

AULA PRÁTICA - IMUNOHEMATOLOGIA

Profa. Alessandra Barone

Prof. Archangelo P. Fernandes

INDICAÇÃO DO EXAME:

Os antígenos eritrocitários são geneticamente determinados e podem ser classificados em diversos sistemas. Os de maior expressão são os sistemas ABO e Rh. Os anticorpos do sistema ABO são naturais, enquanto os anticorpos do sistema Rh são produzidos após sensibilização.

PRINCÍPIO

Para ABO: os reagentes causam aglutinação direta macroscópica das hemácias que carregam os antígenos correspondentes. As hemácias possuidoras do antígeno A se aglutinam quando misturadas ao reagente anti-A; igualmente, hemácias possuidoras do antígeno B aglutinam na presença do reagente anti B. O teste adicional empregando-se o reagente anti-A e anti B facilita o reconhecimento de sub-grupos raros de baixa reatividade aglutinando as hemácias dos grupos A,B e AB, mas não do grupo O.

Para Rh: as expressões Rh positivo ou Rh negativo são baseadas na presença ou ausência do antígeno D. Quando Rh negativo, pesquisar as formas fracas do antígeno D. O antígeno D- fraco é uma variante do antígeno D e tão antigênico quanto ele.

PROCEDIMENTO

Realizar a coleta do sangue em tubo com Edta.

Após 15 minutos, centrifugar o tubo para separação do plasma em tubo limpo e seco.

Lavar as hemácias 3 vezes com solução fisiológica. Centrifugar à 1000 rpm por 1 minuto

Preparar uma suspensão a 5 % das hemácias lavadas utilizando a solução salina : Em tubo, misturar 950 µL de salina com 50 µL (1 gota) de concentrado de hemácias e homogeneizar.

ABO

TESTE EM LÂMINA

1. Colocar uma gota do reagente anti-A e anti-B na lâmina.
2. Adicionar uma gota da suspensão de hemácias
3. Misturar o reagente com uma gota de sangue
4. Movimentar gentilmente a lâmina e observar a presença ou não de aglutinação macroscópica em até 2 minutos.

TESTE EM TUBO

1. Identificar 2 tubos de hemólise e colocar uma gota do reagente anti-A no 1º tubo, anti-B no 2º tubo.
2. Adicionar uma gota da suspensão de hemácias 5% a cada tubo. Misturar bem o conteúdo
3. Centrifugar por 15 segundos a 3400 r.p.m.
4. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias e examinar a presença ou não de aglutinação.

TIPAGEM REVERSA EM TUBO

	Tubo A ₁	Tubo B
Suspensão hemácias A ₁	1 gota	
Suspensão de hemácias B		1 gota
Soro	2 gotas	2 gotas

Identificar 2 tubos:
A1 e B

Homogeneizar e centrifugar os tubos a 3.400 rpm por 15 “
Proceder a leitura

TIPAGEM DIRETA PARA PESQUISA DE Rh:

TESTE EM LÂMINA:

1. Identificar as lâminas
2. Pipetar 50 µL (1 gota) do reagente Anti-D e 50 uL (1 gota) do Controle Rh em lâmina.
3. Adicionar 1 gota da suspensão de hemácias 5%.
4. Homogeneizar com bastão descartável
5. Através de movimentos rotativos lentos da lâmina, observar a aglutinação macroscópica (interpretar a reação após 1 minuto).

Presença de aglutinação → Rh positivo

Ausência de aglutinação → Rh negativo ou presença de D fraco.

TESTE EM TUBO:

1. Identificar os tubos
2. Pipetar 2 gotas do reagente Anti-D no 1º tubo e 2 gotas de controle Rh no 2º tubo.
5. Pipetar 1 gota da suspensão de hemácias 5% em cada tubo
6. Homogeneizar e centrifugar a 3.400 por 15 minutos
7. Ressuspender a suspensão de hemácias cuidadosamente e observar aglutinação macroscópica.

Presença de aglutinação → Rh positivo

Ausência de aglutinação → Rh negativo ou D fraco → continuar o teste

8. Incubar os dois tubos da reação anterior por 30 ' em banho Maria a 37°C
9. Centrifugar os tubos a 3.400 rpm por 15 segundos
10. Proceder a leitura:

Presença de aglutinação → Rh positivo

Ausência de aglutinação → Rh negativo ou D fraco → continuar o teste

11. Lavar as hemácias com solução fisiológica por 3 vezes
12. Última centrifugação a 3.400 rpm por 1 minuto
13. Adicionar duas gotas do soro de Coombs a cada um dos tubos e homogeneizar
14. Centrifugar os tubos a 3.400 rpm por 15 ''.
15. Proceder a leitura dos tubos

Presença de aglutinação → Rh positivo

Ausência de aglutinação → Rh negativo