

 <p>Hospital Universitário Prof. Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina</p>	<p>Procedimento Operacional Padrão (POP) <u>SERVIÇO DE HEMOTERAPIA</u></p>	<p>POP nº IMU 01 – SHMT/HU</p>	
	<p>Tipagem Sanguínea ABO/RhD</p>	<p>Versão: 01</p>	<p>Próxima Revisão:</p>
<p>Elaborado por: Everaldo José Schörner</p>		<p>Data da Criação: 07/2011</p>	
<p>Revisado por: Vera Lucia P. C. Ferreira</p>		<p>Data de Revisão: 07/2012</p>	
<p>Aprovado por: Jovino D. S. Ferreira</p>		<p>Data de Aprovação:</p>	
<p>Local de guarda do documento: Laboratório de Imuno-hematologia e Agência Transfusional</p>			
<p>Responsável pelo POP e pela atualização: Everaldo José Schörner</p>			
<p>Objetivo: Determinar a tipagem sanguínea ABO e RhD em amostras de pacientes e doadores de sangue.</p>			
<p>Setor: Laboratório de Imuno-hematologia e Agência Transfusional - Serviço de Hemoterapia</p>		<p>Agente(s): Técnicos Transfusionistas, Técnicos do Laboratório de Imuno-hematologia e Bioquímicos</p>	

ETAPAS DO PROCEDIMENTO: Página 01/06

1. OBJETIVOS

Determinar a tipagem sanguínea ABO e RhD em amostras de pacientes e doadores de sangue.

2. PRINCÍPIO

Através da técnica de aglutinação em gel verificar a presença/ausência de antígenos e anticorpos do sistema ABO e do antígeno D do sistema Rh.

3. AMOSTRAS

Amostras de sangue coletadas em tubos com anticoagulante EDTA.

4. EQUIPAMENTOS E REAGENTES

- Centrífuga para amostras;
- Centrífuga para cartões;
- Pipeta semi-automática;
- Ponteiras;
- Cartão A, B, D, ctl, A1, B para tipagem sanguínea;
- Solução de baixa força iônica – LISS .

5. CALIBRAÇÕES

Os equipamentos devem ter certificado de calibração anual.

6. CONTROLE DE QUALIDADE

Todos os cartões e reagentes devem ser submetidos à inspeção visual antes de seu uso, observando a data de validade, sinais de hemólise, contaminação bacteriana, formação de bolhas e outros sinais que possam interferir nos testes a serem realizados.

7. DESCRIÇÃO

Todos os cartões devem estar centrifugados e os reagentes e amostras devem permanecer em temperatura ambiente no mínimo 15 minutos antes do início dos testes.

Realizar então os seguintes passos:

- Centrifugar a amostra de sangue durante 5 minutos a 3400 rpm;
- Retirar o lacre do cartão;
- Dispensar uma gota de hemácias A1 no microtubo A1 e uma gota de hemácias B no microtubo B;
- Dispensar 50uL de plasma/soro do paciente/receptor nos microtubos A1 e B;
- Preparar suspensão de hemácias a 1% diluindo 12,5uL de concentrado de hemácias do paciente/receptor em 1mL de LISS, homogeneizando adequadamente;
 - Dispensar 50uL da suspensão nos microtubos A, B, D, ctl;
 - Centrifugar de acordo com instruções do fabricante.

PESQUISA RhD FRACO

- Selecionar amostras com aglutinação no microtubo “D” em intensidade igual ou menor que 2+ e negativas;
 - Preparar nova suspensão de hemácias a 1%, utilizando 1000uL de LISS e adicionando 12,5uL de concentrado de hemácias;
 - Marcar dois microtubos do cartão de LISS/COOMBS com o número seqüencial da amostra, sendo que o primeiro será identificado como “D” e o segundo como “CT”;
 - Dispensar 50uL da suspensão de hemácias preparada aos dois microtubos;
 - Dispensar 25uL de soro anti-D (IgM+IgG) ao microtubo “D”;

- Dispensar 25uL de soro controle RH ao microtubo “CT”;
- Incubar durante 15 min a 37°C;
- Centrifugar durante 10 min a 910 rpm;
- Realizar a leitura, observando presença ou ausência de aglutinação.

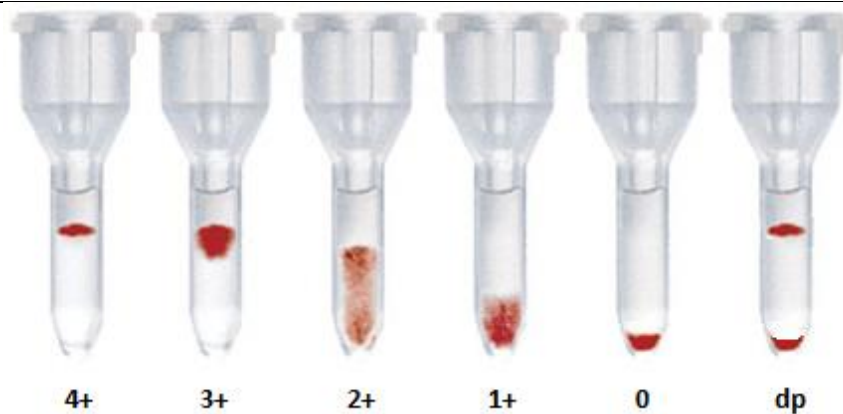
8. CÁLCULOS

Não aplicável.

9. RESULTADOS

Através da presença ou ausência de aglutinação determinar a tipagem sanguínea ABO de acordo com os quadros abaixo:

Negativo	- ou 0	Faixa de glóbulos vermelhos no fundo da coluna, sem aglutinações visíveis
Positivo	+/-	Escassas aglutinações de tamanho pequeno na metade inferior da coluna
	1+	Algumas aglutinações de tamanho pequeno na parte inferior da coluna
	2+	Aglutinações de tamanho pequeno ou mediano na extensão da coluna
	3+	Aglutinações de tamanho médio na parte superior da coluna
	4+	Faixa de glóbulos vermelhos aglutinados na parte superior da coluna
DP	dp	População dupla (faixa dupla de glóbulos vermelhos, no fundo e na parte superior da coluna)



Prova direta		Prova reversa		Conclusão
Microtubo A	Microtubo B	Microtubo A1	Microtubo B	
(+) a 4+	-	-	(+) a 4+	A
-	(+) a 4+	(+) a 4+	-	B
(+) a 4+	(+) a 4+	-	-	AB
-	-	(+) a 4+	(+) a 4+	O

Para qualquer outro tipo de combinação de resultados os testes deverão ser considerados inconclusivos quanto à tipagem ABO.

A presença de aglutinação de qualquer intensidade no microtubo “ctl” invalida todos os resultados acima. Através da presença ou ausência de aglutinação determinar a tipagem sanguínea RhD de acordo com o quadro a seguir:

Microtubo D	Microtubo ctl	Conclusão
4+	-	RhD Positivo
(+) a 3+	-	RhD Positivo fraco
-	-	RhD Negativo
- a 4+	(+) a 4+	Inconclusivo

A presença de aglutinação de qualquer intensidade no microtubo “ctl” invalida todos os testes acima.

Pesquisa RhD fraco:

RhD NEGATIVO: ausência de aglutinação nos microtubos “D” e “CT”

RhD POSITIVO Fraco: presença de aglutinação em qualquer intensidade no microtubo “D” e ausência de aglutinação no microtubo “CT”

RhD INCONCLUSIVO: presença de aglutinação em qualquer intensidade no microtubo “CT”.

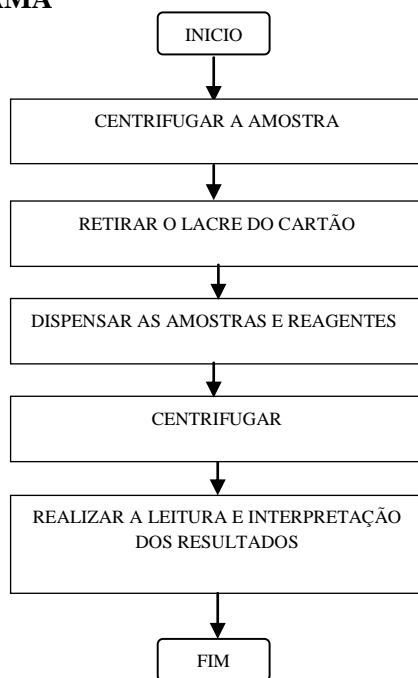
10. COMENTÁRIOS

As amostras devem ser centrifugadas a cerca de 3400 rpm em tempo de 3 a 5 minutos.

Cuidado para não colocar em contato com os soros ponteiras contaminadas.

Em casos de discrepância na tipagem sanguínea as amostras devem ser encaminhadas, juntamente com a história transfusional do paciente, ao laboratório de Imuno-hematologia para investigação.

11. FLUXOGRAMA



11. RESPONSABILIDADES

Técnicos do SHMT devidamente treinados no procedimento e com leitura do POP.

12. NORMAS DE SEGURANÇA

As amostras devem ser consideradas como potencialmente infectantes e patogênicas, devendo ser manipuladas como material capaz de transmitir doenças. Consultar manual de Biossegurança do Serviço de Hemoterapia (Manipulação de Amostras Biológicas).

13. TREINAMENTO

Os treinamentos devem ser realizados anualmente por profissional capacitado e devidamente registrados em formulário próprio.

14. FORMULÁRIOS

Não aplicável.