

Procedimento
Operacional Padrão
POP/UTRANSF.IMU.TPT/T001/2018
Testes Pré-Transfusionais
Versão 4.0

**Unidade Transfusional/
Imunohematologia**

Procedimento Operacional Padrão

POP/UTRANSF.IMU.TPT/T001/2018

Testes Pré-Transfusionais

© 2017, Ebserh. Todos os direitos reservados
Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – Ebserh
www.ebserh.gov.br

Material produzido pela Unidade Transfusional do Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes
- Filial 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 pré-transfusionais – UTRANSF - Unidade Transfusional – Maceió:
Hupaa - Hospital Universitário Professor Alberto Antunes, 2017. 38p.

Palavras-chaves: 1 – Doação de Sangue; 2 – Hemoterapia,
3 – Imunohematologia; 4 – POP; 5 - Testes Pré-transfusionais.

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

JOSÉ MENDONÇA BEZERRA FILHO

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

VICENTINA ESTEVES WANDERLEY

Gerente de Ensino e Pesquisa do Hupaa-Ufal/Ebserh

THIAGO FELIPE SOARES DA SILVA

Gerente Administrativo do Hupaa-Ufal/Ebserh

EXPEDIENTE

LUCIANA DE ANDRADE PEREIRA

Coordenadora da Unidade Transfusional

Unidade Transfusional (Imunohematologia)

Produção

Unidade de Planejamento

Apoio

HISTÓRICO DE REVISÕES

Data	Versão	Descrição	Gestor do POP	Autor / Responsável por alterações
22/04/2014	2.0	Revisão Textual	Djana Maria de Lima Brêda	Djana Maria de Lima Brêda
17/07/2015	3.0	Revisão Textual	Djana Maria de Lima Brêda	Walkíria de Araújo Souza
16/02/2018	4.0	Revisão textual e adequação ao novo formulário do POP de acordo com o Manual de Padronização de POPs 1ª edição – 2014 - Ebserh	Djana Maria de Lima Brêda	Walkíria de Araújo Souza

SUMÁRIO

OBJETIVO	9
DOCUMENTOS RELACIONADOS	9
GLOSSÁRIO	9
APLICAÇÃO	9
INFORMAÇÕES GERAIS	10
I. POP - DETERMINAÇÃO ABO/RH E TAD (COOMBS DIRETO) EM RN.....	11
1. Materiais Necessários	11
2. Descrição das tarefas	11
2.1. Passo-a-passo	11
2.2. Recomendações	12
2.3. Ações em caso de não conformidade	12
3. Mapeamento	13
II. POP - DETERMINAÇÃO SISTEMA ABO (TUBO)	13
1. Materiais Necessários	13
2. Descrição das tarefas	13
2.1. Passo-a-passo	13
2.2. Recomendações	15
2.3. Ações em caso de não conformidade	16
3. Mapeamento.....	16
III. POP - DETERMINAÇÃO DO FATOR RH D (TUBO)	16
1. Materiais Necessários	16
2. Descrição das tarefas	16
2.1. Passo-a-passo	16
2.2. Recomendações	17
2.3. Ações em caso de não conformidade	17
3. Mapeamento	17
IV. POP - DETERMINAÇÃO DE D FRACO (GEL)	18
1. Materiais Necessários	18
2. Descrição das tarefas	18
2.1. Passo-a-passo	18
2.2. Recomendações	19
2.3. Ações em caso de não conformidade	19
3. Mapeamento	20

V. POP - DETERMINAÇÃO DO ANTÍGENO D FRACO (TUBO)	20
1. Materiais Necessários	20
2. Descrição das tarefas	20
2.1. Passo-a-passo	20
2.2. Recomendações	21
2.3. Ações em caso de não conformidade	22
3. Mapeamento	22
VI. POP - PROVA CRUZADA EM LISS/ COOMBS (GEL)	22
1. Materiais Necessários	22
2. Descrição das tarefas	22
2.1. Passo-a-passo	22
2.2. Recomendações	23
2.3. Ações em caso de não conformidade	23
3. Mapeamento	24
VII. POP - PROVA CRUZADA PELA TÉCNICA DO DIA-LISS (TUBO)	24
1. Materiais Necessários	24
2. Descrição das tarefas	24
2.1. Passo-a-passo	24
2.2. Recomendações	25
2.3. Ações em caso de não conformidade	25
3. Mapeamento	25
VIII. POP - TESTE DE COMPATIBILIDADE PRÉ-TRANSFUSIONAL (TUBO - ALBUMINA 22%)	26
1. Materiais Necessários	26
2. Descrição das tarefas	26
2.1. Passo-a-passo	26
2.2. Recomendações	28
2.3. Ações em caso de não conformidade	28
3. Mapeamento	28
IX. POP - PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES (PAI) EM LISS/COOMBS (GEL)	28
1. Materiais Necessários	28
2. Descrição das tarefas	29
2.1. Passo-a-passo	29
2.2. Recomendações	29

2.3. Ações em caso de não conformidade	29
3. Mapeamento	30
X. POP - PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES (PAI) PELA TÉCNICA DIA LISS	30
1. Materiais Necessários	30
2. Descrição das tarefas	30
2.1. Passo-a-passo	30
2.2. Recomendações	31
2.2. Ações em caso de não conformidade	31
3. Mapeamento	32
XI. POP - COOMBS INDIRETO COM ALBUMINA A 22% EM TUBO	32
1. Materiais Necessários	32
2. Descrição das tarefas	32
2.1. Passo-a-passo	32
2.2. Recomendações	34
2.3. Ações em caso de não conformidade	34
3. Mapeamento	34
XII. POP - PESQUISA DO ANTÍGENO 'D' ATRAVÉS DO REAGENTE ANTI-D IGM EM TUBO	35
1. Materiais Necessários	35
2. Descrição das tarefas	35
2.1. Passo-a-passo	35
2.2. Recomendações	35
2.3. Ações em caso de não conformidade	36
3. Mapeamento	36
REFERENCIAIS TEÓRICOS.....	37

OBJETIVO

Estabelecer os procedimentos para realização dos testes imunohematológicos pré-transfusionais de acordo com o manual do fabricante.

DOCUMENTOS RELACIONADOS

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

GLOSSÁRIO

CQI – Controle de Qualidade Interno

Ebserh – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares

EDTA - Ethylenediamine tetraacetic acid ou ácido etilendiamino tetra-acético

Hupaa - Hospital Universitário Professor Alberto Antunes

IMU - Imunohematologia

MS - Ministério da Saúde

POP – Procedimento Operacional Padrão

RN – Recém-nascido

Ufal – Universidade Federal de Alagoas

UTRANSF - Unidade Transfusional

APLICAÇÃO

UTRANSF / Laboratório de Imunohematologia.

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 referentes aos testes pré-transfusionais, exigidos pela Portaria nº. 158 de 04/02/2016, que são realizados no laboratório de Imunohematologia da Unidade Transfusional do Hupaa-Ufal/Ebserh, a fim de orientar os funcionários do setor e garantir a segurança transfusional.

I. POP - DETERMINAÇÃO ABO/RH E TAD (COOMBS DIRETO) EM RN

1. Materiais Necessários

- Cartões DIACLON ABO/Rh e Coombs para Recém-nascidos;
- ID – Diluente 2 (LISS);
- Sangue total ou do cordão do Rh com anticoagulante (EDTA);
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Centrífuga;
- Tubos para preparação das amostras.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Preparar a amostra:

2.1.1.1. Centrifugar o sangue total do RN (Recém-nascido) por 5 minutos;

2.1.1.2. Colocar 1000 µl do diluente 2 e 12,5 µl do concentrado de hemácias em um tubo;

2.1.1.3. Homogeneizar.

2.1.2. Identificar o cartão com o nome e número da amostra;

2.1.3. Retirar o lacre cuidadosamente (apoiado na bancada) de alumínio do cartão;

2.1.4. Pipetar 50 µl da suspensão de hemácias nos 06 microtubos, sem encostar nas bordas;

2.1.5. Centrifugar;

2.1.6. Ler e anotar os resultados das reações na ficha de doador ou no livro de paciente.

Interpretação dos resultados:

- Reação POSITIVA: Hemácias na superfície ou na extensão da coluna de gel;

- Reação **NEGATIVA**: Hemácias sedimentadas no fundo do microtubo;
- Controle: Resultado sempre negativo.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Só utilizar os reagentes e cartões após aprovados no CQI (Controle de Qualidade Interno);
- 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 se realiza prova reversa em RN, somente após o 4^o mês de vida.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. O controle deve ser sempre **NEGATIVO**. Em caso **POSITIVO**, a conduta é lavar as hemácias no mínimo 03 vezes e repetir o teste.

Dicas:

- Controle positivo de RN com Coombs Direto negativo em 95% dos casos se resolve com lavagem;
- Quando o Coombs Direto for **POSITIVO** e o controle **NEGATIVO**, investigar se o RN é RH positivo e a mãe RH negativo ou se o RN é “A” ou “B” e a mãe “O” (incompatibilidade ABO). Mas, se não encontrar o resultado da mãe, liberar o resultado e não esquecer de colocar o nº de cruces na requisição;
- Quando o controle e o Coombs Direto forem **POSITIVOS**, o resultado RH não poderá ser liberado, exceto se for realizado a tipagem Rh com o reagente Anti-D IgM (ver o Pop tipagem Rh Anti-D IgM, página 35).

- **Como liberar o exame com Coombs e controle positivos:**

- Liberar a tipagem ABO;
- Liberar o CD e colocar as cruzes;
- Escrever na requisição: “Devido o resultado Positivo do C. Direto, o teste de RH fica comprometido, sendo necessário repetir o teste com nova amostra, após 48 horas. ”
Caso seja necessário a transfusão, transfundir RH Negativo.

OBS.: Jamais deixar de liberar este resultado.

3. Mapeamento

Não se aplica.

II. POP - DETERMINAÇÃO SISTEMA ABO (TUBO)

1. Materiais Necessários

- Sangue total sem anticoagulante (Tubo sem anticoagulante);
- Soro-Teste: Anti – A e Anti – B;
- Hemácia-Teste: A1 e B a 5%;
- Solução salina – 0,9%;
- Centrífuga;
- Lupa;
- Tubos de hemólise;
- Pipetas de Pasteur.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Preparar a amostra:

2.1.1.1. Centrifugar o sangue total separando o soro das hemácias;

2.1.1.2. Preparar uma solução de hemácias a 5% em salina.

2.1.2. Preparar suspensão de hemácias a 5%:

2.1.2.1. Colocar 19 gotas do diluente;

2.1.2.2. Adicionar 1 gota do concentrado de hemácias lavadas ou não;

2.1.2.3. Homogeneizar;

2.1.2.4. Identificar com o nome ou número do paciente/doador.

OBS.: Amostra de RN:

- Hemácias de cordão umbilical, lavar 6 vezes com salina;
- Coletado do RN, lavar 3 vezes com salina.

2.1.3. Realizar prova direta:

2.1.3.1. Rotular 2 tubos de hemólise: anti-A, anti-B, com o nome ou número do paciente/doador;

2.1.3.2. Colocar em cada tubo 1 gota dos soros anti-A, anti-B, respectivamente;

2.1.3.3. Preparar uma suspensão a 5% das hemácias em um tubo de hemólise, devidamente identificado;

2.1.3.4. Distribuir 1 gota da suspensão nos tubos rotulados com anti-A, anti-B e homogeneizar;

2.1.3.5. Centrifugar por 15 segundos a 3400rpm;

2.1.3.6. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias formado e ler macroscopicamente as reações, em graus de aglutinação;

2.1.3.7. Interpretar e anotar os resultados.

2.1.4. Realizar prova reversa:

- 2.1.4.1. Rotular 2 tubos de hemólise: A1 e B, com o nome ou o número do paciente/doador;
- 2.1.4.2. Colocar 2 gotas do soro a testar em cada tubo;
- 2.1.4.3. Adicionar aos tubos A1 e B, 1 gota de suspensão a 5% de hemácias-teste A1 e B, respectivamente;
- 2.1.4.4. Homogeneizar;
- 2.1.4.5. Centrifugar os tubos por 15 segundos a 3400 rpm;
- 2.1.4.6. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias formado;
- 2.1.4.7. Ler macroscopicamente as reações, em graus de aglutinação; interpretar e anotar os resultados.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. As amostras recentes devem ser processadas imediatamente ou armazenadas até dois dias em geladeira de 2 a 8 °C, nunca congelar.
- 2.2.2. Todos os recipientes utilizados para a preparação dos reagentes devem ser completamente limpos e enxaguados com água destilada, antes do uso;
- 2.2.3. Os reagentes e amostras devem estar à temperatura ambiente (18 a 25°C antes de começar o teste e podem permanecer à temperatura ambiente durante o mesmo);
- 2.2.4. Os reagentes devem retornar à temperatura entre 2 a 8° C após o uso.
 - Não utilizar:
 - Amostra hemolisada;
 - Hemácias-teste hemolisadas;
 - Amostra com mais de 24 horas à temperatura ambiente;
 - Geléia de Wharton em amostra de sangue de cordão umbilical;

- Reagentes fora do prazo de validade.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Em caso de resultados discrepantes entre as provas direta e reversa comunicar ao responsável pelo setor para resolução e liberação do resultado.

3. Mapeamento

Não se aplica.

III. POP - DETERMINAÇÃO DO FATOR RH D (TUBO)

1. Materiais Necessários

- Solução de salina – 0,9%;
- Soro anti - D;
- Soro controle Rh do mesmo fabricante do soro anti - D;
- Tubos de hemólise.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Preparar uma suspensão a 5% das hemácias a testar, em solução salina 0,9%; em um tubo devidamente identificado,

2.1.2. Identificar 2 tubos de hemólise D (teste) e C (Controle), com o nome e o número do paciente/ doador;

2.1.3. Colocar no tubo D, 1 gota do soro anti - D e no tubo C, 1 gota controle Rh;

2.1.4. Acrescentar a cada tubo 1 gota de suspensão a 5% de hemácias a testar;

- 2.1.5. Centrifugar os tubos por 15 segundos a 3400 rpm;
- 2.1.6. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias;
- 2.1.7. Ler macroscopicamente a reação em graus de aglutinação;

Interpretação dos resultados:

- Presença de aglutinação - Rh positivo;
- Ausência de aglutinação - incubar os 2 tubos por 10 minutos em banho-maria a 37° C, centrifugar e ler os resultados:
 - Presença de aglutinação - Rh positivo;
 - Ausência de aglutinação - Rh negativo.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Usar os reagentes na temperatura adequada conforme a bula;
- 2.2.2. Descartar os materiais contaminados no Descarpack;
- 2.2.3. Trocar a salina a cada 7 dias com rótulo do prazo de validade.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. Em caso de resultado duvidoso, repetir o teste e se necessário, coletar nova amostra;
- 2.3.2. Caso o teste do controle de Rh apresente aglutinação, o teste é inválido, devendo-se repetir a tipagem com o reagente Anti-D IgM (consultar o POP da técnica).

3. Mapeamento

Não se aplica.

IV. POP - DETERMINAÇÃO DE D FRACO (GEL)

1. Materiais Necessários

- Cartões Diaclon Coombs anti-IgG (rabbit) ou cartões LISS/COOMBS;
- ID-Diluyente 2 (LISS);
- Sangue total com EDTA;
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Tubos para preparação das amostras;
- Centrífuga;
- Incubadora.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Preparar a amostra (Suspensão de hemácias):

2.1.1.1. Centrifugar o sangue total por 5 minutos;

2.1.1.2. Colocar no tubo 1000 µl do diluyente 2 e 12,5 µl do concentrado de hemácias;

2.1.1.3. Homogeneizar.

2.1.2. Identificar os microtubos do cartão com nome e n° de identificação do paciente ou doador;

2.1.3. Retirar o lacre do alumínio dos microtubos a serem utilizados (1 para cada determinação);

2.1.4. Pipetar 50 µl da suspensão de hemácias no microtubo correspondente;

2.1.5. Pipetar 50 µl do DIACLON anti-D, no mesmo microtubo, cuidadosamente para não encostar nas bordas;

- 2.1.6. Incubar o cartão a 37°C por 15 minutos;
- 2.1.7. Centrifugar o cartão por 10 minutos;
- 2.1.8. Ler e anotar os resultados.

Interpretação dos resultados:

- Reação **negativa**: Rh negativo, D-fraco negativo;
- Reação **positiva** de 4 (+): Rh positivo;
- Reação **positiva** de 1 a 3 (+): Se adulto liberar Rh Positivo (D Fraco), em casos de RN liberar como 'Rh Positivo'.

Nota: Não se libera resultado D Fraco em RN, apenas Rh Positivo ou Negativo.

2.2. Recomendações

2.2.1. Quando o D. Fraco for **POSITIVO** de 1 a 3+, fazer o Coombs Direto da Amostra:

- Se o Coombs Direto for Negativo = **D.FRACO POSITIVO**
- Se o Coombs Direto for Positivo = **TESTE INVÁLIDO**, fazer o D.Fraco em tubo. Caso o controle do Rh também dê positivo, o teste será inválido e o resultado não poderá ser liberado. Nesse caso, deve ser feita uma investigação.

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. Em caso de resultados duvidosos, lavar as hemácias e repetir o teste e se necessário, pedir nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

V. POP - DETERMINAÇÃO DO ANTÍGENO D FRACO (TUBO)

1. Materiais Necessários

- Solução salina – 0,9%;
- Soro anti-D;
- Soro controle Rh do mesmo fabricante do soro anti-D;
- Soro antiglobulina humana monoespecífico (Soro de Coombs);
- Hemácias teste sensibilizadas (Controle de Coombs);
- Tubos de hemólise;
- Papel absorvente ou gaze;
- Incubadora.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

- 2.1.1. Lavar 10 gotas de concentrado de hemácias 3 vezes com salina 0,9%, em um tubo devidamente identificado;
- 2.1.2. Preparar uma suspensão a 5% das hemácias lavadas, identificando-a corretamente;
- 2.1.3. Rotular 2 tubos D e C, com o nome ou número do paciente/doador;
- 2.1.4. Colocar 1 gota de soro anti-D no tubo D e 1 gota de soro controle Rh no tubo C;
- 2.1.5. Adicionar 1 gota de suspensão a testar em ambos os tubos;
- 2.1.6. Homogeneizar;

2.1.7. Incubar a 37° C por 15 minutos;

2.1.8. Centrifugar os tubos por 15 segundos a 3400 rpm, e observar a presença de hemólise no sobrenadante;

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

2.1.10. Interpretar e anotar os resultados em graus de aglutinação;

2.1.11. Lavar 3 vezes com salina os tubos D e C decantando o sobrenadante, por inversão. Ressuspender o botão de hemácias a cada adição de salina. Após o último procedimento, decantar completamente o sobrenadante, por inversão e enxugar a borda dos tubos com papel absorvente;

2.1.12. Adicionar 2 gotas de soro de Coombs monoespecífico em ambos os tubos. Homogeneizar;

2.1.13. Repetir os itens 2.1.8; 2.1.9 e 2.1.10;

Interpretação dos resultados:

- Se presença de aglutinação - D fraco **positivo**;
- Se ausência de aglutinação - D fraco **negativo**;

OBS.: Adicionar aos testes negativos, 1 gota de suspensão de hemácias sensibilizadas (Controcel), centrifugar e ler. A leitura deverá ser positiva, confirmando que o teste foi negativo.

2.2. Recomendações

2.2.1. Usar os reagentes na temperatura adequada conforme a bula;

2.2.2. Descartar os materiais contaminados em recipientes contendo hipoclorito;

2.2.3. Trocar a salina a cada 7 dias com rótulo do prazo de validade.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Em caso de resultados duvidosos, lavar as hemácias, repetir o teste e, se necessário, pedir nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

VI. POP - PROVA CRUZADA EM LISS/ COOMBS (GEL)

1. Materiais Necessários

- Cartões LISS/COOMBS;
- ID-Diluente 2;
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Soro ou plasma do paciente;
- Sangue do segmento da bolsa do doador;
- Centrífuga;
- Incubadora.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Colocar os diluentes e amostras em temperatura ambiente por 10 minutos;

2.1.2. Escrever o número da amostra do doador e o nome do paciente no cartão;

2.1.3. Colocar em um tubo de hemólise identificado com o número do doador o sangue do segmento da bolsa;

- 2.1.4. Centrifugar esta amostra;
- 2.1.5. Colocar em outro tubo de hemólise 1000 µl de ID diluente 2;
- 2.1.6. Acrescentar a este tubo 12,5 µl de hemácias do doador e homogeneizar;
- 2.1.7. Colocar no microtubo do cartão 50 µl desta diluição, mais 25 µl do soro ou plasma do paciente;
- 2.1.8. Incubar a 37°C por 15 minutos;
- 2.1.9. Centrifugar e ler.

Interpretação dos resultados:

REAÇÃO POSITIVA - As hemácias estão presentes na superfície ou na extensão da coluna de gel e a PC é incompatível. Anotar o resultado em número de cruces no livro de registro;

REAÇÃO NEGATIVA – As hemácias estão depositadas no fundo da coluna de gel e a PC é compatível.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Só utilizar os reagentes e cartões 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.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. Caso a Prova Cruzada tenha resultado POSITIVO, o PAI deverá ser POSITIVO e essa amostra deverá ser encaminhada ao HEMOAL para a análise do Painel de Hemácias. Este sangue **não** poderá ser utilizado neste paciente incompatível;

2.3.2. Caso o PAI seja POSITIVO e a Prova Cruzada NEGATIVA, o sangue poderá ser aplicado se a transfusão for urgente e não seja possível aguardar o resultado do painel de hemácias;

2.3.3. Caso a Prova Cruzada seja incompatível com mais de 03 bolsas, fazer o COOMBS Direto e o Auto-anticorpo desse paciente (possível candidato a pulso terapia).

3. Mapeamento

Não se aplica.

VII. POP - PROVA CRUZADA PELA TÉCNICA DO DIA-LISS (TUBO)

1. Materiais Necessários

- Centrífuga;
- Tubos de hemólise;
- Reagente DIA LISS;
- Soro do Paciente;
- Hemácias do doador;
- Banho Maria a 37°C.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

1ª Fase: salina

2.1.1. Identificar um tubo com o nome ou registro do paciente;

2.1.2. Colocar duas gotas do soro do paciente no tubo;

2.1.3. Adicionar uma gota de suspensão de hemácias a 5% do doador;

2.1.4. Homogeneizar e centrifugar por 20 segundos a 3.400 rpm;

2.1.5. Ressuspender suavemente a suspensão de hemácias e observar a aglutinação com o auxílio da lupa.

2ª Fase: antiglobina (COOMBS)

2.1.6. Colocar quatro gotas de DIA LISS com pipeta de Pasteur (não utilizar o conta gotas do reagente) no tubo e homogeneizar;

2.1.7. Incubar a 37°C por 5 minutos;

2.1.8. Lavar o tubo 3 vezes com salina e decantar na última lavagem;

2.1.9. Adicionar duas gotas de soro Anti-Humano ao tubo;

2.1.10. Homogeneizar e centrifugar por 20 segundos a 3.400 rpm;

2.1.11. Ressuspender suavemente e observar a presença de aglutinação;

2.1.12. Colocar uma gota do reagente controcel nos testes negativos e este deverá aglutinar, confirmando que o teste é negativo.

Interpretação dos Resultados:

- **INCOMPATÍVEL:** Presença de aglutinação;
- **COMPATÍVEL:** Ausência de aglutinação, deve aglutinar com o controcel.

2.2. Recomendações

2.2.1. Utilizar os reagentes dentro do prazo de validade;

2.2.2. Qualquer dúvida ler a bula do reagente

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Caso a prova cruzada apresente resultado compatível com o controcel, o problema foi na lavagem mal sucedida e deve-se repetir o teste.

3. Mapeamento

Não se aplica.

VIII. POP - TESTE DE COMPATIBILIDADE PRÉ-TRANSFUSIONAL (TUBO - ALBUMINA 22%)

1. Materiais Necessários

- Centrífuga;
- Banho Maria a 37° C;
- Solução Salina - 0,9%;
- Albumina bovina a 22%;
- Soro Antiglobulina Humano Poliespecífico;
- Controcel;
- Amostra do paciente.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Cortar e despejar o conteúdo do segmento da bolsa de sangue em tubo de hemólise identificado com o número do doador;

2.1.2. Preparar uma suspensão de 5% das hemácias do doador em salina a 0,9% em outro tubo também devidamente identificado;

2.1.3. Identificar os tubos de hemólise 01 e 02 com o número da bolsa de sangue e o nome ou o número do paciente;

2.1.4. Colocar em cada tubo 02 gotas de soro fresco do paciente;

2.1.5. Acrescentar 01 gota da suspensão de hemácias do doador aos tubos 01 e 02;

2.1.6. Adicionar 02 gotas de albumina bovina a 22% ao tubo 01;

2.1.7. Centrifugar os dois tubos por 15 segundos a 3400 rpm ou 1 a 1200rpm;

- 2.1.8. Observar a presença de hemólise no sobrenadante;
- 2.1.9. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias formado e verificar a presença de aglutinação no espelho côncavo do visor de aglutinação;
- 2.1.10. Interpretar e anotar os resultados em graus de aglutinação;
- 2.1.11. Incubar as reações por 30 minutos em banho-maria a 37°C;
- 2.1.12. Repetir os itens 2.1.7, 2.1.8, 2.1.9 e 2.1.10;
- 2.1.13. Lavar três vezes com salina, decantando totalmente o sobrenadante, por inversão, após cada lavagem. Ressuspender o botão de hemácias formado a cada adição de salina;
- 2.1.14. Após a última lavagem, enxugar a borda do tubo invertido com papel absorvente;
- 2.1.15. Adicionar ao tubo I e II 2 gotas de soro antiglobulina humana poliespecífico;
- 2.1.16. Homogeneizar;
- 2.1.17. Repetir os itens 2.1.7, 2.1.8, 2.1.9 e 2.1.10;
- 2.1.18. Adicionar ao teste negativo, 1 gota de suspensão de hemácias sensibilizadas (Controle de Coombs) Controcel;
- 2.1.19. Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm e ler;
- 2.1.20. Interpretar e anotar os resultados.

Interpretação dos resultados:

PROVA CRUZADA INCOMPATÍVEL = Presença de hemólise e/ou aglutinação nos tubos 1 e/ou 2, em qualquer uma ou em todas as fases do teste;

PROVA CRUZADA COMPATÍVEL = Ausência de hemólise e/ou aglutinação nos tubos 1 e/ou 2, em todas as fases do teste.

2.2. Recomendações

2.2.1. Usar soro e não plasma;

2.2.2. Não utilizar amostra hemolisada;

2.2.3. Manter o soro do paciente até 48hs em geladeira 02 a 6°C.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Prova cruzada compatível que não aglutine com o controcel, indica lavagem mal sucedida e o teste deve ser repetido.

3. Mapeamento

Não se aplica.

IX. POP - PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES (PAI) EM LISS/COOMBS (GEL)

1. Materiais Necessários

- Cartões LISS/COOMBS;
- ID-Diluente 2 (LISS);
- Hemácias testes I e II;
- Soro ou plasma do paciente/doador;
- Pipeta graduada;
- Ponteiras;
- Centrífuga;
- Incubadora.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

- 2.1.1. Colocar os diluentes e amostras em temperatura ambiente por 10 minutos;
- 2.1.2. Identificar a amostra no cartão;
- 2.1.3. Pipetar 50 µl das hemácias testes nos respectivos microtubos;
- 2.1.4. Adicionar 25 µl de soro ou plasma aos microtubos I e II;
- 2.1.5. Incubar a 37°C por 15 minutos;
- 2.1.6. Centrifugar e ler.

Interpretação dos Resultados:

REAÇÃO POSITIVA - As hemácias estão presentes na superfície ou na extensão da coluna de gel. Classificar a reação de 1 a 4 +;

REAÇÃO NEGATIVA – As hemácias estão depositadas no fundo da coluna de gel.

OBS.: Caso a amostra apresente resultado **POSITIVO**, encaminhá-la ao HEMOAL, juntamente com o formulário preenchido, para identificação do (s) anticorpo (s).

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Só utilizar os reagentes e cartões 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.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 3.2.1. Em caso de resultados duvidosos, repetir o teste e, se necessário, pedir nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

X. POP - PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES (PAI) PELA TÉCNICA DIA LISS

1. Materiais Necessários

- Tubos de hemólise;
- Centrífuga;
- Reagente DIA LISS;
- Soro do paciente ou doador;
- Hemácias de triagem;
- Banho Maria a 37°C;
- Soro de antiglobulina humana.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

1ª Fase: salina

- 2.1.1. Identificar 2 tubos I e II com o nome ou registro do paciente ou doador;
- 2.1.2. Pipetar 2 gotas de soro do paciente ou doador nos tubos I e II;
- 2.1.3. Adicionar uma gota do TRIACEL I no tubo I e uma gota do TRIACEL II no tubo II;
- 2.1.4. Homogeneizar e centrifugar por 20 segundos a 3.400 rpm;
- 2.1.5. Ressuspender a suspensão de hemácias suavemente e observar a aglutinação com a lupa.

2ª Fase: antiglobina (COOMBS)

- 2.1.6. Colocar quatro gotas de DIA LISS no tubo I e no tubo II com a pipeta de Pasteur (não utilizar o conta gotas do reagente) e homogeneizar;
- 2.1.7. Incubar a 37°C por 5 minutos;
- 2.1.8. Lavar os dois tubos três vezes com salina e decantar o sobrenadante na última lavagem;
- 2.1.9. Colocar duas gotas do soro Anti-Humano nos tubos I e II;
- 2.1.10. Homogeneizar e centrifugar por 20 segundos a 3.400 rpm;
- 2.1.11. Ressuspender a suspensão de hemácias suavemente e observar a presença de aglutinação com a lupa;
- 2.1.12. Colocar uma gota do reagente controcel nos testes negativos e este deverá aglutinar, confirmando que o teste é negativo.

Interpretação dos resultados:

POSITIVO: Presença de aglutinação;

NEGATIVO: Ausência de aglutinação.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Utilizar amostra em até 48h após coleta;
- 2.2.2. Encaminhar com a solicitação ao Hemoal para painel de hemácia.

2.2. Ações em caso de não conformidade

- 2.2.1. Em caso de resultados duvidosos, repetir o teste e, se necessário, pedir nova amostra.

2.2.2. É raro, mas pode ocorrer de o paciente apresentar o PAI negativo e a Prova Cruzada positiva. Enviar a amostra do paciente ao Hemoal para ser feito o painel de hemácias (justificando que apresentou prova cruzada incompatível).

3. Mapeamento

Não se aplica.

XI. POP - COOMBS INDIRETO COM ALBUMINA A 22% EM TUBO

1. Materiais Necessários

- Solução salina – 0,9%;
- Suspensão de hemácias teste I e II fenotipadas (Triacel I e II);
- Albumina bovina 22%;
- Soro antiglobulina humana (poliespecífico);
- Hemácias testes sensibilizadas (Controcel);
- Soro do paciente;
- Tubos de hemólise;
- Papel absorvente ou gaze.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

1ª Fase: salina - leitura imediata

2.1.1. Rotular 2 tubos de hemólise I e II, com o nome do paciente;

2.1.2. Colocar 2 gotas do soro a ser testado em cada tubo;

2.1.3. Adicionar aos respectivos tubos, 1 gota de hemácias testes I e II;

- 2.1.4. Homogeneizar;
- 2.1.5. Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm;
- 2.1.6. Observar a presença de hemólise no sobrenadante;
- 2.1.7. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias formado e verificar a presença de aglutinação, com ajuda de uma lupa.

2ª Fase: protéica - leitura imediata

- 2.1.8. Adicionar 2 gotas de albumina bovina a 22% aos tubos I e II;
- 2.1.9. Repetir os itens 2.1.5, 2.1.6 e 2.1.7;
- 2.1.10. Observar a presença de hemólise ou aglutinação.

3ª Fase: protéica a 37 °C

- 2.1.11. Incubar as reações dos tubos I e II por 15 a 30 minutos, em banho-maria a 37° C;
- 2.1.12. Repetir os itens 2.1.5, 2.1.6 e 2.1.7;
- 2.1.13. Observar a presença de hemólise ou aglutinação.

4ª Fase: antiglobulina humana

- 2.1.14. Lavar 3 vezes com salina, as reações contidas nos tubos I e II decantando totalmente o sobrenadante, por inversão, após cada lavagem;
- 2.1.15. Ressuspender o botão de hemácias formado a cada adição de salina. Após a última lavagem, enxugar a borda dos tubos invertidos com papel absorvente;
- 2.1.16. Adicionar aos tubos 2 gotas de soro antiglobulina humana poliespecífico;
- 2.1.17. Repetir os itens 2.1.5, 2.1.6 e 2.1.7;
- 2.1.18. Observar a presença de hemólise ou aglutinação.

2.1.19. Colocar uma gota do reagente controcel nos testes negativos e este deverá aglutinar, confirmando que o teste é negativo;

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

2.1.21. Interpretar e observar os resultados.

Interpretação dos resultados:

- Presença de hemólise e/ou aglutinação nos tubos I e II em qualquer uma ou em todas as fases = **Coombs indireto positivo**;
- Ausência de hemólise e aglutinação nos tubos I e II em todas as fases = **Coombs indireto negativo**.

2.2. Recomendações

2.2.1. Só utilizar soro e não o plasma;

2.2.2. Manter amostra armazenada até 48h em geladeira 2 – 4°C.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Nos testes com resultados negativos, a reação com hemácias sensibilizadas deve ser positiva, caso contrário repetir o teste.

3. Mapeamento

Não se aplica.

XII. POP - PESQUISA DO ANTÍGENO 'D' ATRAVÉS DO REAGENTE ANTI-D IGM EM TUBO

1. Materiais Necessários

- Tubo de hemólise;
- Centrífuga;
- Pipeta;
- Anti – D salino.

2. Descrição das tarefas

2.1. Passo-a-passo

- 2.1.1. Fazer uma suspensão de hemácias a 5%;
- 2.1.2. Colocar 1 gota desta suspensão em um tubo de hemólise;
- 2.1.3. Acrescentar 1 gota do reagente anti – D IgM;
- 2.1.4. Homogeneizar e centrifugar durante 15 segundos a 3.400 rpm;
- 2.1.5. Ressuspender o botão de hemácia delicadamente e observar a presença de aglutinação ou não.

Nota: Anti-D IgM não usa controle Rh

Interpretação dos resultados:

- -Presença de aglutinação = **Rh positivo (+)**;
- Ausência de aglutinação = **Rh negativo (-)**.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Realizar o teste apenas nos doadores / pacientes que apresentam controle Rh com aglutinação.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Em caso de resultados duvidosos, repetir o teste e, se necessário, pedir nova amostra

3. Mapeamento

Não se aplica.

REFERENCIAIS TEÓRICOS

ANVISA. Redefine regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos: **portaria n° 158, de 4 de fevereiro de 2016.** Disponível em: <http://www.hemocentro.unicamp.br/dbarquivos/portaria_ms_n_158_de_04_de_fevereiro_2016.pdf> Acesso em: 20 jul. 2017.

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

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

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

OLIVEIRA, Maria do C. V. *et at.*. **Manual de Imunohematologia Eritrocitária.** 1º ed., Rio de Janeiro: Medsi, 1999.

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

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE. Hemepar - Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná. **Manual de Transfusão Hospitalar e Complicação Transfusional.** 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 – Filial 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