestras discrepantes y pesquisa de subgrupos ABO.

## ALCANCE

Estas recomendaciones aplican a los Centros de Sangre, Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Laboratorios Clínicos que realizan clasificación sanguínea ABO en primera instancia y a quienes, de acuerdo a su complejidad, realizan la resolución de discrepancias y la determinación de subgrupos a donantes, pacientes en general y mujeres embarazadas, según corresponda al nivel de complejidad del servicio de sangre.

## INTRODUCCIÓN

La clasificación sanguínea ABO, tiene como objetivo determinar la presencia de antígenos y anticuerpos del Sistema ABO en sangre humana.

El sistema ABO posee 4 fenotipos o grupos sanguíneos: A, B, AB y O. Los 4 fenotipos están determinados por la presencia o ausencia de antígenos A y B sobre los Glóbulos Rojos (GR) y por la presencia o ausencia de anticuerpos anti-A y anti-B en el suero. Existe una relación recíproca entre antígenos en GR y anticuerpos en suero. Esta característica permite que al realizar la prueba globular (detección de los antígenos con antisueros específicos) y sérica (detección de anticuerpos con GR A<sub>1</sub> y B, denominados GR testigos) se dispone de una contraprueba para la clasificación ABO, debiendo corresponder inequívocamente el antígeno detectado con los anticuerpos demostrados para asignar el grupo sanguíneo, de lo contrario, corresponde a una discrepancia, lo que impide asignar el grupo ABO hasta aclarar la discrepancia.

En el estudio de las discrepancias ABO se debe tener en consideración la relación con el sistema sanguíneo H, el cual constituye la base para la expresión de los antígenos del sistema ABO en los GR. De esta manera, las personas expresan el antígeno H y dependiendo de los genes ABO expresarán los antígenos A y B correspondientes. Sin embargo, existe el fenotipo raro Bombay que no expresan el antígeno H en los GR y en el plasma se puede evidenciar anticuerpos anti-H.

Una consideración especial corresponde a la clasificación ABO para recién nacidos, debido a que se estima que desarrollan los anticuerpos para este sistema alrededor de los 3 a 6 meses de vida, por lo que no es posible realizar en ellos la prueba sérica, postergando su clasificación formal después de este periodo o al primer año de vida.

## NOMENCLATURAS, ABREVIACIONES Y DEFINICIONES

### Nomenclaturas

a) El sistema sanguíneo ABO consta de 4 fenotipos principales:

Fenotipo	Antígenos en el GR	Anticuerpos en el suero o plasma
O	H	anti-A y anti-B
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	A, B	ausencia de anticuerpos ABO

Cabe mencionar que todos los fenotipos (O, A, B y AB) tienen antígeno H, de hecho existe una proporción descendente en su cantidad desde el fenotipo  $O > A_2 > B > A_2B > A_1 > A_1B > H^{+w}$ .

b) No se debe utilizar la nomenclatura O (cero) para definir al grupo O debido a que:

- La designación O es ampliamente utilizada en Servicios de Sangre y en la literatura científica.
- La similitud “cero positivo” con el término “seropositivo”, genera confusión, siendo el término seropositivo utilizado en pacientes sometidos a una prueba serológica diagnóstica que presenta anticuerpos contra un agente infeccioso (Ej. VIH).

c) No se debe utilizar la nomenclatura numérica antigua (AB-I, A-II, B-III, O-IV) debido a que:

- No define al grupo sanguíneo y redundante en la designación del mismo.
- No es utilizada en la literatura científica.
- Su uso confunde cuando debemos designar algún subgrupo ABO (Ej.  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $B_3$ ).

### Abreviaciones

CPD-A: Citrato, fosfato, dextrosa, adenina

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético

GR: Glóbulos rojos

ISPCH: Instituto de Salud Pública de Chile

IGIV: Inmunoglobulina intravenosa

LISS: Solución de baja fuerza iónica

PBS: Buffer fosfato salino pH 6.9 a 7.2

## Definiciones

Discrepancia ABO: Cuando los resultados eritrocitarios (prueba globular) de la clasificación sanguínea ABO no se complementan con los resultados séricos (prueba sérica). También cuando los resultados históricos en un mismo paciente no concuerdan con la clasificación actual.

Glóbulos rojos testigos ABO: corresponden a glóbulos rojos de fenotipos conocidos que se utilizan como reactivos para evidenciar anticuerpos naturales del sistema ABO. En la prueba sérica de la clasificación de rutina se utilizan los GR A<sub>1</sub> y B, mientras que para la evaluación de discrepancias se deben agregar los GR de fenotipo A<sub>2</sub> y O.

## DESARROLLO

### MUESTRA

La muestra preferente para realizar la clasificación ABO es sangre completa con anticoagulante (EDTA, citrato o CPD-A). Los glóbulos rojos deben ser suspendidos en PBS, LISS o plasma autólogo. Las muestras para estudio deben ser procesadas inmediatamente o ser almacenadas a 4°C y las pruebas deben ser realizadas en el menor tiempo posible, no excediendo las 72 horas desde su obtención. Para todas las condiciones, se deben seguir las especificaciones del fabricante del método o reactivos que se utilizan.

### REACTIVOS

- Sueros clasificadores para técnicas en tubo o microplacas, o tarjetas de geles que contengan anti-A, anti-B y anti-AB (opcional). Debido a la gran potencia de estos reactivos para aglutinar directamente a sus antígenos respectivos, no es necesaria la utilización del suero anti-AB, el cual tiene su utilidad en la clasificación ABO para recién nacidos, en control de calidad y la resolución de discrepancias para el sistema ABO.
- GR testigos A<sub>1</sub> y B en la concentración adecuada para cada técnica: tubo: 2-4%, microcolumna: 0,8-1%, microplaca: 1-3%. De preferencia de procedencia comercial, o en su defecto, de fabricación propia en el laboratorio. Si la opción es la última, los GR testigos A<sub>1</sub> y B deben ser controlados en su aspecto (libre de hemólisis, coloración alterada y coágulos) y evidenciar reacciones claras e inequívocas (especificidad) para los antígenos que fueron fabricados. Debe existir un procedimiento documentado que asegure la calidad de los reactivos de fabricación propia, en base a referencias nacionales o internacionales reconocidas por el Instituto de Salud Pública de Chile (ISPCH).
- Suero fisiológico, PBS o solución diluyente recomendada para la técnica utilizada.

### TÉCNICAS

Se recomienda la utilización de metodologías manuales, semiautomatizadas y automatizadas que utilicen tubos, microplacas o microcolumnas. La utilización de técnica en lámina para la clasificación sanguínea ABO no se encuentra reconocida por el ISPCH, debido a lo siguiente:

- Es la técnica menos sensible para clasificación ABO, y por lo tanto presenta mayores errores.
- Generalmente involucra sólo la parte globular (directa) de la clasificación ABO.
- No permite detectar discrepancias y subgrupos en la clasificación ABO.

Dado lo anterior, la técnica en lámina sólo sirve para “reclasificar” y verificar el grupo sanguíneo ABO previamente establecido por una técnica en tubo, microplaca o microcolumna. En consecuencia, no debe ser utilizada en la rutina y no es reconocida para informar resultados en donantes, pacientes y en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) de Inmunohematología del ISPCH.

## PROCEDIMIENTO

### I. CLASIFICACIÓN SANGUÍNEA ABO DE RUTINA

Para lograr resultados confiables, seguros y de la calidad esperada, el profesional que realice la técnica debe comprender el fundamento en el que se basa y debe realizar una lectura acuciosa del inserto de los reactivos que se utilizarán y procedimientos operativos estandarizados (POEs) involucrados en el proceso, para su cabal comprensión, debiendo seguir rigurosamente todas las indicaciones establecidas en él. Esto se debe realizar cada vez que se cambia un lote de un reactivo o se realiza alguna modificación del método. Con lo anterior, el laboratorio debe definir el procedimiento a realizar para la correcta aplicación de la técnica. A partir de las especificaciones de métodos, equipos y reactivos declarados en los insertos, y de la bibliografía actualizada disponible en relación a éstos, se debe desarrollar el POE, describiendo al menos: i) requisitos de las muestras, ii) sistema de identificación de muestras, iii) protocolos requeridos del método, iv) técnica de visualización e interpretación de los resultados, v) control de las condiciones ambientales y de seguridad, vi) indicar los controles de calidad para asegurar los resultados de las técnicas, e vii) intervalo válido para informar resultados, viii) informe de resultados.

A modo de ejemplo se entrega el siguiente procedimiento tipo:

1. Numerar las muestras que se van a clasificar y centrifugarlas de acuerdo al tiempo estandarizado en la centrífuga para obtener plasma.
2. Preparar en un tubo una suspensión de los GR a tipificar en el diluyente definido, PBS o su propio plasma. Esta suspensión se debe preparar de acuerdo al inserto de la técnica a utilizar: Ej: Tubo: 2-4%, Gel: 5%, Microplaca: 1-3%.
3. A continuación, se detallan las reacciones que se deben realizar por muestra analizada:

Identificación Tubo	Antisuero o plasma	Glóbulos Rojos	Objetivo
A	anti-A (comercial)	Muestra en concentración adecuada a la técnica usada	Determinación de antígeno A en los GR
B	anti-B (comercial)	Muestra en concentración adecuada a la técnica usada	Determinación de antígeno B en los GR
AB	anti-A,B (comercial)	Muestra en concentración adecuada a la técnica usada	Determinación de antígenos A y B en los GR
GRA	Muestra	GR testigos A <sub>1</sub>	Determinación de anticuerpos anti-A en plasma
GRB	Muestra	GR testigos B	Determinación de anticuerpos anti-B en plasma

Cabe destacar, que en la clasificación para recién nacidos sólo se debe realizar la clasificación globular que incluye los 3 primeros reactivos (anti-A, anti-B, anti-A,B) agregando a esta clasificación una prueba de antiglobulina directa.

- Homogenizar y centrifugar de acuerdo a la calibración de tiempo y velocidad de la centrífuga para la lectura de la aglutinación.
- Observar la presencia o ausencia de aglutinación y hemólisis de acuerdo a la técnica de lectura automatizada o manual que recomiende el fabricante. En caso de no existir, usar aquella técnica que permita una mayor sensibilidad del método.
- Registrar los resultados obtenidos de acuerdo a la siguiente tabla de intensidad de reacción:

Características de la aglutinación de acuerdo a la técnica utilizada			
Tubo/Microplaca	Microcolumna	Intensidad de reacción	Score o puntaje
Botón único. Fondo claro. Sin células libres.	Banda homogénea de aglutinados en la parte superior de la columna.	4+	12
Varios aglutinados de gran tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Banda superior de aglutinado y desplazamiento en la parte superior de la columna.	3+	10
Muchos aglutinados de mediano tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Aglutinados pequeños en la columna y a lo largo de la columna.	2+	8
Numerosos aglutinados pequeños. Fondo turbio por GR libres.	Algunos aglutinados pequeños en la columna.	1+	5
Aglutinación escasamente visible. Fondo turbio por GR libres.	Escasos aglutinados de pequeño tamaño en la columna.	+/-	2
Ausencia de aglutinación	Banda de GR al fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados.	0	0

## INTERPRETACIÓN

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

Reacción de células con:		Reacción de suero con:		Fenotipo ABO
anti-A	anti-B	GR A <sub>1</sub>	GR B	
0	0	+	+	O
+	0	0	+	A
0	+	+	0	B
+	+	0	0	AB

0 = No hay reacción de aglutinación

+ = Intensidad de aglutinación de cualquier tipo (4+, 3+, 2+, 1+)

Cualquier otra combinación de resultados constituye una discrepancia, la que deberá ser estudiada y aclarada antes de informar el grupo sanguíneo.

## INFORME DE RESULTADOS

Actualmente existen múltiples terminologías que se utilizan para informar los resultados de la clasificación ABO, no necesariamente todas de base correcta, pero que se han instaurado y se utilizan masivamente. Ej: Grupo, grupo sanguíneo, clasificación ABO.

Dado que la clasificación de grupo sanguíneo, tal como la señalan las distintas referencias nacionales e internacionales, incluye el sistema ABO y el antígeno D del sistema Rh, la denominación recomendada del examen es:

## CLASIFICACIÓN ABO y RhD

(Ejemplos del informe de resultados son) A RhD negativo; O RhD positivo; AB RhD positivo, entre otros según corresponda.

## II. RESOLUCIÓN DE DISCREPANCIAS Y ESTUDIO DE SUBGRUPOS ABO

Si se obtienen discrepancias en la clasificación ABO en la que no concuerdan la prueba directa con la inversa, o es difícil interpretar los resultados obtenidos por aglutinaciones débiles, positivas inesperadas, doble población, entre otros; se recomienda el siguiente orden para determinar la causas raíces de la discrepancias y acciones para su solución:

- Repetir la clasificación sanguínea ABO en la misma muestra y bajo las mismas condiciones anteriores.
- Siempre se deben revisar la historia clínica (diagnóstico, medicamentos, transfusiones, resultados inmunohematológicos anteriores) para buscar antecedentes que puedan ser la causa de las discrepancias. De acuerdo a esta información se puede orientar la investigación de las causas raíces.
- Revisar los resultados obtenidos en la prueba autóloga, prueba de antiglobulina directa y detección de anticuerpos por posible interferencia de auto o aloanticuerpos eritrocitarios.
- Revisar el comportamiento de los controles de calidad utilizados.
- Solicitar nueva muestra para repetir la clasificación.
- Si se obtienen discrepancias asociadas a la prueba globular o directa, se sugiere lavar los GR en solución salina y repetir la prueba.
- Con estos primeros antecedentes se sugiere seguir líneas de investigación dependiendo si la discrepancia se observa a nivel de la prueba globular o sérica (Anexo 1).
- Si la discrepancia se resuelve, se recomienda realizar un chequeo final que constate la concordancia de la información en la muestra, los tubos y las hojas de trabajo. Interpretar la clasificación ABO e interpretar los resultados.

**Discrepancia globular-reacciones positivas inesperadas con anti-A o anti-B:** Posibles causas de discrepancias son presencia de un autoanticuerpo frío de alto título, hiperproteinemia, tratamiento con inmunoglobulina intravenosa, gelatina de Wharton, fibrina, anticoagulante que interfiere con el examen, entre otros. Las posibles resoluciones serían: repetir la determinación ABO con GR lavados; en caso de presencia de autoanticuerpos fríos se deben lavar los GR con solución salina a 37°C. Si se sospecha de un fenotipo B adquirido, el principal antecedente va a ser la presencia de una infección bacteriana en el paciente. En caso del fenómeno de poliaglutinación se debe repetir la clasificación utilizando sueros



monoclonales. Si existe una PAD positiva con IgG, se debe realizar la clasificación en células eluidas. Si se sospecha de anticuerpos contra antígeno de baja frecuencia o dirigidos contra colorantes o drogas, se puede solucionar utilizando antisueros de otro lote.

**Discrepancia globular-reacciones débiles ( $\leq 3+$ ) con anti-A o anti-B:** Se debe comenzar por investigar si la persona ha sido transfundida en los últimos 3 meses con componentes sanguíneos no iso-grupo. A su vez, es recomendable evaluar la presencia de aglutinación de campo mixto, ya que, en ausencia de transfusiones recientes, la causa de la discrepancia pudiese estar orientada a trasplante de progenitores hematopoyéticos, hemorragia feto materna, subgrupos débiles ( $A_3$ ), expresión alterada de antígenos A y/o B por enfermedad conocida, poliaglutinación o quimerismo.

**Discrepancia sérica-reacciones débiles ( $\leq 2+$ ) con GR  $A_1$  o B:** en estos casos se debe establecer si se trata de neonatos, ancianos o pacientes inmunosuprimidos en que la resolución de la discrepancia consiste en la utilización de métodos que incrementen la reactividad de los anticuerpos (incubación en frío). Si se trata de un paciente que ha recibido un trasplante de progenitores hematopoyéticos, la resolución se debe realizar considerando antecedentes históricos y la genotipificación puede servir para clarificar la clasificación sanguínea.

**Discrepancia sérica-reacciones positivas inesperadas con GR  $A_1$  o B:** Si el paciente es de grupo A o AB, la causa más probable de la discrepancia en el grupo inverso es la presencia del anticuerpo anti- $A_1$ . Otras causas pueden corresponder a la presencia de hiperproteïnemia, autoanticuerpos fríos o aloanticuerpos fríos (Anti-M, -N, -P1, -Lea). Si la investigación de aglutininas frías revela que no se trata de un aloanticuerpo clínicamente significativo, se puede realizar la prueba sérica de la clasificación entibiando tanto muestras como reactivos a  $37^\circ\text{C}$  en un baño termorregulado seco o húmedo con temperatura controlada. Si no se logra resolver la discrepancia, es conveniente repetir la prueba sérica con GR testigos antígeno negativo para los aloanticuerpos fríos.

En el Anexo 2 se resumen las causas más frecuentes asociadas a las discrepancias en la clasificación ABO.

## CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Para los procesos de control de calidad de la clasificación sanguínea ABO se deben seguir los procedimientos descritos en el documento Recomendaciones para el control de calidad en técnicas serológicas de inmunohematología eritrocitaria.

## CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

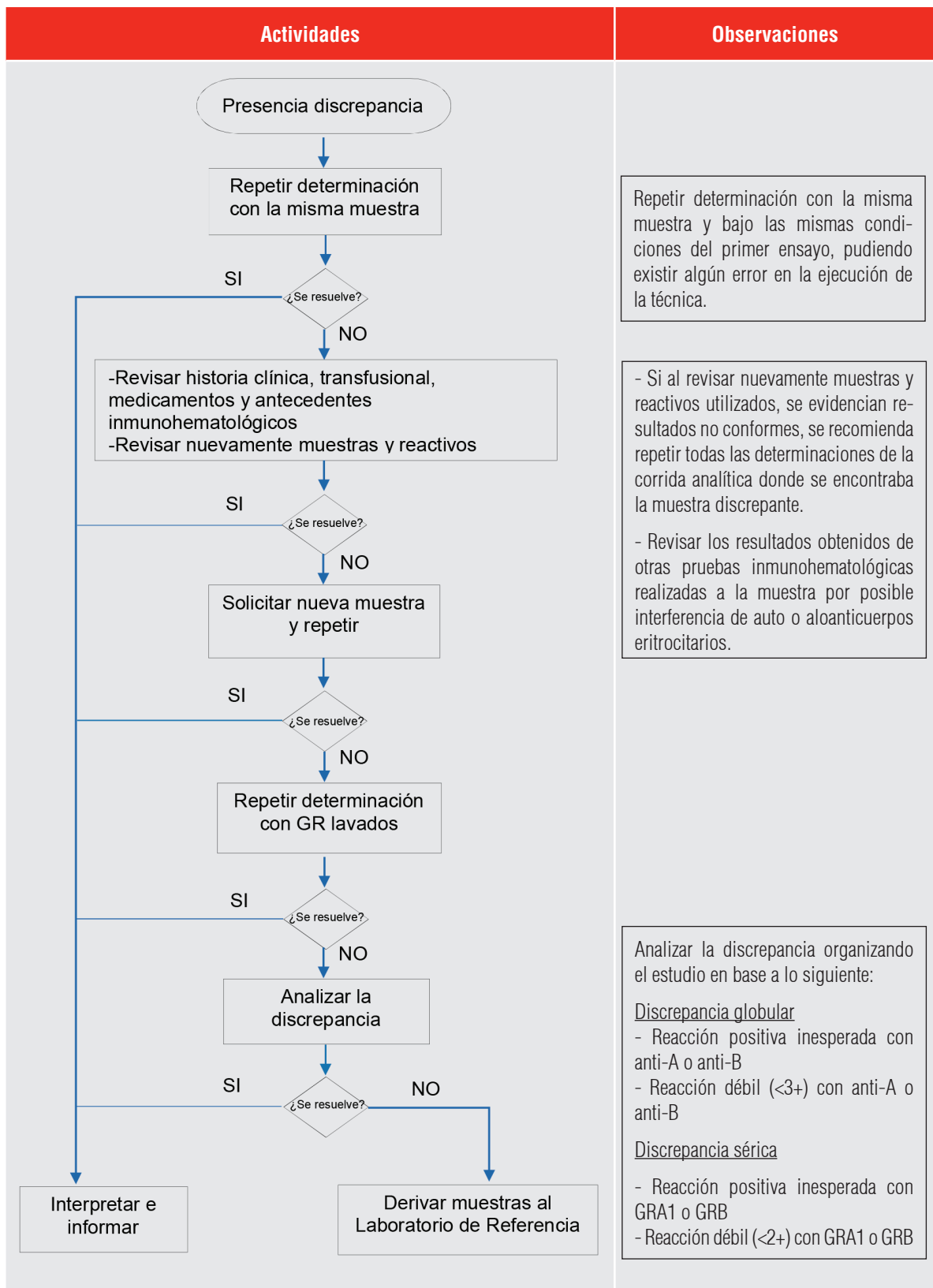
Los Centros de Sangre, Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Laboratorios Clínicos del país que realizan esta determinación deben participar en algún programa de evaluación externa de la calidad, según lo señalan las normativas ministeriales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cohn CS, editor. AABB Technical Manual, 20th ed., Bethesda, Maryland, 2020.
- American Association of Blood Banks. AABB Standards for Blood Bank and Transfusion Services, 25th ed., Bethesda, Maryland, 2008.
- Ministerio de Salud de Chile. Orientaciones para Centros de Sangre y Unidades de Medicina Transfusional, MINSAL, 2007.
- Meny GM. Recognizing and resolving ABO discrepancies. *Immunohematology*; 33(2): 76-81, 2017.
- Cortés Buelvas A, Muñiz-Díaz E, León de González G. Inmunohematología básica y aplicada, 1° Edición. Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional, 2014.
- Government of Newfoundland and Labrador. Standard Operating Procedure for Resolving ABO & Rh Blood Group Discrepancies, Canada, 2012.
- Instituto de Salud Pública de Chile. Recomendaciones para el control de calidad en técnicas serológicas de inmunohematología eritrocitaria, 2020.
- Ministerio de Salud de Chile. Decreto 20, que Aprueba el Reglamento para laboratorios clínicos, 2012.

ANEXO 1.

Flujograma a seguir para la resolución de discrepancias ABO.



## ANEXO 2.

### Causas más frecuentes de las discrepancias detectadas en la clasificación ABO.

Discrepancia globular		Discrepancia sérica	
Reacciones débiles	Reacciones extras	Reacciones débiles	Reacciones extras
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Subgrupos ABO (A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, entre otros).</li> <li>- Diseritropoyesis (leucemia).</li> <li>- Sustancias neutralizantes de antisueros ABO (mucina en adenocarcinomas).</li> <li>- Aglutinación de campo mixto (transfusión GR reciente no isogrupo, trasplante de progenitores hematopoyéticos, subgrupos débiles (A<sub>3</sub>), hemorragia fetomaterna, quimerismo, poliaglutinación).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Trasplante de progenitores hematopoyéticos ABO diferentes al del receptor.</li> <li>- Aglutinación no específica (hiperproteinemia, rouleaux, gelatina de Wharton, IGIV, fibrina, macromoléculas).</li> <li>- Transfusión reciente.</li> <li>- Fenotipo B adquirido (bacteremia, septicemia).</li> <li>- Autoanticuerpos fríos o calientes.</li> <li>- Poliaglutinación.</li> <li>- Aglutininas frías.</li> <li>- Antisueros ABO reaccionando con muestras PAD+ o con antígenos de baja frecuencia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Paciente neonato o anciano.</li> <li>- Hipogamaglobulinemia.</li> <li>- Inmunosupresión.</li> <li>- Trasplante de progenitores hematopoyéticos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Subgrupos ABO (grupo A o AB con anti-A<sub>1</sub>).</li> <li>- Transferencia pasiva de isoaglutininas.</li> <li>- Aglutinación no específica (hiperproteinemia, crioaglutininas, fibrina).</li> <li>- Síndrome del linfocito pasajero.</li> <li>- Aloanticuerpo frío.</li> <li>- Autoanticuerpo frío.</li> <li>- Transfusión de plasma.</li> <li>- Infusión IGIV.</li> <li>- Trasplante de progenitores hematopoyéticos.</li> </ul>