



ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES LABORATORIAIS

SORAIA SILVEIRA BESERRA

**CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO EM IMUNO-HEMATOLOGIA NO CENTRO
DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO MARANHÃO - HEMOMAR**

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP

2015

SORAIA SILVEIRA BESERRA

**CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO EM IMUNO-HEMATOLOGIA NO CENTRO
DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO MARANHÃO - HEMOMAR**

Artigo científico apresentado ao Instituto de Pós Graduação em Análises Laboratoriais da Academia de Ciência e Tecnologia como requisito para a obtenção do título de Especialista em Hematologia Clínica, Laboratorial e Banco de Sangue.

Orientador (a): Prof. Me. José de Jesus Rodrigues Marques

Coorientador (a): Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP

2015

RESUMO

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO EM IMUNO-HEMATOLOGIA NO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO MARANHÃO - HEMOMAR

Soraia Silveira Beserra¹
José de Jesus Rodrigues²
Paulo Cesar Naoum³

Os testes imuno-hematológicos realizados no sangue do doador e receptor são fundamentais e críticos para a realização de uma transfusão segura. O Controle de Qualidade Interno monitora o desempenho desses testes e procedimentos conferindo maior confiabilidade aos resultados obtidos. O presente trabalho realizou a avaliação da qualidade dos reagentes imuno-hematológicos e padronização das amostras controles na rotina do laboratório de Imuno-Hematologia do Hemomar para comprovar a qualidade dos reagentes utilizados atendendo assim os instrumentos normativos que determinam a obrigatoriedade da realização do controle de qualidade dos reagentes na rotina e para garantir Segurança Transfusional. Nesse estudo foi verificado o controle de qualidade dos soros identificadores de antígenos eritrocitários pelo método de gel teste, reagentes antiglobulina humana monoespecíficos, reagentes anticomplementares, antiglobulinas poliespecíficos para identificação de anticorpos irregulares, e kit de hemácias fenotipadas; reagentes para tipagem ABO reversa, anticorpos anti-D monoclonais para identificação da variante D fraco do sistema Rh e potencializadores. Os resultados das inspeções da qualidade dos reagentes no laboratório de imuno-hematologia do Hemomar constataram que inspeção da qualidade na aquisição e durante o uso do reagente aumenta a margem de segurança das análises imuno-hematológicas.

Palavras-chave: Reagentes Imuno-hematológicos. Gel Teste. Hemomar.

¹ Aluna da Academia de Ciência e Tecnologia, pós-graduanda em Hematologia Clínica e Laboratorial.

² Prof. Mestre e Chefe do Laboratório de Imuno-hematologia do Hemomar.

³ Prof. Dr. Coordenador dos Cursos de Especialização em Hematologia da Academia de Ciência e Tecnologia.

1 INTRODUÇÃO

A implementação de instrumentos normativos como a Portaria N° 2.712 de 2013 que redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos e a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 34/2014 que dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue determinam a obrigatoriedade do serviço de hemoterapia que execute testes laboratoriais realizar Controle de Qualidade Interno (CQI) em Imuno-hematologia (ANVISA, 2013; 2014).

Os testes imuno-hematológicos realizados no sangue do doador e receptor são fundamentais e críticos para a realização de uma transfusão segura. O Controle de Qualidade Interno monitora o desempenho desses testes e procedimentos conferindo maior confiabilidade aos resultados obtidos. O objetivo desse controle é garantir qualidade e segurança transfusional no Banco de sangue. (NOVARETTI et al., 2009).

O CQI em Imuno-hematologia abrange a padronização de amostras controles e técnicas, avaliação dos reagentes imuno-hematológicos, controle de temperatura ambiente e de equipamentos, realização de manutenção preventiva e calibração regular de equipamentos, registro de não conformidades e padronização das técnicas executadas em procedimentos da qualidade (CASTILHO et al., 2013).

Nesse trabalho se aborda especificamente a avaliação do controle de qualidade dos reagentes imuno-hematológicos conforme quadro 1, que compreende:

Quadro 1 – Critérios para avaliação do controle de qualidade dos reagentes imuno-hematológicos

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÕES	PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÕES
INSPEÇÃO VISUAL (recebimento e durante o uso) Frequência: diária	Verificação da ausência de hemólise, turvação, precipitados, partículas em suspensão e formação de gel.	TESTE DOS REAGENTES Frequência: a cada lote	Testar nas técnicas para os quais foram aprovados: tubo, gel teste, microplaca, lâminas, etc.; obtenção dos resultados claramente identificados como positivo/negativo.
AValiação DO RÓTULO Frequência: a cada lote	Deve conter fabricante, validade, lote, volume, temperatura de armazenagem, registro na ANVISA, descrição da metodologia.	ANÁLISE DOS REAGENTES Frequência: a cada lote	Testar a especificidade, avidéz, determinação do título.
AValiação DA BULA Frequência: a cada lote	Verificação das instruções de uso, interpretação, limitações do teste, cuidados de manipulação.	ANÁLISE DOS ANTISSOROS Frequência: a cada lote	Observar na bula a presença de especificações técnicas.

<p>AValiaÇÃO DO FRASCO</p> <p>Frequência: a cada lote</p>	<p>Avaliação da embalagem, que deve estar íntegra e bem vedada; verificar volume dispensado (conta-gotas 1gota=50µl).</p>	<p>HEMÁCIAS PARA CLASSIFICAÇÃO REVERSA E ANTICORPOS IRREGULARES</p> <p>Frequência: diária</p>	<p>Deve-se apresentar na concentração de 5%. Não apresentar hemólise.</p>
---	---	---	---

Todos os reagentes devem ser inspecionados visualmente e quanto ao rótulo, bula, frasco. A análise laboratorial que consiste em determinar a especificidade, avides, título é aplicável aos soros identificadores de antígenos eritrocitários, controle Rh e antiglobulina humana, porém não se aplica aos reagentes de salina, albumina bovina e enzimas proteolíticas, pois se restringem a avaliação da inspeção visual (ANVISA, 2013).

A determinação da especificidade que consiste em testar o reagente com hemácias positivas e negativas em relação ao determinante antigênico específico, é utilizada tanto nas técnicas de análise em tubo como também de gel teste e avalia a capacidade do anticorpo reconhecer apenas seus antígenos eritrocitários complementares (ANVISA, 2013).

O teste de avides determina a velocidade e intensidade com os quais o antígeno e o anticorpo reagem, ou seja, é medido o tempo total decorrido desde a homogeneização da amostra e do reagente até o início da aglutinação. Outra forma de analisar o reagente é através do título que determina a concentração de anticorpos presentes no soro em análise, que corresponde à última diluição do soro que houve aglutinação (ANVISA, 2013).

Esses parâmetros de avaliação dos reagentes devem estar descritos em procedimentos da qualidade e os resultados registrados em formulários específicos para documentação e cumprimento da legislação vigente. Cada item verificado pelo controle de qualidade deve apresentar um percentual de conformidade igual ou superior a 75% e os reagentes que estiverem fora das especificações técnicas descritas acima não devem ser utilizados na rotina do laboratório de imuno-hematologia (ANVISA, 2013).

O Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (Hemomar) prezando pela segurança transfusional e atender as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) introduziu o controle de qualidade no laboratório de imuno-hematologia de acordo com as metodologias utilizadas e testes realizados. O controle de qualidade é realizado em duas etapas: inspeção visual e investigação

laboratorial dos reagentes; e, introdução de amostra controle padronizada e validada na rotina do laboratório.

O método padrão utilizado na rotina da imuno-hematologia de doador e receptor do Hemomar é o gel teste, uma microtécnica em que se utilizam cartões contendo microtubos com gel. As reações são estáveis e podem ser revistas até 48 horas após a realização dos testes. Nesse teste ocorre a reação antígeno-anticorpo e os aglutinados formados são retidos na coluna do gel quando submetidos os cartões a baixa centrifugação, determinando dessa forma o padrão de positividade do teste (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A partir do exposto, o presente trabalho realizou a avaliação da qualidade dos reagentes imuno-hematológicos e padronização das amostras controles na rotina do laboratório de Imuno-Hematologia do Hemomar para comprovar a qualidade dos reagentes utilizados atendendo assim os instrumentos normativos que determinam a obrigatoriedade da realização do controle de qualidade dos reagentes na rotina e para garantir Segurança Transfusional.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Nesse estudo foi verificado o controle de qualidade dos soros identificadores de antígenos eritrocitários pelo método de gel teste: anti-A, anti-B, anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-K, anti-k, anti-Kp^a, anti-Kp^b, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti-P1, anti-Le^a, anti-Le^b, anti-Lu^a, anti-Lu^b, anti-M, anti-N, anti-S, anti-s, anti-Fy^a, anti-Fy^b; reagentes antiglobulina humana monoespecíficos (anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM); reagentes anticomplementares (anti-C3c, anti-C3d); lectinas anti-A1 e anti-H; antiglobulinas poliespecíficos para identificação de anticorpos irregulares (anti-IgG de coelho, anti-C3d) e kit de hemácias fenotipadas; reagentes para tipagem ABO reversa (suspensões de hemácias A1 e B); anticorpos anti-D monoclonais para identificação da variante D fraco do sistema Rh e potencializadores (bromelina).

Os reagentes foram avaliados na aquisição (prévio a sua utilização) quanto à inspeção visual através da ficha de inspeção da qualidade (anexo A). Logo após o recebimento foi avaliado os seguintes aspectos: tipo de reagente, natureza (policlonal e/ou monoclonal), princípio da técnica (cartelas gel ou reagente líquido), fabricante, temperatura de estocagem, lote, validade, registro na ANVISA, inspeção visual, especificidade, intensidade das reações em cruces e conclusão da análise.

Na inspeção visual dos reagentes pelo método de gel teste foi verificado se os microtubos em gel estavam totalmente sedimentados, com aspecto homogêneo e solução tampão entre 1 mm a 2 mm acima da coluna; não apresentaram partículas em suspensão e bolhas de ar, sem perfuração do lacre.

Esses critérios para o controle de qualidade dos reagentes em imunohematologia estão descritos na Portaria 2.712/2013 Anexo VII e estudos realizados por Novaretti et al.,(2002) e Castilho et al.,(2013).

Para atender as exigências e recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA foi padronizado as amostras biológicas para controle interno utilizadas na rotina do laboratório de Imuno-hematologia do Hemomar. O controle interno é uma amostra biológica de um doador repetitivo com histórico de pelo menos duas doações com grupo ABO conhecido. Essa amostra controle é analisada sempre na rotina do dia seguinte durante as análises imunohematológicas dos doadores e receptores. A estabilidade é de 48 horas entre 2 a 6°C.

A amostra controle que foi validada é testada pela metodologia padronizada no Hemomar: gel teste, para análise imuno-hematológica do receptor e doador. Os resultados são sempre reportados em formulários de registro específico e são analisados pelo responsável técnico do setor conforme as instruções descritas na RDC N° 34/2014.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a implantação do controle interno de qualidade dos reagentes foi constatado ausência de reprovação dos produtos na aquisição, anteriormente reprovados por incompatibilidade do produto apresentado quando comparado com a descrição técnica. Isso só foi possível com o controle e padronização do fornecedor dos reagentes.

Esse resultado difere com os encontrados nos estudos de Novaretti et al.,(2009) em que após avaliação de 3.417 reagentes imuno-hematológicos constatou que 67% dos reagentes analisados foram reprovados devido o produto apresentado ser incompatível com a descrição técnica.

O Controle de qualidade na aquisição de reagentes é de fundamental importância para comprovar se os mesmos estão dentro do padrão estabelecido pelo fabricante e que não foram alterados durante o transporte.

Os reagentes analisados não apresentaram reprovação por motivos técnicos (tais como especificidade, intensidade da reação em cruces, hemólise, partículas em suspensão, lote, validade, registro na ANVISA). Na inspeção visual os reagentes atenderam aos parâmetros estabelecidos para o método de gel teste, pois se apresentaram totalmente sedimentados com aspecto homogêneo e solução tampão acima da coluna, sem partículas em suspensão e bolhas de ar, sem perfuração do lacre.

Em resultados anteriormente descritos nos permitiu constatar a redução até ausência de não conformidades e reprovações dos reagentes demonstrando a otimização no sistema de compra e eficácia da implantação do controle de qualidade no laboratório de imuno-hematologia.

A padronização da amostra controle e avaliação dos reagentes além de atender as exigências da ANVISA permitem principalmente a rastreabilidade da metodologia, reagentes, equipamentos e procedimentos técnicos. Quando da ocorrência de uma não conformidade a portaria que regulamenta os procedimentos hemoterápicos determinou que quando ocorrentes devem ser registras e investigadas. Fazem-se necessárias para garantia da rastreabilidade dos testes executados assegurando dessa forma a confiabilidade dos resultados finais utilizados na rotina transfusional.

4 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo possibilitam as seguintes conclusões:

- 1) Os resultados das inspeções da qualidade dos reagentes no laboratório de imuno-hematologia do Hemomar constataram que inspeção da qualidade na aquisição e durante o uso do reagente aumenta a margem de segurança das análises imuno-hematológicas.
- 2) As amostras controles introduzidas na rotina avalia a reprodutibilidade das análises imuno-hematológicas promovendo a diminuição de erros e aumentando a credibilidade de resultados dos testes.
- 3) O controle de qualidade interno no laboratório de imuno-hematologia do Hemomar está estabelecido, sendo necessárias ações de melhoria contínua para manutenção do sistema de gestão da qualidade.
- 4) Esse trabalho permitiu dar instruções aos laboratórios na rotina de Imuno-hematologia para padronização dos procedimentos adequados para assegurar a qualidade dos resultados finais.

REFERÊNCIAS

ANVISA. **Regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos**: portaria nº 2.712, de 12 de novembro de 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b6db53804492cb3b99a6db281231adba/PORTARIA+2712_13.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 01 nov. 2015,

ANVISA. **Boas práticas no ciclo do sangue**: resolução da diretoria colegiada – RDC nº 34, de 11 de junho de 2014. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/f613c5804492c25a9989db281231adba/Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n%C2%BA+34-2014.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 01 nov. 2015.


BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO HOSPITALAR E DE URGÊNCIA. **Imuno-Hematologia Laboratorial**. Brasília – DF, 2014 60 p.

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

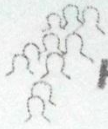
NOVARETTI, Z.C. M.; BONIFÁCIO, L. S.; MEDEIROS, R.V.; RUIZ, S. A.; DORLHIAC-LLACER, E. P.; CHAMONE, F. A. D. **Dez anos de experiência em controle de qualidade em imuno-hematologia**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009;31(3): 160-165. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v31n3/aop5209.pdf>>. Acesso em: 06 set. 2015.

NOVARETTI, Z.C. M.; BUENO, J.V.; DORLHIAC-LLACER, E. P.; CHAMONE, F. A. D. **Controle de qualidade interno de reagentes em imuno-hematologia – aspectos práticos**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2002;24(4): 270-285. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151684842002000400005&script=sci_artt_ext>. Acesso em: 06 mai. 2015.

ANEXO A – Formulário de inspeção dos reagentes imuno-hematológicos pelo método de gel teste.



Secretaria de Estado da Saúde



HEMOMAR
Suplementos de Hematologia e Hemoderivações do Maranhão
 Rua 02 da Jurema, s/n - Ponta
 Tel: (98) 3216-1190
 Fax: (98) 3343-4167
 CEP: 65040-480 - São Luís - MA

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO DOS REAGENTES DE IMUNO-HEMATOLOGIA

FICHA DE INSPEÇÃO DE QUALIDADE

PRODUTO	Soro anti - D	Soro Ctl	<input checked="" type="checkbox"/>
----------------	---------------	----------	-------------------------------------

NATUREZA	Policlonal	Monoclonal	<input checked="" type="checkbox"/>	Poli e Monoclonal
-----------------	------------	------------	-------------------------------------	-------------------

Reagente líquido	<input checked="" type="checkbox"/>
------------------	-------------------------------------

Fabricante: Dia med **Lote:** 50092.44.08

Volume: _____ **Validade:** 10.2011

Data recebimento: 12.2010 **Data da Análise:** 17.12.2010

Temperatura de estocagem: 18 a 25°C **Nº registro ANVISA:** 80004040061

Inspeção Visual: Microtubos com gel totalmente redimuntados, aspecto homogêneo e solúvel tampão acima da coluna. Não apresenta partículas em suspensão e bolhas de ar. Sem perfurações ou irregularidades no laço.

ESPECIFICIDADE

Hemácias (5%) _____


O RhD positivo: _____

O RhD negativo: _____

A RhD negativo: _____

ARhD negativo: _____

Conclusão da Análise: O produto está conforme e pode ser utilizado na rotina



Responsável pela Análise