

Procedimento
Operacional Padrão
POP/UTRANSF.IMU.CQT/T001/2018
Controle de Qualidade
Versão 6.0

Unidade Transfusional /
Imunohematologia

Procedimento Operacional Padrão

POP/UTRANSF.IMU.CQT/T001/2018

Controle de Qualidade

© 2018, 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: Controle de Qualidade - UTRANSF - Unidade Transfusional – Maceió:
Hupaa - Hospital Universitário Professor Alberto Antunes, 2018. 40p.

Palavras-chaves: 1 - Controle de Qualidade; 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	8
DOCUMENTOS RELACIONADOS	8
GLOSSÁRIO	8
APLICAÇÃO.....	8
LISTA DE QUADROS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	9
INFORMAÇÕES GERAIS	10
I. POP - GERENCIAMENTO DO CONTROLE QUALIDADE EXTERNO (CQE).....	11
1. Materiais necessários	11
2. Descrição da técnica	11
2.1. Passo-a-passo.....	11
2.2. Recomendações.....	12
2.3. Ações em caso de não conformidade.....	12
3. Mapeamento	12
II. POP - AVALIAÇÃO DE RÓTULOS, BULAS E FRASCOS DOS REAGENTES	
IMUNOHEMATOLÓGICOS.....	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
III. POP - INSPEÇÃO VISUAL DOS REAGENTES.....	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

IV. POP - REGISTRO DE RESULTADO NÃO CONFORME	17
1. Materiais Necessários	17
2. Descrição da técnica	17
2.1. Passo-a-passo	17
2.2. Recomendações.....	17
2.3. Ações em caso de não conformidade	17
3. Mapeamento	18
V. POP - VALIDAÇÃO DE ANTI-A, B, D E CONTROLE DE RH.....	19
1. Materiais Necessários	19
2. Descrição da técnica	19
2.1. Passo-a-passo	19
2.2. Recomendações.....	24
2.3. Ações em caso de não conformidade	24
3. Mapeamento	25
VI. POP - VALIDAÇÃO DO DIACEL I E II (0,8%)	26
1. Materiais Necessários	26
2. Descrição da técnica	26
2.1. Passo-a-passo	26
2.2. Recomendações.....	27
2.3. Ações em caso de não conformidade	28
3. Mapeamento	28
VII. POP - VALIDAÇÃO DAS HEMÁCIAS A1 E B.....	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	31
3. Mapeamento	31
VIII. POP - VALIDAÇÃO DO TRIACELL OU DO DIACELL I E II a 3%	32
1. Materiais Necessários	32
2. Descrição da técnica	32
2.1. Passo-a-passo	32

2.2. Recomendações	34
2.3. Ações em caso de não conformidade	35
3. Mapeamento	35
IX. POP - VALIDAÇÃO DO SORO ANTI-HUMANO	36
1. Materiais Necessários	36
2. Descrição da técnica	36
2.1. Passo-a-passo:	36
2.2. Recomendações.....	38
2.3. Ações em caso de não conformidade	38
3. Mapeamento	38
REFERENCIAIS TEÓRICOS.....	39

OBJETIVO

Validar os reagentes para realização das técnicas de imunohematologia de acordo com o manual do fabricante dos respectivos reagentes e executar as atividades teóricas e práticas solicitadas pelo Controle de Qualidade Externo (CQE).

DOCUMENTOS RELACIONADOS

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

GLOSSÁRIO

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CQI – Controle de Qualidade Interno

CQE – Controle de Qualidade Externo

Ebserh – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares

Hemope – Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco

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 QUADROS

Quadro 1 – Inspeção Visual dos Reagentes

Quadro 2 – Inspeção Visual das Colunas de Aglutinação

Quadro 3 – Inspeção dos reagentes: Hemácias A e B

Quadro 4 – Inspeção dos reagentes: Hemácias A e B

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela utilizada para determinação do Score

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 n.º 158, de 04 de fevereiro de 2016, a fim de orientar os funcionários da Unidade na realização do CQI (Controle de Qualidade Interno) e do CQE (Controle de Qualidade Externo).

Os POPs descritos a seguir são realizados pelos profissionais de nível superior (Biólogo ou Biomédico), sob supervisão do médico Hematologista responsável pelo Serviço de Imunohematologia.

I. POP - GERENCIAMENTO DO CONTROLE QUALIDADE EXTERNO (CQE)

1. Materiais necessários

- Amostras do Controle de Qualidade Externo enviado pela Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (Hemope);
- Questionário enviado pela Hemope.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Avaliações da Anvisa:

Teórica:

2.1.1.1. Aguardar o questionário via correios;

2.1.1.2. Xerocar o questionário para os funcionários da imunohematologia;

2.1.1.3. Agendar discussão dos resultados;

2.1.1.4. Reunir os funcionários da Imunohematologia para a escolha das respostas de comum acordo, com o estabelecimento de uma nota mínima a ser alcançada;

2.1.1.5. Responder o questionário no sistema (Link disponibilizado);

2.1.1.6. Solicitar resultado por e-mail no prazo determinado;

2.1.1.7. Reunir os funcionários da Imunohematologia para discussão dos resultados obtidos;

Prática:

2.1.1.8. Receber as amostras no Serviço de Imunohematologia e verificar a viabilidade das mesmas para os testes solicitados;

2.1.1.9. Tirar cópia do questionário para o Serviço de Imunohematologia;

2.1.1.10. Processar as amostras testes nos mesmos sistemas analíticos da rotina das amostras dos pacientes;

- 2.1.1.11. Agendar dia para a conferência dos resultados;
- 2.1.1.12. Enviar o resultado via correios;
- 2.1.1.13. Aguardar resultado via correio ou no site da Anvisa;
- 2.1.1.14. Reunir os funcionários da Imunohematologia para discussão dos resultados obtidos.

2.2. Recomendações

- 2.2.1. Realizar a inspeção visual das amostras CQE (se as embalagens estão íntegras) e verificar a viabilidade das mesmas para os testes solicitados;
- 2.2.2. Realizar a inspeção visual das amostras do CQE que **NÃO** devem apresentar: hemólise, precipitados, partículas em suspensão;
- 2.2.3. Centrifugar as amostras por 10 minutos e utilizar o sobrenadante para que a fibrina, que possa estar presente nas amostras, não influencie nos resultados do Controle Externo de Qualidade.

2.3. Ações em caso de não conformidade

- 2.3.1. Caso as amostras recebidas estejam inviáveis para a realização dos testes de CQE, entrar em contato com o Hemope através de e-mail (aeqhemope@hotmail.com), solicitando nova amostra.

3. Mapeamento

Não se aplica.

II. POP - AVALIAÇÃO DE RÓTULOS, BULAS E FRASCOS DOS REAGENTES IMUNOHEMATOLÓGICOS

1. Materiais Necessários

- Rótulos;
- Bulas;
- Frascos dos reagentes;
- Planilha do CQI_02.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Avaliação do Rótulo dos Reagentes:

Devem estar contidas no rótulo as seguintes informações:

- Nome do fabricante;
- Nome do produto;
- Data da validade;
- Número de lote;
- Volume do produto;
- Temperatura de armazenagem;
- Número de registro na Anvisa, firmemente afixado ao frasco e que permita a inspeção, visual do conteúdo.

2.1.2. Avaliação da Bula:

Devem estar contidas na bula as seguintes informações:

- Nome do reagente;

- Composição do reagente;
- Descrição dos procedimentos técnicos, informações claras e legíveis e em português.

2.1.3. Avaliação do Frasco:

- Embalagem íntegra e bem vedada;
- Frascos conta-gotas transparentes.

2.2. Recomendações

2.2.1. Os glóbulos vermelhos utilizados para teste dos reagentes (anti-soro) deverão ter menos de 7 dias de coleta e as suspensões devem ser preparadas no dia que serão usadas;

2.2.2. Todas as hemácias utilizadas no controle de qualidade de anti-soros devem ser lavadas (3 vezes com solução fisiológica) e preparadas em suspensão na porcentagem indicada para o teste;

2.2.3. Na análise do rótulo, verificar a validade especificada pelo fabricante;

2.2.4. Inspeção visual é importante: soro turvo pode indicar, muitas vezes, contaminação bacteriana e/ ou armazenagem imprópria. Também permite verificação de hemólise em reagentes de glóbulos vermelhos.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.2.5. Caso ocorra não conformidade, registrar medidas corretivas estabelecidas na Imunohematologia com o objetivo de solucionar o problema junto ao fornecedor e solicitar eventual devolução e substituição do produto.

3. Mapeamento

Não se aplica

III. POP - INSPEÇÃO VISUAL DOS REAGENTES

1. Materiais Necessários

- Ficha de inspeção visual dos reagentes e das colunas de aglutinação.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Inspeção Visual dos Reagentes;

REAGENTES	ESPECIFICAÇÕES	FREQUÊNCIA
Anti-soros, potencializadores, soluções e enzimas proteolíticas.	Ausência de precipitados, gelatina, partículas, fungos, turvação.	Diariamente
Reagentes de hemácias.	Ausência de hemólise, turvação do líquido sobrenadante ou escurecimento da hemácia.	Diariamente
Salina, Solução de Liss e albumina bovina.	Não pode promover hemólise e aglutinação de hemácias não sensibilizadas nos testes imunohematológicos. Estas características deverão ser observadas quando este reagente estiver em uso.	Diariamente

Fonte: Adaptado do Manual do Fabricante do Reagente em Uso.

Quadro 1 Inspeção Visual dos Reagentes

2.1.2. Inspeção Visual das Colunas de Aglutinação.

INDICADORES	ESPECIFICAÇÕES	FREQUÊNCIA
Microtubos com gel	Totalmente sedimentados, aspecto homogêneo e solução tampão acima da coluna, não devem apresentar sinais de ressecamento, partículas em suspensão e bolhas de ar. O nível do gel em todos os microtubos deve ser de 2/3. O nível do tampão deve estar entre 1 a 2 mm acima do gel.	Diariamente
Lacres de alumínio	Sem perfurações ou irregularidades, Na retirada do lacre é preciso observar, na parte inferior da folha de alumínio, as marcas impressas das bordas dos orifícios dos microtubos que indicam o fechamento correto.	Diariamente

Fonte: Adaptado do Manual do Fabricante do Reagente em Uso.

Quadro 2 Inspeção Visual das Colunas de Aglutinação

2.2. Recomendações

2.2.1. Armazenar os reagentes de acordo com as instruções do fabricante, devendo ser evitado, ao máximo, a permanência do reagente fora das temperaturas indicadas para seu armazenamento;

2.2.2. Realizar o controle de qualidade em cada lote imediatamente ou até 48 horas, quando recebidos no Serviço de Hemoterapia, para comprovar que os reagentes estão dentro dos padrões estabelecidos e que não foram alteradas durante o transporte;

2.2.3. Estabelecer medidas corretivas quando forem detectadas anormalidades. Os resultados dos controles devem ser para acompanhamento do desempenho do produto.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Caso não haja conformidade nos resultados, repetir novamente o teste ou controle de qualidade;

2.3.2. Caso continue com resultado de não conformidade, registrar medidas corretivas estabelecidas na Unidade Transfusional e solicitar eventual devolução e substituição do produto com o objetivo de solucionar o problema junto ao fornecedor.

3. Mapeamento

Não se aplica

IV. POP - REGISTRO DE RESULTADO NÃO CONFORME

1. Materiais Necessários

- Formulário de não conformidade dos reagentes imunohematológicos relacionados ao controle de qualidade.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Solicitar a repetição do teste quando o resultado do controle de qualidade interno dos reagentes imunohematológicos estiver fora das especificações estabelecidas pela Portaria N.º 158 do Ministério da Saúde, de 4 de fevereiro de 2016.

2.1.2. Registrar no **FORMULÁRIO DE NÃO CONFORMIDADE** os seguintes dados (após confirmação dos resultados não conformes estabelecidos pelo CQI):

- Número do lote;
- Fabricante do reagente;
- Validade;
- Data do recebimento;
- Data da análise.

2.2. Recomendações

2.2.1. Preencher o formulário de não conformidade dos reagentes imunohematológicos quando ocorrer resultado reprovado no controle de qualidade interno.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Registrar o resultado reprovado no controle de qualidade interno dos reagentes imunohematológicos, bem como as medidas corretivas estabelecidas na Imunohematologia;

2.3.2. Informar o fato ao fornecedor e agilizar a devolução ou substituição do produto, a fim de solucionar o problema.

3. Mapeamento

Não se aplica.

V. POP - VALIDAÇÃO DE ANTI-A, B, D E CONTROLE DE RH

1. Materiais Necessários

- Pipeta Pasteur;
- Estante de tubos;
- Tubo de ensaio 10 x 75 mm;
- Pipeta automática de 50 uL e 100 uL;
- Ponteiras plásticas para pipeta automática;
- Lâmina de vidro;
- Cronômetro;
- Planilha do CQI.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Reagentes:

2.1.1.1. Soro anti-A - Para avaliação da especificidade: 04 amostras de hemácias do grupo O e pelo menos 01 amostra do grupo A de coleta recente (até 7 dias). Para a avaliação do título/reatividade e avidéz: hemácias de coleta recente A₁, A₂, A₁B e A₂B;

2.1.1.2. Soro anti-B - Para a avaliação da especificidade: 04 amostras de hemácias do grupo O e pelo menos 01 amostra do grupo B de coleta recente (7 dias). Para avaliação do título/reatividade e avidéz: hemácias de coleta recente B e A₁B;

2.1.1.3. Soro anti-D - Para a avaliação da especificidade: 03 amostras do grupo O com Rh positivo e 01 amostra do grupo O com Rh negativo. Hemácias de coleta recente (7 dias). Para a avaliação do título/reatividade e avidéz: hemácias de coleta recente O com Rh positivo;

2.1.1.4. Controle de Rh - Para a avaliação de especificidade: 03 amostras do grupo O com Rh positivo e 01 amostra do grupo O com Rh negativo. Hemácias de coleta recente (7 dias). Não faz avaliação do título/reatividade/score e avidéz em lâmina.

2.1.2. Especificidade:

2.1.2.1. Lavar previamente as hemácias correspondentes a serem utilizadas para cada reagente, 3 vezes em solução fisiológica;

2.1.2.2. Preparar suspensões de hemácias de 3 a 5% (susp. 5%: 19 gotas de salina + 1 gota de hemácia) em solução fisiológica. As suspensões deverão ser preparadas no dia da análise;

2.1.2.3. Identificar os tubos para cada grupo de hemácias a serem utilizadas;

2.1.2.4. Adicionar 50uL (1 gota) do soro a ser testado (ou 100 uL, caso o fabricante recomende) e 50uL das hemácias a 5% correspondentes;

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

2.1.2.6. Ressuspender delicadamente o botão, verificando a presença ou não de aglutinação;

2.1.2.7. Anotar os resultados.

Nota: Observar a aderência do botão ao tubo e a forma como as hemácias se desprendem do tubo, no momento de ressuspendê-las.

2.1.2.8. Interpretar os resultados:

- **APROVADO:**
 - Para o soro anti-A: Deverá apresentar reatividade com hemácias do grupo A e não com hemácias do grupo O;
 - Para o soro anti-B : Deverá apresentar reatividade com hemácias do grupo B e não com hemácias do grupo O;
 - Para o soro anti-D: Deverá apresentar reatividade com hemácias de Rh positivo e não reatividade com hemácias Rh negativo;

- Para controle de Rh: Deverá apresentar não reatividade com hemácias de Rh positivo e negativo;
- **REPROVADO:** O soro deverá ser reprovado se produzir hemólise, falso positivo e/ ou falso negativo com as hemácias teste. Todo teste desfavorável deverá ser confirmado com outras hemácias de mesmo tipo, antes da liberação do laudo final.

2.1.3. Título/Reatividade/Score:

- 2.1.3.1. Lavar previamente as hemácias correspondentes a serem utilizadas para cada reagente, 3 vezes em solução fisiológica;
- 2.1.3.2. Preparar suspensões de hemácias de 3 a 5% em solução fisiológica. As suspensões deverão ser preparadas no dia da análise;
- 2.1.3.3. Identificar 04 baterias de 12 tubos (uma para cada tipo de hemácia) de 1:1 até 1:2048;
- 2.1.3.4. Adicionar 100 uL de solução fisiológica nos tubos 1:2 até o tubo 1: 2048;
- 2.1.3.5. Em seguida adicionar 100 uL do soro a ser testado no tubo 1:1 e no tubo 1:2;
- 2.1.3.6. Cuidadosamente transferir 100 uL do tubo 1:2 para o tubo 1:4;
- 2.1.3.7. Homogeneizar e repetir o procedimento do tubo 1:4 até o tubo 1:2048;
- 2.1.3.8. Adicionar 100 uL da suspensão de hemácias correspondente a cada tubo de cada série;
- 2.1.3.9. Homogeneizar todos os tubos e centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm;
- 2.1.3.10. Ressuspender delicadamente o botão formado em cada tubo e anotar a intensidade de aglutinação de cada um.

Nota 1: Verificar a presença ou ausência de aglutinação e hemólise.

Nota 2: Observar a aderência do botão ao tubo e a forma que as hemácias se desprendem do tubo, no momento de ressuspendê-las.

2.1.3.11. Interpretar os resultados:

O título será a maior diluição onde se obteve a reação de 1+. Neste teste também se avalia a reatividade do reagente não diluído (tubo 1:1). O score será a soma dos valores matemático pré-determinados para cada diluição baseado na intensidade de cada uma delas (consultar tabela de score).

Nº DE CRUZES	PONTOS	DESCRIÇÃO DO Nº DE CRUZES
4+	12	Aglutinado sólido
3+	10	Botão Separa em Alguns Agregados
2+	8	Mistura de agregados (grandes e pequenos)
1+	5	Aglutinados pequenos e fundo róseo

Fonte: Adaptado do Manual do Fabricante do Reagente em Uso.

Tabela 1
Tabela Utilizada para Determinação do Score

- **APROVADO:**
 - Soro anti-A: Com hemácias A₁ reatividade de pelo menos 3+, título mínimo de 256 e score 72. Com hemácias A₂ reatividade de pelo menos 2+, título mínimo de 128 e score 60. Com hemácias A₁B reatividade de pelo menos de 3+, título mínimo de 128 e score 60. Com hemácias A₂B reatividade de pelo menos 2+, título mínimo de 64 e score 52.
 - Soro anti-B: Com hemácias B e A₁B reatividade pelo menos de 3+, título mínimo de 256 e score 72.
 - Soro anti-D: Com hemácias Rh (+) reatividade pelo menos de 3+, título mínimo de 32. Não é calculado o score.

- **REPROVADO:** Deverá ser reprovado os soros que apresentarem reatividade, título e score abaixo dos valores indicados acima.

2.1.4. Avidez:

2.1.4.1. Lavar previamente as hemácias correspondentes 3 vezes em solução fisiológica;

2.1.4.2. Preparar suspensão de hemácias a 10% (para os soros: anti-A e anti-B) ou suspensão de hemácias 40 – 50% (para o anti-D) em solução fisiológica. As suspensões deverão ser preparadas no dia do uso;

2.1.4.3. Colocar em uma lâmina de vidro 50 uL (1 gota) da suspensão de hemácias a 10% ou 40 – 50% e 50 ul do soro a ser testado, separadas em aproximadamente 01 cm;

2.1.4.4. Misturar os glóbulos e o soro, com o auxílio de um bastão de vidro, espalhando a mistura em uma área de aproximadamente 2x2 cm. Acionar o cronômetro imediatamente no momento da mistura;

2.1.4.5. Movimentar a lâmina de modo que o reagente permaneça em constante contato com as hemácias;

2.1.4.6. Anotar o tempo de início da reação;

2.1.4.7. Observar o desenvolvimento da aglutinação durante 02 minutos;

2.1.4.8. Anotar os resultados.

Nota 1: Suspensão de hemácias a 10% (18 gotas de salina + 2 gotas hemácias lavadas);

Nota 2: Suspensão de hemácias a 40 – 50% (6 gotas de salina + 4 gotas de hemácias lavadas).

2.1.4.9. Interpretação:

A avidéz é determinada pelo tempo de início de reação. Quanto maior a complementaridade do anticorpo ao antígeno, maior a afinidade e, portanto, mais rápido se dá a

reação. O tempo de início da reação deve ser igual ou menor que o especificado.

- **APROVADO:**
 - Soro anti- A: Com as hemácias A₁ início da reação ao máximo em 15 segundos. Com as hemácias A₂ e A₁B início da reação no máximo em 30 segundos. Com as hemácias A₂B início da reação no máximo 45 segundos;
 - Soro anti-B: Com hemácias B e A₁B início da reação no máximo em 15 segundos;
 - Soro anti- D: Com hemácias Rh (+) início da reação no máximo em 30 segundos;
- **REPROVADO:** Deverão ser reprovados os soros que apresentarem, mesmo após reteste com outras hemácias de mesmo tipo sanguíneo, tempo de início de reação acima do especificado.

2.2. Recomendações

2.2.1. Os reagentes devem ser armazenados de acordo com as instruções do fabricante, devendo ser evitado, ao máximo, a permanência do reagente fora das temperaturas indicadas para seu armazenamento;

2.2.2. O Serviço de Hemoterapia deve realizar o controle de qualidade em cada lote imediatamente ou até 48 horas quando recebidos na Unidade Transfusional para comprovar que os reagentes estão dentro dos padrões estabelecidos e que não foram alteradas durante o transporte;

2.2.3. Os resultados dos controles devem ser para acompanhamento do desempenho do produto devem ser estabelecidas medidas corretivas quando forem detectadas anormalidades.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Repetir o teste ou controle de qualidade. Caso continue com resultado de não conformidade, registrar medidas corretivas estabelecidas na Imunohematologia;

2.3.2. Solicitar eventual devolução e substituição do produto com o objetivo de solucionar o problema junto ao fornecedor.

3. Mapeamento

Não se aplica

VI. POP - VALIDAÇÃO DO DIACEL I E II (0,8%)

1. Materiais Necessários

- Cartões Liss/Coombs;
- ID- Diluente 2 (Liss);
- Hemácias testes I e II;
- Pipeta Graduada;
- Planilha do CQI.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Realizar a inspeção visual do reagente e verificar a ausência de hemólise, turvação do líquido sobrenadante ou escurecimento das hemácias;

2.1.2. Realizar a pesquisa de Anticorpo Irregular (PAI) – em Liss/Coombs pelo método de gel de centrifugação;

OBS.: Realizar a técnica de pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) utilizando alíquotas das amostras com resultado de PAI positivo e negativo; colocar os diluentes e amostras à temperatura ambiente por 10 minutos; identificar a amostra no cartão (4 microtubos I e II (soro de PAI positivo) I e II (soro de PAI negativo); colocar um gota (50 µl) das hemácias testes I e II nos respectivos microtubos; adicionar 25 µl de soro ou plasma ao microtubos I e II; incubar por 15 minutos a 37° C; centrifugar por 10 minutos e ler.

2.1.3. Interpretar os resultados:

- **APROVADO:** Presença de aglutinação nos microtubos I e/ou II, no teste Liss-Coombs pelo método de gel de centrifugação com amostra PAI positivo e não reatividade com PAI negativo;

- **REPROVADO:** Deverá ser reprovado no teste de solução de Liss-Coombs pelo método de gel de centrifugação a não reatividade da amostra com PAI positivo.

2.1.4. Teste de Coombs direto:

2.4.1.1 Identificar as colunas de gel de centrifugação nº 1 e 2;

2.4.1.2 Colocar 25 gotas do Diacell I no tubo 1 e Diacell II no tubo 2;

2.4.1.3 Centrifugar por 1 minuto;

2.4.1.4 Observar hemólise nos tubos 1 e 2;

2.4.1.5 Preparar suspensão no tubo 1 e 2;

2.4.1.6 Colocar 1000 µL do diluente 2;

2.4.1.7 Desprezar o sobrenadante e pipetar 12,5 µL do sangue;

2.4.1.8 Retirar 50 µL da suspensão no tubo 1 e 2 e colocar respectivamente nas colunas I e II do gel de centrifugação;

2.4.1.9 Centrifugar por 10 minutos;

2.4.1.10 Interpretar os resultados:

- **APROVADO:** Hemácias sedimentadas no fundo do microtubo (reação negativa).
- **REPROVADO:** Hemácias na superfície ou na extensão de coluna de gel (reação positiva);

2.2. Recomendações

2.2.1. Os reagentes devem ser armazenados de acordo com as instruções do fabricante, devendo ser evitado, ao máximo, a permanência do reagente fora das temperaturas indicadas para seu armazenamento;

2.2.2. O Serviço de Hemoterapia deve realizar o controle de qualidade em cada lote imediatamente ou até 48 horas quando recebidos na Unidade Transfusional para comprovar que

os reagentes estão dentro dos padrões estabelecidos e que não foram alterados durante o transporte;

2.2.3. Os resultados dos controles devem ser para acompanhamento do desempenho do produto e devem ser estabelecidas medidas corretivas quando forem detectadas anormalidades.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Repetir o teste ou controle de qualidade. Caso continue com resultado de não conformidade, registrar as medidas corretivas estabelecidas na Imunohematologia;

2.3.2. Solicitar eventual devolução e substituição do produto com o objetivo de solucionar o problema junto ao fornecedor.

3. Mapeamento

Não se aplica.

VII. POP - VALIDAÇÃO DAS HEMÁCIAS A1 E B

1. Materiais Necessários

- Pipeta Pasteur;
- Estante de tubos;
- Tubo de ensaio 10x75 mm;
- Planilha do CQL.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

- ✓ Potência: Intensidade de aglutinação

ESPECIFICAÇÕES	FREQUÊNCIA
Pode ser avaliada pela intensidade de aglutinação obtida com plasmas ou soros que possuam os anticorpos complementares aos antígenos presentes nas hemácias testadas.	A cada lote

Fonte: Adaptado do Manual do Fabricante do Reagente em Uso.

Quadro 3

Inspeção dos reagentes: Hemácias A e B

- Testar hemácias “A” (suspensão a 3 – 5%) com plasma “B” e hemácias “B” (suspensão a 3-5%) com plasma “A”.
- Interpretar os resultados:

A intensidade mínima de aglutinação obtida para validar o reagente das hemácias é de 2+

Nota: Não deve ocorrer a formação de empilhamento (rouleaux).

- ✓ Especificidade:

ESPECIFICAÇÕES	FREQÜÊNCIA
Pode ser avaliada pela capacidade de o anticorpo reconhecer apenas seus antígenos eritrocitários complementares.	A cada lote

Fonte: Adaptado do Manual do Fabricante do Reagente em Uso.

Quadro 4 Inspeção dos reagentes: Hemácias A e B

- Testar hemácias “A” e “B” (suspensão a 3-5%) com plasma “AB”.
- Interpretação:

Não deverá haver aglutinação, visto que não há anticorpo específico para promovê-la no teste realizado.

Nota: Não deve ocorrer a formação de empilhamento (rouleaux).

OBS.: O formulário a ser preenchido será o mesmo modelo utilizado para os anti-soros, com exceção do preenchimento do título e da avidéz em lâmina.

2.2. Recomendações

2.2.1. Armazenar os reagentes de acordo com as instruções do fabricante, devendo ser evitado, ao máximo, a permanência do reagente fora das temperaturas indicadas para seu armazenamento;

2.2.2. Realizar o controle de qualidade em cada lote imediatamente ou até 48 horas quando recebidos na Unidade Transfusional para comprovar que os reagentes estão dentro dos padrões estabelecidos e que não foram alterados durante o transporte;

2.2.3. Estabelecer medidas corretivas quando forem detectadas anormalidades. Os resultados dos controles devem ser para acompanhamento do desempenho do produto.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Repetir o teste ou controle de qualidade. Caso continue com resultado de não conformidade, registrar medidas corretivas estabelecidas na Imunohematologia;

2.3.2. Solicitar eventual devolução e substituição do produto a fim de solucionar o problema junto ao fornecedor.

3. Mapeamento

Não se aplica

VIII. POP - VALIDAÇÃO DO TRIACELL OU DO DIACELL I E II a 3%

1. Materiais Necessários

Materiais para Técnica de Pesquisa de Anticorpos Irregulares:

- Solução salina isotônica – 0,9%;
- Solução de DiaLiss;
- Tubos de hemólise;
- Hemácias teste I e II que será validado;
- Hemácias teste I e II que foi validado anteriormente;
- Soro antiglobulina humana poliespecífico (Anti-Humano);
- Hemácias-teste sensibilizadas (Controle de Coombs).

Materiais para Técnica de Coombs Direto:

- Solução salina isotônica – 0,9%;
- Tubos de hemólise;
- Hemácias teste I e II que será validado;
- Soro antiglobulina humana monoespecífico e poliespecífico (Soro de Coombs e Anti-humano);
- Hemácias-teste sensibilizadas (Controle de Coombs).

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo

2.1.1. Realizar a inspeção visual do reagente e verificar a ausência de hemólise, turvação do líquido sobrenadante ou escurecimento das hemácias;

- 2.1.2. Teste para pesquisa de Anticorpo Irregular (PAI) pelo DiaLiss;
- 2.1.3. Realizar a técnica de pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) utilizando alíquotas das amostras com resultado de PAI positivo e negativo;
- 2.1.4. Numerar 4 tubos de hemólise I e II (soro de PAI positivo) I e II (soro de PAI negativo);
- 2.1.5. Colocar em cada tubo 1 gota das hemácias – teste I e II, respectivamente;
- 2.1.6. Colocar 2 gotas dos soros com PAI positivo e PAI negativo nos tubos correspondentes;
- 2.1.7. Acrescentar a cada tubo 4 gotas da solução do DiaLiss com pipeta Pasteur (Não usar o conta-gotas do reagente);
- 2.1.8. Homogeneizar e centrifugar a 3400 rpm;
- 2.1.9. Ressuspender suavemente a suspensão de hemácias e observar a presença de aglutinação;
- 2.1.10. Incubar a 37°C por 5 minutos;
- 2.1.11. Lavar os tubos com salina 3 vezes, decantando bem na última lavagem; Adicionar 1 gota do soro anti-humano em cada tubo;
- 2.1.12. Centrifugar e fazer a leitura.

- Interpretar os resultados:

- **APROVADO:** Presença de aglutinação nos tubos I e/ou II com amostra de PAI positivo e não reatividade com amostra de PAI negativo.
- **REPROVADO:** Não reatividade com amostra de PAI positivo.

✓ Teste de Coombs Direto:

1. Identificar os tubos a serem testados;
2. Colocar 12 a 15 gotas no Triacell I no tubo 1 e Triacell no tubo 2;
3. Lavar 3 vezes com salina as hemácias teste Triacell I e II durante 1 minuto a 3400 rpm na centrífuga;

4. Observar hemólise nos tubos 1 e 2;
5. Utilizar as hemácias lavadas do tubo 1 e 2 para o teste de Coombs direto;
6. Executar toda técnica do Coombs direto de acordo com o Procedimento Operacional Padrão do Serviço de Imunohematologia.

- Interpretar os resultados:

Os reagentes de glóbulos vermelhos não devem apresentar TAD positivo, quando testado com globulina anti-humana monoespecífica e poliespecífica:

- 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.

2.2. Recomendações

2.2.1. Os reagentes devem ser armazenados de acordo com as instruções do fabricante, devendo ser evitado, ao máximo, a permanência destes fora das temperaturas indicadas;

2.2.2. O Serviço de Hemoterapia deve realizar o controle de qualidade em cada lote imediatamente ou até 48 horas quando recebidos na Unidade Transfusional para comprovar que os reagentes estão dentro dos padrões estabelecidos e que não foram alterados durante o transporte;

2.2.3. Os resultados dos controles devem ser para acompanhamento do desempenho do produto e devem ser estabelecidas medidas corretivas quando forem detectadas anormalidades.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Repetir o controle de qualidade. Caso continue com resultado não conforme, proceder com as medidas corretivas estabelecidas na Imunohematologia (preencher a ficha do reagente relatando a não conformidade e solicitar a devolução e troca do produto).

3. Mapeamento

Não se aplica

IX. POP - VALIDAÇÃO DO SORO ANTI-HUMANO

1. Materiais Necessários

- Pipeta Pasteur;
- Estante de metal;
- Tubo de hemólise;
- Pipeta automática de 100 uL;
- Ponteira plástica para pipeta automática;
- Planilha do CQI.

2. Descrição da técnica

2.1. Passo-a-passo:

2.1.1. Para o soro de Coombs (Monoespecífico):

2.1.1.1. Lavar as hemácias de doador de qualquer grupo sanguíneo Rh positivo, 3 vezes em solução fisiológica;

2.1.1.2. Preparar em tubo de hemólise 100 uL de soro anti-D + 100 uL das hemácias lavadas e incubar no banho maria a 37°C por 1 hora;

2.1.1.3. Após retirar do banho maria realizar as diluições;

2.1.1.4. Identificar os 12 tubos identificados de 1:1 até 1:2408;

2.1.1.5. Adicionar 100 uL solução fisiológica nos tubos 1:2 até o tubo 1:2408;

2.1.1.6. Em seguida adicionar 100 uL (soro anti-D + hemácias lavadas a 37° C por 1 hora) no tubo 1:1 a e no tubo 1:2;

2.1.1.7. Cuidadosamente transferir 100 uL do tubo 1:2 para o tubo 1:4;

2.1.1.8. Homogeneizar e repetir o procedimento do tubo 1:4 até o tubo 1:2408;

2.1.1.9. Lavar 3 vezes com salina os tubos, decantando o sobrenadante por inversão, após cada lavagem;

2.1.1.10. Ressuspender o botão de hemácias formado a cada adição de salina. Após a última lavagem decanta-se totalmente o sobrenadante por inversão com papel absorvente;

2.1.1.11. Enxugar a borda dos tubos invertido com papel absorvente;

2.1.1.12. Adicionar aos tubos o soro de Coombs (Monoespecífico).

2.1.2. Para o soro de Anti-Humano (Poliespecífico):

2.1.2.1. Lavar as hemácias de doador de qualquer grupo sanguíneo Rh positivo, 3 vezes em solução fisiológica;

2.1.2.2. Preparar em tubo de hemólise 100 uL de soro anti-D + 100 uL das hemácias lavadas e incubar no banho maria a 37°C por 1 hora;

2.1.2.3. Após retirar do banho maria realizar as diluições;

2.1.2.4. Identificar os 12 tubos identificados de 1:1 até 1:2408;

2.1.2.5. Adicionar 100 uL solução fisiológica nos tubos 1:2 até o tubo 1:2408;

2.1.2.6. Em seguida adicionar 100 uL (soro anti-D + hemácias lavadas a 37° C por 1 hora) no tubo 1:1 a e no tubo 1:2;

2.1.2.7. Cuidadosamente transferir 100 uL do tubo 1:2 para o tubo 1:4;

2.1.2.8. Homogeneizar e repetir o procedimento do tubo 1:4 até o tubo 1:2408;

2.1.2.9. Lavar três vezes com salina os tubos, decantando o sobrenadante por inversão, após cada lavagem;

2.1.2.10. Ressuspender o botão de hemácias formado a cada adição de salina. Após a última lavagem decanta-se totalmente o sobrenadante por inversão com papel absorvente;

2.1.2.11. Enxugar a borda dos tubos invertido com papel absorvente;

2.1.2.12. Adicionar aos tubos o soro de anti-humano (Poliespecífico).

2.1.2.13. Interpretar os resultados:

- **APROVADO:**
 - Soro de Coombs (Monoespecífico): Reatividade de pelo menos 3+ e título mínimo de 128.
 - Soro de Anti-humano (Poliespecífico): Reatividade de pelo menos 3+ e título mínimo de 128.
- **REPROVADO:** Deverão ser reprovados os soros NÃO reativos ou com título abaixo dos valores indicados acima.

2.2. Recomendações

2.2.1. Armazenar os reagentes de acordo com as instruções do fabricante, devendo ser evitado, ao máximo, a permanência do reagente fora das temperaturas indicadas para seu armazenamento;

2.2.2. O Serviço de Hemoterapia deve realizar o controle de qualidade em cada lote imediatamente ou até 48 horas quando recebidos na Unidade Transfusional para comprovar que os reagentes estão dentro dos padrões estabelecidos e que não foram alterados durante o transporte;

2.2.3. Os resultados dos controles devem ser para acompanhamento do desempenho do produto e devem ser estabelecidas medidas corretivas quando forem detectadas anormalidades.

2.3. Ações em caso de não conformidade

2.3.1. Repetir o teste ou controle de qualidade. Caso continue com resultado de não conformidade, registrar medidas corretivas estabelecidas na Imunohematologia;

2.3.2. Solicitar eventual devolução e substituição do produto a fim de solucionar o problema junto ao fornecedor.

3. Mapeamento

Não se aplica

REFERENCIAIS TEÓRICOS

ANVISA. Redefine regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos: portaria nº 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.

ANVISA. Boas práticas no ciclo do sangue: resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 34, 11 de junho de 2014. Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867975/RDC_34_2014_COMP.pdf/283a192e-eee8-42cc-8f06-b5e5597b16bd?version=1.0> Acesso em 20 Jul. 2017.

CASTILHO, S.; UBIALI, A.M.E.; CARVALHO, A.M. Controle de Qualidade de Reagentes em Imunohematologia. Ministério da Saúde. Brasília – DF, 2013.

NOVARETTI, Z.C.M., *et. al.* Dez anos de experiência em controle de qualidade em imunohematologia. Ver. Bras. Hematol. Hemoter. 2009, 31(3):160-165. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v31n3/aop5209.pdf>.> Acesso em: 20 Jul.2017.

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