

Procedimento
Operacional Padrão
POP/UTRANSE.IMU.TIH/T001/2018
Testes Imunohematológicos
Versão 4.0

Unidade Transfusional
/ Imunohematologia

Procedimento Operacional Padrão

POP/UTRANSF.IMU.TIH/T001/2018

Testes Imunohematológicos

© 2018, Ebserh. Todos os direitos reservados
Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – Ebserh
www.ebserh.gov.br

Material produzido pela Unidade Transfusional do Hupaa-Ufal/Ebserh
Permitida a reprodução parcial ou total, desde que indicada a fonte e sem fins comerciais.

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – Ministério da Educação

POP: Testes Imunohematológicos - UTRANSF - Unidade Transfusional –
Maceió: Hupaa - Hospital Universitário Professor Alberto Antunes, 2018. 55p.

Palavras chave: 1 – Doação de Sangue; 2 – Hemoterapia; 3 – Imunohematologia;
4 – POP.

Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes – Filial Ebserh
Av. Lourival Melo Mota, S/N / Cid. Universitária / CEP: 38072-900 / Maceió – AL
Telefone: (82) 3382 - 3800 /www.ebserh.gov.br/web/hupaa-ufal

ROSSIELI SOARES DA SILVA
Ministro de Estado da Educação

KLEBER DE MELO MORAIS
Presidente da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares

REGINA MARIA DOS SANTOS
Superintendente do Hupaa-Ufal/Ebserh

MANOEL ÁLVARO DE FREITAS LINS NETO
Gerente de Atenção à Saúde do Hupaa-Ufal/Ebserh

SANDRA MARY VASCONCELOS DE LIMA
Gerente de Ensino e Pesquisa do Hupaa-Ufal/Ebserh

VALDENIZE DE LIMA PEIXOTO
Gerente Administrativo do Hupaa-Ufal/Ebserh

EXPEDIENTE

LUCIANA DE ANDRADE PEREIRA - Chefe da Unidade Transfusional
Coordenação

Unidade Transfusional
Produção

Unidade de Planejamento
Apoio

SUMÁRIO

OBJETIVO	10
DOCUMENTOS RELACIONADOS	10
GLOSSÁRIO	10
APLICAÇÃO	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
INFORMAÇÕES GERAIS	12
I. POP - COOMBS DIRETO PELA TÉCNICA DE GEL.....	13
1. Materiais necessários	13
2. Descrição da técnica	13
2.1. Passo a passo	13
2.2. Recomendações.....	14
2.3. Ações em caso de não conformidade	14
3. Mapeamento	14
II. POP - COOMBS DIRETO EM TUBO	15
1. Materiais necessários	15
2. Descrição da técnica	15
2.1. Passo a passo	15
2.2. Recomendações.....	16
2.3. Ações em caso de não conformidade	16
3. Mapeamento	16
III. POP - COOMBS DIRETO MONOESPECÍFICO (SCREENING)	17
1. Materiais necessários	17
2. Descrição da técnica	17
2.1. Passo a passo	17
2.2. Recomendações.....	18
2.3. Ações em caso de não conformidade	19
3. Mapeamento	19
IV. POP - DETERMINAÇÃO DOS FENÓTIPOS RH E KELL EM GEL (CARTÃO MONOCLONAL).....	20
1. Materiais necessários	20

2.	Descrição da técnica	20
2.1.	Passo a passo	20
2.2.	Recomendações	21
2.3.	Ações em caso de não conformidade	22
3.	Mapeamento	22
V.	POP - FENOTIPAGEM DO ANTÍGENO JKa PELA TÉCNICA DE GEL.....	23
1.	Materiais necessários	23
2.	Descrição da técnica	23
2.1.	Passo a passo	23
2.2.	Recomendações	24
2.3.	Ações em caso de não conformidade	24
3.	Mapeamento	24
VI.	POP - PESQUISA DE AUTO-ANTICORPOS OU AUTO CONTROLE EM GEL .25	25
1.	Materiais necessários	25
2.	Descrição da técnica	25
2.1.	Passo a passo	25
2.2.	Recomendações	26
2.3.	Ações em caso de não conformidade	26
3.	Mapeamento	26
VII.	POP - TITULAÇÃO DE ANTICORPOS EM GEL	27
1.	Materiais necessários	27
2.	Descrição da técnica	27
2.1.	Passo a passo	27
2.2.	Recomendações	28
2.3.	Ações em caso de não conformidade	28
3.	Mapeamento	28
VIII.	POP - BLOQUEIO COM ANTI-IgG.....	29
1.	Materiais necessários	29
2.	Descrição da técnica	29
2.1.	Passo a passo	29
2.2.	Recomendações	30

2.3. Ações em caso de não conformidade	30
3. Mapeamento	30
IX. POP - PESQUISA DO ANTI-CDE EM TUBO	31
1. Materiais necessários	31
2. Descrição da técnica	31
2.1. Passo a passo	31
2.2. Recomendações	31
2.3. Ações em caso de não conformidade	32
3. Mapeamento	32
X. POP - PESQUISA DE HEMOLISINA ANTI-A E ANTI-B	33
1. Materiais necessários	33
2. Descrição da técnica	33
2.1. Passo a passo	33
2.2. Recomendações	33
2.3. Ações em caso de não conformidade	34
3. Mapeamento	34
XI. POP - PESQUISA DE AUTO ANTICORPOS A QUENTE EM TUBO	35
1. Materiais necessários	35
2. Descrição da técnica	35
2.1. Passo a passo	35
2.2. Recomendações	37
2.3. Ações em caso de não conformidade	37
3. Mapeamento	37
XII. POP - TITULAÇÃO DE ANTICORPOS IRREGULARES (ALBUMINA – COOMBS) EM TUBO	38
1. Materiais necessários	38
2. Descrição da técnica	38
2.1. Passo a passo	38
2.2. Recomendações	39
2.3. Ações em caso de não conformidade	39
3. Mapeamento	39

XIII. POP - PESQUISA DE SUBGRUPO A₂ OU A₂B	40
1. Materiais Necessários	40
2. Descrição da técnica	40
2.1. Passo a passo	40
2.2. Recomendações	41
2.3. Ações em caso de não conformidade	41
3. Mapeamento	41
XIV. POP - DISCREPÂNCIA ABO	42
1. Materiais Necessários	42
2. Descrição da técnica	42
2.1. Passo a passo	42
2.2. Recomendações	44
2.3. Ações em caso de não conformidade	44
3. Mapeamento	44
XV. POP - DISCREPÂNCIA RH	45
1. Materiais Necessários	45
2. Descrição da técnica	45
2.1. Passo a passo	45
2.2. Recomendações	46
2.3. Ações em caso de não conformidade	46
3. Mapeamento	46
XVI. POP - ELUIÇÃO ÁCIDA DE ANTICORPOS (DIACIDEL)	47
1. Materiais Necessários	47
2. Descrição da técnica	47
2.1. Passo a passo	47
2.2. Recomendações	49
2.3. Ações em caso de não conformidade	50
3. Mapeamento	50
XVII. POP - TESTE DE SOLUBILIDADE	51
1. Materiais Necessários	51
2. Descrição	51

2.1. Passo a passo	52
2.2. Recomendações	52
2.3. Ações em caso de não conformidade	53
3. Mapeamento	53
REFERENCIAIS TEÓRICOS.....	54

OBJETIVO

Estabelecer os procedimentos para realização das técnicas de imunohematologia de acordo com o manual do fabricante dos respectivos reagentes.

DOCUMENTOS RELACIONADOS

Portaria MS. nº 158, de 04/02/2016 - Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos

GLOSSÁRIO

BPL - Boas Práticas de Laboratório

CQI – Controle de Qualidade Interno

DHRN – Doença Hemolítica do Recém-nascido

Ebserh – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares

EDTA - Ethylenediamine tetraacetic acid ou ácido etilenodiamino tetra-acético

Hupaa - Hospital Universitário Professor Alberto Antunes

IMU - Imunohematologia

Liss (sigla em inglês) - Low Ionic Strength Saline (Solução de Baixa Força Iônica)

MS - Ministério da Saúde

POP – Procedimento Operacional Padrão

Ufal – Universidade Federal de Alagoas

Utransf - Unidade Transfusional

APLICAÇÃO

Utransf / Laboratório de imunohematologia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de teste com Anti-CDE

INFORMAÇÕES GERAIS

Ligada hierarquicamente ao Setor de Apoio Terapêutico, a Unidade Transfusional (Utransf) presta assistência hemoterápica aos pacientes atendidos no Hupaa, fornecendo hemocomponentes produzidos segundo critérios pré-definidos em portaria ministerial que garantam a segurança dos receptores.

O Manual de Procedimento Operacional Padrão visa contribuir para a disseminação da informação e do conhecimento integrados ao fortalecimento da gestão hospitalar e assim proporcionar aos interessados um apanhado das principais atividades desenvolvidas neste Hospital.

O referido Manual é de suma importância por se tratar de um instrumento de trabalho que possibilite ao Hupaa promover a socialização do conhecimento das técnicas realizadas na organização hospitalar conforme os padrões estabelecidos pelas legislações vigentes.

Um Procedimento Operacional Padrão (POP) tem o objetivo de padronizar e minimizar a ocorrência de desvios na execução de tarefas fundamentais, para o funcionamento correto do processo. Ou seja, um POP coerente garante ao usuário que a qualquer momento que ele se dirija ao estabelecimento, as ações tomadas para garantir a qualidade sejam as mesmas, de um turno para outro, de um dia para outro. Ou seja, aumenta-se a previsibilidade de seus resultados, minimizando as variações causadas por imperícia e adaptações aleatórias, independente de falta, ausência parcial ou férias de um funcionário.

Este documento descreve os procedimentos realizados no laboratório de Imunohematologia da Unidade Transfusional do Hupaa-Ufal/Ebserh, conforme a Portaria 158 de 04 de fevereiro de 2016, a fim de orientar os funcionários do setor na execução dos testes imunohematológicos.

I. POP - COOMBS DIRETO PELA TÉCNICA DE GEL

1. Materiais necessários

- ID cartão LISS/COOMBS;
- ID Diluente 2 (LISS);
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Amostra de sangue com anticoagulante (EDTA ou CITRATO);
- Tubos para preparação das amostras;
- Centrífuga.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

- 2.1.1. Colocar o ID – Diluente 2 e as amostras em temperatura ambiente;
- 2.1.2. Escrever o nome ou número da amostra no cartão;
- 2.1.3. Centrifugar a amostra a ser testada;
- 2.1.4. Colocar em um tubo de hemólise 1000 µl do diluente 2;
- 2.1.5. Acrescentar a este tubo 12,5 µl do sedimento de hemácia da amostra centrifugada;
- 2.1.6. Homogeneizar;
- 2.1.7. Pipetar 50 µl desta solução no microtubo identificado;
- 2.1.8. Centrifugar e ler.

- Reação Positiva:

- ✓ Presença de aloanticorpos (Paciente aloimunizado – Reação Hemolítica Pós Transfusional);

- ✓ Presença de auto-anticorpos (Anemia Hemolítica Auto-imune);
- ✓ DHRN.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Realizar o teste o mais breve possível (ideal até 03 (três) horas após a coleta da amostra);
- 2.2.2. Só utilizar os reagentes e cartões após aprovados no CQI;
- 2.2.3. Verificar a validade dos reagentes;
- 2.2.4. Certificar que os cartões foram centrifugados antes de serem colocados na rotina;
- 2.2.5. Não utilizar cartões com o lacre de alumínio danificado ou com sinais de ressecamento.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. No caso de um resultado não conforme, rever as etapas do procedimento operacional padrão.

3. Mapeamento

Não se aplica.

II. POP - COOMBS DIRETO EM TUBO

1. Materiais necessários

- Amostra de sangue com anticoagulante;
- Tubos de hemólise;
- Papel absorvente ou gaze;
- Solução salina – 0,9%;
- Soro antiglobulina humana monoespecífico e poliespecífico (Soro Anti-humano e Soro de Coombs);
- Hemácias - teste sensibilizadas (Controle de Coombs).

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1 Lavar 3 vezes com salina, 10 gotas de concentrado de hemácias a testar (se for sangue de cordão umbilical lavar 6 vezes), em tubo devidamente identificado;

2.1.2. Preparar uma suspensão a 5% das hemácias lavadas, identificando-a;

2.1.3. Identificar 2 tubos de hemólise: monoespecífico (M) e poliespecífico (P), com nome e registro do paciente;

2.1.4. Colocar nos 02 (dois) tubos, 01 (uma) gota de suspensão de hemácias a testar;

2.1.5. Lavar esta “gota” contida nos tubos M e P, uma vez com salina;

2.1.6. Decantar completamente o sobrenadante, por inversão, enxugando a borda dos tubos com papel absorvente;

2.1.7. Adicionar ao tubo M, 02 (duas) gotas de soro antiglobulina monoespecífico (Soro de Coombs) e ao tubo P, 2 gotas de soro antiglobulina poliespecífico (Soro Anti-humano);

2.1.8. Homogeneizar e centrifugar os tubos por 15 segundos a 3400 rpm;

2.1.9. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias formado e verificar a presença de aglutinação, com ajuda de uma lupa.

- **Resultados Esperados:**

- Se aglutinação no tubo M e P = RESULTADO POSITIVO;
- Se aglutinação apenas no tubo M = RESULTADO POSITIVO;
- Se aglutinação apenas no tubo P = RESULTADO POSITIVO;
- Ausência de aglutinação em ambos os tubos = RESULTADO NEGATIVO.

- **Se Resultado Negativo:**

- Adicionar os testes negativos 01 (uma) gota de hemácias sensibilizadas (Controle de Coombs);
- Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm e ler;
- O resultado com as hemácias sensibilizadas (controcel) deve ser positiva, caso contrário, repetir o teste.

2.2. Recomendações

2.2.1. Usar amostra com anticoagulante;

2.2.2. Usar o controcel nos testes negativos;

2.2.3. Realizar o teste no máximo 03 (três) horas após colhido a amostra.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, repetir o teste e, se necessário, coletar uma nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

III. POP - COOMBS DIRETO MONOESPECÍFICO (SCREENING)

1. Materiais necessários

- ID – Diluente 2;
- Cartões Dc – ScreeningI;
- Tubos;
- Pipeta calibrada;
- Centrífuga;
- Amostras com citrato ou EDTA ou CPD-A.

2. Descrição da técnica

A técnica tem por objetivo diferenciar a classe da imunoglobulina e/ou complemento que está ligado as hemácias tais como IgA – IgG – IgM – C3c e C3d.

2.1. Passo a passo

- Não é necessário lavar as hemácias antes da preparação da suspensão;
- Preparar uma suspensão de hemácias a 0,8% em ID - Diluente 2 com a seguinte técnica:
 - I – ID – Diluente 2 deixar atingir a temperatura ambiente antes de ser utilizado;
 - II – Dispensar 1,0 ml de ID – diluente 2 no tubo de suspensões;
 - III- Pipetar 12,5 µl de concentrado de hemácias;
 - IV – Homogeneizar;
 - V – A suspensão de hemácias pode ser utilizada imediatamente.

2.1.2. Procedimentos:

- As amostras devem atingir a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de serem utilizadas;

- 1- Identificar o ID – Card com o nome ou número do paciente ou doador;
- 2- Retirar o lacre de alumínio mantendo o ID – Card na posição vertical;
- 3- Pipetar 50 µl da suspensão de hemácias em cada microtubo;
- 4- Centrifugar o ID – Card durante 10 minutos na ID – Centrífuga;
- 5- Ler e anotar os resultados das aglutinações.

2.1.3. Interpretar os Resultados:

a) Princípio:

Positivo: Células aglutinadas formando uma linha vermelha na superfície do gel ou dispersas ao longo da coluna do gel;

Negativo: Botão compacto de células no fundo do microtubo.

b) Reações AGH monoespecíficas

2.2. Recomendações

2.2.1. O controle negativo (CTL) deve mostrar sempre reações negativas. Em caso de positividade, proceder como se segue:

- Lavar as hemácias com NaCl 0,9% (ou ID – Diluent 2) pré-aquecidos a 37°C, depois realizar as etapas habituais como descrito em “Preparação da amostra” e “procedimentos”;
- Certos medicamentos podem causar um TAD positivo.

2.2.2. Não utilizar ID – Cards 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 dos microtubos ou na parte inferior do lacre de alumínio;

2.2.3. Certificar se os cartões foram centrifugados antes dos testes;

2.2.4. Observar se há resíduos de fibrina nas suspensões de hemácias, pois estes 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 a centrifugação;

2.2.5. Só utilizar o diluente ID-Diluent 2, pois o uso de outros diluentes para as suspensões de hemácias pode modificar as reações;

2.2.6. Bactéria ou outras formas de contaminação do material utilizado podem causar reações falso – positivas ou falso – negativas;

2.2.7. É essencial que os procedimentos e a utilização correta dos equipamentos sejam rigorosamente observados. Os equipamentos devem ser periodicamente checados e controlados de acordo com as normas BPL (Boas Práticas de Laboratório);

2.2.8. Suspensões de hemácias muito concentradas ou muito diluídas podem causar falsos resultados.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, repetir o teste.

3. Mapeamento

Não se aplica.

IV. POP - DETERMINAÇÃO DOS FENÓTIPOS RH E KELL EM GEL (CARTÃO MONOCLONAL)

1. Materiais necessários

- ID cartão Rh – subgrupos + K (monoclonal);
- ID Diluente 2;
- Hemácias com anticoagulante (EDTA ou CITRATO);
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Tubos para preparação das amostras;
- Centrífuga.

2. Descrição da técnica


2.1. Passo a passo

- 2.1.1. Centrifugar a amostra do paciente e ou da bolsa;
- 2.1.2. Centrifugar os cartões antes de usá-los (Não utilizar cartões com o lacre de alumínio danificado ou com sinais de ressecamento);
- 2.1.3. Deixar ID Diluente 2 atingir a temperatura ambiente antes de usá-lo;
- 2.1.4. Identificar o cartão com o nome do paciente ou n° do doador;
- 2.1.5. Retirar o lacre do alumínio mantendo o cartão na posição vertical;
- 2.1.6. Preparar uma suspensão de hemácias à 5% em ID-Diluente 2:
 - 2.1.6.1. Colocar no tubo 500 µl de Diluente 2;
 - 2.1.6.2. Adicionar 25 µl de concentrado de hemácias;
 - 2.1.6.3. Homogeneizar (Não precisa incubar, utilizar a diluição imediatamente);

- 2.1.7. Ressuspender suavemente a suspensão de hemácias e pipetar 12,5 µl nos 06 (seis) microtubos;
- 2.1.8. Centrifugar o cartão por 10 minutos;
- 2.1.9. Ler e anotar os resultados das reações.


Resultado: 3 a 4 + → positivo
Hemácias sedimentadas no microtubo ou 1+ = negativo

Exemplo 01:

Pacientes = DCe  → **INCOMPATÍVEL**
Bolsa = DCče

OBS.: A bolsa contém o antígeno ċ e o paciente não tem.

Exemplo 02:

Paciente: DCčeK  → **COMPATÍVEL**
Bolsa: Dče

OBS.: O paciente deverá ter todos os antígenos presentes na bolsa.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Certificar-se que o paciente não recebeu transfusão de concentrado de hemácias nos últimos 3 meses;
- 2.2.2. Só utilizar os reagentes e cartões após aprovados no CQI;
- 2.2.3. Verificar a validade dos reagentes;
- 2.2.4. Certificar que os cartões foram centrifugados antes de serem colocados na rotina;
- 2.2.5. Não utilizar cartões com o lacre de alumínio danificado ou com sinais de ressecamento;
- 2.2.6. Caso o controle seja positivo, o teste será inválido.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, refazer o teste com hemácias lavadas e verificar o histórico da patologia do paciente.

3. Mapeamento

Não se aplica.

V. POP - FENOTIPAGEM DO ANTÍGENO JK_a PELA TÉCNICA DE GEL

1. Materiais necessários

- ID-Diluyente 1;
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Cartão DiaClon Anti-JK^a;
- Amostra de sangue com EDTA ou CPDA-1;
- Tubos para preparação das amostras;
- Centrífuga;
- Incubadora.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Dispensar 500 µl de diluyente 1 em um tubo de hemólise;

2.1.2. Adicionar 50µl de sangue total ou 25 µl de concentrado de hemácias e homogeneizar cuidadosamente;

2.1.4. Incubar essa solução em temperatura ambiente durante 10 minutos;

2.1.5. Identificar o microtubo do cartão com o número ou nome do paciente ou da bolsa;

2.1.6. Dispensar 12,5 µl da solução de hemácias no microtubo correspondente;

2.1.6. Centrifugar por 10minutos.

Resultado:

Positivo: Presença de aglutinação de 1 a 4 cruces;

Negativo: Ausência de aglutinação.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Conservar esses cartões em geladeira (Temperatura de 2 a 8°C);
- 2.2.2. Só utilizar diluente 1;
- 2.2.3. A solução de eritrócitos deverá ser utilizada imediatamente após a incubação de 10 minutos a T.A.;
- 2.2.4. Só utilizar os reagentes e cartões após aprovados no CQI;
- 2.2.5. Verificar a validade dos reagentes;
- 2.2.6. Certificar que os cartões foram centrifugados antes de serem colocados na rotina.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. No caso de um resultado não conforme, testar com o ID - Diacell I ou II que seja positivo para JK^a.

3. Mapeamento

Não se aplica.

VI. POP - PESQUISA DE AUTO-ANTICORPOS OU AUTO CONTROLE EM GEL

1. Materiais necessários

- ID cartões LISS/COOMBS;
- ID diluente 2 (LISS);
- Amostra colhida com anticoagulante (EDTA ou CITRATO);
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Tubos para preparação das amostras;
- Centrífuga;
- Incubadora.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

- 2.1.1. Centrifugar a amostra a ser testada;
- 2.1.2. Colocar em um tubo de hemólise 1000 µl de ID diluente 2;
- 2.1.3. Acrescentar a este tubo 12,5 µl do concentrado de hemácias da amostra centrifugada;
- 2.1.4. Homogeneizar;
- 2.1.5. Identificar a amostra no cartão LISS/COOMBS;
- 2.1.6. Colocar 50 µl da diluição de hemácias no microtubo identificado;
- 2.1.7. Acrescentar 25 µl de soro ou plasma da mesma amostra no microtubo;
- 2.1.8. Incubar a 37°C 15 minutos;
- 2.1.9. Centrifugar por 10 minutos;
- 2.1.10. Ler e anotar os resultados.

Resultado:

Positivo: As hemácias na superfície ou na extensão da coluna de gel;

Negativo: As hemácias sedimentadas no fundo do microtubo.

2.2. Recomendações

2.2.1. Utilizar os reagentes e cartões somente após aprovados no CQI;

2.2.2. Verificar a validade dos reagentes;

2.2.3. Certificar que os cartões foram centrifugados antes de serem colocados na rotina;

2.2.4. Não utilizar cartões com o lacre de alumínio danificado ou com sinais de ressecamento;

2.2.5. Observar a indicação da solicitação do exame;

2.2.6. Saber história clínica do paciente.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, repetir o teste e, se necessário, coletar uma nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

VII. POP - TITULAÇÃO DE ANTICORPOS EM GEL

1. Materiais necessários

- Cartões LISS/Coombs;
- ID-Diluyente II;
- Hemácias testes I e II;
- Soro ou plasma a ser titulado;
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Centrífuga;
- Incubadora;
- Tubos para preparação das amostras.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Numerar 11 tubos de vidro com os seguintes títulos:

(1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024);

2.1.2. Adicionar 100µl de ID-Diluyente 2 nos tubos de título 1/2 até o tubo de título 1/1024;

2.1.3. Adicionar, somente no tubo de título 1/1, 200µl de soro ou plasma;

2.1.4. Retirar 100µl de soro do tubo 1/1 e transferir para o tubo 1/2. Em seguida, homogeneizar o tubo 1/2 e, com outra ponteira, transferir 100µl para o tubo 1/3. Repetir esse procedimento até o último tubo e desprezar 100 µl da última diluição (sempre trocando a ponteira);

2.1.5. Numerar dois cartões de Liss/Coombs com as mesmas diluições dos tubos;

2.1.6. Adicionar uma gota (50µl) de hemácias Diacel, que tiver apresentado reação mais forte no Coombs Indireto ou PAI, em todos os microtubos;

- 2.1.7. Pipetar 25µl de cada diluição dos tubos nos microtubos do cartão correspondente;
- 2.1.8. Incubar a 37°C por 15 minutos;
- 2.1.9. Centrifugar e ler.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. O título será o da última diluição que apresentar reação positiva de pelo menos 1+.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. No caso de um resultado não conforme, rever o POP e verificar a calibragem de diluição.

3. Mapeamento

Não se aplica.

VIII. POP - BLOQUEIO COM ANTI-IgG

1. Materiais necessários

- Tubos de hemólise;
- Ponteiros;
- ID-Centrífuga;
- Hemácias sensibilizadas por IgG;
- Solução fisiológica 0,9%;
- Coombs-Serum Anti-IgG;
- ID-Diluent 2;
- ID-LISS/Coombs.

2. Descrição da técnica

Objetivo: Fenotipar os antígenos eritrocitários quando o paciente apresentar o teste de antiglobulina direto em gel positivo com até 2+ de aglutinação. O teste tem como objetivo bloquear os anticorpos IgG que estão nas hemácias. O anti IgG monoespecífico se liga na fração Fc dos anticorpos deixando as hemácias livres para serem fenotipadas.

2.1. Passo a passo

- 1.1.1. Lavar 04 (quatro) gotas de hemácias do TAD positivo com salina (04 vezes);
- 1.1.2. Acrescentar 20 gotas de soro de Coombs monoespecífico monoclonal anti-IgG;
- 1.1.3. Homogeneizar e deixar em temperatura ambiente por 10 min;
- 1.1.4. Lavar as hemácias com solução fisiológica 0,9% (02 vezes), desprezando bem o sobrenadante na última lavagem;
- 1.1.5. Fazer uma nova suspensão e repetir o teste de Coombs Direto (TAD). Este deverá ser negativo, caso contrário pode-se repetir o procedimento até 02 (duas) vezes.

Nota: TAD positivo com até 2+, não interfere na fenotipagem para Rh e Kell.

2.2. Recomendações

1.1.6. A técnica não é indicada se houver registro de transfusão nos últimos 03 (três) meses.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, repetir o teste.

3. Mapeamento

Não se aplica.

IX. POP - PESQUISA DO ANTI-CDE EM TUBO

1. Materiais necessários

- Tubos de hemólise;
- Reagente anti – CDE;
- Solução salina – 0,9%;
- Centrífuga;
- Banho maria a 37°C;
- Hemácias do doador.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Fazer uma suspensão a 5% das hemácias do doador;

2.1.2. Colocar em um tubo de hemólise identificado 1 gota da suspensão de hemácias a 5% e 01 (uma) gota do soro anti – CDE;

2.1.3. Homogeneizar, centrifugar e ler;

2.1.4. Se houver aglutinação – CDE POSITIVO

2.1.5. Se não houver aglutinação ou aglutinação duvidosa - incubar por 05 (cinco) minutos a 37°C;

2.1.6. Centrifugar por 15 segundos a 3.400 rpm.

- Aglutinação presente – CDE POSITIVO
- Aglutinação ausente – CDE NEGATIVO

2.2. Recomendações

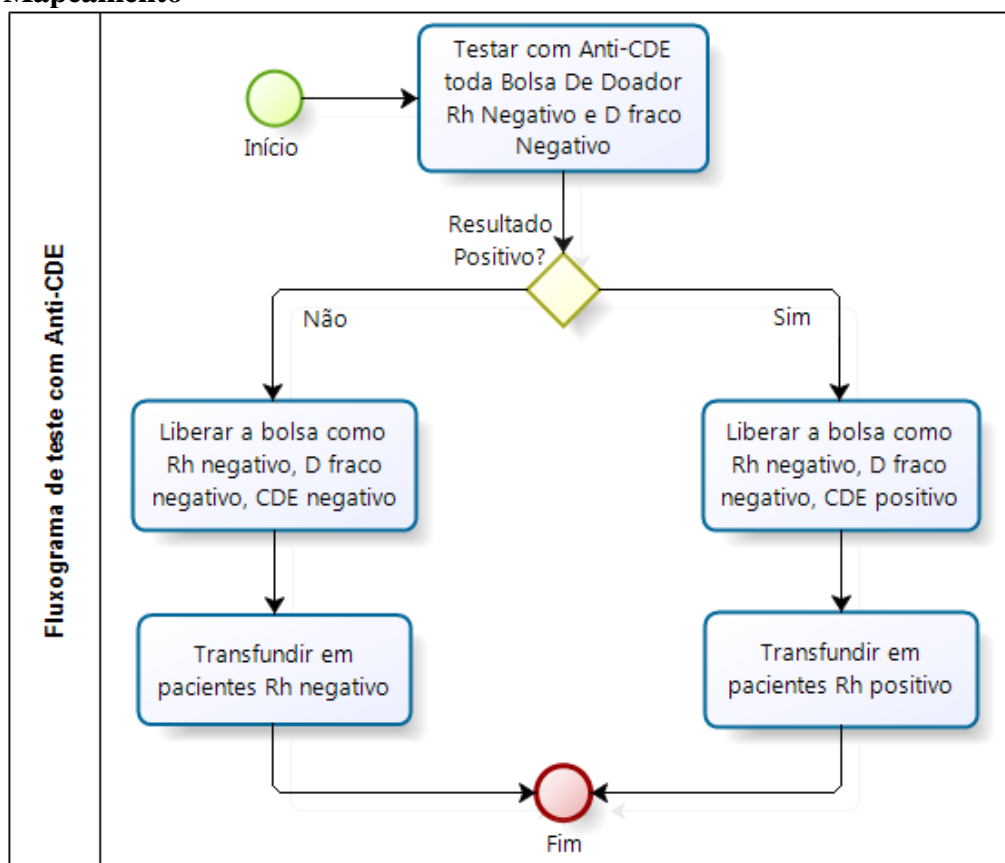
2.2.1. Não esquecer de rotular o doador CDE (+), para só utilizar em paciente Rh (+);

- 2.2.2. Observar o fluxograma anexado;
- 2.2.3. Se D fraco + não precisa fazer o CDE.
- 2.2.4. Verificar a validade do reagente.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. No caso de um resultado não conforme, ler a bula do reagente e observar se tem alguma mudança na descrição da técnica;

3. Mapeamento



Fonte: Unidade Transfusional, 2018.

Figura 1
Fluxograma de teste com Anti-CDE

Conclusão:

A bolsa só será considerada Rh negativo se for D fraco e CDE também negativo.

X. POP - PESQUISA DE HEMOLISINA ANTI-A E ANTI-B

1. Materiais necessários

- Centrífuga;
- Soro do doador;
- Hemácias (A₁ e B);
- Pipetas;
- Banho maria a 37°C.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Os tubos da prova reversa A₁ e B do doador do tipo sanguíneo “O”, após a leitura da prova reversa, deverão ser colocadas em Banho Maria a 37°C por 60 minutos, homogeneizando-os a cada 20 minutos;

2.1.2. Após 60 minutos, centrifugar os tubos por 15 segundos a 3.400 rpm e observar a presença de hemólise (não agitar o tubo);

2.1.3. Registrar no livro “Pesquisa de hemolisina”: a data, o nº da bolsa, o resultado da pesquisa e assinatura do técnico que realizou o procedimento.

- Presença de Hemólise = **Positivo.**
- Ausência de Hemólise = **Negativo.**

2.2. Recomendações

2.2.1. A não realização de transfusão de plaquetas “O” em paciente “A” e ou “B”, que possuam a pesquisa com resultado positivo.

Nota: Não realizar pesquisa de Hemolisina com plasma, somente com soro.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, verificar os reagentes e materiais utilizados e repetir o teste;

3. Mapeamento

Não se aplica.

XI. POP - PESQUISA DE AUTO ANTICORPOS A QUENTE EM TUBO

1. Materiais necessários

- Sangue com anticoagulante (EDTA);
- Sangue sem anticoagulante;
- Centrífuga;
- Banho Maria a 37°C;
- Solução salina – 0,9%;
- Albumina Bovina 22%;
- Soro Anti-Humano.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Rotular um tubo de hemólise, com o nome ou número do paciente;

2.1.2. Colocar neste tubo 02 (duas) gotas de soro do paciente;

2.1.3. Preparar uma suspensão a 5% em salina da hemácia do paciente (da amostra com EDTA) e colocar 1 gota ao tubo que já contém o soro;

2.1.4. Centrifugar o tubo por 15 segundos 3400 rpm;

2.1.5. Observar a presença de hemólise ou aglutinação no sobrenadante;

2.1.6. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias formado e verificar a presença de aglutinação, com ajuda de lupa;

2.1.7. Interpretar e anotar os resultados em graus de aglutinação.

➤ Fase Proteica - Leitura Imediata:

- Adicionar ao tubo 02 (duas) gotas de albumina bovina a 22%;
- Repetir os itens da centrifugação em diante.

➤ Fase Protéica a 37° C:

- Incubar o tubo de 15 a 30 minutos em banho-maria a 37° C;
- Repetir os itens da centrifugação em diante.

➤ Fase da Antiglobulina Humana:

- Lavar 03 (três) vezes com salina o tubo do teste, decantando totalmente o sobrenadante por inversão, após cada lavagem. Ressuspender o botão de hemácias formado a cada adição de salina. Após a última lavagem, enxugar a borda do tubo invertido com papel absorvente;
- Adicionar ao tubo 02 (duas) gotas de soro antiglobulina humana poliespecífico;
- Repetir os itens da centrifugação em diante.

➤ Controle de Reatividade do Soro Antiglobulina:

- Adicionar ao teste negativo, 01 (uma) gota de suspensão de hemácias sensibilizadas (Controle de Coombs) Controcel;
- Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm e ler;
- Interpretar e anotar os resultados.

➤ Resultados Esperados:

- Presença de hemólise e/ou aglutinação em alguma ou todas as fases = presença de AUTO ANTICORPOS;

- Ausência de hemólise e/ou aglutinação em todas as fases = AUTO ANTICORPOS NEGATIVO.

2.2. Recomendações

2.2.1. Nos testes negativos as reações com o controle de COOMBS deverá ser positiva. Caso contrário repetir o teste.

2.2.2. Observar se o controcel está sem hemólise e verificar a data de vencimento;

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Testar a reatividade do controcel, colocando em um tubo 01 (uma) gota de controcel e 01 (uma) gota de Anti humano, centrifugar e ler, o resultado deve ser positivo.

3. Mapeamento

Não se aplica.

XII. POP - TITULAÇÃO DE ANTICORPOS IRREGULARES (ALBUMINA – COOMBS) EM TUBO

1. Materiais necessários

- Soro do paciente;
- Solução salina isotônica - 0.9%;
- Suspensão de hemácias antígeno específico para o anticorpo a ser titulado;
- Albumina bovina 22%;
- Soro anti-humano;
- Centrífuga e BM a 37°C.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

- 2.1.1. Numerar uma série de tubos de hemólise 01 a 10 com o nome do paciente;
- 2.1.2. Colocar 100 microlitros do soro a testar, apenas nos tubos 01 e 02;
- 2.1.3. Adicionar 100 (microlitros) de solução salina a partir do tubo 02 até 10;
- 2.1.4. Homogeneizar o tubo 02 (diluição ½), transferir 100 ml desta diluição para o tubo seguinte (tubo 3), e assim sucessivamente, até o tubo 10;
- 2.1.5. Adicionar 1 gota de suspensão de hemácias a 5% antígeno específico para o anticorpo em estudo em todos os tubos (01 a 10);
- 2.1.6. Colocar 2 gotas de albumina bovina 22% em todos os tubos;
- 2.1.7. Incubar a 37° C por 15 a 30 minutos todos os tubos;
- 2.1.8. Centrifugar e ler;
- 2.1.9. Lavar 03 (três) vezes com salina os tubos de 01 a 10, decantando totalmente o sobrenadante por inversão, após cada lavagem;

2.1.10. Ressuspender o botão de hemácias formadas a cada adição de salina. Após a última lavagem, enxugar a borda dos tubos invertidos com papel absorvente;

2.1.11. Adicionar a todos os tubos 02 (duas) gotas de soro antiglobulina humana poliespecífico (anti - humano);

2.1.12. Centrifugar e ler;

2.1.13. Anotar os resultados.

2.1.14. Interpretação dos resultados:

- O título do anticorpo é representado pelo inverso da maior diluição onde se detecta a presença de aglutinação;
- O último tubo da série que apresenta reação de aglutinação e/ou hemólise, correspondente ao título do anticorpo em estudo.

Tubo 01 (1/1), tubo 02 (1/2), tubo 03 (1/4), tubo 04 (1/8) e assim sucessivamente.

2.2. Recomendações

2.2.1. Realizar a titulação no mesmo dia em que o PAI foi positivo;

2.2.2. Conferir com a titulação anterior caso o paciente já tenha realizado antes.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, repetir o teste e, se necessário, coletar uma nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

XIII. POP - PESQUISA DE SUBGRUPO A₂ OU A₂B

1. Materiais Necessários

- Tubos de hemólise;
- Centrífuga;
- Hemácias do doador ou paciente em tubo com EDTA;
- Reagente lectina anti – A₁;
- Solução salina – 0,9%;
- Hemácias teste A₁ da reversa (revercel).

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Colocar em um tubo de hemólise 01 (uma) gota de revercel A₁;

2.1.2. Acrescentar ao tubo 01 (uma) gota do reagente lectina anti – A₁;

2.1.3. Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm e ler;

2.1.4. Verificar na leitura:

- Se apresentar aglutinação, indica que o reagente está em condições de ser utilizado;
- Se não ocorrer aglutinação, o reagente está impróprio para uso, e o teste não poderá ser realizado;

2.1.5. Realizar o teste:

2.1.5.1. Preparar uma suspensão a 5% em salina das hemácias do doador ou do paciente;

2.1.5.2. Colocar em 1 tubo de hemólise 01 (uma) gota da lectina anti – A₁;

2.1.5.3. Acrescentar 01 (uma) gota da suspensão de hemácias;

2.1.5.4. Homogeneizar e incubar a temperatura ambiente por 15 minutos;

2.1.5.5. Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm;

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

2.1.6. Interpretação do resultado:

- Aglutinação presente indica que as hemácias testadas são A₁.
- Aglutinação ausente, indica que as hemácias testadas não são do grupo A₁, podendo ser do subgrupo A₂.

2.2. Recomendações

2.2.1. Não realizar o teste, sem antes fazer a validação do reagente, conforme está escrito no POP.

2.2.2. Se comprovada ser uma tipagem A₂ com Anti – A₁:

- Se doador: - descartar o plasma fresco e concentrado de plaquetas;
- o concentrado de hemácias (CH) pode ser utilizado em pacientes A₂;
- Se paciente: - só receber CH A₂ ou “O” com hemolisina negativa.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, repetir o teste e, se necessário, coletar uma nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

XIV. POP - DISCREPÂNCIA ABO

1. Materiais Necessários

- Centrífuga;
- Tubo de ensaio;
- Pipeta;
- Anti-soro;
- Hemácias teste;
- Amostra doador/paciente.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Pontos Gerais:

- Detalhes operacionais (rever execução de técnica e transcrição de resultados);
- Registros prévios (transfusão, medicamentos, idade e dados clínicos);
- Amostra (hemolisada, lipêmica, aglutinação espontânea);
- Funcionalidade dos reagentes/contaminação dos reagentes.

2.1.2. Investigações preliminares:

- Centrifugar a amostra;
- Repetir os testes – amostra fresca;
- Reagentes novos.

2.1.3. Técnicas Adicionais:

- Hemácias paciente ou doador – lavar e repetir;

- Soro paciente ou doador – aumentar o tempo de incubação – incubar a 4°C.

2.1.4. Discrepância não resolvida (prova direta)

a) Reações fracas/negativas:

- Se não relacionada à idade, doença ou formação de rouleaux;
- Possibilidade de Subgrupo – utilizar lectinas Anti A1 e Anti-H.

b) Reações fracas inesperadas:

- Poliaglutinação das hemácias – Utilizar reagentes monoclonal;
- (TAD) Coombs Direto positivo – Lavar as células com salina aquecida a 37°C;
- Aglutinação espontânea;
- - Se amostra armazenada à 4°C antes do teste:

Auto – anticorpo frios retestar a 37°C;

Nova amostra colhida e mantida a 37°C pode ser necessário.

2.1.5. Discrepância não resolvidas (Prova Reversa):

- Se não relacionado à idade (recém-nascido e idoso)

Imunossupressão, hipogamaglobulinemia ou hemólise dos reagentes de hemácias – teste deve ser considerado.

a) Reações fracas/negativas:

- Amostra fresca – Retestar a 4°C;
- Aumentar o tempo de incubação;
- Utilizar outro Kit de hemácias teste;
- Repetir prova direta para confirmação.

b) Reações positivas inesperadas:

- Possibilidade de aloanticorpo – identificar a especialidade do anticorpo;
- Possibilidade de auto anticorpo frio – Realizar autocontrole;
- Utilizar técnica pré-aquecida;
- Possibilidade de rouleaux – Técnica de adição de salina;
- Presença de Anti A1 natural em A2 – Testar com outras hemácias A1 para confirmar.

2.2. Recomendações

2.2.1. Resolver a discrepância no mesmo dia, se possível.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Coletar nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

XV. POP - DISCREPÂNCIA RH

1. Materiais Necessários

- Centrífuga;
- Tubo de ensaio;
- Pipeta;
- Anti-soro;
- Hemácias teste;
- Amostra doador/paciente.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo a passo

2.1.1. Pontos Gerais:

2.1.1.1. Verificar/Controlar/Investigar

- Detalhes operacionais (rever execução da técnica e transcrição dos resultados);
- Registro prévio (transfusão, medicamentos, idade, dados clínicos);
- Amostra (hemolisada, lipêmica, aglutinação espontânea);
- Funcionalidade dos reagentes/contaminação dos reagentes.

2.1.2. Investigações preliminares:

- Centrifugar amostra – Hemácias lavadas;
- Repetir os testes - amostra fresca – reagentes novos.

2.1.3. Problemas não resolvidos:

- a) Reações positivas inesperadas

- Verificar a formação de rouleaux relacionados a estado patológico.

- b) Resultado negativo prévio ou autocontrole também positivo:
 - Teste de Coombs Direto Positivo:
 - Utilizar reagente monoclonal;
 - Lavar as hemácias com salina pré-aquecida.

 - Troca de Amostras:
 - Checar registros anteriores;
 - Confirmar a identificação da amostra;
 - Repetir o teste com uma segunda amostra.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Procurar nos arquivos: mapas, livros e fichas se já tem tipagem anterior;
- 2.2.2. Resolver a discrepância no mesmo dia, se possível.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. Coletar nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

XVI. POP - ELUIÇÃO ÁCIDA DE ANTICORPOS (DIACIDEL)

1. Materiais Necessários

- Tubos;
- Pipetas;
- Centrífuga;
- Kit para eluição DIACIDEL;
- Amostras com EDTA colhidas recentemente.

2. Descrição da técnica

➤ O kit contém:

- DiaCidel – Solução de eluição contendo tampão ácido de glicina com indicador de cor, pronto para uso, em frasco de 10 ml;
- DiaCidel – Solução tampão - contendo tampão tris com albumina bovina (1,2%) pronto para uso, em frasco de 10 ml;
- Conservantes: 0,1 % NaN₃.

➤ Preparo de solução de trabalho:

- Diluir o Diacidel – Solução concentrada de lavagem a 1:10 com água destilada (1 parte de concentrado + 9 partes de água).

➤ Reativo adicional necessário:

- Solução salina isotônica 0,9%.

2.1. Passo a passo

➤ Procedimento de eluição:

2.1.1. Lavar as hemácias que tenham apresentado reação positiva no Teste da Antiglobulina Direto (TAD) uma vez com solução salina isotônica a 0,9%, devendo-se obter, no mínimo, 1,0 ml de concentrado de hemácias;

2.1.2. Lavar 1,0 ml do concentrado de hemácias 04 (quatro) vezes com “DiaCidel – Solução de trabalho para Lavagem”;

2.1.3. Após a última lavagem, decantar completamente o sobrenadante, separando parte deste sobrenadante para verificar a presença de anticorpos irregulares (ver observação 1);

2.1.4. Adicionar 1,0 ml de “DiaCidel – Solução de Eluição” a 1,0 ml do concentrado de hemácias lavadas. Homogeneizar bem;

2.1.5. Centrifugar imediatamente por 01(um) minuto a 900g (3000rpm);

2.1.6. Transferir o eluato (sobrenadante) para tubo limpo;

2.1.7. Adicionar 5 gotas (250 µl) de “DiaCidel – Solução Tampão” ao eluato e homogeneizar. Observar o aparecimento de coloração azulada, indicando que o pH neutro de 7,0 (± 0,5) foi atingido. Se a coloração azulada não aparecer, adicionar mais tampão (1 gota (50 µl) de cada vez), homogeneizando sempre;

2.1.8. Centrifugar o eluato por 01 (um) minuto a 900g (3000 rpm) para remover completamente resíduos de células;

2.1.9. O eluato está pronto para ser testado.

Proceder de acordo com as técnicas habituais para pesquisa e identificação de anticorpos com o eluato. O sobrenadante da última lavagem deverá ser utilizado como controle negativo.

2.1.10 Interpretar os resultados:

- Aglutinação das hemácias – teste com o eluato e não aglutinação no tubo controle com a solução da última lavagem indica que os anticorpos foram eluídos da superfície das hemácias. Proceder com as técnicas usuais de identificação de anticorpos irregulares;
- A não aglutinação das hemácias – teste com o eluato indica que os anticorpos não foram eluídos da superfície da membrana das hemácias ou que o antígeno correspondente não está presente nas hemácias-teste.

➤ Observações:

- Reatividade no sobrenadante da última lavagem pode indicar contaminação devido a lavagem inadequada das hemácias, antes da eluição. Entretanto, pode indicar também presença de anticorpo de baixa afinidade, eluído durante o processo de lavagem. Neste caso o procedimento de eluição deve ser repetido com os reativos e amostras a baixas temperaturas;
- Um TAD (Teste da Antiglobulina Direto) positivo, seguido de reação negativa no eluato, pode indicar que as globulinas fixadas às hemácias não foram removidas pela técnica de eluição ácida. Neste caso utilizar outro método de eluição;
- Se o teste não for realizado imediatamente, o eluato pode ser estocado por um período de até 07 (sete) dias em temperatura de 2 a 8°C. Entretanto se o eluato tornar-se turvo durante a estocagem, o mesmo não poderá ser utilizado.

➤ Limitações:

- Bactérias ou outras formas de contaminação do material podem causar reações falso positivas ou falso-negativas.

2.2. Recomendações

2.2.1. Só fazer o eluato se Combs Direto Positivo para IgG ou IgG e complemento;

2.2.2. É essencial que os procedimentos e a correta utilização dos equipamentos sejam rigorosamente observados. Os equipamentos devem ser periodicamente checados e controlados de acordo com as normas BPL (Boas Práticas de Laboratório).

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. No caso de um resultado não conforme, repetir o teste.

3. Mapeamento

Não se aplica.

XVII. POP - TESTE DE SOLUBILIDADE

1. Materiais Necessários

- Fosfato Monobásico de Potássio ($K_2H_2PO_4$);
- Fosfato Dibásico de Potássio (K_2HPO_4);
- Água destilada;
- Ditionito de Sódio;
- Saponina;
- Sangue total com EDTA;
- Tubo de Hemólise;
- Escala de Leitura;
- Pipeta Automática de 50ul;
- Ponteiras;
- Pipetas Graduadas.

2. Descrição

Baseado no princípio que a hemoglobina S é mais insolúvel que as demais hemoglobinas quando desoxigenada, o presente teste utiliza um reagente líxico (ditionito de sódio) e um tampão altamente concentrado. Quando as células que contém hemoglobina S são adicionadas à mistura reagente, ocorre turbidez pela solubilidade reduzida da hemoglobina S. As hemoglobinas normais são mais solúveis e permanecem em solução de mistura contínua clara.

➤ Preparo da solução tampão (I):

- Fosfato Monobásico de Potássio – 135 12g;
- Fosfato Dibásico de Potássio - 237,32g;
- Saponina – 10g;

- Água destilada qsp 1000 ml;
- Validade da Solução 90 dias, a temperatura de 2 a 6°C.

➤ Preparo da solução de trabalho (II):

- Solução de tampão – 500 ml (I);
- Ditionito de Sódio – 5 mg;
- Validade 24 horas a temperatura de 2 a 6°C.

OBS: A quantidade da solução de trabalho (II) vai depender da quantidade de testes a serem realizados.

2.1. Passo a passo

- 2.1.1. Colocar em tubo de hemólise 2 ml a solução de trabalho (II);
- 2.1.2. Adicionar 50ul de Hemácias (sangue total com EDTA) ao tubo contendo a solução de trabalho (II);
- 2.1.3. Homogeneizar;
- 2.1.4. Aguardar 5 minutos;
- 2.1.5. Fazer a leitura da solubilidade contra uma escala de papel com listras negras, horizontais;
 - Impossibilidade de visualização das listras negras: **Resultado Positivo**;
 - Visualização das listras negras: **Resultado Negativo**.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Utilizar a solução de 'uso' no máximo até 72h do seu preparo;
- 2.2.2. Sempre utilizar uma amostra conhecida com solubilidade POSITIVA como controle do reagente;
- 2.2.3. Armazenar as amostras controles em temperatura de 2 a 8°C por até 15 dias.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Repetir o teste e, se necessário, preparar um reagente novo.

3. Mapeamento

Não se aplica.

REFERENCIAIS TEÓRICOS

BORDIN, J,o *et al.*: **Hemoterapia fundamentos e prática**, 2007; Editora ATHENEU.

GIRELLO, Ana Lúcia; LUHN, Telma Ingrid. **Fundamentos da Imuno-hematologia Eritrocitária**. 3º Ed, 2011.

LAPIERRE, Y., RIGAL, D., ADAM, J. et al.: **The gel test**: a newway to detect red cell antigen – antibody reactions. *Transfusion* 1990; 30: 109-113.

HEMEPAR. Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná. **Manual de Transfusão Hospitalar e Complicação Transfusional** -, 2013.

OLIVEIRA. Maria do C. V. at all; **Manual de Imunohematologia Eritrocitária**. 1º Edição, Rio de Janeiro, Medsi, 1999.

OLIVEIRA, Maria B. S. C. *et al.* **Conceitos Básicos e Aplicados em Imunohematologia**. Rio de Janeiro: EPSJV, 2013.

Technical Manual of the American Association do Blood Banks, 13th ed., 1999. Issit, P. D.: *Applied blood group sorology*, 3rd ed. Miami; Montgomery Scientific Publications, 1985.



Hospital Universitário Professor Alberto Antunes – Filia Ebserh

Av. Lourival Melo Mota, S/N - Cid. Universitária / CEP: 57072-900 / Maceió – AL

Telefone: (82) 3202 - 3800 /Site: www.ebserh.gov.br/web/hupaa-ufal