

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACP.034 – Página 1/5	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: TIPAGEM SANGUÍNEA ABO/RHD	Emissão: 08/09/2021	Próxima revisão: 08/09/2023
		Versão: 01	

1. OBJETIVOS

- Descrever a técnica empregada na ULACP para a realização de tipagem sanguínea ABO-RH.

2. MATERIAL

- Amostra de sangue em tubo EDTA;
- Centrífuga para amostras;
- Centrífuga para cartões (DG Spin);
- Pipetas automáticas de 10µl, 25 µl, 50µl, 500µl e 1ml;
- Ponteiras;
- Tubos de acrílico para suspensões;
- Cartão DG Gel Confirm;
- Cartão DG Gel Coombs;
- Solução de baixa força iônica (DG Gel Sol).

3. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

As tipagens sanguíneas são realizadas diariamente em duas rotinas, no período matutino após as 11:00 (todas as amostras que entraram após as 18:00 do dia anterior) e no período vespertino entre 16:00 e 17:00. As tipagens de urgência para casos de necessidade de transfusão sanguínea são realizadas diretamente pela agência transfusional.

3.1. Coleta e processamento da amostra

- 1º Coletar a amostra de sangue em tubos com anticoagulante EDTA (tampa roxa) conforme protocolo de coleta de amostras (PRT-ULACP 002);
- 2º Cadastrar o exame no sistema laboratorial e etiquetar a amostra (POP-ULACP 057- Cadastro de amostras);
- 3º Centrifugar durante 5 minutos a 3400 rpm. Não devem ser utilizadas amostras hemolisadas, turvas ou com presença de coágulos;
- 4º Encaminhar a amostra junto da lista de pendência dos exames ao setor de imunologia (POP-ULACP 059 – Emissão de lista de pendência).

- Observações:

- Quando a tipagem é realizada na mesma amostra de hemograma é necessário confirmar no

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACP.034 – Página 2/5	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: TIPAGEM SANGUÍNEA ABO/RHD	Emissão: 08/09/2021	Próxima revisão: 08/09/2023
		Versão: 01	

setor da hematologia se a amostra já foi processada e se tem resultado liberado antes de centrifugá-la.

- Amostras guardadas sob refrigeração (2-8°C) podem ser utilizadas para o exame até 48 horas após a coleta.

3.2. Procedimento do teste

3.2.1. Tipagem sanguínea com amostra de sangue total (ABO/Rh)

- 1º Deixar as amostras e os reagentes atingirem temperatura ambiente (18-25°C);
- 2º Inspeccionar o estado dos cartões (não utilizar Cartões DG Gel Confirm que estejam com o lacre de alumínio danificado, que tenham sinais de ressecamento, bolhas de ar no gel, gotas de gel ou sobrenadante na parte superior do microtubo);
- 3º Centrifugar os cartões por 9 minutos em centrífuga específica;
- 4º Identificar tubos de acrílico e os cartões a serem utilizados com o código do paciente;
- 5º Preparar a suspensão de hemácias a 5% (pipetar 500 µl de DG Gel Sol e 25 µl de concentrado de hemácias no tubo de suspensão identificado) e homogeneizar;
- 6º Retirar com cuidado o lacre de alumínio dos microtubos a serem utilizados, mantendo o cartão na posição vertical;
- 7º Pipetar 10µl da suspensão de hemácias a 5% nos microtubos 1-4 ou 5-8;
- 8º Centrifugar o cartão durante 9 minutos na centrífuga DG Spin;
- 9º Realizar a leitura.

3.2.2. Tipagem sanguínea com amostra de sangue de cordão umbilical (ABO/Rh)

- 1º Deixar as amostras e os reagentes atingirem temperatura ambiente (18-25°C);
- 2º Inspeccionar o estado dos cartões (não utilizar Cartões DG Gel Confirm que estejam com o lacre de alumínio danificado, que tenham sinais de ressecamento, bolhas de ar no gel, gotas de gel ou sobrenadante na parte superior do microtubo) e centrifugar por 9 minutos;
- 3º Identificar tubos de acrílico e as placas a serem utilizados com o número do paciente;
- 4º Preparar a suspensão de hemácias a 1% (pipetar 1 ml de DG Gel Sol e 10 µl de concentrado de hemácias no tubo de suspensão) e homogeneizar;
- 5º Retirar com cuidado o lacre de alumínio dos microtubos a serem utilizados, mantendo o cartão na posição vertical;
- 6º Pipetar 50µl da suspensão de hemácias a 1% nos microtubos 1-4 ou 5-8;
- 7º Centrifugar o cartão durante 9 minutos na centrífuga DG Spin;
- 8º Realizar a leitura.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACP.034 – Página 3/5	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: TIPAGEM SANGUÍNEA ABO/RHD	Emissão: 08/09/2021	Próxima revisão: 08/09/2023
		Versão: 01	

3.2.3. Pesquisa RhD Variante

A pesquisa de Rh D variante deve ser realizada sempre que o resultado de RhD seja negativo.

1. Selecionar amostras com aglutinação no microtubo “D” negativas;
2. Identificar dois microtubos do cartão DG Gel Coombs, um com D e um CTL (controle);
3. Preparar uma suspensão de hemácias a 1% (pipetar 1 ml de DG Gel Sol e 10 µl de concentrado de hemácias no tubo de suspensão e homogeneizar);
4. Pipetar 50uL da suspensão de hemácias preparada nos dois microtubos;
5. Dispensar 25uL (1 gota) de soro anti-D IgG monotype ao microtubo “D”;
6. Incubar a 37°C durante 15 minutos;
7. Centrifugar o cartão por 9 minutos na centrífuga DG Spin;
8. Realizar a leitura, observando presença ou ausência de aglutinação.

3.3. Interpretação dos resultados

- Resultados são considerados positivos quando as células aglutinam formando uma linha na superfície do gel ou dispersas ao longo do gel e negativos quando formam um botão compacto de células no fundo do microtubo, de acordo com o Quadro 1.
- Recomenda-se a leitura imediata dos resultados após a centrifugação das placas, se necessário a leitura pode ser realizada até 24 horas após o processamento, porém as placas devem ser mantidas na posição vertical, refrigeradas (2-8 °C) e vedadas.

Quadro 1 – Interpretação de Resultados.

Negativo	-	Faixa de glóbulos vermelhos no fundo e na parte restante da coluna sem aglutinações visíveis.
Positivo	+/-	Escassas aglutinações de tamanho pequeno na metade inferior da coluna.
	1+	Algumas aglutinações de tamanho pequeno na coluna.
	2+	Aglutinações de tamanho pequeno ou mediano na extensão da coluna.
	3+	Faixa superior de aglutinações de tamanho médio na metade superior da coluna.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACP.034 – Página 4/5	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: TIPAGEM SANGUÍNEA ABO/RHD	Emissão: 08/09/2021	Próxima revisão: 08/09/2023
		Versão: 01	

	4+	Faixa de glóbulos vermelhos aglutinados na parte superior da coluna.
DP (Dupla população)		Faixa dupla de glóbulos vermelhos, no fundo e na parte superior da coluna.

Fonte: GRIFOLS. Bula.

3.4. Limitações do método

- A confirmação ABO não substitui a determinação ABO/Rh completa. Ela deve ser utilizada como uma confirmação de grupo anteriormente determinada. De acordo com as normas e procedimentos oficiais, a prova direta de classificação ABO deve ser sempre confirmada pela prova reversa.
- Resíduos de fibrina na suspensão de hemácias podem bloquear células não aglutinadas, formando uma linha rósea no topo do gel, enquanto a maior parte das células estará no fundo do microtubo após centrifugação.
- É essencial que os procedimentos e a utilização correta dos equipamentos sejam rigorosamente observados e checados.
- O uso de outros diluentes pode modificar as reações.
- Suspensões de hemácias muito concentradas ou diluídas podem causar falsos resultados.

3.5. Liberação dos resultados

Os resultados são inseridos no sistema de interfaciamento laboratorial e deverão ser liberados após conferência do analista responsável pela leitura.

4. REFERÊNCIAS

GRIFOLS. **Bula - Bula DG Gel Confirm**. Diagnostic Grifols S.A: Espanha.

GRIFOLS. **Guia rápido para utilização de DG gel® card**. Diagnostic Grifols S.A: Espanha.

5. HISTÓRICO DE REVISÃO

VERSÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO
01	01/07/2021	Elaboração do POP

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACP.034 – Página 5/5	
Título do Documento	IMUNOLOGIA: TIPAGEM SANGUÍNEA ABO/RHD	Emissão: 08/09/2021	Próxima revisão: 08/09/2023
		Versão: 01	

Elaboração Andressa Leite Ferraz de Melo Janaina Narcizo Rodrigues	Data: 01/07/2021
Análise Fernanda Alves Luiz Rodrigues - Ofício - SEI 20 (15252521)	Data: 05/08/2021
Validação Janaina Narcizo Rodrigues - GTPME - Ofício - SEI 20 (15252521)	Data: 06/08/2021
Fuad Fayez Mahmoud – Chefe SVSSP - SEI SVSSP/GAS/HU-UFGD (15378363)	Data: 20/08/2021
Viviane Regina Noro – Chefe da ULACP - Ofício - SEI 20 (15252521)	Data: 05/08/2021
Paulo Serra Barruki – Chefe DADT - DADT/GAS/HU-UFGD (15907194)	Data: 30/08/2021
Aprovação: Thaís Pase – Gerente de Atenção à Saúde	Data: 08/09/2021

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que indicada a fonte