

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.022- Página 01/06	
Título do Documento	POP de TESTE DE CLASSIFICAÇÃO ABO-RH	Emissão: 12/ 11/2021	Próxima revisão: 11 /2023
		Versão: 01	

1. OBJETIVO(S)

Estabelecer procedimentos realizados para o processamento das amostras biológicas utilizadas na determinação do grupamento sanguíneo (ABO), fornecer instruções claras sobre as diferentes classificações.

2. MATERIAL

- Tubos de Ensaio;
- Lâminas de vidro;
- Amostras;
- Solução salina à 0,9%;
- Centrífuga;
- Kit de reagentes anti-A, anti-B, anti-AB, anti-Rh, Soro de Combs (pesquisa de DU);
- Micropipetas de 50µL e 1000µL.

3. ABRANGÊNCIA/APLICAÇÃO

- Técnico de laboratório
- Farmacêuticos-Bioquímicos
- Biomédico
- Biólogo
- Estagiário, Residente.

4. ATIVIDADES

4.1 Fundamento do Método: Consiste na caracterização do sangue baseada na presença ou ausência de substâncias antigênicas herdáveis presentes na membrana das células vermelhas. Esses antígenos da membrana das hemácias podem ser proteínas, carboidratos, glicoproteínas e alguns desses antígenos podem estar na membrana de outros tipos celulares. Vários desses antígenos de membrana formam, coletivamente, o que são chamados de sistema de grupo sanguíneo. A classificação ABO é realizada através da identificação de seus antígenos na membrana eritrocitária (Classificação direta) e da pesquisa dos anticorpos séricos (Classificação reversa). Os reagentes causam **aglutinação direta** macroscópica das hemácias que carregam os antígenos correspondentes. As hemácias possuidoras do antígeno A se aglutinam quando misturadas ao reagente Anti-A; igualmente, hemácias possuidoras do antígeno B se aglutinam na presença do reagente Anti-B.O teste adicional empregando-se o reagente Anti-A,B facilita o reconhecimento de subgrupos raros de baixa reatividade aglutinando as hemácias dos grupos A, B, e AB, mas não as do grupo O.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.022- Página 02/06	
Título do Documento	POP de TESTE DE CLASSIFICAÇÃO ABO-RH	Emissão: 12/ 11/2021	Próxima revisão: 11 /2023
		Versão: 01	

4.2 Descrição: Não há necessidade de qualquer preparação prévia do paciente ou doador para a coleta do material. O sangue deve ser coletado através de técnica asséptica, com anticoagulante (EDTA, heparina, citrato, ACD, CPDA-1 ou CPD/SAG-M). Os resultados dos testes são melhores evidenciados com a utilização de amostras de sangue recém coletadas.

- a) Amostra: Sangue total;
- b) Volume recomendado: 1 mL;
- c) Conservação: Se não for possível realizar os testes após a coleta, a amostra deve ser conservada refrigerada entre 2 – 8 °C. De acordo com o anticoagulante utilizado as amostras devem ser testadas dentro dos seguintes prazos:
 - Heparina Oxalato de Sódio – 2 dias
 - EDTA Citrato de Sódio – 14 dias
 - ACD ou CPD – 28 dias
- d) Causas de rejeição: hemólise acentuada, lipemia acentuada, contaminação bacteriana;
- e) Metodologia: Reação de aglutinação;

4.3 Procedimento técnico:

Teste em lâmina:

- 1 -Preparar uma suspensão de glóbulos a 40% no próprio soro, plasma ou solução salina à 0,9%;
- 2 –Colocar uma gota do reagente Anti-A no lado esquerdo da lâmina e uma gota de reagente Anti-B no lado direito. Em uma segunda lâmina, colocar uma gota de reagente Anti-AB. Realizar os testes à temperatura ambiente (20º a 25º C);
- 3 –Adicionar 1 gota da suspensão de hemácias a cada reagente;
- 4 –Misturar o reagente com a suspensão de glóbulos em uma área de 2x3 cm. Movimentar delicadamente a lâmina para promover a mistura e examinar a presença ou não de aglutinação macroscópica. A aglutinação se inicia em poucos segundos. Não observar a lâmina por mais de 2 minutos, quando não houver aglutinação. Alternativamente, pode-se realizar o teste em lâmina utilizando-se uma suspensão de glóbulos à 10% em solução salina à 0,9%.

Teste em tubo:

- 1 -Preparar uma suspensão a 3-5% do glóbulo a ser testado em solução salina à 0,9%, lavar a suspensão 3 vezes com solução salina;

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.022- Página 03/06	
Título do Documento	POP de TESTE DE CLASSIFICAÇÃO ABO-RH	Emissão: 12/ 11/2021	Próxima revisão: 11 /2023
		Versão: 01	

2 –Adicionar uma gota de reagente Anti-A, Anti-B e Anti-AB respectivamente em três tubos de ensaio e identificá-los;

3 –Acrescentar uma gota da suspensão de hemácias 3-5% a cada tubo. Misturar bem o conteúdo;

4 -Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm;

5- Ressuspender delicadamente o botão de hemácias e examinar a presença ou não de aglutinação;

6- Graduar e registrar o resultado. A força centrífuga aplicada deve ser a mínima necessária para se obter um sobrenadante claro e um botão nitidamente delineado que possa ser ressuspensão facilmente. As centrífugas devem ser calibradas individualmente para se obter o tempo e velocidade ótimos de centrifugação.

RhD:

Preparar uma suspensão a 5% das hemácias teste

1- Rotular dois tubos: D (teste) e C (controle) e proceder como descrito na tabela abaixo :

	D	C
Suspensão de hemácias teste	1 gota	1 gota
Soro anti-Rho (D) 85%	1 gota	
Controle Rh		1 gota

2 - Homogeneizar e centrifugar a 3.400 rpm por 15 segundos;

3- Ressuspender o botão de hemácias formado e verificar se houve ou não aglutinação.

Em caso de “D Fraco/ D^u”:

1. Incubar a suspensão, com a não aglutinação, em por 30 minutos a 37 °C. Lavar o sedimento as hemácias que apresentaram resultado negativo, por 3 vezes (se for hemácias de recém-nascido deve-se lavar 8 vezes), com solução fisiológica 0,9%;

2. Decantar completamente a salina após a última lavagem;

3. Adicionar 2 gotas de SORO de COOMBS em cada tubo;

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.022- Página 04/06	
Título do Documento	POP de TESTE DE CLASSIFICAÇÃO ABO-RH	Emissão: 12/ 11/2021	Próxima revisão: 11 /2023
		Versão: 01	

4. Homogeneizar e centrifugar os tubos durante 15 segundos, a 3.400 rpm (900-1000g) ou 1 minuto a 1.000 RPM (100-125g);

5. Ressuspender o “botão” de hemácias agitando delicadamente o tubo e observar a presença ou não de aglutinação;

6. Anotar os resultados

- Interpretação dos resultados:

ABO

POSITIVO: excluindo-se as limitações do teste, a aglutinação dos glóbulos pelo reagente indica a presença do antígeno correspondente. Igualmente, a aglutinação da amostra pelo reagente Anti-A, B indica a presença dos antígenos A e/ou B, caracterizando não se tratar de grupo O.

NEGATIVO: excluindo-se as limitações do teste, a ausência de aglutinação no teste indica ausência do antígeno correspondente.

Classificação Direta			Classificação Reversa		Grupo
Anti-A	Anti-B	Anti-A,B	A ₁	B	ABO
+	0	+	0	+	A
0	+	+	+	0	B
0	0	0	+	+	O
+	+	+	0	0	AB

RhD:

Aglutinação: Rho (D) positivo.

Ausência de aglutinação: Adicionar mais 1 gota de soro Anti-D e centrifugar a 3.400 rpm por 15 segundos. Caso o teste continue apresentando resultado negativo, realizar a técnica para a pesquisa das formas fracas do antígeno D (D^u).

- **Calibração da metodologia:**

O resultado obtido na tipagem ABO em adultos deve ser confirmado pela prova reversa com reagente de células A1 e B (Rh negativos). É importante que a reatividade e especificidade do reagente sejam confirmadas a cada dia de uso utilizando-se um controle positivo, de preferência hemácia A2B e um controle negativo, hemácia do grupo O.

- **Resultados:** Os resultados são digitados e liberados pelo COMPLAB.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.022- Página 05/06	
Título do Documento	POP de TESTE DE CLASSIFICAÇÃO ABO-RH	Emissão: 12/ 11/2021	Próxima revisão: 11 /2023
		Versão: 01	

5. RECOMENDAÇÕES

Evitar exposição dos reagentes a temperaturas excessivas. Conservar ao abrigo da luz. **NÃO CONGELAR OS REAGENTES.** O congelamento pode causar danos irreversíveis. Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de validade impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade, não reaproveitar ponteiros utilizadas nas pipetagens.

6. REFERÊNCIAS

Tipagem sanguínea. Disponível em <https://labtestsonline.org.br/tests/tipagem-sanguinea>. Acessado no dia 13 de outubro de 2021.

Anti-A, Anti-B e Anti-AB, Prothemo Produtos Hemoterápicos Ltda. Disponível em: http://prothemo.com.br/conteudo/templates/prothemo/instrucoes/inst_antia_nov2009.pdf. Acessado no dia 13 de outubro de 2021.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.ULACC.022- Página 06/06	
Título do Documento	POP de TESTE DE CLASSIFICAÇÃO ABO-RH	Emissão: 12/ 11/2021	Próxima revisão: 11 /2023
		Versão: 01	

7. HISTÓRICO DE REVISÃO

VERSÃO	DATA	DESCRIÇÃO
01	12/11/2021	Realização do POP Teste de Classificação ABO-Rh

Elaboração/Revisão: Dr ^a Heloísa Mara Batista Fernandes de Oliveira Farmacêutica-Bioquímica – HUAB/UFRN/EBSERH	Data: 12/11/2021
Validação: Membro do Setor de Vigilância em Saúde	Data:
Aprovação: Ana Cristina Santos Fernandes Pereira Chefia Imediata	Data:

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ANA BEZERRA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
Praça Tequinha Farias, nº 13 - Bairro Centro, Santa Cruz/RN, CEP 59200-000
- <http://huab-ufrn.ebserh.gov.br>

CERTIDÃO

Processo nº 23527.008833/2021-18

Interessado: Setor de Vigilância em Saúde

Certidão de assinaturas eletrônicas correspondente ao documento POP.ULACC.022 - CLASSIFICAÇÃO ABO-RH

Atualização:

Nome: Heloísa Mara Batista Fernandes de Oliveira

SIAPE: 2148960

Função: Farmacêutica-Bioquímica - HUAB/UFRN/EBSERH

Validação

Nome: João Maria Rego Mendes

SIAPE: 2247559

Função: Membro SGQVS

Aprovação

Nome: Ana Cristina Santos Fernandes Pereira

SIAPE: 2158184

Função: Chefe do Setor

Santa Cruz

Documento assinado eletronicamente



Documento assinado eletronicamente por **Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira, Farmacêutico(a)**, em 16/11/2021, às 17:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Cristina Santos Fernandes Pereira, Chefe de Unidade**, em 19/11/2021, às 08:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Maria Rêgo Mendes, Enfermeiro(a)**, em 22/11/2021, às 10:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ebserh.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **17606116** e o código CRC **2EE977E5**.
