

Atividade:

PROVAS PRÉ-TRANSFUSIONAIS

Data da Emissão:

17/01/2020

Data da Revisão:

17/01/2022

Responsável: Equipe da Agência Transfusional – médico, enfermeira e técnico de enfermagem.

Objetivo: Identificar hemocomponentes compatíveis com o tipo sanguíneo do paciente a ser transfundido.

Materiais Necessários:

Método em Gel

1. Centrífuga sorológica de tubos de mesa (3.000 a 3.600 rpm)
2. Estante porta tubos
3. Câmara de conservação 2°C-8°C
4. Banho Maria 37°C
5. Micropipeta de 12,5, 25 e 50µl
6. Tubos de ensaio 10x75 mm ou 12x75 mm
7. Ponteiras com anéis de vedação e capacidade volumétrica de aproximadamente 300 µl
8. Centrífuga de cartões
9. Incubadora de cartões
10. Estação de trabalho acrílico de cartões
11. Estação de trabalho acrílico de tubos
12. Dispensador do diluente 2 (LISS)
13. Reagentes:
 - Solução de hemácias conhecidas de grupo A1 e B (suspensão salina 0,8%), também conhecida como ID-Diacell A1-B®. Estáveis por um período não inferior a 28 dias.



- Solução de hemácias conhecidas para pesquisa de anticorpos irregulares (suspensão salina 0,8%), também conhecida como ID-Diacell I-II®. Estáveis por um período não inferior a 28 dias.

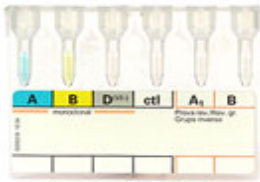


- Solução de baixa força iônica para suspensão de eritrócitos, também conhecida como ID-Diluente 2 (LISS - *Low Ionic Strength Saline*)

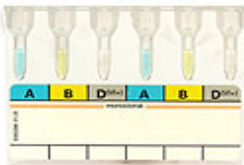
- Solução fisiológica 0,9%

14. Cartões em Gel:

- Cartão ID-Diaclon ABO/D+Prova reversa: Cartão com 6 microtubos, fundo em V, sendo que os microtubos 1, 2 e 3 contêm, respectivamente, anticorpos monoclonais anti-A, anti-B, anti-D, suspensos em gel matriz superfino. Os microtubos 4 controle (Ctl), 5 e 6 (prova reversa) contêm tampão NaCl suspenso em gel matriz superfino.



- Cartão ID-Diaclon ABD Confirmação: Cartão com 6 microtubos, fundo em V , sendo que os microtubos 1 e 4, 2 e 5, 3 e 6 contêm, respectivamente, anticorpos monoclonais anti-A, anti-B e anti-D, suspensos em gel matriz superfino.



- Cartão ID-LISS/Coombs: Cartão com 6 microtubos, fundo em V , sendo que cada microtubo contém anti-IgG e anti-C3d suspensos em gel matriz superfino.



Principais atividades	Responsável
<p>Serão realizadas pelo método em Cartão Gel:</p> <p>Determinação do Grupo ABO: Sistema ABO é o mais importante para a prática transfusional. A tipagem sanguínea direta pesquisa a presença de antígenos ABO nas hemácias teste e a reversa seus anticorpos correspondentes utilizando hemácias conhecidas A1 e B. Nunca liberar uma unidade de sangue para transfusão até que a discrepância entre tipagem direta e reversa tenha sido resolvida.</p> <p>Determinação do Fator Rh: O antígeno D (Rh) é considerado o mais imunogênico e o mais importante na transfusão. Na determinação do tipo Rho (D), é obrigatório o uso do soro anti-D e do controle Rh (do mesmo fabricante e marca do soro Anti-D em uso), este último pela possibilidade da presença de auto-anticorpos e / ou proteínas séricas anormais. O anticorpo anti-D não está normalmente presente no soro/plasma dos pacientes Rh negativos. Seu desenvolvimento depende de uma exposição prévia ao antígeno. 80% das pessoas Rh negativo que recebem pelo menos uma transfusão Rh positivo, poderão desenvolver o anticorpo anti-D. Os mecanismos comuns de imunização são gestações e/ou transfusão anterior. Outros antígenos do sistema Rh que tem também importância clínica são o C (grande) e c (pequeno), E (grande) e e (pequeno).</p> <p>- D Fraco/ D Parcial A característica de reagir de modo atípico com anti-D apresentada por algumas células foi descrita por Stratton, em 1946, como sendo tais células portadoras do fenótipo D fraco. De acordo com a descrição original, esse fenótipo não reagia ao método de aglutinação direta, mas podiam ser expressos com o uso da técnica de AGH indireto (Coombs Indireto). Atualmente sabemos que a diferença entre D+ e D fraco é quantitativa, não qualitativa. A maioria dos soros monoclonais utilizados regularmente nas rotinas é capaz de detectar a maioria das amostras que foram até então classificadas como D fraco. Sabe-se que a presença de epítomos de um antígeno D parcial é capaz de determinar a formação de um anticorpo correspondente. Os D parciais, fenótipos raros de antígeno D positivos, foram divididos em categorias numeradas de I a VII. As categorias III, IV e V, em face de algumas outras evidências sorológicas foram subdivididas.</p> <p># Os paciente receptores identificados como D fraco deverão receber hemocomponentes Rh negativos. #</p> <p>Teste de Coombs direto: Pesquisa a sensibilização in vivo através de transfusão e gestação. É utilizado para demonstrar a presença de hemácias recobertas por anticorpos in vivo, principalmente IgG e C3d.</p>	<p>Todos os profissionais</p>

Pesquisa de Anticorpos Irregulares: Visa detectar anticorpos irregulares clinicamente significantes no soro/plasma do receptor, consiste em testar o soro do receptor com hemácias de triagem conhecidas. É importante que se utilize SEMPRE um autocontrole nas mesmas fases e temperaturas em que foram utilizadas as hemácias de triagem.

Anticorpos ditos irregulares são aqueles formados por imunização devido a transfusões, gestação ou ingestão constante de material imunogênico, sendo de classe IgG ou IgM. É um teste de triagem onde em casos de pesquisa positiva, deve-se identificar a classe e especificidade do anticorpo responsável, para a seleção de sangue compatível, antígeno negativo para a transfusão. O teste emprega um KIT contendo no mínimo duas suspensões de hemácias O (hemácias de triagem), as quais possuem a maioria dos antígenos estudados em rotina de banco de sangue.

Havendo presença de anticorpos irregulares no soro a ser testado, estes reagirão com os antígenos correspondentes, presentes nas hemácias de triagem.

Anticorpos da classe IgM são normalmente detectados em meio salino e temperatura ambiente, enquanto que anticorpos da classe IgG são detectados através da utilização do soro antiglobulina humana após a incubação a 37°C.

Prova de compatibilidade: Exceto para as solicitações de extrema urgência, é realizada antes da transfusão de sangue total ou de hemácias. Verifica a compatibilidade ABO e/ou presença de anticorpos no receptor (soro) contra antígenos (hemácias) do doador que se encontra no tubo coletor da bolsa a ser transfundida. É desnecessária a realização de prova de compatibilidade antes da transfusão de plasma, crioprecipitado e concentrado de plaquetas. Caso haja qualquer discrepância nas provas pré-transfusionais, chamar profissional responsável pelo setor para esclarecimento.

Retipagem do Grupo ABO/Rh dos doadores: Em todos os hemocomponentes com hemácias a serem cruzados. Realizar de uma amostra do tubo coletor da bolsa de sangue a retipagem ABO enquanto que a retipagem do Fator Rh só precisa ser feita em bolsas de sangue Rh negativas.

ROTINA

1. Exames no sangue do RECEPTOR adulto e crianças com mais de 4 meses de idade:

- Classificações dos sistemas ABO e Rh

- Prova de hemácias = Direta

- Prova de soro = Reversa (este teste não é realizado em menores de 4 meses)

- Pesquisa de anticorpos irregulares

- Coombs direto (quando indicado)

- Prova de compatibilidade

2. Repetição de exames no sangue do DOADOR:

Quando for realizar transfusão de concentrado de hemácias realizar:

- Retipagem do grupo ABO e Rh

PROCEDIMENTOS

Método em GEL

CLASSIFICAÇÃO SANGUÍNEA ABO/Rh

PROVA DIRETA e REVERSA (monoclonal)

Material

Cartão - ID-DiaClon ABO/D+Prova Rev.

Diluente - Diluente 2 (LISS)

Amostra - Hemácias (sedimento) e plasma**Suspensão de hemácias (técnica modificada)** – 1.000µl de Diluente 2 (LISS) + 12,5µl de hemácias (sedimento)**Técnica**

1. Preparar a estação de trabalho colocando os tubos das amostras bem centrifugadas ao lado de um tubo contendo 1.000µl de diluente 2 (LISS) em direção a um cartão de DiaClon ABO/Rh+Prova Reversa.
2. Identificar os cartões em relação aos respectivos tubos de amostras.
3. Pipetar 50µl de todas as hemácias A₁e B nos respectivos microtubos de cada cartão.
4. Pipetar 25µl do plasma sobrenadante sobre essas hemácias dispensando a ponteira dentro dos tubos de suspensão contendo o Diluente2 (LISS)
5. Fazer uma suspensão pipetando 12,5µl de hemácias (sedimento) nos tubos contendo 1.000µl de diluente 2 (utilizando a mesma ponteira dispensada no tubo anteriormente)*
6. Abrir os cartões e pipetar 50µl da suspensão de hemácias do paciente, nos microtubos A,B,D e CTL do cartão.
7. Centrifugar e Ler

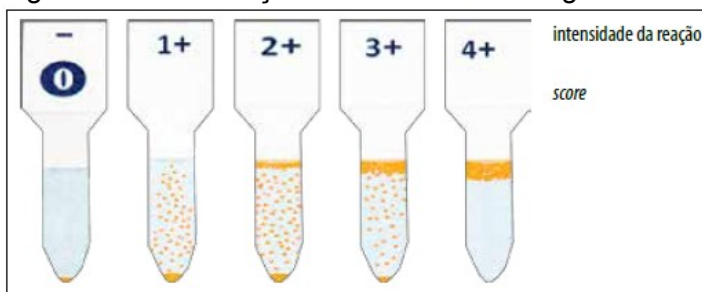
Interpretação

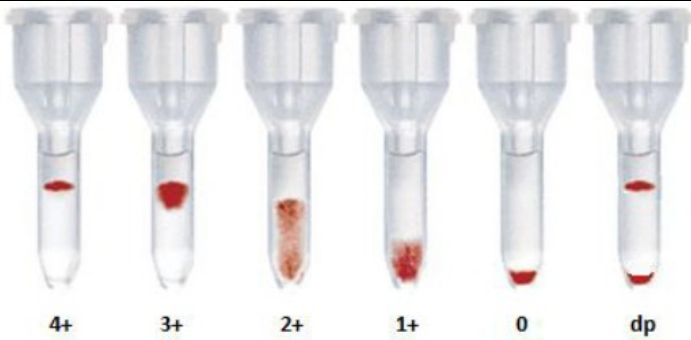
- As reações esperadas para testes positivos são 3+ e 4+.
- Para intensidades menores que 1+, considerar como “pó” (W).
- Reações mais fracas do que 3+ podem indicar a presença de subgrupos A ou B, nesse caso devem ser realizados testes adicionais.
- Em presença de antígenos fracos ou de expressão muito fraca a reação pode ser negativa. O Anti-B de origem monoclonal não reage com o antígeno B adquirido.
- O microtubo “ctl” deve apresentar uma reação negativa. Caso o “ctl” seja positivo, o procedimento deve ser o seguinte:
 - Em primeiro lugar, lavar os eritrócitos com uma solução isotônica salina (ou ID-diluente 2), antes de proceder à preparação da suspensão de 5% e, em seguida, realizar a técnica novamente.
 - Se o controle negativo se mantiver positivo, os resultados da determinação ABO/Rh não devem ser considerados válidos e devem ser feitas mais investigações seguindo as técnicas recomendadas para averiguar a razão, antes que possa ser assegurada uma tipagem válida do antígeno.
- Os vestígios ou reações fracas devem ser sujeitos a mais investigações para distinguir entre tipos D fraco e D parcial conforme a categoria da amostra a ser testada.

OBSERVAÇÃO:**RESOLUÇÃO DE DISCREPÂNCIA ABO (REVERSA SEM REAÇÃO)**

- Na ocasião de não haver reação na reversa, realizar o teste em TUBO:
- Identificar dois tubos com reversa A e reversa B.
- Pipetar 100µl da solução de hemácias A e B, respectivamente.
- Pipetar 50µl do soro/ plasma do paciente, respectivamente.
- Homogeneizar, armazenar em geladeira, a 4°C, por 20min.
- Centrifugar a 3.400rpm por 15 segundos e fazer a leitura.

Figura 5: Quantificação da intensidade em gel.





Interpretação para tipagem Rh

1. Quando a prova para tipagem do fator Rh(D) ou a prova para D-fraco resultar **POSITIVO** a tipagem será considerada **Fator Rh positivo**.
2. Quando a prova para tipagem do fator Rh(D) ou a prova para D-fraco resultar **NEGATIVO** a tipagem será considerada **NEGATIVA**, ou seja, **Fator Rh negativo**.
3. Para que a tipagem do fator Rh possa ser considerado como válido o resultado do controle de Rh é **sempre NEGATIVO**.
4. Caso o controle de Rh (tubo CR) seja **POSITIVO** não considerar o seu Rh e proceder da seguinte maneira:
 - Considerar **INVÁLIDA** a tipagem Rh.
 - Utilizar antissoro anti-D da classe IgM.
 - Se houver **URGÊNCIA** considere o paciente como Rh negativo e faça a prova de compatibilidade com sangue Rh negativo.
 - **# Os paciente receptores identificados como D fraco deverão receber hemocomponentes Rh negativos. Os pacientes doadores são considerados fator Rh positivo. #**

Figura 4: Interpretação dos resultados.

Prova Direta					Reversa		Interpretação
AB	A	B	D	C. Rh	HA1	HB	
+	+	O	+	O	O	+	A +
+	+	O	O	O	O	+	A -
+	O	+	+	O	+	O	B +
+	O	+	O	O	+	O	B -
+	+	+	+	O	O	O	AB +
+	+	+	O	O	O	O	AB -
O	O	O	+	O	+	+	O +
O	O	O	O	O	+	+	O -

RETIPAGEM DA BOLSA (RETIPAGEM ABO E RH DO DOADOR)

Material

Cartão - ID-DiaClon ABD Confirmação

Diluyente - Diluyente 2 (LISS)

Amostra - Doador: Sangue da cânula da bolsa

Suspensão de hemácias - 1000µl de Diluyente 2 (LISS) + 12,5µl de hemácias (sedimento)

Técnica

1. Identificar os cartões em relação aos respectivos tubos de amostras.
2. Pipetar 12,5µl da suspensão de hemácias realizada a partir do sedimento do sangue da cânula da bolsa nos respectivos microtubos A,B,D (dois doadores por cartão).

3. Centrifugar e Ler

PESQUISA ANTICORPOS IRREGULARES:

Método em GEL

- **Cartão:** ID-LISS/Coombs
- **Hemácias:** Células I e II do ID-DiaCell I+II
- **Amostra do receptor:** Soro ou Plasma bem centrifugado

1. Preparar a estação de trabalho colocando os tubos das amostras bem centrifugadas em direção aos cartões LISS/Coombs.
2. Isolar e Identificar dois micros tubos no cartão como I e II e o nome do paciente logo abaixo.
3. Pipetar 50µl das células do ID-DiaCell I+II nos micro tubos devidamente identificados.
4. Pipetar 25µl do soro ou plasma sobre as células já pipetadas.
5. Incubar por 10 minutos a 37°C no ID-Incubadora.
6. Centrifugar 1000 rpm durante 10 minutos e Ler.

BIBLIOGRAFIA

1. Harmening D, Modern blood banking and transfusion practice, 5 Ed, 2005.
2. Judd WJ, Johnson ST, JR Storry; Judds Methods Immunohematology, 3 Ed, 2008.
3. Klein HG, Anstee DJ, Mollison's-Blood Transfusion in clinical medicine 11 Ed, 2005
4. Koback J, Combs MR, Grossman B. Hilver C, Technical Manual, American association of Blood of Blood Bank, 16 Ed, 2008.

TESTE DE ANTIGLOBULINA DIRETA (TAD) = COOMBS DIRETO

Material

Cartão - ID-LISS/Coombs

Amostra - Sangue Total

Diluyente - Diluyente 2 (LISS)

Suspensão de hemácias - 1000µl de Diluyente 2 (LISS) + 12,5µl de hemácias (sedimento)

Técnica

1. Identificar o cartão ID-LISS/Coombs (isolando um microtubo) com o nome do paciente e as iniciais CD.
2. Pipetar 50 µl da suspensão de hemácias no respectivo microtubo.
3. Centrifugar e ler.

Obs.: Não é necessária incubação.

Em amostras com teste positivo, há a presença de anticorpos. São alo-anticorpos em casos de doença hemolítica do recém-nascido (DHRN) ou reações hemolíticas pós-transfusionais. Deverão ser realizados testes adicionais, incluindo-se eluição e pesquisa de frações de complementos e IgA. Não deverão ser liberados resultados antes da conclusão de toda a pesquisa. Isso significa avisar o responsável e enviar amostra ao HEMORGS.

PROVA DE COMPATIBILIDADE = PROVA CRUZADA

Material

Cartão - ID-LISS/Coombs

Diluyente - Diluyente 2 (LISS)

Amostra

Doador: Sangue da cânula da bolsa ou sangue total bem centrifugado.

Paciente: Plasma ou soro.

Suspensão - 1000µl de Diluyente 2 (LISS) + 12,5µl de hemácias (sedimento)

Técnica

1. Identificar os cartões em relação aos respectivos tubos de amostras isolando, com uma caneta, um ou mais micro tubos e sob ele o nº da(s) bolsa(s) do(s) doador(es) e no corpo do cartão o nome do paciente, imediatamente abaixo dos respectivos microtubos.
3. Abrir os cartões e pipetar 50 µl da suspensão de hemácias no(s) respectivo(s) microtubo(s) do cartão ID-LISS/Coombs, devidamente identificado(s).
5. Em seguida, pipetar 25µl de plasma ou soro sobre as respectivas hemácias.
6. Incubar os cartões por 15 minutos a 37°C na ID-incubadora.
7. Centrifugar e ler.

Registro dos Testes Pré-transfusionais

1. Realizar registros no Formulário de Solicitação de Transfusão de prova cruzada com os dados da bolsa;
2. Registrar no livro de testes pré-transfusionais o resultado obtido em cada teste após cada leitura observando a coluna destinada com: ordem, data, nome do paciente, prontuário, tipagem direta, tipagem reversa, PAI, PC (prova cruzada), nº do doador, ABO/Rh, nº do segmento (macarrão); volume da bolsa, validade, resultado e técnico executante;
3. Identificar a(s) bolsa(s) compatível(eis) com etiqueta a qual deve ser preenchida em todos os campos, com: Nome do paciente e ABORh, prontuário, teste de compatibilidade (resultado), enfermaria e leito, data, técnico responsável pela realização do teste, nº da bolsa e ABO/Rh da bolsa;
4. Identificar o(s) segmentos da bolsa testada com etiqueta contendo: Nome do paciente, prontuário, enfermaria e leito, data, hora e técnico executante.

Cuidados após conclusão dos testes

1. Desprezar os tubos de acrílico usados no lixo contaminado com saco leitoso branco.
2. Guardar os reagentes na geladeira sempre que fora de uso.
3. Higienizar a bancada com álcool a 70% com o auxílio do papel toalha.
4. Guardar na geladeira em potes identificados com os dias da semana durante 7 dias o(s) segmento(s) da(s) bolsa(s) de CH cruzado(s) para posterior contra prova.
5. Desligar a centrífuga.
6. Evitar a exposição da(s) bolsa(s) do CH que está(ão) sendo cruzado(s) por mais de 30 minutos na temperatura ambiente.
7. Evitar rasuras no livro de registro de testes pré-transfusionais, bem como registros ilegíveis.

Resultado Esperado:

- Liberação de hemocomponentes para transfusão com qualidade e segurança.

Elaborado por:

Dra Simone Vidor
Responsável Técnica
Agência Transfusional
HMGV

Revisado por:

Enfª Aline Ramona
Bandeira
Enfermeira Agência
Transfusional

Aprovado por:

Enfª Franciele A. dos Santos Dutra
Gerente de Atenção a Saúde do HMGV