

Laércio de Melo

**BENEFÍCIOS DO PROGRAMA DE CONTROLE DA
QUALIDADE EM IMUNOHEMATOLOGIA
NA PRÁTICA TRANSFUSIONAL**

Orientadora: Profa. Dra. LILIAN MARIA DE CASTILHO

**CAMPINAS
2006**

Laércio de Melo

**BENEFÍCIOS DO PROGRAMA DE CONTROLE DA
QUALIDADE EM IMUNOHEMATOLOGIA
NA PRÁTICA TRANSFUSIONAL**

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-
Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Doutor em Clínica Médica,
área de Clínica Médica*

Orientadora: Prof. Dra. LILIAN MARIA DE CASTILHO

**CAMPINAS
2006**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

M491b Melo, Laércio
 Benefícios do Programa de Controle da Qualidade em
 Imunohematologia na prática transfusional / Laércio de Melo.
 Campinas, SP : [s.n.], 2006.

Orientador : Lílian Maria de Castilho
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Antígeno . 2. Anticorpo . I. Castilho, Lílian Maria de.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. IV. Título.

**Título em ingles : Benefits of the Quality Control Program in
Immunohematology in Transfusion Medicine**

Keywords: • Antigen
 • Antibody

Área de concentração : Clínica Médica

Titulação: Doutorado em Clínica Médica

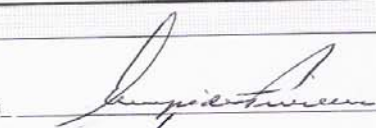
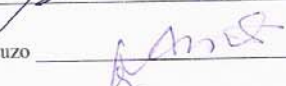
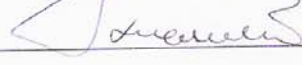
**Banca examinadora: Profa. Dra. Lílian Maria de Castilho
Prof Dr Cármino Antonio de Souza
Profa. Dra. Ângela Cristina Luzo
Prof Dr Eurípedes Ferreira
Prof Dr Milton Artur Ruiz**

Data da defesa: 30-05-2006

Banca Examinadora da Tese de Doutorado

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Lilian Maria de Castilho

Membros:

1. Prof(a). Dr(a) Eurípedes Ferreira 
2. Prof(a). Dr(a). Milton Artur Ruiz 
3. Prof(a). Dr(a). Ângela Cristina Malheiros Luzo 
4. Prof(a). Dr(a). Cármino Antonio de Souza 
5. Prof(a). Dr(a). Lilian Maria de Castilho 

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/05/2006

À minha querida e amada esposa, amiga e companheira de todas as horas *Irene*, que com todo amor, carinho e constante sorriso, sempre me encorajou e apoiou.

Agradeço-lhe também pela grande ajuda na apuração e organização dos dados e pela atenta revisão dos textos.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. **Lílian Maria de Castilho**, pelo apoio desde a idéia inicial. Pelos exemplos do valor do estudo metódico. Pelo carisma de Cientista e Orientadora, segura, atenta, paciente, carinhosa, renomada, mas singela.

Ao grande amigo **Jordão**, companheiro das horas difíceis, pela idéia e pelo incentivo “em trazer para o nível acadêmico o trabalho desenvolvido”. Sua ajuda constante e em todas as fases do projeto reforçou, ainda mais, nossa amizade e companheirismo, que teve início em épocas memoráveis de nossa luta no início do Programa Nacional do Sangue o “Pró-Sangue”.

To **Jean Adam** and **Peter Reitze**, for the support and demonstrations of friendship facilitating my way for this Thesis.

Ao **Celso Bianco** e **Maria Rios**, pelo estímulo constante e por diversas contribuições.

À **Ana Paula Pellegrino Bechelli**, pela competência, boa vontade e desprendimento em realizar o delineamento e as análises estatísticas dos resultados.

Ao Prof. Dr. **Eurípedes Ferreira**, quando então Presidente da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, me apoiou e acatou o Programa de Controle de Qualidade Externo, origem desta Tese.

Ao Prof. Dr. **Cármino Antonio de Souza**, também amigo e companheiro desde a época do “Pró-Sangue” pelo estímulo constante.

Ao Prof. Dr. **Romeu Ibrahim de Carvalho**, por todas as orientações e estímulos recebidos.

Ao meu amigo **Wilson Balleotti**, companheiro de curso, pela sua simplicidade, pelo exemplo de sua dedicação e vontade de vencer. Pela sua alegria contagiante que não deixa ninguém triste.

To **Imelda Bromilow**, for the support and collaboration

À **Renata Maia**, pelo carinho que me acolheu, pela “eficaz vigilância” e ajuda para que eu pudesse estar sempre em dia com as exigências da secretaria.

À **Cátia de Araújo Ferreira**, Secretária do Programa, pela eficiência e dedicação.

Aos meus filhos e filhas que amo tanto, **Guilherme, Izabel, Beatriz e Fernando**, pela alegria que me proporcionam. Pelo orgulho que tenho de vocês. “Minhas Jóias” que me motivam.

À minha querida mãe **Emília**, minha linda Guerreira que me envaidece. Sua determinação e esforço pessoal foram que viabilizou meu ingresso na Universidade, passo realmente inicial deste trabalho.

Ao meu querido pai **Geraldo** (*in memoriam*), muito precocemente perdido, pelos exemplos.

Ao meu querido irmão **Maurílio** (*in memoriam*), também precocemente perdido. Pela sua lição de vida e pela alegria constante e contagiante. Comprou meu primeiro estetoscópio, “para demonstrar sua felicidade em me ver estudando e virar doutor”. Quanta saudade!

À minha querida irmã **Sirley**, também Guerreira, pelo apoio constante e pelo exemplo que é.

Ao meu cunhado-irmão **Thomaz**, meu exemplo profissional.

À maravilhosa “**Família Carrapicho**”, por toda energia positiva.

Aos meus queridos **Amigos de “Belô”** fonte inesgotável de força e incentivo.

SUMÁRIO

	Pág
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
INTRODUÇÃO.....	17
OBJETIVOS.....	28
CAPÍTULO I	30
Introdução	31
Material e Métodos	32
Resultados	34
Discussão	37
CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
APÊNDICE.....	49
Número de participantes por região geográfica	50
Ficha de resposta das avaliações práticas	51
Formulário das avaliações teóricas	53
Formulário de respostas das avaliações teóricas	58
Formulário de autoclassificação dos erros	67
Modelo de certificados	69

LISTA DE ABREVIATURAS e SIGLAS

Sigla	Descrição
ABO	Sistema De Grupo Sanguíneo ABO
AGT	Teste da Antiglobulina Humana
AI	Identificação de anticorpos
AS	Pesquisa de anticorpos
DAT	Teste Direto da Antiglobulina
GELL-LISS	Técnica de hemaglutinação em gel
GELL-PAP	Técnica de hemaglutinação em gel
IAT	Teste Indireto da Antiglobulina
LISS	Tampão de baixa força iônica
LISS-AGT	Técnica de hemaglutinação em gel
PEG-AGT	Técnica de hemaglutinação em gel
Rh	Sistema de Grupo Sanguíneo Rh
Rh (C, c, E, e)	Fenotipagem dos antígenos C, c, E, e do sistema Rh
K	Fenotipagem Kell (K)
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
BEQAPI	Programa Brasileiro de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia
ISBT	Sociedade Internacional de Transusão Sanguínea
SBHH	Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia
SINASAN	Sistema Nacional de Sangue e Hemoderivados

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Pág

TABELA 1 :	Distribuição dos métodos de classificação de Grupo Sanguíneo ABO de acordo com a utilização pelos participantes	32
TABELA 2 :	Distribuição dos métodos de classificação de Grupo Sanguíneo RhD de acordo com a utilização pelos participantes	33
TABELA 3 :	Distribuição dos métodos de fenotipagem para o Grupo Sanguíneo Rh (C,c,E,e) de acordo com a utilização pelos participantes	33
TABELA 4 :	Distribuição dos métodos de fenotipagem para o Grupo Sanguíneo Kell (K) de acordo com a utilização pelos participantes	33
TABELA 5 :	Métodos empregados no Teste Direto da Antiglobulina de acordo com a utilização pelos participantes	33
TABELA 6 :	Métodos empregados para a Pesquisa de Anticorpos de acordo com a utilização pelos participantes	34
TABELA 7 :	Métodos empregados para a Identificação de Anticorpos de acordo com a utilização pelos participantes	34
TABELA 8:	Distribuição das Instituições segundo o número de avaliações que participaram	35

LISTA DE FIGURAS

	Pág
FIGURA 1 : Distribuição das Instituições participantes no Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia segundo o ano.....	35
FIGURA 2 : Porcentagem de resultados corretos para os testes ABO, RhD e RhD fraco, segundo o ano de avaliação.....	35
FIGURA 3 : Porcentagem de resultados corretos para a Fenotipagem Rh (C, c, E, e) e Kell (K), segundo o ano de avaliação	36
FIGURA 4 : Porcentagem de resultados corretos para a Pesquisa de Anticorpos e para o Teste Direto da Antiglobulina, segundo o ano de avaliação.	37
FIGURA 5 : Porcentagem de resultados corretos para a Pesquisa de Anticorpos de acordo com as técnicas mais freqüentemente utilizadas, segundo o ano de avaliação.....	37
FIGURA 6 : Distribuição anual das técnicas mais freqüentemente utilizadas para a Pesquisa de Anticorpos.....	38
FIGURA 7 : Distribuição anual das técnicas mais freqüentemente utilizadas para a Identificação de Anticorpos	38
FIGURA 8 : Porcentagem de resultados corretos para a Identificação de Anticorpos de acordo com o tipo de anticorpo(s) e as técnicas utilizadas	39

SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS

NOMENCLATURA ISBT*

Nº ISBT	NOME	ABREVIATURA
001	ABO	ABO
002	MNS	MNS
003	P	P
004	Rh	RH
005	Lutheran	LU
006	Kell	KEL
007	Lewis	LE
008	Duffy	FY
009	Kidd	JK
010	Diego	DI
011	Cartwright	YT
012	XG	XG
013	Scianna	SC
014	Dombrock	DO
015	Colton	CO
016	Landsteiner-Wiener	LW
017	Chido/Rodgers	CH/RG
018	Hh	H
019	Kx	XK
020	Gerbich	GE
021	Cromer	CROM
022	Knops	KN
023	Indian	IN
024	Ok	OK
025	Raph	MER2
026	JMH	JMH
027	I	I
028	Globoside	GLOB
029	GIL	GIL

**** ISBT - Sociedade Internacional de Transfusão Sangüínea***

RESUMO

O Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia foi introduzido com o objetivo de avaliar a qualidade do diagnóstico em Imunohematologia. Foram realizadas 41 avaliações em 223 instituições no período de 1992 a 2003 que incluíram testes de proficiência para determinação ABO e RhD, fenotipagem Rh e K, teste direto da antiglobulina humana, pesquisa de anticorpos irregulares e identificação de anticorpos. No período de 12 anos o programa incluiu 8014 determinações de grupo sanguíneo ABO, 8000 classificações RhD, 5193 fenotipagens Rh, 5101 fenotipagens K, 7939 pesquisas de anticorpos irregulares, 4533 identificações de anticorpos e 7912 testes diretos da antiglobulina humana. Respostas incorretas foram classificadas como erros clericais, técnicos, ou não determinados. Ocorreu um número elevado de erros clericais na determinação do grupo sanguíneo ABO (76/76 erros), classificação RhD (34/58 erros) e na fenotipagem Rh (50/73 erros). Erros técnicos ocorreram predominantemente na determinação do antígeno D fraco (91/95 erros), na pesquisa de anticorpos irregulares (252/301 erros) e na identificação de anticorpos (321/335 erros) e estavam associados à sensibilidade das técnicas e dos reagentes utilizados. As avaliações teóricas, como incentivo à educação continuada, auxiliaram na diminuição dos erros, estimularam o treinamento dos participantes e o trabalho em equipe. A detecção dos erros foi importante para propor melhoria técnica com reavaliação dos protocolos bem como ações corretivas visando à melhoria da qualidade. A participação em um programa de controle de qualidade externo bem organizado mostrou ser fundamental na melhoria da qualidade dos testes em imunohematologia, reduzindo a frequência dos erros e no potencial risco de reações hemolíticas garantido uma melhoria na qualidade das transfusões.

ABSTRACT

The Brazilian External Quality Assessment Program in Immunohematology (BEQAPI) was introduced with the objective of evaluating the quality of diagnosis in Immunohematology. From 1992 to 2003, proficiency tests for ABO grouping, Rh (D, C, c, E, e), K phenotyping, Direct Antiglobulin Testing (DAT), Antibody Screening (AS) and Antibody Identification (AI) were performed. Forty-one evaluations were carried out in 223 institutions. Over the period of 12 years, the program included 8,014 ABO typing, 8,000 RhD typing, 5,193 Rh (C, c, E, e), 5,101 K phenotyping, 7,939 AS, 4,533 AI and 7,912 DATs. Erroneous responses were classified as clerical, technical or undetermined. A substantial proportion of erroneous responses due to clerical errors occurred in ABO typing (76/76 errors), RhD typing (34/58 errors) and Rh phenotyping (50/73 errors). Technical errors occurred predominantly for weak D (91/95 errors), AS (252/301 errors) and AI (321/335 errors). Based on these results, since 1996, participants have received “Questions and Case Studies” as an incentive for training and education. The results of the present study show an improvement in the performance of participants in the course of the program. We found that a well-organized external proficiency program can contribute to the improvement of quality of testing in Immunohematology.

INTRODUÇÃO

O conceito de transfusão de sangue teve início com a descrição da circulação do sangue por **WILLIAN HARVEY** em 1628. No final do século XVI, **JEAN DENIS**, na França e, **RICHARD LOWERY**, na Inglaterra, realizaram a primeira transfusão documentada em humanos. Ambos utilizaram sangue de animais. De acordo com os conhecimentos atuais sobre os anticorpos “antiespécies”, não é surpresa que a primeira reação hemolítica foi descrita por **DENIS** em 1668. As transfusões de sangue animal para humanos provocaram a morte de vários pacientes, foram proibidas e consideradas ilegais pelas sociedades médicas.

Durante mais de 150 anos houve poucas publicações sobre transfusões de sangue até que no ano de 1818, **JAMES BLUNDELL**, obstetra e fisiologista inglês, retomou o interesse no tratamento de hemorragia pós-parto. No entanto, o uso indiscriminado das transfusões durante este período, com resultados imprevisíveis e a alta mortalidade destes pacientes, provavelmente devido às reações hemolíticas, desencorajaram mais uma vez as transfusões de sangue (**OBERMAN, 1981; KICKLIGHTER & KLEIN, 2001; PETZ & GARRATTY, 2004**).

A era moderna das transfusões teve seu início entre 1900 e 1901 quando **KARL LANDSTEINER (HUGHES-JONES, 2002)**, então com 32 anos de idade, descobriu a existência dos antígenos de grupos sanguíneos ABO que são, até hoje, os mais importantes antígenos de grupos sanguíneos humanos conhecidos (**WATKINS, 2001**). Inicialmente, poucos entenderam a importância da descoberta de **LANDSTEINER**. O longo período histórico de vários séculos de insucessos nas tentativas de transfusões de sangue serve para valorizar ainda mais os grandes avanços nos conhecimentos dos grupos sanguíneos nos anos seguintes à original descoberta de **LANDSTEINER**.

Em 1907, **RICHARD WEIL** e **REUBEN OTTENBURG**, foram os primeiros a reconhecer que as hemácias que apresentavam antígenos ABO, quando infundidas em um receptor com o correspondente anticorpo (isoaglutinina) poderia resultar em grave hemólise aguda. **OTTENBURG** tornou-se o primeiro a realizar a classificação ABO entre o doador e o paciente (**HEAL & BLUMBERG, 1999; OBERMAN, 1981**).

De acordo com **DANIELS (2002)**, a Imunohematologia tornou-se ciência a partir dos relatos de **LANDSTEINER** e podemos considerar que a descoberta dos grupos sanguíneos ABO, tornou possível a realização das transfusões de sangue.

Em 1945, o desenvolvimento do teste da antiglobulina por **COOMBS**, revolucionou o campo da imunohematologia. O teste direto e indireto da antiglobulina passou a ser uma importante ferramenta para a detecção de anticorpos contra os antígenos dos glóbulos vermelhos. A maioria dos antígenos foi evidenciada pela realização do teste da antiglobulina em pacientes com reação hemolítica ou destruição acelerada das hemácias transfundidas.

A partir dos três antígenos de grupos sanguíneos originais, foram descritas e reconhecidas até hoje, centenas de diferentes estruturas na superfície das hemácias. Apesar da maioria das informações terem sido evidenciadas a partir dos clássicos testes sorológicos baseados nas reações de hemaglutinação, novas e importantes informações surgiram com o advento de novos métodos bioquímicos e genéticos, com os anticorpos monoclonais demonstrados por **KOHLER & MILSTEIN (1975)**, com as novas técnicas de eletroforese em gel de poliacrilamida e o PCR, que permitiu ampliar, para o nível genético, os estudos inicialmente limitados aos antígenos de superfície (**REID et al, 2000**).

De acordo com os dados atualizados da **Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea (ISBT)**, atualmente existem 29 sistemas de grupos sanguíneos e 257 antígenos descritos. Todos esses antígenos foram definidos através do correspondente anticorpo humano, por apresentarem características de herança, o gen codificador ter sido identificado e seqüenciado e, ter sua localização cromossômica conhecida (**DANIELS, 2004**).

No Brasil, semelhante ao que ocorreu em outros países do mundo, a Medicina Transfusional desenvolveu-se significativamente nas últimas décadas. Em 1980, com a criação do **Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados - PRO-SANGUE**, o governo propiciou a implantação e implementação da rede de hemocentros. Os setores público e privado investiram substancialmente na construção de novas instalações e na introdução de novos testes, principalmente para a detecção de diversos agentes

infecciosos, com o objetivo de assegurar a qualidade da transfusão de sangue e componentes.

Por volta de 1985/1987, a questão do sangue e dos hemoderivados no Brasil era crítica. O tema passou a adquirir notoriedade em decorrência do aparecimento da SIDA/AIDS, tendo sido a categoria de exposição por transfusão responsável por 8,8% dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde. Diante deste quadro e da relevância desses serviços, o Ministério da Saúde estabeleceu medidas rigorosas no sentido de oferecer maior segurança aos doadores e receptores de sangue e hemoderivados.

Hoje, as transfusões de sangue no Brasil são legisladas pela Constituição Federal, por leis e decretos (**LEI Nº 10.205; DECRETO nº 3.990**). O **Ministério da Saúde** coordena o **Sistema Nacional de Sangue, Componentes e Derivados (SINASAN)** e a **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)** realiza a fiscalização dos serviços. Os pilares do sistema brasileiro são a doação voluntária, a não comercialização do sangue, seus componentes e derivados e, as doações e transfusões serem realizadas pelos Hemocentros da rede pública, complementados pelos serviços privados.

De acordo com a complexidade dos serviços (**RDC nº 151**), existem registrados atualmente, 2.047 serviços distribuídos em diferentes níveis de complexidade: 26 Hemocentros Coordenadores, 59 Hemocentros Regionais, 290 Núcleos de Hemoterapia, 168 Unidades de Coleta e Transfusão, 10 Unidades de Coleta, 1462 Agências Transfusionais, 14 Centrais de Triagem Laboratorial de Doadores e 18 “Não Classificados” (**ANVISA**).

Em nossa sociedade contemporânea podemos considerar que o sangue é seguro, apesar de as noções usuais de segurança como, por exemplo, análises de erros cometidos, avaliação de riscos e de eventos adversos, nem sempre serem aplicadas onde a transfusão está envolvida (**KLEIN, 2001**).

Erros têm ocorrido em transfusões de sangue desde que a técnica começou a ser usada e certamente continuarão a acontecer porque eles podem ocorrer em qualquer etapa do sistema e não é possível se prever todas as possibilidades de erros, mesmo em

países em que a transfusão com “risco zero” tornou-se quase uma religião (**HORTON, 2001**).

Vários erros não causam dano, mas eles não podem ser ignorados, porque são tão importantes quanto os que causam, pois indicam uma falha no sistema ou até mesmo decisões erradas. Uma vez reconhecido, sua(s) causa(s) deve(m) ser analisada(s) e as medidas preventivas devem ser aplicadas. O erro é sinal de um problema, é inerente ao ser humano e até mesmo os mais experimentados técnicos algumas vezes cometem os piores enganos (**HORTON, 1999; KAPLAN & BATTLES, 2001**).

Diferentes autores têm mostrado que os erros em transfusões de sangue ocorrem com relativa frequência. O risco estimado para ocorrência de reação hemolítica fatal devido a erro clerical nas classificações do grupo sanguíneo ABO, que ocorrem no laboratório ou durante a administração do sangue, está entre 1: 100.000 a 1: 600.000 transfusões de concentrados de hemácias (**LINDEN & KAPLAN, 1994**) ou 1: 2.000.000 (**LINDEN et al, 2000**). No mesmo nível, o risco de transfusão associada com transmissão de HIV ou HCV após introdução dos testes de ácido nucléico – NAT é de 1: 1.000.000 (**STANLEY, 2001**). Como se pode constatar, o risco de transmissão de doenças é comparável com o das reações hemolíticas.

Nos últimos anos, tivemos uma significativa redução do risco de transmissão de doenças através das transfusões de sangue e, podemos considerar que atualmente o risco de transmissão por essa via é baixo, apesar dos novos agentes infecciosos que atualmente passaram a ameaçar a segurança transfusional, as dificuldades técnicas e econômicas para a implantação de novos mecanismos de prevenção (**Portaria nº 1544**) e, a janela imunológica ainda ser uma preocupação constante.

No entanto, se levarmos em conta o controle das transmissões de infecções através das transfusões, proposto pelos diferentes países, inclusive o Brasil, em relação ao controle utilizado nos exames imunohematológicos, pode-se concluir que a percepção de risco em Imunohematologia ainda é pequena. Deveríamos encarar o diagnóstico em imunohematologia da mesma forma e com o mesmo rigor da sorologia, pois quando

incorretamente realizado pode aumentar os riscos devido aos efeitos imediatos e tardios das transfusões, muitas vezes, transfusões incorretamente indicadas e mal preparadas.

O efeito indesejável mais grave diretamente associado às transfusões é aquele que resulta em hemólise do sangue transfundido, devido a anticorpos pré-formados presentes no plasma do receptor. A transfusão de sangue incompatível que causa reação transfusional hemolítica imediata com destruição intravascular das hemácias transfundidas pode levar à morte (**PETZ, 1989; MYHRE, 2000; KICKLIGHTER & KLEIN, 2001**).

Devemos, portanto, analisar e prevenir erros, mas não podemos confundir erros com riscos. Devemos também, analisar em profundidade os riscos nos seus aspectos técnicos e biológicos, no treinamento adequado da equipe técnica e nos aspectos econômicos e sociais.

O conceito de risco surgiu na Idade Média e era considerado como evento da natureza (tempestades, enchentes, epidemias) e, naquela época, era excluída a idéia da responsabilidade humana. Atualmente o conceito envolve o conhecimento científico, o "estado da arte" e, de forma marcante, as responsabilidades humana e ética (**HOSSENLOPP, 2001**).

Segundo **PERSAUD (2001)**, uma teoria sobre risco que vem da psicologia, é que basicamente o que pensamos sobre risco depende das imagens que vêm à nossa mente sempre que uma idéia nos é apresentada. Por exemplo, a preocupação sobre a segurança da energia nuclear está associada com o que já escutamos ou vimos sobre "poder nuclear", isto é, bombas atômicas explodindo e, é esta associação que vai determinar a segurança que queremos. De forma semelhante, a transmissão do vírus HIV através das transfusões nos faz associar a idéia de uma doença fatal e, é esta imagem que determinou todas as medidas preventivas que foram tomadas. Com a Imunohematologia, a imagem que aparentemente muitos, incorretamente, ainda associam é a da simplicidade dos grupos sanguíneos e conseqüentemente, não pensam nos riscos, ao contrário do que fazem com as doenças infecciosas.

Além das análises de erros e riscos, outro item importante a ser valorizado para melhorar a segurança transfusional é o evento adverso. Para aumentar a segurança nos tratamentos de saúde, vários países têm implementado programas de estudos e análise de eventos classificados como “quase erro” e “evento adverso” (KAPLAN, 2005). “Quase erro” significa um evento não intencional e inseguro que quase aconteceu, um evento que terminou uma etapa antes de acontecer uma consequência séria. Eventos adversos são definidos como injúrias ou complicações involuntárias que podem resultar em morte, incapacidade ou prolongar a permanência no hospital. Países como Austrália, Reino Unido, Canadá, França e Estados Unidos implantaram uma sistemática de apuração e análise de eventos adversos ocorridos. A magnitude do problema em todo o mundo é refletida pela recente decisão da Organização Mundial de Saúde em lançar o programa denominado Aliança para Segurança do Paciente, com o objetivo de aumentar a segurança dos pacientes em todas as 192 nações que são membros: World Health Organization - The launch of the World Alliance for Patient Safety “Please do me no harm” (www.who.int/patientsafety/launcg/en/). Este tipo de análise existe e é obrigatória na indústria de aviões, tecnologia nuclear, indústria petroquímica, no transporte aéreo e contribui enormemente para prevenir mortes e danos sérios, contribuindo também, para melhorar a qualidade dos vôos (BARACH, 2000).

Nos Estados Unidos foi criado um projeto piloto denominado **Medical Event Reporting System for Tranfusion Medicine (MERS-TM)** onde informações relacionadas com produtos do sangue devem ser enviadas voluntariamente, via eletrônica, para permitir aos participantes comparar as experiências e, para identificar e quantificar problemas que ocorrem em medicina transfusional. Exceto para eventos fatais, que devem ser notificados imediatamente (via telefone, fax, carta expressa ou e-mail), os dados coletados são analisados e publicados periodicamente, para benefício dos serviços de transfusão e do público em geral (FDA - Food and Drug Administration – Department of Health and Human Services, Docket Nº 01N-0051. www.fda.gov). O MERS-TM está atualmente implantado em 22 hospitais, que voluntária e anonimamente, enviam seus relatórios. Os coordenadores do programa passaram agora a solicitar também relatórios de “quase erro”

(near-miss events). O “quase erro” ocorre, por exemplo, quando o paciente não recebe uma transfusão de sangue incorretamente preparada devido a uma etapa de revisão, planejada ou não, que bloqueia o processo (conferência final da identidade do paciente, ao lado do leito) **(KAPLAN, 2005)**.

Um problema em avaliar erros é que estamos acostumados à cultura da acusação e da censura, tornando difícil convencer às pessoas a reportar erros. Relatar erros com ameaças de ações disciplinares, aparentemente efetivas, não é o melhor procedimento. A cultura de acusação e culpa continua existindo **(HORTON, 2001)**.

Além do significativo desenvolvimento tecnológico nos diagnósticos, da necessidade de analisar erros, de avaliar riscos, eventos e quase erros, os Programas de Gerenciamento da Qualidade têm demonstrado ser essencial para estimular o progresso e a obtenção de melhores resultados em todas as atividades profissionais. Na área médica, estes programas têm se expandido a diversas especialidades. Nos últimos anos, o conhecimento mais profundo dos efeitos adversos das transfusões sanguíneas e legislações mais rigorosas em seus aspectos ético-profissionais, aumentou o interesse na Medicina Transfusional. O desenvolvimento da especialidade passou a exigir a implantação de rígidos programas de qualidade, a fim de garantir transfusões sanguíneas seguras.

No Reino Unido, no ano de 1979, foi instituído o programa denominado **UK NEQAS - United Kingdom National External Quality Assessment Service**. Em 2004, estavam registrados 470 laboratórios do Reino Unido e 155 laboratórios de diversos países. As atividades do programa estão sob a responsabilidade de um comitê executivo eleito, que se reúne 4 vezes ao ano para organização de um encontro científico anual, discutir os exercícios passados e futuros, os objetivos a serem alcançados no ano, a avaliação dos níveis de performance dos participantes e a análise de comentários e reclamações dos participantes. São realizadas quatro avaliações práticas por ano existindo também atividades teóricas representadas por questionários **(UK NEQAS - Blood Transfusion Laboratory Practice Scheme Annual Report - <http://www.uknegas.org.uk>)**.

Na França existe um programa multicêntrico de avaliação externa da qualidade exigida por lei, que estuda a sensibilidade do teste indireto de imunoglobulina com utilização de um anti-soro padrão nacional anti-RH1(D), produzido pelo Centro Nacional de Referencia de Grupos Sanguíneos (**MANNESSIER, 2005**).

Na Austrália o programa de participação voluntária envia, uma vez por ano, seis conjuntos de amostras com vários níveis de dificuldade para realização das classificações de grupo sanguíneo ABO e RhD, a pesquisa e identificação de anticorpos irregulares e a prova de compatibilidade. Os relatórios dos resultados contêm discussões sobre metodologia e aborda aspectos teóricos sobre os exercícios, caracterizando assim educação continuada (<http://www.aims.org.au/gap/index.htm>)

Na região da América Central, a Organização Pan-americana de Saúde desde 1999, mantém um programa de avaliação externa, com participação voluntária, para realização das classificações de grupo sanguíneo ABO e RhD e a pesquisa e identificação de anticorpos irregulares. (www.paho.org/english/gov/cd/CD46-16-e.pdf)

No Brasil, em 1992, antes da regulamentação do governo federal, foi iniciado com o apoio da **Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (SBHH)**, um **Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia**, a fim de avaliar a qualidade do diagnóstico e estimular a melhoria da Imunohematologia. Posteriormente, em Setembro de 1996, o Ministério da Saúde, através da **Portaria nº 1840** criou o **Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia** para todos os serviços de hemoterapia, públicos e privados. Este programa não incluiu a Imunohematologia, que somente veio a acontecer em Outubro de 1997, através da **Portaria nº 1544**, quando então o Programa passou a denominar-se **Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia e Imunohematologia**. Ainda com objetivo de aumentar a segurança transfusional, está em implantação no País um sistema de avaliação dos incidentes relacionados com o uso de hemocomponentes, baseado em uma rede sentinela, inicialmente composta por 100 hospitais, hoje acrescida dos hemocentros coordenadores e que deverá alcançar todos os serviços de hemoterapia (**ANVISA**).

Em Junho de 2004 a ANVISA publicou a **RDC 153**, referente ao **Regulamento Técnico dos Serviços de Hemoterapia**, determinando que todos os Serviços de Hemoterapia estabeleçam um programa de controle de qualidade interno e participem de, pelo menos um programa de controle de qualidade externo para assegurar que as normas e os procedimentos sejam apropriadamente executados.

As bases para a implantação e implementação do Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia foram: participação voluntária aberta a todas as instituições (públicas e privadas) que realizam testes imunohematológicos (laboratórios e bancos de sangue), caráter fundamentalmente educativo e não punitivo e, absoluto sigilo quanto aos resultados das instituições participantes.

Participantes do programa recebem, a cada quatro meses, dois frascos contendo soros para a realização da Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) e Identificação de Anticorpos Irregulares (IAI) e, dois frascos contendo suspensões de hemácias para a determinação do grupo sanguíneo ABO, para a fenotipagem dos antígenos do sistema Rh (D,D,c, E,e) e Kell (K), antígenos imunogênicos e clinicamente significantes e, para a realização do teste de Coombs Direto (CD).

Em 1996, como incentivo ao treinamento continuado e estímulo ao estudo da Imunohematologia, as atividades do programa foram ampliadas com a introdução de atividades teóricas representadas por Casos Clínicos e Questões.

Além disso, para incentivar a participação dos serviços instituiu-se a emissão de “Certificados de Qualidade de Excelência e de Elite” emitidos, pela Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, de acordo com critérios de acertos nas atividades práticas e teóricas durante um determinado período.

Apesar das dificuldades iniciais, este programa se tornou referência nacional e um número crescente de serviços, públicos e privados, têm participado das avaliações realizadas. Devido ao fato de que até o momento nenhuma análise criteriosa sobre os efeitos benéficos deste programa na prática transfusional foi realizada, propusemo-nos no presente trabalho a avaliar a performance dos diversos serviços participantes, tanto nos

aspectos laboratoriais quanto no conhecimento teórico da Imunohematologia. Além disto, procuramos identificar se ao longo dos anos a participação neste programa trouxe uma melhoria na qualidade dos serviços e da Imunohematologia do Brasil.

No presente trabalho analisamos os dados do “Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia” obtidos no período de 1992 a 2003. Foi observada uma grande melhoria na performance dos serviços na realização dos testes de Imunohematologia realizados no Brasil durante os 12 anos avaliados.

OBJETIVOS

Para avaliar a qualidade do diagnóstico em Imunohematologia no Brasil, nos propusemos a analisar os resultados das avaliações realizadas no período de 1992 a 2003 no “Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia” da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, com os seguintes objetivos:

- ♦ Demonstrar quais os erros que ocorrem na realização dos testes imunohematológicos e as respectivas freqüências;
- ♦ Analisar a metodologia utilizada pelos serviços e a participação das mesmas nos erros cometidos;
- ♦ Avaliar o conhecimento teórico das equipes sobre os conceitos em Imunohematologia;
- ♦ Avaliar a contribuição do Programa na qualidade da Medicina Transfusional.

CAPÍTULO

Twelve Years of the Brazilian External Quality Assessment Program in Immunohematology: Benefits of the Program

Laércio Melo,^{1*} Jordão Pellegrino, Jr.,¹ Celso Bianco,² and Lilian Castilho¹

¹Hemocentro da UNICAMP, São Paulo, Brazil

²America's Blood Center, Washington, DC

The Brazilian External Quality Assessment Program in Immunohematology (BEQAPI) was introduced with the objective of evaluating the quality of diagnosis in immunohematology. From 1992 to 2003, proficiency tests for ABO grouping, Rh (D, C, c, E, e), K phenotyping, direct antiglobulin testing (DAT), antibody screening (AS), and antibody identification (AI) were performed. A total of 41 evaluations were carried out in 223 institutions. Over the period of 12 years, the program included 8,014 ABO typing, 8,000 RhD typing, 5,193 Rh typing (C, c, E, e), 5,101 K phenotyping, 7,939 AS, 4,533 AI, and 7,912 DATs. Erroneous responses were classified as clerical, technical, or undetermined. A substantial proportion of erroneous responses

due to clerical errors occurred in ABO typing (76/76 errors), RhD typing (34/58 errors), and Rh phenotyping (50/73 errors). Technical errors occurred predominantly for weak D (91/95 errors), AS (252/301 errors), and AI (321/335 errors). Based on these results, since 1996, participants have received "Questions and Case Studies in Immunohematology" as an incentive for training and education. The results of the present study show an improvement in the performance of participants in the course of the program. We found that a well-organized external proficiency program can contribute to the improvement of quality of testing in Immunohematology. *J. Clin. Lab. Anal.* 19:209–218, 2005 © 2005 Wiley-Liss, Inc.

Key words: blood group serology; transfusion laboratory practice; proficiency tests; external evaluations; ABO grouping; Rh and K phenotyping; antibody screening and identification; technical and clerical errors

INTRODUCTION

Blood transfusion in Brazil is legislated by the Federal Constitution, by laws and decrees and by the Brazilian National System of Blood Components and Derivates—SINASAN—implemented by the Ministry of Health, and controlled through the National Agency of Sanitary Vigilance (ANVISA). The pillars are noncommercialization and voluntary donation, practiced by public services and complemented by private services. Related with the complexity of services there are 2,079 services distributed in different levels of complexity: Coordinator's Hemocenters (26), Regional Hemocenters (59), Nucleus of Hemotherapy (287), Collection and Transfusion Units (178), Collection Units (10), and Transfusion Agencies (1477) (1).

Brazil, like many other countries in the world, has seen a dramatic reduction in the transmission of infectious agents by blood transfusion. Both public and private sectors substantially invested in the con-

struction of new facilities and the introduction of new tests for infectious agents. Recently, the Ministry of Health of Brazil has mandated the introduction of NAT for HCV and HIV, and implementation is expected in the foreseeable future (2). However, less attention has been paid to the area of immunohematology. In October

Abbreviations: AI, antibody identification; AS, antibody screening; BEQAPI, Brazilian External Quality Assessment Program In Immunohematology; DAT, direct antiglobulin testing; GEL-LISS, gel low ionic strength solution antiglobulin test; GEL-PAP, gel papain; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; IAT, indirect antiglobulin testing; LISS, low ionic strength solution; LISS-AGT, LISS antiglobulin test; NAT, nucleic acid testing; PEG-AGT, polyethylene glycol antiglobulin test.

*Correspondence to: Laércio Melo, M.D., Rua dos Otoni, 296 sl/202, CEP 30.150-270 – Belo Horizonte, MG, Brazil.

E-mail: laercio@ldmelo.com.br

Received 7 February 2005; Accepted 20 May 2005

DOI 10.1002/jcla.20080

Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

1997, the decree of the Brazilian National Program of External Quality Control in Serology and Immunohematology was published (3), determining public and private blood transfusion services to participate in external assessments. Therefore, in spite of the decree, the Ministry of Health started the external evaluation in immunohematology for public Coordinators and some Regional Hemocenters only at year 2003, with obligatory tenet. The Brazilian Society of Hematology and Hemotherapy (SBHH), a Non-Governmental Organization, initiated an External Quality Assessment Program in Immunohematology in 1992, prior to the decree. The intent was to assess the quality of blood group serology and stimulate improvement of immunohematology practices in Brazil. Participants in the program receive, on a quarterly basis, two vials containing serum and two vials containing suspensions of red blood cells for the determination of ABO blood groups, phenotyping of immunogenic and clinically significant antigens, Rh (D, C, c, E, e) and K, antibody screening (AS), antibody identification (AI), and direct antiglobulin testing (DAT). In addition, since 1996, participants have received "Questions and Case Studies in Immunohematology" as an incentive for training and education. Individual responses are confidential and only aggregate data are reported. Participants receive certificates, from "Quality" in basic tests to "Elite" in all tests for successful completion of the program. This work collates the Brazilian data obtained from proficiency test results from 1992 to 2003. It further reviews trends and discusses the role that different techniques may have in terms of successful performance. Essentially, we have observed great improvement in the performance of blood group serology in Brazil over the course of 12 years.

MATERIALS AND METHODS

Brazilian External Quality Assessment Program in Immunohematology

The Brazilian External Quality Assessment Program in Immunohematology (BEQAPI) was initiated in June 1992. The basic tenets were voluntary participation,

confidentiality, and an impartial evaluation of laboratory procedures and test results. Participants were asked to treat the proficiency specimens as routine samples. There were 41 proficiency cycles between June 1992 and December 2003.

Samples

For each cycle, participants received ready-to-use kits, prepared by DiaMed AG (Switzerland), commercially available, containing two vials with 5 mL sera samples and two vials with 5 mL of 5% red blood cells suspended in modified low ionic strength solution (LISS). As informed by the manufacturer, sera containing red cell alloantibodies were diluted with ABO-compatible sera to achieve the desired antibody titer. The manufacturer assumed responsibility for all quality control including determination of stability and expiration dates. A coordinating laboratory confirmed the manufacturer's results.

Forms and Tests

Two report forms, one for each sample, were included with each shipment. Participating laboratories were asked to follow their standard operating procedures and to carry out only the tests that were part of their normal routine using the same staff, techniques, and reagents. The different methods used for each test by the participants are listed in Tables 1–7.

Practical Evaluations

Tests included ABO typing, Rh (D, C, c, E, e) and K phenotyping, AS, AI, and DAT. The proficiency testing samples never included A subgroups (A₂ or A₂B), although there is not a reason for that. We did not include antigens other than K because the majority of the laboratories do not have protocols for the extending phenotyping in their routine.

Theory Evaluations

Since 1996, 56 "Questionnaires and/or Case Studies in Immunohematology" were sent to all participants in

TABLE 1. ABO grouping methods by the participants

ABO grouping methods (%)	Year												
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	Average
Tube	61.5	65.6	68.7	61.7	67.1	61.6	59.8	60.6	61.3	61.6	60.0	60.2	62.5
Gel	20.2	16.3	17.3	20.9	20.9	25.3	28.5	30.1	31.3	32.4	33.1	33.9	25.9
Microplate	9.4	7.1	6.7	6.1	6.2	5.9	4.7	4.2	3.9	4.1	4.0	3.8	5.5
Slide	6.1	8.9	6.3	9.7	4.2	5.0	4.4	3.7	2.5	1.1	1.6	0.6	4.5
Tile	2.8	2.1	1.0	1.7	1.6	2.2	2.6	1.4	1.1	0.7	1.3	1.5	1.7

TABLE 2. RhD grouping methods by the participants

RhD grouping methods (%)	Year												Average
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
Tube	61.1	65.7	67.7	61.7	66.9	60.0	59.7	60.6	61.2	61.2	60.0	60.2	62.2
Gel	20.4	16.1	17.1	20.9	21.0	28.6	28.5	30.1	31.3	32.1	33.2	33.9	26.1
Microplate	6.2	8.9	7.6	9.7	4.1	4.5	4.4	3.7	2.5	1.1	1.6	3.8	4.8
Slide	9.5	7.1	6.7	6.1	6.2	4.8	4.7	4.2	3.9	4.1	4.0	0.6	5.2
Tile	2.8	2.1	1.0	1.7	1.8	2.2	2.6	1.4	1.1	1.4	1.3	1.5	1.8

TABLE 3. Rh phenotyping methods used by the participants

Rh phenotyping methods (%)	Year												Average
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
Tube	52.7	64.2	60.8	73.0	60.4	52.1	45.6	47.0	43.9	36.1	39.3	38.9	51.2
Gel	33.3	26.5	33.2	17.8	35.5	42.5	49.0	48.8	52.4	60.9	57.8	58.6	43.0
Microplate	9.3	9.3	6.0	6.5	4.0	3.0	1.8	2.7	2.7	2.1	2.3	2.0	4.3
Slide	1.6	0.0	0.0	1.6	0.2	2.5	3.6	1.6	1.0	0.9	0.6	0.5	1.2
Tile	3.1	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3

TABLE 4. K phenotyping methods used by the participants

K phenotyping methods (%)	Year												Average
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
Tube	54.8	64.2	60.6	63.3	59.8	51.1	45.0	45.2	43.5	34.8	38.6	38.4	49.9
Gel	33.9	26.5	31.5	30.4	35.6	42.7	49.7	50.5	52.8	62.1	58.5	58.2	44.4
Slide	1.6	0.0	0.0	1.1	0.6	3.1	3.4	1.6	1.0	0.9	0.6	1.9	1.3
Microplate	9.7	9.3	5.9	4.4	4.0	3.1	1.8	2.7	2.7	2.2	2.3	1.5	4.1
Tile	0.0	0.0	2.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2

TABLE 5. DAT methods used by the participants

DAT methods (%)	Year												Average
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
Tube	73.0	80.3	76.0	73.0	72.8	69.1	62.2	57.4	54.4	53.0	51.9	52.5	64.6
Gel	25.8	18.8	23.8	26.7	27.2	30.5	37.1	41.7	44.8	46.3	47.4	46.8	34.7
Microplate	1.2	0.9	0.3	0.4	0.0	0.4	0.7	0.9	0.8	0.7	0.8	0.7	0.6

order to encourage the continued training of working team. A few days after each theoretical evaluation, from the program coordinator, all participants receive the correct answers and comments on their incorrect answers.

Errors Definition

Erroneous responses were classified as clerical, technical, or undetermined errors. Clerical errors corre-

sponded to an incorrect recording of a result when the assay was properly performed, including mistakes of: 1) Transposition (mix-ups): participant recording correct result on the wrong report sheet (e.g., recording results of sample 1 on the wrong reporting form 2 and vice versa) and 2) Transcription errors in which the participant accomplished the test correctly, but recorded results incorrectly on the correct reporting sheet (e.g., the laboratory result was A RhD+ for

TABLE 6. Antibody screening methods used by the participants

Antibody Screening methods (%)	Year												Average
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
Gel	11.4	15.6	19.2	21.9	23.1	26.2	27.3	28.0	29.4	30.4	32.3	33.2	24.8
PEG	5.5	7.8	8.3	8.1	10.9	13.3	11.6	11.4	11.6	13.7	14.4	16.8	11.1
Gel Enz.	8.7	10.4	12.0	13.5	12.8	13.2	14.8	15.4	16.0	16.8	16.1	14.9	13.7
LISS	15.5	15.0	14.3	12.2	12.5	14.2	12.4	12.0	11.0	11.1	10.9	10.3	12.6
Albumin	44.3	40.1	35.1	33.7	33.6	27.0	20.7	17.6	16.5	12.4	11.2	9.1	25.1
Saline	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.9	6.6	6.9	7.3	7.5	8.0	3.6
Tube Enz.	11.9	8.5	7.7	5.4	4.9	3.1	4.1	6.4	6.5	6.4	5.3	4.8	6.3
MP	0.9	1.3	1.7	3.1	1.6	2.1	1.2	1.4	1.4	1.1	1.5	2.0	1.6
MP Enz.	1.8	1.3	1.7	2.1	0.6	0.9	1.0	1.2	0.7	0.8	0.8	0.9	1.2

sample 1, but on the reporting form 1 it was recorded as A RhD-).

Technical Errors

Participant accomplished the test but did not achieve the correct result (e.g., in the AS test, the serum sample had two antibodies, but only one was identified).

Undetermined Errors

Errors that could not be assigned to either category above were classified as due to "undetermined cause."

Statistical Analysis

A confidence interval (CI) of 95% was applied to assess whether differences in sensitivity were statistically significant. When the intervals were rejected, the sensitivities were statistically different. Since the interval of confidence has been calculated as $\alpha = 5\%$, when there was a difference, the P value was 0.05.

Certificates

In order to motivate participation and to recognize the institutions which have achieved the standards

determined, three kinds of certificates were issued according to strict criteria: 1) Certificate of Quality in basic tests: 100% of correct results in five consecutive Proficiency Tests for ABO, RhD, AS, and DAT; 2) Certificate of Excellence in all tests: the same criteria used to the Certificate of Quality plus 100% of correct results for Rh (C, c, E, e) and K phenotyping and 80% of correct results in AI, in five consecutive Proficiency Tests; 3) Certificate of Elite: the same criteria used to the Certificate of Excellence plus 80% of correct results in theoretical evaluations as "Questions and Case Studies in Immunohematology."

RESULTS

Program Participation

A total of 223 institutions from all regions of Brazil participated in the program during the period of this study (109 public and 114 private institutions), some enrolling and others dropping out at different times. The number increased steadily from 49 in 1992 to 158 in 2003, as shown in Fig. 1. The number of institutions that participated for different intervals in the survey is shown in Table 8. Average participation was 17.9 evaluations per participant. Over the period of 12 years, the

TABLE 7. Antibody identification methods used by the participants

Antibody Identification methods (%)	Year												Average
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
Gel	16.1	19.9	23.2	28.2	25.7	27.4	32.1	30.4	34.6	35.6	36.1	36.5	28.8
Gel Enz.	18.8	14.3	16.1	20.4	23.2	22.2	23.6	23.6	22.3	24.1	23.8	25.2	21.5
PEG	5.4	8.3	9.4	9.8	10.9	13.9	11.6	11.6	12.4	13.2	15.3	17.5	11.6
Albumin	32.1	31.6	32.9	27.8	28.7	23.2	17.9	16.2	14.2	10.2	9.7	6.9	21.0
Saline	0	0	0	0	0	0	4.6	5.4	5.1	5.8	6.0	6.4	2.8
LISS	10.7	11.6	7.8	6.7	7.1	8.8	7.6	7.3	7.6	6.5	6.7	4.9	7.8
Tube Enz.	12.9	11.3	8.7	4.9	3.9	4.1	2.6	5.1	3.4	4.5	2.1	2.2	5.5
MP	1.3	1.5	0.6	1.1	0.3	0.3	0	0.4	0.4	0.1	0.3	0.4	0.6
MP Enz.	2.7	1.5	1.3	1.1	0.2	0.1	0	0	0	0	0	0	0.6

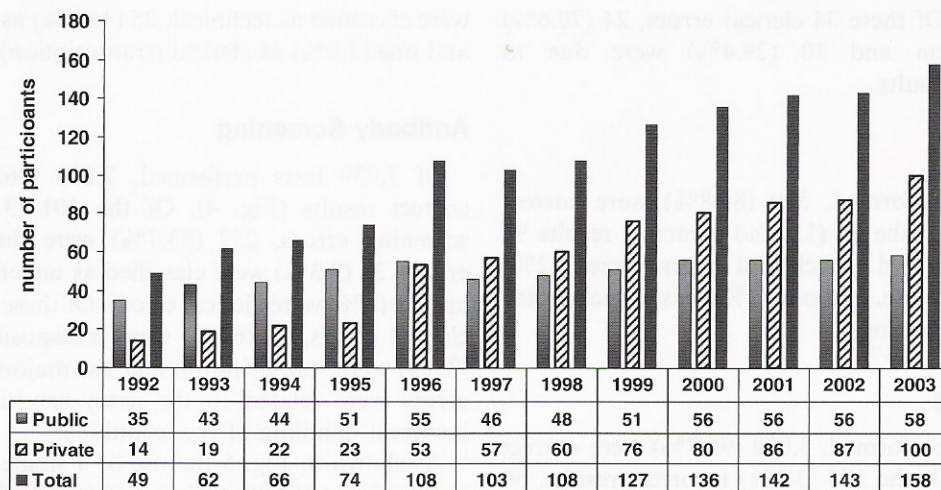


Fig. 1. Yearly number of participating institutions in the BEQAPI.

TABLE 8. Number of institutions that participated in different intervals of surveys

No. of surveys	1 to 5	6 to 10	11 to 15	16 to 20	21 to 25	26 to 30	31 to 35	36 to 40	≥41
No. of participants	50	30	33	22	13	27	16	27	1

program included 8,014 ABO typing tests (it should be noted that the kit supplier never sent subtypes of Group A, and consequently the participants were never asked to determine A subgroups A₂ or A₂B), 8,000 RhD typing tests, 5,193 Rh (C, c, E, e), 5,101 K phenotyping tests, 7,939 AS tests, 4,533 AI tests, and 7,912 DATs.

ABO Typing

Results are described in Fig. 2. Of 8,014 tests performed, 7,938 (99%) were correct results. There were 76 (0.9%) erroneous results for ABO typing; all of them were classified as clerical errors. Of these 76 clerical erroneous results 51 (67.1%) erroneous reports were

classified as transposition errors and 25 (32.9%) were classified as transcription errors. No technical errors were recorded.

A total of 37 institutions provided all the 76 errors found in ABO tests: 31 presented errors in only one evaluation (52 errors) and six participants were responsible for repeated errors.

RhD Typing

Of 7,376 tests performed, 7,318 (99.2%) were correct results (Fig. 2). Of the 58 (0.8%) RhD typing errors, 34 (58.6%) were classified as clerical errors, 17 (29.3%) were of undetermined cause, and 7 (12.1%) were due to

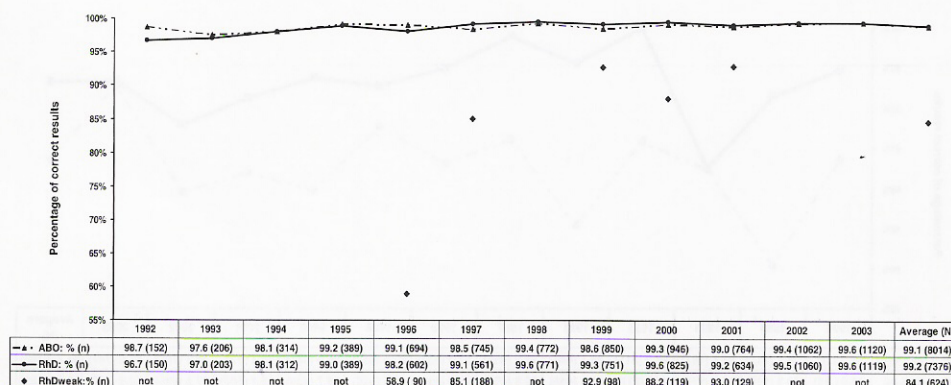


Fig. 2. Yearly percentage of correct results for ABO, RhD, and weak D typing tests.

technical errors. Of these 34 clerical errors, 24 (70.6%) were transposition and 10 (29.4%) were due to transcription of results.

Weak D Typing

Of 624 tests performed, 529 (84.8%) were correct results (Fig. 2). Of the 95 (15.2%) incorrect results 91 (95.8%) were classified as technical errors, three (3.2%) as undetermined cause, and one (1%) was autoclassified as clerical (transposition).

Rh Phenotyping

Of 5,193 tests performed, 5,020 (96.7%) were correct results (Fig. 3). Of the 173 (3.3%) incorrect results, 50 (28.9%) Rh phenotyping errors resulted from clerical errors, 114 (65.9%) were classified as undetermined cause and nine (5.2%) were autoclassified as technical errors. Of these 50 classified as clerical errors 37 (74%) were transcription and 13 (26%) were transposition.

In order for results to be considered as correct, participants were obliged to identify correctly each of the four Rh antigens: C, c, E and e. Partial results (for example three antigens phenotyped) were not considered.

K Phenotyping

Of 5,101 tests performed, 5,032 (98.6%) provided correct results (Fig. 3). Of the 69 (1.4%) K phenotyping errors, five (7.3%) were classified as clerical, 62 (89.8%) as undetermined cause, and two (2.9%) were autoclassified as technical errors. Of the five classified as clerical errors, two (40%) were transposition and three (60%) were transcription.

Direct Antiglobulin Test (DAT)

Of 7,912 tests performed, 7,858 (99.3%) were correct results (Fig. 4). Of the 54 DAT errors (0.7%), 28 (51.9%)

were classified as technical, 25 (46.3%) as undetermined, and one (1.9%) as clerical (transcription).

Antibody Screening

Of 7,939 tests performed, 7,638 (96.2%) provided correct results (Fig. 4). Of the 301 (3.8%) antibody screening errors, 252 (83.7%) were due to technical errors, 28 (9.3%) were classified as undetermined cause, and 21 (7%) were clerical errors. Of these 21 classified as clerical errors, 14 (67%) were transposition and seven (33%) were transcription; and the majority of technical errors were related to the assay sensitivity or to the incorrect handling of the technique.

As shown in Fig. 5 the use of a single technique was predominant (54.9%) when compared with the use of a combination of techniques. We observed a decrease in the percentage of errors in the AS and also a trend toward abandoning the use of the albumin test in favor of the gel test, PEG-AGT, and LISS-AGT. We also observed an improvement in the LISS-AGT tube technique during the 12-year period (Figs. 6 and 7).

Antibody Identification

Of 4,533 tests performed, 4,198 (92.6%) provided correct results. Of the 335 (7.4%) AI errors, 321 (95.8%) were due to technical reasons and 14 (4.2%) were classified as clerical; 12 (85.7%) were transposition and two (14.3%), were transcription.

As shown in Figure 7, the use of a single technique (43.5%) and double technique (39.9%) were predominant.

Figure 8 suggests that the enzyme-gel (GEL-PAP) was more sensitive for identifying the majority of antibodies and that single Rh antibodies or other single antibodies (non-Rh) are more readily identified than the simultaneous presence of Rh with other antibodies, regardless of the technique used. These differences were

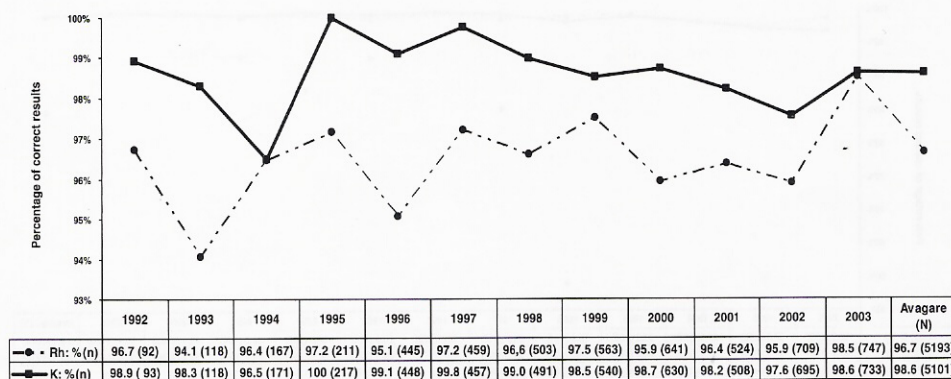


Fig. 3. Yearly percentage of correct results for Rh (C, c, E, e) and K phenotyping tests.

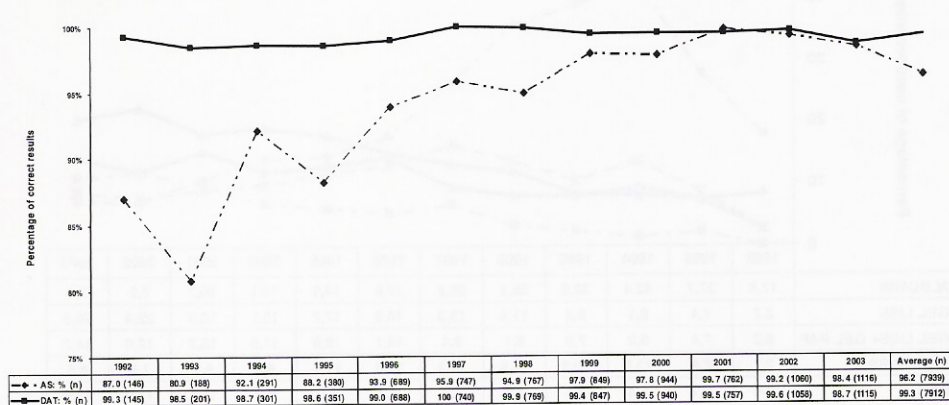


Fig. 4. Yearly percentage of correct results for AS and DAT among BEQAPI participants.

statistically significant ($P > 0.05$ for enzyme tube; $P = 0.05$ for LISS-AGT tube and $P = 0.01$ for the other techniques). However, there was no significant difference between the rate of identification of single Rh antibodies and that for other single antibodies ($P > 0.05$).

Albumin was the worst technique used for the identification of single Rh antibodies ($P = 0.05$ for enzyme tube and $P = 0.01$ for other techniques). It was also the worst technique for the identification of Rh antibodies in combination with other antibodies ($P = 0.05$ for enzyme tube and PEG-AGT and $P = 0.01$ for the other techniques). When used for the identification of other single antibodies, albumin was comparable with enzyme and LISS-AGT tube techniques ($P > 0.05$) but worse than the other techniques ($P = 0.01$). Mixtures of two antibodies were more difficult to identify than single antibodies ($P = 0.01$), and the data suggest that a mixture of two antibodies was more difficult to identify than a mixture of three

antibodies in the sample ($P = 0.01$). There was no statistical significance between the rate of identification of single antibodies when compared with a mixture of three antibodies ($P > 0.05$).

Theoretical Evaluations as Questions and Case Studies in Immunohematology

The average number of participants that answered the Questions and Case Studies in Immunohematology was 68.0% from 1996 to 2003. Among the participants who answered the Questions and Cases, 46.7% sent correct answers for at least 80% of the questionnaires.

DISCUSSION

External quality assessment programs provide the means for laboratories to compare their proficiency with those of their peers, to monitor trends in overall performance, and the opportunity to examine the

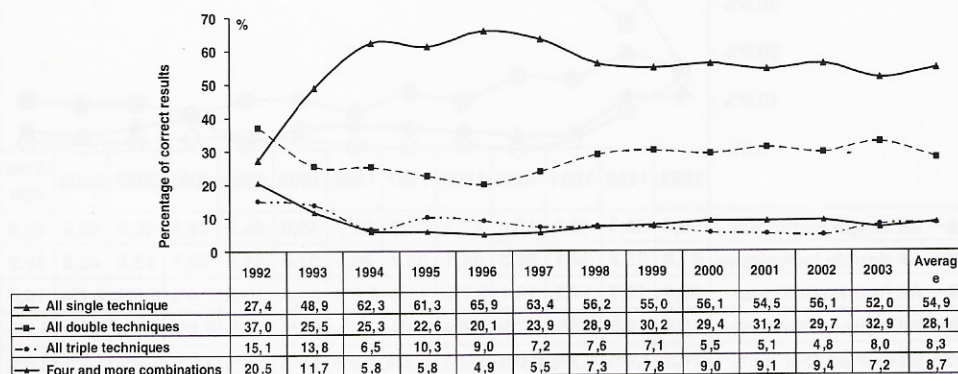


Fig. 5. Yearly distribution of single and combinations of techniques used in antibody screening.

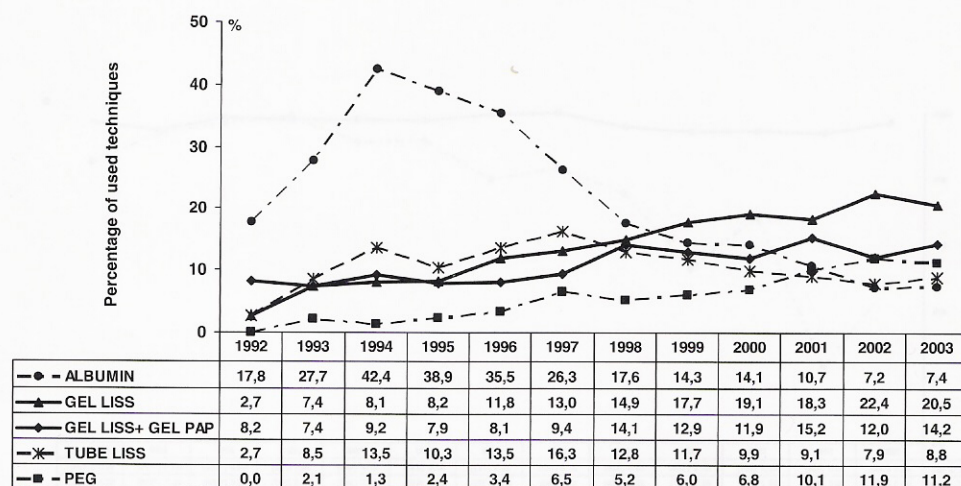


Fig. 6. Yearly distribution of more used techniques in antibody screening.

relationship between different techniques and successful outcomes, aiding laboratories to set acceptable standards. The results of the present study show a steady improvement in the performance of participants over the course of 12 years of the BEQAPI, sponsored by the Brazilian Society of Hematology and Hemotherapy. We attribute part of these improvements to the stimulus provided by the program. Some of the improvements are probably due to the introduction of new and more rigorous Brazilian guidelines and new assays such as the gel test (4).

A substantial proportion of erroneous responses occurred due to clerical errors in ABO typing (76/76 errors), RhD typing (34/58 errors), and in Rh phenotyping (50/73 errors), and were observed during the entire 12-year period. These repeatedly observed errors provide evidence of the nonobservance of rules and that the

participants did not analyze their own results and did not read remarks written by the coordinators of the program. Clerical errors constitute the major cause of fatalities in blood transfusion (5,6). In the United States, such errors account for between 1;100,000–600,000 (5,7) and 1:2,000,000 fatal hemolytic transfusion reactions. Currently, these rates exceed the rates of transmission of all viral infections by transfusion (8).

Technical errors occurred predominantly for weak D (91/95 errors), antibody screening (252/301 errors), and antibody identification (321/335 errors). The sensitivity of detecting weak D depends on the anti-D reagent and on the exact conditions of the methods. As the national guidelines require detection of weak D in all donors that are apparently RhD⁻, this emphasizes the necessity to control the quality of reagents and differences in sensitivity of techniques in use, to observe standard

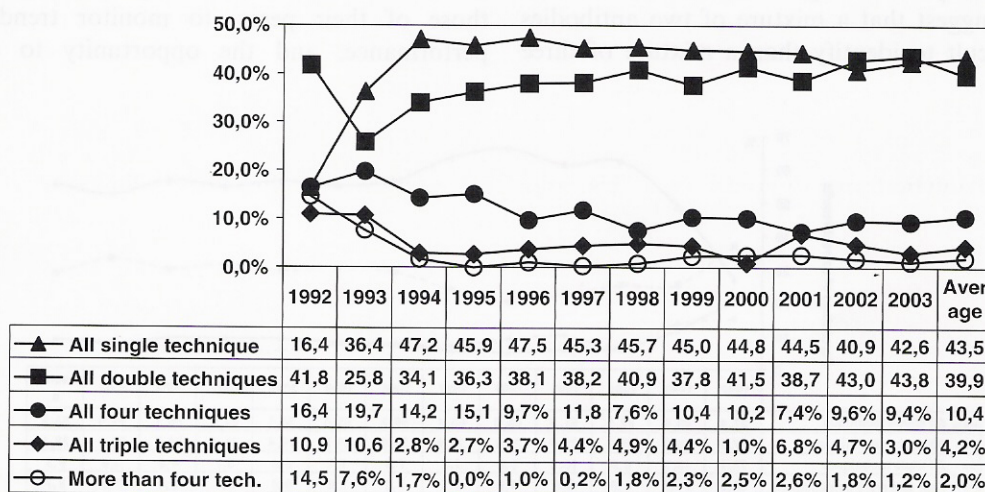


Fig. 7. Yearly distribution of single and combinations of techniques used in antibody identification among participants of BEQAPI.

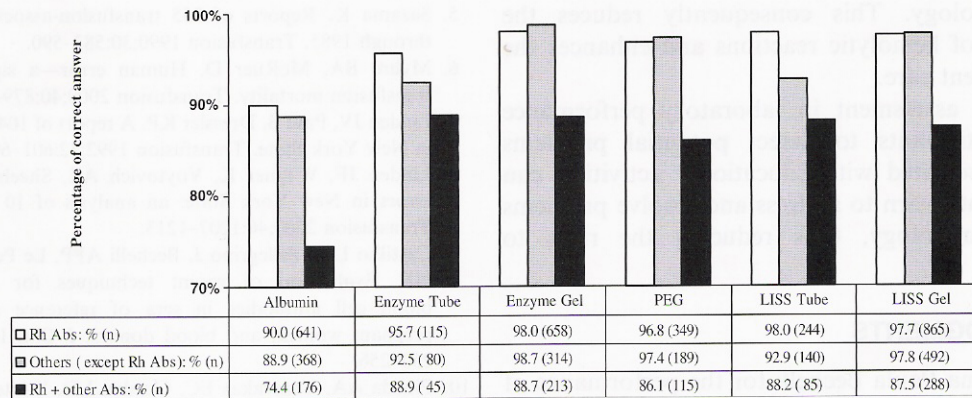


Fig. 8. Percentage of correct results for antibody identification by technique among participants of BEQAPI.

procedures and the variability in proficiency. In Brazil, the AGT is still required for RhD typing of RhD⁻ donors, in order to preserve RhD⁻ resources. Weak D phenotypes have to be recognized, especially in blood donors because their red blood cells may immunize a RhD⁻ patient. A typing method with a high sensitivity, such as the AGT in combination with blend or polyclonal anti-D, is being recommended as part of the benefits of the program.

The deficiency in detecting irregular antibodies was related to the sensitivity of the technique used. The use of a single technique and less sensitive technique, such as albumin, contributed to the high percentage of error rate found in the AS test. Improvements were observed when there was an increased use of new techniques such as GEL-LISS, GEL-PAP, and PEG-AGT and a decrease in the use of LISS-AGT tube and albumin tube tests. In Brazil, the frequency of clinically significant red cell alloantibodies, capable of binding to red cells *in vivo* with the possibility of causing accelerated destruction of red cells are 4.97% in patients; 2.43% in pregnant women and 0.13% in blood donors (9). Considering these data and the mistakes in AS that occurred in this report, it is possible that 1/6,670 patients with antibodies could experience an avoidable hemolytic transfusion reaction. This ratio is remarkably similar to the 1/6,715 reported between 1993 through 1998 at the Mayo Clinic in Rochester, MN (10).

It is important to emphasize that no single technique will detect all clinically significant antibodies (9,11,12). Interestingly, regardless of technique, survey participants had difficulties in identifying combined Rh antibodies, for instance anti-c with anti-E, because anti-c often masks the presence of anti-E. Anti-c with anti-K also proved problematic, with anti-c masking antibodies anti-K. Although a patient with anti-c will

receive a R₁R₁ blood unit and the clinical significance of detecting the anti-E could be questioned, we observed that participants had problems identifying an antibody directed against a low frequency antigen in the presence of antibodies against higher frequency antigens. As a benefit of the program, we alerted by phone call or letter the participants that made mistakes in the practical test. Moreover through the theoretical evaluations the program can be benefic commenting errors, stimulating corrective actions and also training the participants to better identify antibody associations, sending case studies with mixtures of such antibodies.

The data obtained in the current study may not be representative of routine clinical practice for several reasons. First of all, the proficiency specimens for antibody identification were dilutions of sera containing high titers of antibodies, which are different from nondiluted specimens with low antibody titers. Secondly, while laboratories are instructed to handle exercise materials in the same manner as routine clinical samples, this may not occur because the samples and forms are different from those in routine use (13). On several occasions, we had difficulty determining whether the errors were due to technical reasons or to errors involving transposition or inaccurate transcription of results. Despite these limitations, this study provides an approach for monitoring trends and identification of participants that use less than optimal procedures (14).

Pretransfusion test protocols have evolved to prevent hemolytic transfusion reactions and new techniques can help to guarantee the safety of transfusion in the large majority of patients. However, despite technologist training, Immunohematology tests are often conducted in a repetitive but intermittent fashion. We found that a well-organized external proficiency program can contribute to the improvement of quality of testing in

immunohematology. This consequently reduces the potential risk of hemolytic reactions and enhances the quality of patient care.

An external assessment in laboratory performance can help participants to detect potential problems and, when associated with educational activities, can help participants learn to address and resolve problems in immunohematology, thus reducing the risks to patients.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Ana Paula Bechelli for the performance of statistical analyses, and Nicola Conran for her critical review of the manuscript.

REFERENCES

1. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 151, de 21 de agosto de 2001; D.O.U. 22/08/2001
2. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n° 1407, de 01 de agosto de 2002; D.O.U. 02/08/2002.
3. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n° 1544, de 15 de outubro de 1997; D.O.U. 16/10/1997
4. Lapiere Y, Rigal D, Adam J, et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion* 1990; 30:109-113.
5. Sazama K. Reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. *Transfusion* 1990;30:583-590.
6. Myhre BA, McRuer D. Human error—a significant cause of transfusion mortality. *Transfusion* 2000;40:879-885.
7. Linden JV, Paul B, Dressler KP. A report of 104 transfusion errors in New York State. *Transfusion* 1992;32:601-606.
8. Linden JF, Wagner K, Voytovich AE, Sheehan J. Transfusion errors in New York State: an analysis of 10 years' experience. *Transfusion* 2000;40:1207-1213.
9. Castilho LM, Pellegrino J, Bechelli APP, Le Pennec PY, Mendes NF. Evaluation of recent techniques for detection of red blood cell antibodies in sera of reference samples, patients, pregnant women, and blood donors. *J Clin Lab Anal* 1996;10: 250-256.
10. Pineda AA, Vamvakas EC, Gorden LD, Winters JL, Moore SB. Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion* 1999;39:1097-1103.
11. Engelfriet CP, Reesink HW. What is the best technique for the detection of red cell alloantibodies? *Vox Sanguinis* 1995; 69:292-300.
12. Knight RC, Silva M. New technologies for red-cell serology. *Blood Rev* 1996;10:101-110.
13. Scott ML. Error free ABO and RhD typing. *BBTS Special Report*, No. 8, Spring 1998:7.
14. Knowles SM, Milkins CE, Chapman JF, Scott M. The United Kingdom National External Quality Assessment Scheme (Blood Transfusion Laboratory Practice): trends in proficiency and practice between 1985 and 2000. *Transfusion Med* 2002;12: 11-23.

CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos propostos e considerando os resultados desta avaliação pudemos concluir que:

- ◆ Os resultados do presente trabalho demonstram que houve uma melhoria na performance dos participantes ao longo dos 12 anos de participação no programa;
- ◆ Ocorreu um número elevado de erros cléricais na determinação do grupo sanguíneo ABO (76/76 erros), classificação RhD (34/58 erros) e na fenotipagem Rh (50/73 erros);
- ◆ Erros técnicos ocorreram predominantemente na determinação do antígeno RhD fraco (91/95 erros), na pesquisa de anticorpos irregulares (252/301 erros) e na identificação de anticorpos (321/335 erros);
- ◆ Os erros técnicos ocorreram predominantemente em função da sensibilidade das técnicas e dos reagentes utilizados;
- ◆ Foi identificado que os participantes apresentam uma grande dificuldade na identificação de múltiplos anticorpos;
- ◆ A detecção dos erros utilizando amostras especiais foi importante para propor melhoria técnica com reavaliação dos protocolos, bem como, ações corretivas visando à melhoria da qualidade;
- ◆ As avaliações teóricas como incentivo à educação continuada, auxiliam na diminuição dos erros, estimulam o treinamento dos participantes e o trabalho em equipe;
- ◆ A participação em um programa de controle de qualidade externo bem organizado mostrou ser fundamental na melhoria da qualidade dos testes em imunohematologia, reduzindo a frequência dos erros e no potencial risco de reações hemolíticas, garantido uma melhoria na qualidade transfusional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Portaria Interministerial MS/MPAS nº 7 de 30 de abril de 1980. Aprova as diretrizes básicas do Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados – PRO-SANGUE - D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo de de abril de 1980.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1840 de 13 de setembro de 1996. Cria o Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia para Unidades Hemoterápicas – PNCQES – D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo de 16 de Setembro de 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1544, de 15 de outubro de 1997. Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia e Imunohematologia. D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo de 16 de Outubro de 1997.
- BRASIL. Lei nº 10.205, de 21 de março de 2001. Regulamenta o § 4º do art. 199 da Constituição Federal, relativo à coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue, seus componentes e derivados e estabelece o ordenamento institucional indispensável à execução adequada dessas atividades. D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo de 22 de março de 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 151, de 21 de agosto de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Níveis de Complexidade dos Serviços de Hemoterapia. D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo de 22 de Agosto de 2001.
- BRASIL. Decreto nº 3.990, de 30 de outubro de 2001. Regulamenta o art. 26 da Lei nº 10.205, de 21 de Março de 2001, que dispõe sobre a coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue, seus componentes e derivados e estabelece o ordenamento institucional indispensável à execução adequada dessas atividades. D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo de 31 de Outubro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Resolução RDC nº 153, de 14 de Junho de 2004. Regulamento Técnico dos Serviços de Hemoterapia. D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo de 24 de Junho de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1407 de 1 de Agosto de 2002. Determina a inclusão, no âmbito da Hemorrede Nacional, nos Serviços de Hemoterapia públicos, filantrópicos, privados contratados pelo SUS, e exclusivamente privados, a realização dos Testes para Detecção de Ácidos Nucléicos NAT, para HIV e HCV, nas amostras de sangue de doadores. D.O.U. 2/08/2002.

BARACH P, SMALL SD. Reporting and preventing medical mishaps: lessons from non-medical near miss reporting systems. *British Medical Journal*, 2000; 320: 759-763.

COOMBS RRA, MOURANT AE, RACE RR. Detection of weak and “incomplete” Rh agglutinins: a new test. *Lancet*, 1945; 2: 15-16.

CASTILHO LM, PELLEGRINO J, BECHELLI APP, LE PENNEC PY an MENDES NF. Evaluation of Recent Techniques for Detection of Red Blood Cell Antibodies in Sera of Reference Samples, Patients, Pregnant Women, and Blood Donors. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 1996; 10:250-256.

DANIELS G. ABO, Hh and Lewis systems. *Human Blood Groups*: 2002, 2nd edition, Blackwell Science;

DANIELS G et al. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. *Vox Sanguinis* 2004, 87, 304-316.

ENGELFRIET CP, REESINK HW. What is the Best Technique for the Detection of Red Cell Alloantibodies? *Vox Sanguinis*, 1995; 69:292-300.

FDA - Food and Drug Administration – Department of Health and Human Services. Docket N° 01N-0051. www.fda.gov

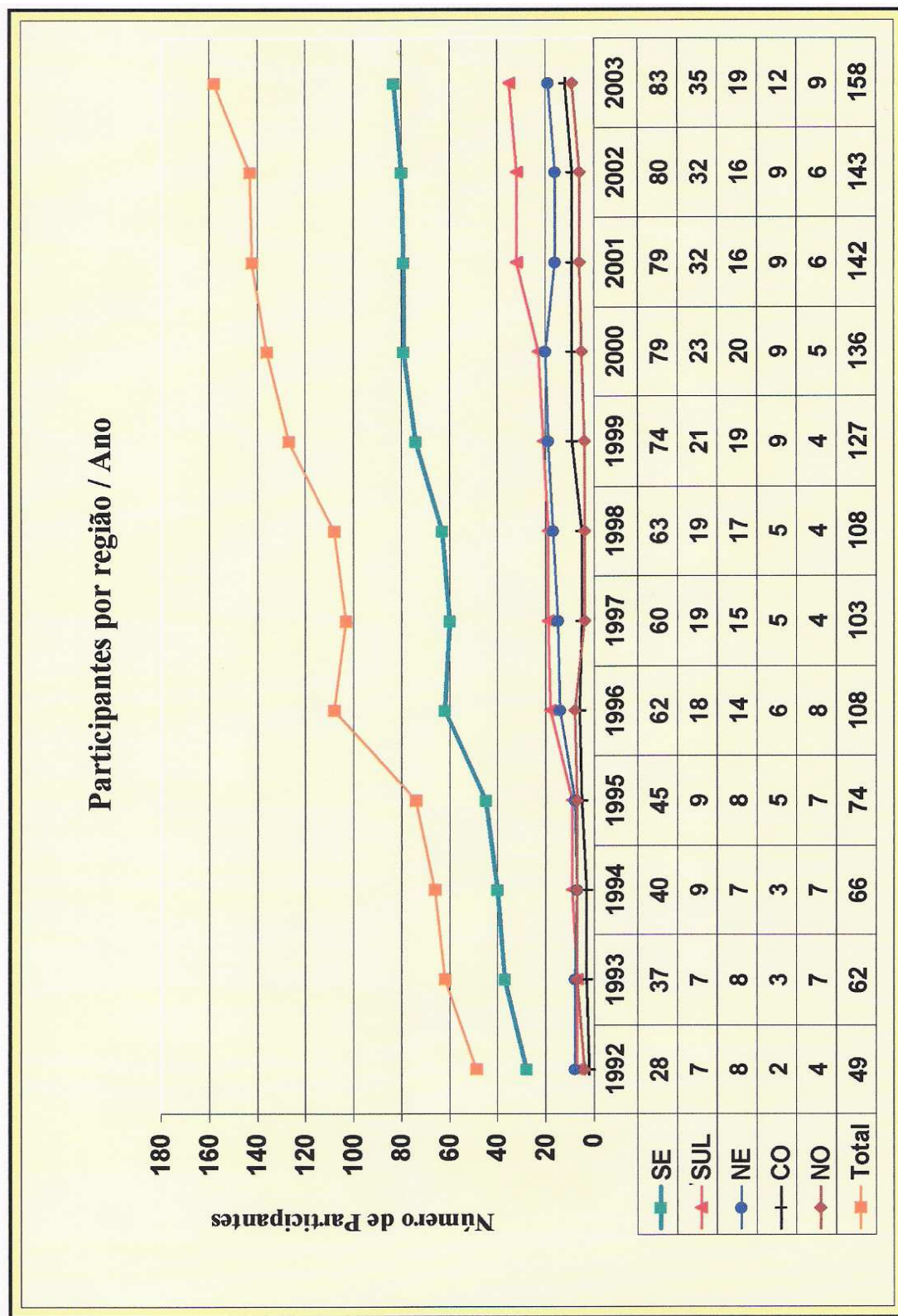
- HEAL JM, BLUMBERG N. The second century of ABO: and now for something completely different. *Transfusion*, 1999; 39:1155-1159.
- HORTON R. The uses of error. *Lancet* , 1999; 422-423.
- HORTON R. We all make mistakes: tell us yours. *Lancet* , 2001; 357- 88.
- HOSSENLOPP C. The risk debate in blood transfusion: how perceptions, beliefs and behaviours can be shaped by an efficient communication. *Transfusion Medicine*, 2001; 11:124-128.
- HUGHES-JONES NC, GARDNER B. Red cell agglutination. The First description by Creite (1869) and further observations made by Landois (1875) and Landsteiner (1901). *Br J Haematol*, 2002; 119: 889-893.
- KAPLAN HS, BATTLES JB. Managing Error for System Improvement. In: Linden JV, Bianco C. *Blood Safety and Surveillance*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2001, p. 87-108.
- KAPLAN HS. Getting the right blood to the right patient: the contribution of near-miss event reporting and barrier analysis. *Transfusion clinique et biologique*, 2005; 12-5: 380-384.
- KICKLIGHTER EJ, KLEIN HG. Hemolytic Transfusion Reactions – Historical Perspectives. In: Linden JV, Bianco C. *Blood Safety and Surveillance*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2001, p. 47-48.
- KICKLIGHTER EJ, KLEIN HG. Hemolytic Transfusion Reactions – The acute Hemolytic transfusion reaction. In: Linden JV, Bianco C. *Blood Safety and Surveillance*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2001, p. 54-55.
- KLEIN HG. Will blood transfusion ever be safe enough? *Transfusion Medicine*, 2001; 11:122-124.
- KLEIN HG, ANSTEE DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. 11th ed., Oxford: Blackwell Scientific Publications, 2005 .

- KNIGHT RC, SILVA M. New technologies for red-cell serology. *Blood Reviews*, 1996; 10: 101-110.
- KNOWLES SM, MILKINS CE, CHAPMAN JF and SCOTT M. The United Kingdom National External Quality Assessment Scheme (Blood Transfusion Laboratory Practice): trends in proficiency and practice between 1985 and 2000. *Transfusion Medicine*, 2002; 12: 11-23.
- KOHLER G, MILSTEIN C. Monoclonal Antibodies. *Nature* , 1975; 256:495.
- LAPIERRE Y, RIGAL D, ADAM J, JOSEF D, MEYER F, GREBER S, DROT C. The gel test: A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion*, 1990; 30: 109-113.
- LINDEN JV, KAPLAN HS. Transfusion errors: causes and effects. *Transfusion Med Rev*, 1994; 8(3): 169-183.
- LINDEN JV, PAUL B, DRESSLE R KP. A report of 104 transfusion errors in New York State. *Transfusion*, 1992; 32, 7: 601-606.
- LINDEN JV, WAGNER K, VOYTOVICH AE and SHEEHAN J. Transfusion errors in New York State: an analysis of 10 years' experience. *Transfusion*, 2000; 40:1207-1213.
- MANNESIER L, Le PENNEC PY. Evaluation externe de la qualité : étude de la sensibilité du procédé de filtration en test indirect à l'antiglobuline. *Transfus Clin Biol*. 2005;12:399-400.
- MOLLISON, PL, ENGELFRIET, CP, CONTRERAS M. Blood Transfusion in Clinical Medicine. 8th ed., Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987 (reprinted 1988).
- MYHRE BA, McRUER D. Human error - a significant cause of transfusion mortality. *Transfusion*, 2000; 40: 879-885.

- OBERMAN HA. The history of blood transfusion. In PETZ, LD; SWISHER SN, KLEINMAN S, ET AL. eds. *Clinical practice of blood transfusion*. New York: Churchill Livingstone, 1981: p 9-28.
- OBERMAN HA. The crossmatch: A brief historical perspective. *Transfusion*, 1981; 21: 645-651.
- PETZ LD, GARRATTY G. The First Records of Hemolytic Transfusion Reactions. In *Immune Hemolytic Anemias*. 2nd Edition Philadelphia: Churchill Livingstone, 2004: p 26-27.
- PERSAUD R. Panel discussion: Millennium Festival of Medicine – Transfusion 2020. *Transfusion Medicine*, 2001; 11-2:136-137
- PINEDA AA, VAMVAKAS EC, GORDEN LD, WINTERS JL, MOORE SB. Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion*, 1999; 39:1097-1103.
- REID ME, RIOS M, POWELL VI, CHARLES-PIERRE D, MALAVAD V. DNA from blood samples can be used to genotype patients who have recently received a transfusion. *Transfusion*, 2000; 40: 48-53.
- SAZAMA K. Reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. *Transfusion*, 1990; 30:583:590.
- SCOTT ML (1998), Error Free ABO and RhD Typing. BBTS Special Report, No. 8, Spring 1998:7.
- STANLEY CR. Preventable Tragedies. Editorial published in AABB News / July/August 2001.
- UNITED KINGDOM NATIONAL EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT SERVICE - UK NEQAS - Blood Transfusion Laboratory Practice Scheme Annual Report - <http://www.uknegas.org.uk>.
- WATKINS WM. The ABO blood group system: historical background. *Transfusion Medicine*, 2001, 11, 243-265.

APÊNDICE

Apêndice 01: Número de Participantes por região geográfica e ano de participação



Apêndice 01: Ficha de Respostas das Avaliações Práticas

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA											
Avaliação : 42ª Avaliação - Setembro de 2003 - Amostra 1											
Participante :						Entregar até : 28/10/2003					
ABO		Método(s) Utilizado(s)				RhD		Método(s) Utilizado(s)			
☐ A ☐ B ☐ AB ☐ O		☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____				☐ Positivo ☐ Negativo		☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____			
Fenótipos Rh				Método(s) Utilizado(s)				Fenótipo K		Método(s) Utilizado(s)	
☐ C ☐ c ☐ E ☐ e ☐ + ☐ + ☐ + ☐ + ☐ - ☐ - ☐ - ☐ -				☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____				☐ K ☐ + ☐ -		☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____	
Pesquisa de Anticorpos Irregulares (P.A.I.)											
☐ Positiva ☐ Negativa											
Método(s) Utilizado(s)											
Coombs ☐ Albuminoso - Tubo ☐ Salino - Tubo ☐ BFI - Tubos ☐ PEG (Polietilenoglicol) ☐ BFI - Gel Teste ☐ BFI - Microplacas						Enzimático ☐ Tubo ☐ Gel Teste ☐ Microplacas ☐ Outros _____					
Identificação de Anticorpos Irregulares (I.A.I.)											
Rh		Kell		Duffy		Kidd		Lewis		P	
☐ D ☐ C ☐ c ☐ C ^w ☐ E ☐ e		☐ K ☐ k ☐ Kp ^a ☐ Kp ^b ☐ Js ^a ☐ Js ^b		☐ Fy ^a ☐ Fy ^b		☐ Jk ^a ☐ Jk ^b		☐ Le ^a ☐ Le ^b		☐ P1 	
Lutheran		MNS									
☐ Lu ^a ☐ Lu ^b		☐ M ☐ N ☐ S ☐ s									
Método(s) Utilizado(s)											
Coombs ☐ Albuminoso - Tubo ☐ Salino - Tubo ☐ LISS-Tubo ☐ PEG ☐ LISS - Gel ☐ LISS - Mcp						Enzimático ☐ Tubo-Enz. ☐ Gel - Enz. ☐ Mcp - Enz. ☐ Outros _____					
Coombs Direto				Método(s) Utilizado(s)							
☐ Positivo ☐ Negativo				☐ Tubo ☐ Gel Teste ☐ Microplacas ☐ Outros _____							
Observações: INSTRUÇÕES PRA PREENCHIMENTO DAS RESPOSTAS QUE FOREM ENVIADAS VIA CORREIO: - Preencha ou marque com X os espaços correspondentes às suas respostas; não esqueça de marcar o(s) método(s) utilizado(s) em cada teste realizado; este um dado importante para nossos estudos estatísticos; se realizar os fenótipos Rh e K não deixe em branco os espaços correspondentes aos resultados dos fenótipos que forem considerados negativos, marque o resultado completo; resultados parciais serão considerados como incorretos. Confira cuidadosamente os lançamentos dos resultados para evitar erros de transcrição, esta é uma das principais causas de erros nas avaliações.											
42ª Avaliação: Kit Lote nº 45530612 - Vencimento do Kit = 27/10/2003.											
Data limite para envio dos resultados da 42ª Avaliação - Setembro de 2003: - Respostas enviadas através da Internet: 03/11/2003 - Respostas enviadas através do correio: 28/10/2003 (5 dias antes)											
Comentários/Sugestões:											

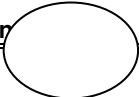
Apêndice 01: Ficha de Respostas das Avaliações Práticas

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA							
Avaliação : 42ª Avaliação - Setembro de 2003 - Amostra 2							
Participante :				Entregar até : 28/10/2003			
ABO		Método(s) Utilizado(s)		RhD		Método(s) Utilizado(s)	
☐ A ☐ B ☐ AB ☐ O		☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____		☐ Positivo ☐ Negativo		☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____	
Fenótipos Rh		Método(s) Utilizado(s)		Fenótipo K		Método(s) Utilizado(s)	
☐ C ☐ c ☐ E ☐ e ☐ + ☐ - ☐ + ☐ -		☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____		☐ K ☐ + ☐ -		☐ Tubos ☐ Lâminas ☐ Placas ☐ Microplacas ☐ Gel Teste ☐ Outros _____	
Pesquisa de Anticorpos Irregulares (P.A.I.)							
☐ Positiva ☐ Negativa							
Método(s) Utilizado(s)							
Coombs				Enzimático			
☐ Albuminoso - Tubo ☐ Salino - Tubo ☐ BFI - Tubos ☐ PEG (Polietilenoglicol) ☐ BFI - Gel Teste ☐ BFI - Microplacas				☐ Tubo ☐ Gel Teste ☐ Microplacas ☐ Outros _____			
Identificação de Anticorpos Irregulares (I.A.I.)							
Rh		Kell		Duffy		Kidd	
☐ D ☐ C ☐ c ☐ C ^w ☐ E ☐ e		☐ K ☐ k ☐ Kp ^a ☐ Kp ^b ☐ Js ^a ☐ Js ^b		☐ Fy ^a ☐ Fy ^b		☐ Jk ^a ☐ Jk ^b	
Lewis		P		Lutheran		MNS	
☐ Le ^a ☐ Le ^b		☐ P1		☐ Lu ^a ☐ Lu ^b		☐ M ☐ N ☐ S ☐ s	
Método(s) Utilizado(s)							
Coombs				Enzimático			
☐ Albuminoso - Tubo ☐ Salino - Tubo ☐ LISS-Tubo ☐ PEG ☐ LISS - Gel ☐ LISS - Mcp				☐ Tubo-Enz. ☐ Gel - Enz. ☐ Mcp - Enz. ☐ Outros _____			
Coombs Direto		Método(s) Utilizado(s)					
☐ Positivo ☐ Negativo		☐ Tubo ☐ Gel Teste ☐ Microplacas ☐ Outros _____					
Observações: INSTRUÇÕES PRA PREENCHIMENTO DAS RESPOSTAS QUE FOREM ENVIADAS VIA CORREIO: - Preencha ou marque com X os espaços correspondentes às suas respostas; não esqueça de marcar o(s) método(s) utilizado(s) em cada teste realizado; este um dado importante para nossos estudos estatísticos; se realizar os fenótipos Rh e K não deixem em branco os espaços correspondentes aos resultados dos fenótipos que forem considerados negativos, marque o resultado completo; resultados parciais serão considerados como incorretos. Confira cuidadosamente os lançamentos dos resultados para evitar erros de transcrição, esta é uma das principais causas de erros nas avaliações.							
42ª Avaliação: Kit Lote nº 45530612 - Vencimento do Kit = 27/10/2003.							
Data limite para envio dos resultados da 42ª Avaliação - Setembro de 2003: - Respostas enviadas através da Internet: 03/11/2003 - Respostas enviadas através do correio: 28/10/2003 (5 dias antes)							
Comentários/Sugestões:							

Apêndice 02: Formulário das Avaliações Teóricas.

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

QUESTÕES DE IMUNOHEMATOLOGIA A NOVEMBRO 2003 Datas limite para envio das respostas: 31/ 12/ 2003 = via correio ou 05/ 01/ 2004 = via Internet
--

Participar 	Por favor, não esqueça de anotar o nº do seu código
--	---

Caso Nº 1: V.T., 50 anos, sexo masculino, foi admitido no hospital para cirurgia eletiva, após acidente de carro. Esteve internado em outro hospital 4 semanas antes devido ao acidente. Foi solicitada reserva de 2 unidades de concentrado de hemácias para cirurgia.

O Serviço de Hemoterapia do hospital realizou os testes, obtendo os seguintes resultados:

Classificação Direta com anti-			Classificação Rever. com hemácias:		PAI AGH com hemácias		
A	B	D	A ₁	B	1	2	3
+, campo misto	-	+++	+	++++	-	-	-

Os testes foram repetidos e os resultados confirmados. O Serviço de Hemoterapia contactou o hospital no qual o paciente esteve anteriormente internado logo após o acidente e os testes prétransfusionais foram idênticos. No primeiro hospital o paciente foi transfundido com 4 unidades de concentrado de hemácias O RhD positivo (um mês antes da atual internação).

Resultados de outros testes realizados:

Inclusão do antisoro anti-A,B e técnicas com preaquecimento:

ABO				
Anti-A	Anti-B	Anti-A,B	Hemácias A ₁	Hemácias B
+, campo misto	-	++, campo misto	-	++++

Apêndice 02: Formulário das Avaliações Teóricas(cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Pergunta 1: Quais os problemas encontrados na classificação ABO / RhD e o que os resultados sugerem?

Pergunta 2: Quais investigações e testes adicionais deveriam ser realizados para esclarecer a discrepância ABO?

Pergunta 3: Qual sangue deveria ser selecionado para as transfusões solicitadas?

Caso Nº 2: R.M., 89 anos, sexo masculino foi admitido do setor de emergência com fratura de bacia que necessitava de correção cirúrgica. Não tinha história transfusional anterior, nenhuma outra patologia subjacente e usava medicação anti-hipertensiva. Foi solicitada reserva de 2 unidades de concentrado de hemácias.

O Serviço de Hemoterapia do hospital realizou os testes prétransfusionais, obtendo os seguintes resultados:

Classificação Direta com anti-			Classificação Rever. com hemácias:		PAI AGH com hemácias		
A	B	D	A ₁	B	1	2	3
-	++++	+++	-	-	-	-	-

Apêndice 02: Formulário das Avaliações Teóricas(cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Pergunta 1: Quais os testes adicionais para esclarecimento deveriam ser realizados na amostra?

Foi realizada nova classificação reversa com leituras imediata e após 15' após incubação a temperatura ambiente (TA), utilizando-se **4 gotas de plasma do paciente e 1 gota das suspensões hemácias**, cujos resultados foram:

ABO					
Temperaturas	leituras	Anti-A	Anti-B	Hemácias A ₁	Hemácias B
Ambiente	imediate	-	++++	-	-
Ambiente	Após 15'	-	++++	+	-

Pergunta 2: Considerando-se os resultados acima (leitura imediata e após 15' de incubação a TA) é possível definir o grupo ABO do paciente? Qual é o grupo?

Foi realizada nova classificação reversa com leituras imediata pós centrifugação e **15' após incubação a 4 °C**, utilizando-se **2 gotas de plasma do paciente e 1 gota das suspensões** hemácias, cujos resultados foram:

ABO					
Temperaturas	leituras	Anti-A	Anti-B	Hemácias A ₁	Hemácias B
Ambiente	imediate	-	++++	-	-
4 °C	Após 15'	-	++++	++	-

Apêndice 02: Formulário das Avaliações Teóricas(cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Controle ABO com hemácias O:				
Temperaturas	1	2	3	Autocontrole
Ambiente	-	-	-	-
4 °C / 15'	-	-	-	-

Pergunta 3: Considerando-se os resultados acima (leitura imediata e após 15' de incubação a 4 °C) é possível definir o grupo ABO do paciente? Qual é o grupo?

Pergunta 4: Nas classificações reversas, qual é a intensidade mínima para a reação ser considerada positiva?

Pergunta 5: Quando uma classificação reversa permanece inconclusiva, após procedimentos de rotina e de intensificação de reações:

- a) qual teste deveremos fazer para completar o estudo?
- b) como não devemos usar o soro ou plasma discrepante para provas cruzadas, qual teste adicional tem que ser sempre realizada quando sangue for solicitado?

Apêndice 02: Formulário das Avaliações Teóricas(cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Pergunta 6: De acordo com a literatura, em adultos o que causa maior variação dos títulos de anticorpos ABO: variação individual ou relacionada com a idade?

Pergunta 7: De acordo com a literatura em qual faixa etária os anticorpos anti-A e anti-B alcançam os níveis de uma pessoa adulta? Qual é a classe de imunoglobulina nos anticorpos ABO que prevalece em adultos (IgM?, IgG? ambos?) ?



Visite nosso site: <http://www.imunohematologia.com.br/>
Rua dos Otoni, 296 sala 202 – Belo Horizonte - MG
CEP 30.150-270

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

RESPOSTAS DA QUESTÕES DE IMUNOHEMATOLOGIA NOVEMBRO 2003

Datas limite para envio das respostas foram:

31/ 12/ 2003 = para respostas enviadas via correio

05/ 01/ 2004 = para respostas enviadas via Internet

Data da Apuração: 19/ 01/ 2004

Enviamos 158 Questionários:

108 participantes enviaram respostas = 68%

01/ 108 enviou respostas após a data limite = 1%

(deve melhorar o CQI / resultados não serão considerados para certificação)

77/ 108 participantes igual ou maior que 80% de acertos = 71 %

4 / 108 participantes com 100% de acertos = 4%

Nota média = 7,7 – Menores notas = 4,0 (1 participante) e 4,5 (1 participante).

Caso Nº 1: V.T., 50 anos, sexo masculino, foi admitido no hospital para cirurgia eletiva, após acidente de carro. Esteve internado em outro hospital 4 semanas antes devido ao acidente. Foi solicitada reserva de 2 unidades de concentrado de hemácias para cirurgia.

O Serviço de Hemoterapia do hospital realizou os testes, obtendo os seguintes resultados:

Classificação Direta com anti-			Classificação Rever. com hemácias:		PAI AGH com hemácias		
A	B	D	A ₁	B	1	2	3
+, campo misto	-	+++	+	++++	-	-	-

Os testes foram repetidos e os resultados confirmados. O Serviço de Hemoterapia contatou o hospital no qual o paciente esteve anteriormente internado logo após o acidente e os testes pré-transfusionais foram idênticos. No primeiro hospital o paciente foi transfundido com 4 unidades de concentrado de hemácias O RhD positivo (um mês antes da atual internação).

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Resultados de outros testes realizados:

Inclusão do antisoro anti-A,B e técnicas com preaquecimento:

ABO				
Anti-A	Anti-B	Anti-A,B	Hemácias A ₁	Hemácias B
+, campo misto	-	++, campo misto	-	++++

Pergunta 1: Quais os problemas encontrados na classificação ABO / RhD e o que os resultados sugerem?

A classificação ABO mostra 2 problemas:

a) na classificação direta: reação fraca e também em campo misto com reativo anti-A. Como na classificação direta a maioria das reações em adultos são de 3+ ou 4+, as reações mais fracas sugerem subgrupos de A, por exemplo A₃ ou mais fraco. Reações de campo misto são associadas com A₃ e também com outras causas como, por exemplo, transfusões. No caso de transfusões, 2 populações de hemácias estão presentes, uma com o antígeno correspondente e outra sem.

b) na classificação reversa: reação de 1+ com células A₁. Na classificação reversa em adultos sem problemas de imunidade (por exemplo a ou hipogamaglobulinemia), anti-A e anti-B tipicamente reagem com 3+ ou 4+. Anticorpos inesperados como anti-A₁ e outros anticorpos que reagem a frio (anti-Le^a, -M, -N, -P₁ e auto anti-I) podem reagir de 1+ a 4+ dependendo de sua potência. No caso apresentado, como a reação com hemácias A₁ (+) desapareceu com o preaquecimento é provável que tratava-se de anti-A₁ frio.

Pergunta 2: Quais investigações e testes adicionais deveriam ser realizados para esclarecer a discrepância ABO?

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

A primeira providência para resolver uma discrepância ABO é a confirmação se o teste foi realizado corretamente. Deve-se checar os dados pessoais do paciente, a requisição da transfusão e os dados do paciente anotados na etiqueta de identificação da amostra. Se todos os dados estiverem corretos, deve-se repetir todos os testes, usando-se nova suspensão celular. Esta etapa é normalmente omitida, mas é essencial para assegurar que os procedimentos técnicos foram corretos, antes de iniciar as investigações de causas clínicas para esclarecer a discrepância.

Para esclarecimento da presença do possível anti-A₁: para confirmar a hipótese de anti-A₁ e excluir a presença de outros anticorpos inesperados como anti-M e anti-I, testar o plasma (ou soro) da amostra à temperatura ambiente com suspensões de células A₁, A₂, O e autocontrole.

Para determinar a temperatura de reação do anticorpo: lavar as hemácias e repetir os testes com preaquecimento das amostras.

Para determinar se o paciente é subgrupo de A: testar hemácias do paciente com lectina *Dolichos biflorus* (anti-A₁).

Pergunta 3: Qual o grupo sanguíneo deveria ser cruzado para as transfusões solicitadas?

O paciente parece ser subgrupo de A e é RhD positivo. O subgrupo está indefinido mas as células do paciente reagem com 1+ com anti-A e 2+ com anti-A,B, além de ter anti-A₁, que não reage a 37 °C.

Nessas situações pode-se cruzar sangue de doador grupo A RhD positivo com métodos realizados a 37 °C e até fase de antiglobulina humana. As unidades compatíveis podem ser transfundidas.

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Alternativamente, o procedimento conservador e seguro seria cruzar sangue O que tenha sido retestado para ABO.

Caso Nº 2: R.M., 89 anos, sexo masculino foi admitido do setor de emergência com fratura de bacia que necessitava de correção cirúrgica. Não tinha história transfusional anterior, nenhuma outra patologia subjacente e usava medicação anti-hipertensiva. Foi solicitada reserva de 2 unidades de concentrado de hemácias.

O Serviço de Hemoterapia do hospital realizou os testes prétransfusionais, obtendo os seguintes resultados:

Classificação Direta com anti-			Classificação Rever. com hemácias:		PAI AGH com hemácias		
A	B	D	A ₁	B	1	2	3
-	++++	+++	-	-	-	-	-

Pergunta 1: Quais os testes adicionais deveriam ser realizados na amostra para esclarecimento?

A primeira etapa para se resolver uma discrepância é a confirmação se o teste foi realizado corretamente. Deve-se checar os dados do paciente, a solicitação da transfusão e os dados do paciente na etiqueta de identificação da amostra. Se todos os dados estiverem corretos, deve-se repetir todos os testes, usando-se nova suspensão celular. Esta etapa é normalmente omitida, mas é essencial para assegurar que os procedimentos técnicos foram corretos, antes de iniciar as investigações de causas clínicas para esclarecer a discrepância.

No caso apresentado a discrepância deve-se a ausência de reação com hemácias na classificação reversa.

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

A etapa seguinte deveria ser a potencialização das reações que pode ser feita de várias maneiras:

- adicionar maior quantidade de soro ou plasma nas hemácias e re-centrifugar. Este procedimento vai aumentar a relação anticorpo-antígeno e possibilitar melhor aglutinação;
- aumentar o tempo de incubação o que irá permitir maior tempo para a reação antígeno-anticorpo;
- incubar a prova reversa a 4 °C.

É importante incluir um autocontrole usando o soro ou plasma do paciente e hemácias. Omitir o autocontrole pode resultar na não detecção de reações falso-positivas devido a aglutininas frias.

Foi realizada nova classificação reversa com leituras imediata pós centrifugação e 15' após incubação a TA, utilizando-se **4 gotas de plasma do paciente e 1 gota das suspensões hemácias**, cujos resultados foram:

ABO					
Temperaturas	leituras	Anti-A	Anti-B	Hemácias A ₁	Hemácias B
Ambiente	imediate	-	++++	-	-
Ambiente	Após 15'	-	++++	+	-

Pergunta 2: Considerando-se os resultados acima (leitura imediata e após 15' de incubação a TA) é possível definir o grupo ABO do paciente? Qual é o grupo?

Após aumentar o quantitativo de gotas de plasma do paciente e também o tempo de incubação à TA, as reações parecem indicar grupo B (reação de 1+ com hemácias A₁). Todavia, esta intensidade de reação não nos permite concluir e não se pode definir com segurança o grupo sanguíneo (fonte consultada: Technical Resource Manual for Hospital

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Transfusion Service, que estabelece: reações mais fracas que 3+ na classificação direta e de 2+ na classificação reversa tem que ser investigadas).

Foi realizada nova classificação reversa com leituras imediata pós centrifugação e **15'** **após incubação a 4 °C**, utilizando-se **2 gotas de plasma do paciente e 1 gota das suspensões** hemácias, cujos resultados foram:

ABO					
Temperaturas	leituras	Anti-A	Anti-B	Hemácias A ₁	Hemácias B
Ambiente	imediate	-	++++	-	-
4 °C	Após 15'	-	++++	++	-

Controle ABO com hemácias O:				
Temperaturas	1	2	3	Autocontrole
Ambiente	-	-	-	-
4 °C / 15'	-	-	-	-

Pergunta 3: Considerando-se os resultados acima (leitura imediata e após 15' de incubação a 4 °C) é possível definir o grupo ABO do paciente? Qual é o grupo?

A intensidade da reação (2+) com hemácias A₁, pós incubação por 15' a 4 °C (que é a temperatura ótima de reação), associado aos resultados anteriores da classificação direta nos permite classificar o sangue como grupo B (fonte consultada: Technical Resource Manual for Hospital Transfusion Service, que estabelece: reações mais fracas que 3+ na classificação direta e de 2+ na classificação reversa tem que ser investigadas).

Pergunta 4: Nas classificações reversas, qual é a intensidade mínima para a reação ser considerada positiva?

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

A intensidade mínima para definir com segurança a intensidade deve ser de 2+ : (fonte consultada: Technical Resource Manual for Hospital Transfusion Service, que estabelece: reações mais fracas que 3+ na classificação direta e de 2+ na classificação reversa tem que ser investigadas).

Entretanto caso o laboratório queira definir a intensidade mínima como 1+ (ou "pó"), não poderá decidir uma discrepância com base apenas nas classificações direta e reversa, mas só terá condições de definir após realizar a investigação completa (potencialização de reações, pesquisa de subgrupos, dosagem de imunoglobulinas, etc.).

Caso o laboratório defina a intensidade mínima como 1+ (ou "pó"), não poderá decidir uma discrepância com base apenas nas classificações direta e reversa, mas só terá condições de definir após realizar a investigação completa.

Pergunta 5: Quando uma classificação reversa permanece inconclusiva, após procedimentos de rotina e de intensificação de reações:

a) Qual teste deveremos fazer para completar o estudo?

Considerando-se que a classificação reversa permanece inconclusiva, após procedimentos de rotina e de intensificação de reações, devemos quantificar as imunoglobulinas do paciente.

b) como não devemos usar o soro ou plasma discrepante para provas cruzadas, qual teste adicional tem que ser sempre realizada quando sangue for solicitado?

A Resolução – RDC nº 343 de 13/12/2002 (ANVISA), estabelece no capítulo E (Exames de Qualificação no sangue do doador): “uma unidade de sangue não deverá ser liberada para utilização até que qualquer discrepância entre a tipagem direta e reversa tenha sido resolvida”

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Na situação relatada – paciente com classificação inconclusiva após procedimentos de rotina e de intensificação de reações – caso necessite de transfusão, todas as unidades de sangue que forem preparadas para o paciente devem ser reclassificadas para ABO.

Pergunta 6: De acordo com a literatura, em adultos o que causa maior variação dos títulos de anticorpos ABO: variação individual ou relacionada com a idade?

As causas individuais são mais importantes do que as relacionadas com a idade (ver Auf der Maur C, Hodel M, Nydegger UE, Rieben R. Age dependency of ABO histo-blood group antibodies: reexamination of an old dogma. Transfusion 1993;33(11):915-8. [[Medline](#)]

No caso em estudo um paciente idoso do grupo B, tinha níveis indetectáveis de anti-A, quando pesquisado a temperatura ambiente com leitura imediata e após 15' de incubação, mas detectável a 4 °C pós 15' de incubação.

Os níveis mais baixos de anti-A neste paciente provavelmente podem ser atribuídos a fatores individuais e também à idade.

Pergunta 7: De acordo com a literatura em qual faixa etária os anticorpos anti-A e anti-B alcançam os níveis de uma pessoa adulta? Qual é a classe de imunoglobulina nos anticorpos ABO que prevalece em adultos (IgM?, IgG, ambos?)

Geralmente as aglutininas ABO são detectadas a partir do 3º mês e o título continua a aumentar alcançando os níveis de adultos entre os 5 e 10 anos de idade.

Anticorpos contra os antígenos A e B são divididos em 2 classes: IgM (se estimulados por fatores ambientais) e IgG (estimulações transfusionais, materno-fetal; vacinas, etc.)

Apêndice 03: Formulário de Respostas das Avaliações Teóricas (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Anti-A produzido por indivíduos do grupo B e anti-B produzidos por indivíduos do grupo A são predominantemente IgM embora muitos adultos possam ter algum IgG anti-A e anti-B, devido a exposições aos antígenos A e B. Vacinas podem estimular a formação de anticorpos ABO IgG porque podem conter antígenos bacterianos como A e B ou também antígenos A e B presentes nos leucócitos utilizados em culturas.

IgG é a classe que prevalece nos anticorpos anti-A e anti-B dos indivíduos do grupo O.

Comparados com indivíduos do grupo O, os indivíduos dos grupos A e B tendem a produzir níveis mais baixos de IgG após vacinação.

Mulheres podem ter títulos mais altos de anti-A e anti-B pela exposição, durante a gravidez ou no parto, a células fetais ABO incompatíveis.



Visite nosso site: <http://www.imunohematologia.com.br/>
Rua dos Otoni, 296 sala 202 – Belo Horizonte - MG – CEP
30.150-270

Apêndice 04: Formulário de autoclassificação de erros

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Na 20ª Avaliação Prática - Janeiro de 2003 - sua Instituição cometeu erro no Teste na amostra número....., relatando resultado..... em amostra cujo resultado era

Com objetivo de prevenir erros semelhantes em sua rotina diária e também para buscarmos uma constante melhoria na Imunohematologia praticada no Brasil, nós estamos estimulando que cada instituição, em seu próprio benefício, analise criteriosamente e, com a participação de toda equipe, os eventuais erros cometidos.

Desta forma solicitamos o favor nos indicar e nos devolver via e-mail laércio@imunohematologia.com.br a **autoclassificação** do referido erro de acordo com os seguintes critérios:

- ☐ **CLERICAL**: anotação incorreta de resultado, cujo teste foi corretamente realizado, incluindo:
- ☐ **Erros de transposição**: Participante anota o resultado correto, mas no formulário incorreto: resultado da amostra 1 no formulário da amostra 2 ou vice versa.
- ☐ **Erros de transcrição**: Participante realiza o teste corretamente, mas anota o resultado incorretamente no formulário correto: resultado foi A RhD (+) para amostra 1 e foi anotado no formulário 1 A RhD (-).
- ☐ **TÉCNICO**: Participante realiza o teste, mas não obtém o resultado correto: PAI (+) com resultado (-). IAI com 2 anticorpos presentes, mas apenas 1 identificado.
- ☐ **INDETERMINADO**: não se enquadra em nenhum dos casos acima.

Observações que considerar pertinentes:

Apêndice 04: Formulário de autoclassificação de erros (cont.)

	SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DA AMB PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA	
---	---	---

Quero salientar que as informações obtidas através deste questionário são **confidenciais** e serão utilizadas para o melhor conhecimento da Imunohematologia praticada atualmente no Brasil e, para eventuais propostas de melhoria.

Atenciosamente,

Dr. Laércio de Melo
Coordenador do Programa



Visite nosso site: <http://www.imunohematologia.com.br/>
Rua dos Otoni, 296 sala 202 – Belo Horizonte - MG – CEP
30.150-270

Apêndice 05: Modelo de Certificado de Qualidade



Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia
Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia



Certificado de Qualidade 2005/2006

Conferido a:

CRITÉRIOS PARA CERTIFICADO DE QUALIDADE: Cinco Avaliações Práticas consecutivas com 100% de acertos em: ABO / RhD, Pesquisa de Anticorpos Irregulares e Teste de Coombs Direto.

Avaliações Práticas: período de 2005 (Avaliação) a 2006 (Avaliação).

Certificado emitido em de 2006.

Dr. Carlos Sérgio Chiattonne
Presidente da SBHH

Dr. Laércio de Melo
Coordenador do Programa

Apêndice 06: Modelo de Certificado de Elite



Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia
Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia

Certificado de Elite 2005/2006

Conferido a:

CRITÉRIOS PARA CERTIFICADO DE ELITE: Cinco Avaliações Práticas consecutivas com 100% de acertos em: ABO, RhD, Pesquisa de Anticorpos Irregulares, Fenotipagens Rh (C, c, E, e) e K; Teste de Coombs Direto; mínimo de 80% de acertos na Identificação de Anticorpos Irregulares. Cinco Avaliações Teóricas consecutivas com mínimo de 80% de acertos, no período das avaliações práticas. Todos os resultados enviados nos prazos estabelecidos.

Avaliações Práticas realizadas pelo Participante: período de 2005 (Avaliação) a de 2006 (ª Avaliação).
Certificado emitido em de 2006.

Dr. Carlos Sérgio Chiattonne
Presidente da SBHH

Dr. Laércio de Melo
Coordenador do Programa

Apêndice 07: Modelo de Certificado de Excelência



Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia
Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia



Certificado de Excelência 2005/2006

Conferida a:

CRITÉRIOS PARA CERTIFICADO DE EXCELÊNCIA: Cinco Avaliações Práticas consecutivas com 100% de acertos em: ABO / RhD, Pesquisa de Anticorpos Irregulares, Fenotipagens Rh (C, c, E, e) e K; Teste de Coombs Direto; mínimo de 80% de acertos na Identificação de Anticorpos Irregulares. Avaliações Práticas: período de 2005 (Avaliação) a 2006 (Avaliação). Emitido em de 2006.

Dr. Carlos Sérgio Chiattonne
Presidente da SBHH

Dr. Laércio de Melo
Coordenador do Programa