



INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA

Procedimento Operacional Padrão

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

Atualizado: AGOSTO 2021
Validade: 2 anos

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL

1. Objetivo

Garantir a segurança e confiabilidade nos resultados dos testes imunohematológicos.

2. Referência

Boletim da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Outubro de 1998, Volume 20 (Suplemento) – Anais- A.162.

Especificações Técnicas sugeridas para reagentes em Imunohematologia-COSAH (Serviço Público Federal) - 19 de abril de 1995.

Imunohematologia – Resolução de problemas nos testes pré transfusionais – Controle de Qualidade de reagentes – Brasília: Ministério da Saúde, Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS. 2001. Série TELELAB.

Manual de técnicas de Controle de Qualidade dos reagentes de Imunohematologia-Serviços de Hemoterapia SC LTDA – Hemovida- Petrópolis- Natal –RN – 2002.

A RDC N° 34, de 11 de junho de 2014, seção VII; e portaria de N° 158 de 04 de fevereiro de 2016, (seção VI).

3. Abrangência

Bioquímicos do Agência Transfusional do Instituto Walfredo Guedes Pereira.

4. Definição

Controle Interno em Imunohematologia: Medidas adotadas para evitar erros e produzir resultados com qualidade nos testes imunohematológicos dos doadores e pacientes.

“Reagentes Imunohematológicos: São produtos biológicos que mesmo após serem analisados e liberados pelo fabricante, podem sofrer alterações sob a influência de vários fatores como transporte, armazenamento, temperatura e outros fatores.”

5. Procedimento

Recursos Humanos

Faça treinamento inicial e educação continuada com toda a equipe técnica;

Avalie continuamente os conhecimentos básicos das técnicas empregadas e dos cuidados na execução;

Mantenha condições de trabalho apropriadas para o melhor desempenho da equipe técnica.

Ambiente Físico do Laboratório

Organize e disponha adequadamente dos equipamentos e materiais no laboratório;

Deixe acessíveis todos os materiais necessários;

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL

Mantenha a limpeza no ambiente (ver POP de Higienização e Limpeza)

Mantenha a temperatura do laboratório entre 20°C a 26°C para manter estabilidade das reações;

Mantenha a iluminação adequada para a realização dos procedimentos (Ex: leitura de reações).

Amostras da rotina diária

Colha as amostras em tubos limpos, secos e com a identificação precisa do doador/paciente;

Após a centrifugação das amostras separe imediatamente as hemácias do soro/plasma;

Se a amostra não for ser imediatamente centrifugada, após a retração do coágulo, mantenha a mesma em geladeira de 4°C a 8°C, até no máximo 12 horas para evitar hemólise das hemácias;

Se o soro não for ser utilizado de imediato conserve-o em geladeira pelo menos até 72 horas ou congelá-lo a -20°C (após descongelamento, melhor não congelar a amostra novamente);

Toda a amostra armazenada em geladeira deve estar tampada e devidamente identificada;

Colha sempre novas amostras quando for ser realizado um novo teste imunohematológico de doadores.

Colha nova amostra de pacientes, que dentro de 24 horas ou no máximo 48 horas, tenham feito uso de Concentrado de Hemácias (Risco de produção de anticorpos irregulares).

Amostras para o Controle de Qualidade dos Reagentes Imunohematológicos

As hemácias a serem utilizadas nos testes de Controle de Qualidade devem ter menos de 7 dias;

Prepare no dia de uso as suspensões de hemácias utilizadas nas técnicas de controle de qualidade de reagentes imunohematológicos.

Reagentes Imunohematológicos

Realize controles de qualidade em cada lote recebido para comprovar que os reativos estão dentro dos padrões estabelecidos e que não foram alterados durante o transporte.

Registre os resultados dos controles dos reagentes imunohematológicos com o nome do fabricante, o número do lote, a data de validade e o grau de reação obtido.

Verifique, periodicamente, possíveis alterações durante a manipulação e armazenamento do reagente.

Técnicas para a avaliação periódica dos reagentes para verificação de possíveis alterações durante a manipulação ou armazenamento (DIÁRIA).

• **Verificação dos anti-soros utilizados**

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL

Anote diariamente o reagente e o nº do lote utilizado na rotina diária em planilha própria e faça inspeção visual observando ausência de precipitados, gelatina, partículas, fungos, turvação e hemólise (caso o reagente seja hemácia) ver tabela no anexo.

Prepare suspensões de hemácias conhecidas recentes, no mínimo 3 hemácias, de doadores com grupos sanguíneos ABO/Rh diferentes.

Separe também os soros destes doadores para fazer a prova reversa diariamente.

Coloque diariamente estas suspensões em sua rotina e avalie-as junto com suas amostras de doadores, verificando se há reprodutibilidade dos resultados anotando em planilha própria em cada dia da semana.

- **Verificação do Soro de Coombs**

Para confirmar os resultados negativos dos testes indiretos (Coombs Indireto: Pesquisa de Dfraco, Prova Cruzada e PAI) e teste direto da Antiglobulina humana (Coombs direto).

Técnica

Adicione uma gota do reagente (hemácias comercial) controle de Coombs a todos os tubos com resultado negativo nos testes de Antiglobulina humana;

“Homogeneíze e centrifugue os tubos da reação por 15” a 3500 rpm;

Fazer a leitura e interprete os resultados de acordo com as seguintes possibilidades:

1 – “Resultado positivo” - valida o teste e indica que os passos técnicos da técnica foram realizados corretamente e o soro de Coombs (Antiglobulina Humana) está funcionando.

2 – “Resultado negativo” - invalida o teste e indica que a técnica não foi realizada corretamente ou o soro de Coombs (Antiglobulina Humana) não está funcionando. É necessário repetir o teste desde o início e a avaliar se o reagente está dentro das suas especificações ideais.

- **Verificação Diária de Reagentes Hemácias**

Avalie a ausência de hemólise, turvação do líquido sobrenadante ou escurecimento da hemácia (ver na tabela de anexo).

- **Verificação Diária da Albumina Bovina 22% (em uso).**

Técnica para avaliação da Albumina Bovina a 22%

Albumina bovina a 22% tem sido descrita como pontencializadora da sensibilidade do teste indireto para uma grande variedade de especificidade de anticorpos eritrocitários.

Escolha das Hemácias a serem utilizadas

As hemácias reagentes devem ter no máximo 7 dias de coleta.

Preparar suspensões de 3 hemácias não sensibilizadas de todos os grupos. Sanguíneos (A, B, AB, e O) RhD positivo e RhD negativo de todos os grupos sanguíneos.

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão:06/09/21 Revisão; Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão:31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

Materiais

Estante

Tubos de hemólise

Albumina Bovina

Técnica

- 1 – Lavar as hemácias 3 vezes com salina 0,9%;
- 2 – Preparar a suspensão de Hemácias a 5% (50 microlitros de hemácia em 1000 microlitros de salina ou 1 gota de hemácias com 19 gotas de salina);
- 3 – Colocar em uma estante 1 fileira de 03 tubos (10 X 75mm ou 12 X 75mm);
- 4 – Colocar 1 gota da suspensão de hemácias a cada tubo previamente identificado;
- 5 – Adicionar 2 gotas de Albumina Bovina a 22% %, em cada tubo;
- 6 – Homogeneizar;
- 7 – Centrifugar a 3.500 RPM durante 15 segundos e efetuar a leitura.
- 8 – Anotar os resultados;
- 9 – Incubar a 37°C de 15 a 60 minutos;
- 10 – Centrifugar e ler
- 11 – Anotar os resultados;
- 12 – Lavar 3 vezes as hemácias, secar em papel absorvente e adicionar 2 gotas do soro de Coombs;
- 13 – Anotar os resultados.

Obs.: O reagente não deve apresentar reação positiva com hemácias de qualquer grupo sanguíneo.

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO PARA ALBUMINA BOVINA A 22%

Para a análise deste reagente, são feitos testes com hemácias não sensibilizadas (Coombs direto negativo), para verificar se o reagente promove hemaglutinação sem a presença de anticorpos específicos e conhecidos para as amostras escolhidas. Na inspeção visual não deve apresentar precipitados, partículas ou formação de gel. O reagente não pode provocar formação de grumos, empilhamento de hemácias ou promover hemólise (ausência de atividade hemolítica), ausência de prozonas ou fenômeno de rouleaux.

Técnicas para o Controle de Reagente Imunohematológicos.

INSTRUÇÕES INICIAIS.

Acompanhar todos os reagentes adquiridos para o setor lote a lote.

Fazer inspeção visual do reagente observando:

Tipo de embalagem do reagente.

Apresentação do produto correspondente a bula anexa ao kit do reagente e instruções de uso.

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WOLFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão:06/09/21 Revisão; Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão:31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

Rótulos dos reagentes inclusive confirmando o seu registro no ANVISA/Ministério da Saúde.

Datas de validade.

Temperatura de Estocagem.

TÉCNICAS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DOS REAGENTES IMUNOHEMATOLÓGICOS (REAGENTES PARA TIPAGEM DIRETA ABO)

1 – *Avidez em lâmina*

Objetivo

Determinar o grau e a velocidade que o antissoro consegue aglutinar, ou seja, reagir ou se unir ao antígeno.

Hemácias a serem utilizadas

As hemácias reagentes devem ter no máximo 7 dias de coleta

Preparar suspensão das hemácias do grupo A₁, B e AB (o AB se não for monoclonal)

Materiais

Lâminas

Cronômetro

Soros (Anti-A e Anti-B), retirados dos respectivos lotes para o controle.

Pipetas de Pasteur

Técnica

1 – Lavar as hemácias 3 vezes com salina a 0,9%;

2 – Preparar uma suspensão de hemácias a 10% (0, 100mL de 1000mL ou 2 gotas de hemácias com 18 gotas de salina a 0,9%).

3 – Colocar em uma lâmina (não aquecida) 1 gota da hemácia a 10% e 1 gota do Soro a testar.

Obs.: O soro será testado com as hemácias de grupo sanguíneo ABO correspondente ao mesmo. Ex: Soro Anti-A testado com suspensão de hemácias A, Soro-B testado com hemácias B.

4 – Misturar e acionar o cronômetro, movimentar a lâmina em movimentos circulares leves.

5 – Anotar o tempo assim que a aglutinação iniciar e parar o cronômetro assim que completar 2 minutos

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL

6 – Resultado: Anotar a avidez do soro em segundos (momento do início da reação de aglutinação) e a intensidade da reação (em cruzes até os 2' de observação da reação).

Utilizar mapa de registro de resultados.

2 – Especificidade

Objetivo

Avaliar a capacidade do reagente (anti-soro) reagir com o antígeno correspondente ao mesmo.

Hemácias a serem utilizadas

As hemácias reagentes devem ter no máximo 7 dias de coleta

Preparar suspensões a 5% de Hemácias A₁, B e O

Materiais

Tubos de hemólise

Estantes para tubos

Centrífuga

Salina a 0,9%

Técnica

1 – Preparar as suspensões de hemácias A, B e O, lavar 3 vezes com salina a 0,9% e fazer a suspensão a +/- 5% (1 gota da hemácia + 19 gotas de salina a 0,9% ou 1mL de salina em 0,050mL de hemácias). As hemácias devem ter menos de sete dias de colhidas no dia do uso.

2 – Em uma estante colocar 3 fileiras de 12 tubos;

3 – Colocar 1 gota de soro Anti-A em cada 1ª fileira, 1 gota de soro Anti-B em cada tubo da 2ª fileira e 1 gota de soro Anti-AB, em cada tubo da 3ª fileira (o AB se não for monoclonal).

4 – Colocar nos 4 primeiros tubos das 3 fileiras, uma gota de hemácias A, nos 4 tubos seguintes das 3 fileiras, 1 gota de hemácias B, e nos últimos 4 tubos das 3 fileiras, 1 gota de hemácias O.

5 – Agitar levemente e anotar os resultados (+ (quanto houver aglutinação) e – (quando não houver aglutinação). Anotar no mapa de registros e concluir de acordo com os resultados a especificidade de cada reagente.

3 - Título e Score

Objetivo

Determina a potência do reagente (caracteriza a força do anticorpo contido no reagente).

Hemácias a serem utilizadas

As hemácias devem ter menos de 7 dias de coleta e as suspensões devem ser preparadas no dia de uso.

Preparar suspensões de hemácias A, B e AB

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão: 06/09/21 Revisão: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão: 31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

Materiais

Soros Anti-A e Anti –B
 Tubos de hemólise
 Estantes
 Salina a 0,9%
 Centrífuga
 Pipeta automática de 0,1 m

Técnica

- 1- Preparar suspensões de hemácias A₁, B e AB (o AB se não for monoclonal) a 5%.
- 2- Em uma estante colocar 5 fileiras de tubos, cada um com 11 tubos.
- 3- Na primeira fileira, fazer diluições sucessivas do soro Anti-A, de 1:2 a 1:2048 com salina a 0,9% (0,1ml do soro + 0,1 ml de salina, misturar e passar 0,1 ml da mistura para o tubo seguinte).
- 4- Na segunda fileira, repetir as mesmas diluições sucessivas com o soro Anti-B.
- 5- Na terceira, quarta e quinta fileira, repetir as diluições sucessivas com o soro Anti-AB (o AB se não for monoclonal).
- 6- Pingar 1 gota de hemácias A₁, na primeira e terceira fileiras, 1 gota de hemácias B na segunda, terceira e quarta fileiras e 1 gota de hemácias AB na quinta fileira.
- 7- Agitar levemente e centrifugar por 15 segundos (3.500 RPM)
- 8- Fazer leitura e anotar os resultados em cruzes em cada diluição e calcular o Score, que será a soma total dos escores de cada tubo numa titulação em diluição ao dobro.

AGLUTINAÇÃO	SCORE
4+	12
3+	10
2+	8
1+	5
+/-	3
P ₀	2
0	0

OBS.: -

P₀ (Agregados minúsculos com o fundo avermelhado. Esses agregados são melhor observado ao microscópio

0 (ausência de aglutinação).

CRITÉRIO DE VALIDAÇÃO PARA REAGENTES DE TIPAGEM DIRETA ABO E REVERSA ABO

REAGENTES PARA TIPAGEM DIRETA ABO

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão: 06/09/21 Revisão: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão: 31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

ANTI-SORO	COLORAÇÃO	AVIDEZ	ESPECIFICIDADE	TÍTULO	SCORE
<i>anti-A</i>	<i>AZUL</i>	<i>15 seg</i>	<i>3 +(HEM.A1)</i>	<i>1:256</i>	<i>72</i>
<i>anti-B</i>	<i>AMARELA</i>	<i>15 seg</i>	<i>3 +(HEM B)</i>	<i>1:256</i>	<i>72</i>
<i>anti-AB</i>	<i>INCOLOR</i>	<i>15 seg</i>	<i>3 +(H.A1,B,A1B)</i>	<i>1:128</i>	<i>72</i>

REAGENTES PARA TIPAGEM REVERSA ABO

1 – Potência (intensidade de aglutinação)

Pode ser avaliada pela intensidade de aglutinação obtida com plasmas ou soros que possuam os anticorpos complementares aos antígenos presentes nas hemácias testadas. Testar hemácias "A" (suspensão a 3-5%) com plasma "B" e hemácias "B" (suspensão a 3-5%) com plasma "A". A intensidade mínima de aglutinação obtida para validar o reagente de hemácias é de 2+. Não deve ocorrer a formação de empilhamento (rouleaux).

2 - Especificidade

Pode ser avaliada pela capacidade do anticorpo reconhecer apenas seus antígenos eritrocitários complementares. Testar hemácias "A" e "B" (suspensão a 3-5%) com plasmas "AB". Não deverá haver aglutinação, visto que não há anticorpo específico para promovê-la no teste realizado.

Não deve ocorrer a formação de empilhamento (rouleaux).

TÉCNICAS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DOS REAGENTES IMUNOHEMATOLÓGICOS (REAGENTES PARA TIPAGEM REVERSA ABO) A CADA LOTE.

01 - A inspeção visual

Destes reagentes deverá ser feita após o repouso de aproximadamente 24 horas em refrigerador ou câmara fria com temperatura controlada, de acordo com as especificações do fabricante (observar precipitação ou hemólise das Hemácias).

Observar se ocorreu o depósito de partículas estranhas sobre as hemácias precipitadas e a presença ou não dessas partículas em suspensão na fase superior (sobrenadante) do sistema heterogêneo.

2 – Potência (intensidade de aglutinação)

Objetivo: Avaliar a intensidade de aglutinação obtida com plasmas ou soros que possuam anticorpos complementares aos antígenos presentes nas hemácias testadas.

Hemácias a serem utilizadas

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão: 06/09/21 Revisão: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão: 31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

Reagentes de Hemácias A e B

Materiais

Plasmas ou Soros A e B
 Tubos de hemólise
 Estantes
 Salina a 0,9%
 Centrífuga
 Pipeta automática

Técnica

- 1 – Faça a **inspeção visual** das hemácias reagentes deixando-as em repouso após a chegada do lote por 24 h.
- 2 – Após a inspeção visual homogeneíze o conteúdo coloque em um tubo 2 gotas de plasma ou soro A e uma gota de hemácia B a testar. Centrifugue e leia.
- 3 – Colocar em outro tubo 2 gotas de plasma ou soro B e uma gota de hemácia A1 a testar. Centrifugue 15” e 3400 rpm leia.

Resultado Esperado: Aglutinação com intensidade mínima de 2+ e não deve ocorrer a formação de empilhamento (rouleaux).

3 – Especificidade

Objetivo: Avaliar a capacidade de o anticorpo reconhecer apenas seus antígenos eritrocitários complementares.

Plasma a ser utilizado

Plasmas AB

Materiais

Plasmas AB.
 Tubos de hemólise
 Estantes
 Salina a 0,9%
 Centrífuga
 Pipeta automática

Técnica

- 1 – Testar as hemácia A e B.
- 2 - Colocar em um tubo 2 gotas de plasma AB e uma gota de hemácia A testar. Centrifugue e leia.

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão:06/09/21 Revisão; Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão:31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

3 – Colocar em outro tubo 2 gotas de plasma AB e uma gota de hemácia B a testar. Centrifugue e leia.

Resultado Esperado - Não haverá aglutinação e não deve ocorrer a formação de empilhamento (rouleaux).

TÉCNICAS PARA CONTROLE DE QUALIDADE DE REAGENTES PARA TIPAGEM DIRETA Rh (Anti-D)

1 - avidéz em lâmina do Soro Anti-D

Objetivo

Determinar o grau e a velocidade que o anti-soro consegue aglutinar, reagir ou se unir ao antígeno.

Hemácias a serem utilizadas

As hemácias reagentes devem ter no máximo 7 dias de coleta e deverão ser de preferência provenientes de Concentrado de Hemácias ORhD positivo.

Materiais

Lâminas
 Soro Anti-D
 Pipetas de Pasteur
 Cronômetro
 Aglutinoscópio

Técnica

- 1- Preparar uma suspensão a 40% (4 gotas de hemácias para 6 gotas de salina) de hemácias O positivo.
- 2- Com uma pipeta de Pasteur, colocar em uma lâmina, previamente aquecida (incubadora, banho Maria ou aglutinoscópio), 1 gota da suspensão (40%) O positivo e 2 gotas do soro Anti-D;
- 3- Misturar com o auxílio de um bastão, espalhando a mistura numa área de aproximadamente 2x3cm;
- 4- Acionar o cronômetro no exato momento da colocação da gota de soro Anti-D, homogeneizando sempre a lâmina;
- 5- Observar o início da aglutinação e observar a formação de grumos não deixando exceder os 2 minutos da observação.
- 6- Anotar os resultados, inclusive a intensidade da reação em cruzes (nos 2 minutos).

2 - Especificidade do Soro Anti-D

Objetivo

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL

Avaliar a capacidade do reagente (soro) reagir com o antígeno correspondente ao mesmo.

Hemácias a serem utilizadas

Preparar suspensões de Hemácias O Rh negativas.

Materiais

Soro Anti-D

Controle de Rh

Soro de Coombs

Estantes

Tubo de hemólise

Pipetas de Pasteur

Centrífuga

Técnica

- 1- Preparar as suspensões de hemácias a 5%, lavando-as 3 vezes com salina a 0,9% (1000 microlitros de salina + 50 microlitros de hemácias, ou 19 gotas de salina + 1 gota de hemácias.)
- 2- Em uma estante colocar 1 tubo, identificado com Anti-D e 1 tubo com CRh
- 3- Colocar em todos os tubos, 1 gota de hemácias 5% ORh Negativas.
- 4- Adicionar no 1º tubo 1 gota do Soro Anti-D;
- 5- Adicionar no 2º tubo 1 gota de Controle Rh;
- 6- Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos;
- 7- Centrifugar (30 segundos a 3500 RPM);
- 8- Efetuar a leitura e anotar os resultados;
- 9- Incubar a 37° C durante 60 minutos;
- 10- Centrifugar ler e anotar os resultados;
- 11- Prosseguir com a fase de Coombs (lavar os tubos 3 vezes com salina a 0,9%, secar com papel absorvente), na 3ª lavagem e acrescentar 2 gotas de Soro Anti-Humano ou Soro de Coombs e centrifugar).
- 12- Efetuar a leitura e anotar os resultados.

Resultado esperado: Não deverá haver aglutinação em nenhuma das fases.

3 - Título do Soro Anti-D

Objetivo

Determina a potência do reagente (caracteriza a força do anticorpo contido no reagente).

Hemácias a serem utilizadas

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

POP:
Revisão III
Emissão:06/09/21
Revisão; Leonardo
Marinho Machado
– CRBM. 3031
Priscilla Maria de
Hollanda C. Q.
Clerot – CRBM
2066
Data da
revisão:31/08/21

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL

As hemácias reagentes devem ter no máximo 7 dias de coleta

Preparar suspensões de hemácias 5% Rh Positivas (de preferência hemácias

ORhD+)

Materiais

Soro Anti-D

Solução fisiológica a 0,9%

Estantes

Tubos de Hemólise

Pipeta automática 0,1 ml

Banho Maria

Centrífuga

Técnica

1 – Em uma estante colocar 1 fileira de 9 tubos;

2 – Fazer diluições sucessivas do Soro Anti-D, de 1:2 a 1:512, com solução fisiológica (0, 100ml da solução fisiológica + 0, 100 ml do Soro Anti-D). Misturar e passar 0, 100 ml da mistura para o tubo seguinte;

3 – Pingar em cada tubo, 1 gota de hemácias 5% RhD positiva;

4 – Agitar levemente e centrifugar 30 segundos a 3500 RPM;

5 – Efetuar a leitura e anotar os resultados;

6 – Incubar a 37°C durante 60 minutos;

7 – Centrifugar (30 segundos a 3500 RPM)

8 – Efetuar a leitura e anotar os resultados (notificar até qual a diluição houve aglutinação).

Obs.: ver tabela de Intensidade de Reação.

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO PARA REAGENTES DE TIPAGEM RhD

REAGENTES PARA TIPAGEM RhD

Controle de Rh - Deve ter obrigatoriamente a mesma marca e meio diluente do soro anti-D.

Soro anti-D.

ANTI-SORO	AVIDEZ	ESPECIFICIDADE	TÍTULO
<i>Soro anti-D (monoclonal)</i>	<i>30 segundos</i>	<i>3+</i>	<i>1: 32</i>

OBS: Não deve reagir com hemácias rr.

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WOLFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão: 06/09/21 Revisão: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão: 31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

TÉCNICAS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DO SORO DE COOMBS E ANTI-HUMANO (Antiglobulina Humana – AGH mono Poliespecífico9).

1- Potência (Intensidade de Aglutinação)

Objetivo

Avaliar a capacidade do reagente (soro) reagir com o antígeno correspondente ao mesmo. Hemácias a serem utilizadas

Hemácias sensibilizadas com anticorpos da classe IgG após adsorção (plasma humano com anti-RhD ou soro comercial anti-RhD policlonal).

Controle de Coombs

Materiais

Hemácias sensibilizadas com anticorpos da classe IgG após adsorção (plasma humano com anti-RhD ou soro comercial anti-RhD policlonal)

Soro de Coombs ou Anti-Humano

Tubos de Hemólise

Estantes

Pipetas de Pasteur

Centrífuga

Técnica

Adicionar 2 gotas de soro Antiglobulina Humana.

Colocar no tubo uma gota da hemácia teste (hemácia comercial - Controle de Coombs).

Centrifugar a 3.500 RPM em 15 segundos.

Resultado esperado: A intensidade mínima de aglutinação esperada é de 3+.

2 - Especificidade

Objetivo

Determinar se o anti-soro não reage com hemácias que não estejam sensibilizadas com anticorpos IgG e/ou complemento.

Hemácias a serem utilizadas

3 (três) Hemácias de grupos sanguíneos distintas não sensibilizadas

Materiais

Soro de Coombs ou Anti-Humano

Estantes

Tubos de Hemólise

Centrífuga

Pipeta automática

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão: 06/09/21 Revisão: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão: 31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

Técnica

- 1 – Identificar três tubos (1, 2, 3)
- 2 – Colocar 1 gota (50µl) de cada hemácia de grupos sanguíneos distintos (3) no tubo 1, 2 e 3
- 3 – Colocar 2 gotas do Soro (AGH) a testar.
- 4 – Centrifugar e ler (Coombs Direto)

Resultado esperado: Não deverá haver aglutinação ou hemólise com as hemácias não sensibilizadas

TÉCNICA DE SENSIBILIZAÇÃO DE HEMÁCIAS “O” COM IgG (CONTROLE DE COOMBS)

Preparar suspensão de hemácias “O” Positiva a 3%

- 1 – Lavar uma hemácia “O” Rh Positiva 3X com solução salina
- 2 – Lavar 3 vezes em salina (respeitar o volume de 1 parte de hemácias para a 4 partes de salina).
- 3 – Em um frasco conta-gotas colocar 9,7ml de solução salina + 0,3 ml (6 gotas) de hemácias lavadas.
- 4 – Identificar um tubo de ensaio
- 5 – Para cada 2,5 ml da suspensão de hemácias “O” RhD Positiva pipetar 1 gota de soro comercial anti-RhD.
- 6 – Incubar por 30 minutos a 37°C.
- 7 – Realizar um teste de Coombs direto.

Resultado do Coombs Direto:

Positivo: Hemácias sensibilizadas, prontas para uso como controle do teste de Coombs.

Negativo: Acrescentar mais 1 gota de soro comercial anti-RhD e repetir todo o procedimento.

Recomendações metodológicas:

- . A cada teste negativo de Coombs (Direto e Indireto) acrescentar 01 gota da suspensão de hemácias “O” sensibilizadas, para avaliar o desempenho do reagente.
- . Centrifugar o tubo por 15 segundos a 3400 rpm ou 1000 rpm por 1 minuto.
- . Ler macroscopicamente contra fundo iluminado, ressuspensando delicadamente o botão de hemácias do fundo do tubo.

Resultado da avaliação do soro de Coombs:

Positivo: soro de Antiglobulina humana (soro de Coombs) em boas condições de uso

Negativo - utilizar outro lote do soro de Antiglobulina humana (soro de Coombs)

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO PARA O SORO DE COOMBS MONOESPECÍFICO E POLIESPECÍFICO

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WOLFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão: 06/09/21 Revisão: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão: 31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

Potência: Intensidade de aglutinação	Pode ser avaliada pela intensidade da aglutinação da AGH com hemácias RhD positivas (preferencialmente R0r Dccee) sensibilizadas com anticorpos da classe IgG após adsorção (plasma humano com anti-RhD ou soro comercial anti-RhD policlonal). Testar a AGH realizando o teste de Antiglobulina direto (Coombs direto) com as hemácias sensibilizadas "O" RhD positivo (suspensão a 3-5%). A intensidade mínima de aglutinação esperada é de 3+.
Especificidade	O antissoro não deve reagir com hemácias que não estejam sensibilizadas com anticorpos IgG e/ou complemento. Testar a AGH realizando o teste de Antiglobulina direto (Coombs direto) com 3 hemácias distintas (suspensão a 3-5%) não sensibilizadas. Não deverá haver aglutinação ou hemólise.

OBSERVAÇÕES IMPORTANTES

- 1- Verificações diárias dos reagentes devem ser feitas principalmente no que diz respeito à data de validade, temperatura de estoque (NO SETOR) e inspeção visual dos reagentes. Estas verificações devem ser realizadas por todos os funcionários do setor no momento do uso dos reagentes.
- 2- Manter no setor um livro de ocorrências para quaisquer observações que desejam ser feitas com relação aos reagentes verificados diariamente.
- 3- O Controle de Qualidade dos reagentes será feito lote a lote no que diz respeito à confirmação da reatividade e especificidade de cada reagente utilizado no Setor de Imunohematologia, principalmente antissoros e hemácias reagentes, bem como os reagentes que porventura sejam preparados no próprio setor.

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE FONE: 83 – 2107-9500	<p style="text-align: center;">PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</p> <p style="text-align: center;">CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO</p>	POP: Revisão III Emissão: 06/09/21 Revisão: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066 Data da revisão: 31/08/21
AGÊNCIA TRANSFUSIONAL		

4 – O reagente preparado no setor deve ter em seu rótulo a data de preparação e o nome do funcionário que o preparou.

6. Responsabilidade

Do bioquímico da Agência Transfusional do Instituto Walfredo Guedes Pereira.

7. Anexos

Parâmetros, especificações técnicas e frequência da inspeção visual dos reagentes imunohematológicos.

Parâmetro	Especificações Técnicas correspondentes		Frequência
<i>Tipos de reagentes</i>	<i>Antissoros, soluções, Pontencializadores e enzimas proteolíticas</i>	<i>Reagentes de hemácias</i>	<i>Diária</i>
<i>Aparência</i>	<i>Ausência de: Precipitado, gelatina, partículas ou fungos</i>	<i>Ausência de: Hemólise Turvação de líquido sobrenadante ou Escurecimento de hemácia</i>	<i>Diária</i>
<i>Rótulo e instruções de uso</i>	<i>-Identificação do produto (nome, número do lote, validade e origem), condições de armazenamento e registro Ministério da saúde, legíveis e em português.</i> <i>-instruções em português.</i>		<i>A cada lote</i>

Tabela de escore de reação

Intensidade de aglutinação	Escore de reação
4+	12
3+	10
2+	8
1+	5
Pó	02
Ausência de aglutinação	00

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA
HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO

AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE
FONE: 83 – 2107-9500

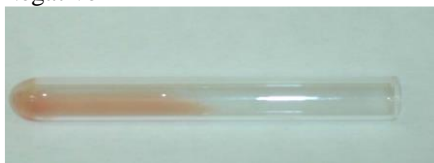
PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

POP:
Revisão III
Emissão:06/09/21
Revisão; Leonardo
Marinho Machado
– CRBM. 3031
Priscilla Maria de
Hollanda C. Q.
Clerot – CRBM
2066
Data da
revisão:31/08/21

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL

Intensidade das Reações (Promover a padronizações nos Resultados)

Negativo



Sem Aglutinação.

Pó (+/-)



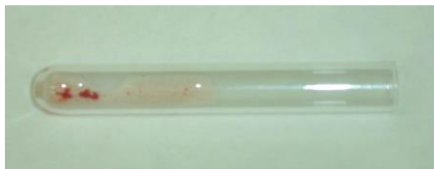
Escore = 3 (vários aglutinados pequenas/sobrenadante avermelhado).

1+



Escore = 5 (aglutinados pequenos/sobrenadantes avermelhado).

2+



Escore = 8 (Aglutinados Médios/sobrenadantes claros).

3+



Escore = 10 (Aglutinados grandes/sobrenadantes claro).

4+

REDIGIDO POR: Enfermeira: Patrícia Abrantes Fernandes Amorim	APROVADO POR: Hélida Karla Rodrigues Donato /SCIH	REVISADO POR: Leonardo Marinho Machado – CRBM. 3031 Priscilla Maria de Hollanda C. Q. Clerot – CRBM 2066	ORIGINAL
DATA DA REDAÇÃO 01/08/2021	DATA DA APROVAÇÃO 20/08/2021	DATA DE REVISÃO 31/08/2021	VALIDADE: 02 ANOS

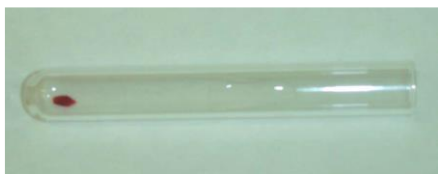
INSTITUTO WALFREDO GUEDES PEREIRA
HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO

AV. JOÃO MACHADO, 1234, JAGUARIBE
FONE: 83 – 2107-9500

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

POP:
Revisão III
Emissão:06/09/21
Revisão; Leonardo
Marinho Machado
– CRBM. 3031
Priscilla Maria de
Hollanda C. Q.
Clerot – CRBM
2066
Data da
revisão:31/08/21

AGÊNCIA TRANSFUSIONAL



Escore = 10 (Botão sólidos/nenhuma Livre.

8. Aprovação técnica

Qualquer ocorrência que não estejam prevista neste Procedimento Organizacional deverão ser analisadas pela Diretoria responsável.

Este Procedimento poderá ser alterado a qualquer momento, de acordo com a decisão do da coordenação do Instituto Walfredo Guedes Pedreira.

Este Procedimento passa a vigorar a partir da data de sua aprovação

REGISTRO DE TREINAMENTO EM PO

Declaro que recebi o treinamento para realização dos procedimentos descritos neste PO e me comprometo a realizá-los conforme as instruções recebidas.

Data	Horário	Carga horária	Nome do funcionário	Formação do funcionário	Ass. do instrutor	Ass. do instrutor

REDIGIDO POR:
Enfermeira: Patrícia Abrantes
Fernandes Amorim

APROVADO POR:
Hélida Karla Rodrigues
Donato /SCIH

REVISADO POR:
Leonardo Marinho Machado –
CRBM. 3031
Priscilla Maria de Hollanda C.
Q. Clerot – CRBM 2066

ORIGINAL

DATA DA REDAÇÃO
01/08/2021

DATA DA APROVAÇÃO
20/08/2021

DATA DE REVISÃO
31/08/2021

VALIDADE:
02 ANOS