

## Garantia da qualidade dos exames de fenotipagem ABO e RhD: revisão de escopo

### Quality Assurance of ABO and RhD phenotyping tests: escopo review

DOI:10.34119/bjhrv6n2-129

Recebimento dos originais: 24/02/2023

Aceitação para publicação: 22/03/2023

#### Júlia Hermes

Mestra em Farmácia

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Endereço: Rua Delfino Conti, S/N, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, CEP: 88040-370

E-mail: julia@juliahermes.com.br

#### Flávia Martinello

Doutora em Farmácia

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Endereço: Rua Delfino Conti, S/N, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, CEP: 88040-370

E-mail: flavia.martinello@ufsc.br

#### RESUMO

Entre os 43 sistemas de grupos sanguíneos já descritos, que contemplam 345 antígenos eritrocitários, apenas os antígenos do sistema ABO e o antígeno RhD do sistema Rhesus (Rh) são rotineiramente avaliados para a seleção dos hemocomponentes devido às características dos seus respectivos anticorpos. O objetivo deste estudo foi sintetizar os critérios para a garantia da qualidade dos exames de fenotipagem ABO e RhD. Foi realizada uma revisão narrativa descritiva da literatura, com abordagem dos temas relacionados à técnica, à evolução dos reagentes e às especificações da qualidade. A determinação laboratorial do fenótipo ABO/RhD se mostra harmonizada internacionalmente, utilizando reagentes que detectam a presença ou ausência dos antígenos/anticorpos eritrocitários através de reações sorológicas de hemaglutinação por diferentes técnicas. A substituição dos reagentes policlonais por monoclonais tem proporcionado testes com anticorpos de alta qualidade, mais potentes e específicos. As normativas preconizam, em vários países, a avaliação dos reagentes antes do uso, sendo no Brasil especificada para cada lote/remessa recebida. Controles internos, durante o uso, e externos da qualidade também são preconizados aos serviços de hemoterapia brasileiros, europeus, britânicos, australianos e neozelandeses. Assim, foi observada robustez na legislação brasileira quanto à garantia da qualidade dos exames imuno-hematológicos.

**Palavras-chave:** sistema ABO de grupos sanguíneos, sistema do grupo sanguíneo Rh-Hr, antígenos de grupos sanguíneos, controle da qualidade.

#### ABSTRACT

Among the 43 blood group systems already described, which include 345 erythrocyte antigens, only the ABO antigens and the RhD antigen of the Rhesus (Rh) system are routinely evaluated for the selection of blood components due to the characteristics of their respective antibodies. This study aimed to summarize the criteria for quality assurance of ABO and RhD phenotyping

tests. A descriptive narrative review of the literature was carried out covering topics related to the technique, the evolution of the reagents and quality specifications. The laboratory determination of the ABO/RhD phenotype is internationally harmonized, using reagents that detect the presence or absence of erythrocyte antigens/antibodies through serological hemagglutination reactions by different techniques. The substitution of polyclonal reagents for monoclonal ones has provided tests with high quality, more potent and specific antibodies. In several countries the regulations have recommended the reagent evaluation before the use and in Brazil it is also specified for each bath/consignment received. Internal quality control, during the use, and external quality control are also recommended for Brazilian, European, British, Australian and New Zealand hemotherapy services. Thus, it was observed robustness in the Brazilian legislation regarding quality assurance of immunohematological tests.

**Keywords:** ABO blood-group system, Rh-Hr blood-group system, blood group antigens, quality control.

## 1 INTRODUÇÃO

O termo sistema de grupo sanguíneo refere-se a um ou mais antígenos expressos na membrana dos eritrócitos, controlados por um único gene ou por um complexo de dois ou mais genes homólogos intimamente ligados. Para que um sistema de grupo sanguíneo e seus antígenos sejam reconhecidos, a variação genética subjacente deve ser identificada, sequenciada e com confirmação de que afeta o fenótipo. Cada sistema é geneticamente distinto de todos os outros<sup>1,2</sup>.

A importância clínica dos antígenos eritrocitários depende principalmente da frequência com que os aloanticorpos ocorrem e suas características: classe do anticorpo, amplitude térmica e capacidade de ativar a cascata do complemento. Essas características, por sua vez, determinam a capacidade do anticorpo causar a destruição dos eritrócitos e de atravessar a barreira placentária e causar doença hemolítica do recém-nascido. A produção de aloanticorpos, na maioria dos sistemas de grupo sanguíneo, ocorre através da exposição do indivíduo a antígenos não próprios<sup>3-5</sup>.

A Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea descreve até o momento 43 sistemas de grupos sanguíneos, determinados geneticamente por 48 genes, contendo um total de 345 antígenos eritrocitários<sup>2</sup>. Destes, apenas os antígenos do sistema ABO e um único antígeno (RhD) dentro do sistema Rhesus (Rh) são rotineiramente avaliados para a seleção de hemocomponentes para transfusão, em virtude da capacidade dos anticorpos correspondentes causar hemólise e da imunogenicidade dos antígenos deste sistema, respectivamente. Antígenos de outros sistemas de grupo sanguíneo são pesquisados apenas em certas circunstâncias, por exemplo, nos receptores em esquema de transfusão crônica<sup>6</sup>.

No Brasil, o Ministério da Saúde preconiza a implementação de políticas e ações que assegurem a qualidade dos produtos e serviços prestados pelos estabelecimentos de hemoterapia. Essas diretrizes são importantes para a obtenção de resultados laboratoriais precisos e confiáveis, com objetivo de garantir a segurança do paciente, a eficácia e eficiência do diagnóstico, tratamento e monitoramento do indivíduo, além da satisfação dos clientes, sejam eles médicos ou pacientes<sup>6-8</sup>.

Desta forma, destaca-se a importância do controle da qualidade na determinação fenotípica dos sistemas de grupo sanguíneo ABO e RhD das amostras de receptores e doadores de sangue para a adequada compatibilização de hemocomponentes e consequente segurança transfusional.

Nesse contexto, este estudo tem como objetivo sintetizar os critérios nacionais e internacionais para a garantia da qualidade dos exames de fenotipagem ABO e RhD. São abordados temas relacionados à técnica, à evolução dos reagentes utilizados e às especificações da qualidade para a produção e uso dos reagentes.

Trata-se de uma revisão de escopo narrativa da literatura de caráter descritivo. A busca por artigos científicos para a elaboração deste estudo foi desenvolvida a partir de pesquisas nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Scholar. Também foram utilizados como referência livros da área, normativas, diretivas e orientações técnicas de autoridades sanitárias e sociedades científicas nacionais e internacionais. As referências bibliográficas dos estudos recuperados também foram pesquisadas visando a identificação de outros dados relevantes relacionados ao assunto. Os textos foram avaliados através de leitura interpretativa e síntese dos achados.

## 2 SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABO E Rh

Os antígenos do sistema de grupo sanguíneo ABO expressos nas hemácias são determinados por genes localizados no braço longo do cromossomo 9. Esses genes codificam glicosiltransferases que catalisam a transferência de um açúcar terminal imunodominante a um substrato receptor, o antígeno H, o qual é convertido em antígeno A ou B. No grupo sanguíneo A, o açúcar terminal é a  $\alpha$ -N-acetilgalactosamina, adicionado por meio da enzima  $\alpha(1,3)$ N-acetilgalactosaminiltransferase. No grupo sanguíneo B, o açúcar terminal é uma galactose, adicionado por meio de uma galactosiltransferase. Indivíduos do grupo AB contêm antígenos A e B em suas hemácias. Indivíduos do grupo O carecem de uma transferase funcional e, portanto, não transferem nenhum tipo de açúcar ao antígeno H<sup>1,4,9</sup>.

O sistema de grupo sanguíneo ABO é considerado o mais importante na prática transfusional devido a ocorrência previsível dos anticorpos anti-A e anti-B em indivíduos que não possuem o correspondente antígeno. Esses anticorpos têm a capacidade de ativar o sistema complemento e frequentemente causar hemólise intravascular aguda quando eritrócitos incompatíveis são transfundidos<sup>3,5,10</sup>.

Os anticorpos do sistema ABO são formados naturalmente, sem qualquer exposição à hemácias ou gravidez prévia e são predominantemente de classe IgM, embora pequenas quantidades de IgG possam estar presentes. Uma das explicações para a produção dos anticorpos ABO por indivíduos que não apresentam os respectivos antígenos nos eritrócitos é a ampla distribuição de estruturas semelhantes aos antígenos A e B na natureza, principalmente nas bactérias presentes no trato intestinal, as quais promovem uma exposição constante de todos os indivíduos a essas estruturas<sup>3,4,11</sup>.

O sistema Rh, composto por 56 antígenos, é o segundo sistema de grupo sanguíneo em importância transfusional. Isso se deve ao fato de que seus antígenos, especialmente o RhD, são altamente imunogênicos. Dois genes altamente homólogos, *RHD* e *RHCE* que estão localizados no cromossomo 1, são responsáveis por codificar, respectivamente, as proteínas RhD e RhCE<sup>2,12</sup>.

O antígeno RhD é uma proteína transmembrana e sua presença na membrana das hemácias caracteriza os indivíduos como “RhD positivos”. Apenas 18% dos caucasianos são RhD negativos, ou seja, carecem da expressão dessa proteína. Devido a alta imunogenicidade, indivíduos RhD negativos podem, prontamente, formar anticorpos anti-D através de imunização ativa quando expostos a eritrócitos RhD positivo de outros indivíduos em transfusões, gestações ou abortos. Esses anticorpos são capazes de causar reações transfusionais hemolíticas e doença hemolítica do feto e do recém nascido<sup>3-5,9,13</sup>.

### 3 FENOTIPAGEM ABO E RhD

A determinação laboratorial do fenótipo ABO pode ser realizada pela detecção sorológica da presença ou ausência de antígenos (tipagem direta) e de anticorpos (tipagem reversa) com o uso de reagentes imuno-hematológicos, através de reações de hemaglutinação<sup>6,13</sup>. Há uma ampla gama de testes analíticos disponíveis. Entre os mais conhecidos estão as técnicas em lâmina, tubo, microplaca e gel-centrifugação. Ferramentas de biologia molecular também podem ser empregadas quando as sorológicas não são suficientes<sup>11,15</sup>.

A tipagem direta é rotineiramente realizada com o uso de antissoros comerciais (anti-A, anti-B e anti-AB) e tem finalidade de detectar antígenos nas hemácias de um indivíduo. O uso do soro anti-AB é facultativo caso os soros anti-A e anti-B forem de origem monoclonal. A tipagem reversa visa a detecção de anticorpos ABO no soro ou plasma do indivíduo, e é realizada através do uso de reagentes de hemácias conhecidas A1 e B. O uso de outros reagentes de hemácias como A2 e O, tem caráter opcional e visa auxiliar casos de divergência entre as tipagens direta e reversa. A tipagem direta e a tipagem reversa devem sempre apresentar resultados concordantes entre elas<sup>6</sup>.

Em algumas circunstâncias, pode existir discordância entre o resultado dos antígenos presentes na superfície das hemácias e os respectivos anticorpos detectados no soro. Isso é chamado de discrepância ABO. Nestes casos, investigações adicionais por meio de técnicas complementares são necessárias<sup>6</sup>.

A análise da expressão do antígeno RhD em amostras de pacientes e doadores preconizada na rotina transfusional é realizada, usualmente, com o emprego de antissoros que detectam a presença ou ausência deste antígeno em reações de aglutinação. Paralelamente a toda determinação RhD realizada, os serviços devem utilizar um soro controle negativo compatível e do mesmo fabricante. A reação da amostra com o soro controle deve ser negativa para validar o teste de determinação RhD<sup>6</sup>.

A expressão de baixa quantidade de antígeno RhD caracteriza o fenótipo RhD fraco. Neste caso, a aglutinação direta com o soro anti-D é mais fraca, podendo inclusive apresentar-se negativa. Este fenótipo pode ser detectado por meio da pesquisa do antígeno RhD fraco, após incubação e uso do reagente antiglobulina humana. Diante de reações negativas na determinação do RhD de amostras de doadores, a pesquisa do antígeno RhD fraco é compulsória. Já para amostras de receptores de sangue que apresentaram reação negativa com o soro anti-D, a pesquisa de antígeno RhD fraco é uma recomendação, podendo a amostra ser considerada negativa para fins transfusionais<sup>6,13</sup>.

Mutações pontuais e recombinações entre os genes homólogos *RHD* e *RHCE* geram novas configurações antigênicas dando origem às variações qualitativas dos antígenos deste sistema, o que pode dificultar as análises<sup>13</sup>.

#### **4 REAGENTES MONOCLONAIS UTILIZADOS NA TIPAGEM SANGUÍNEA**

A tecnologia de anticorpos monoclonais foi inicialmente desenvolvida por Köhler e Milstein<sup>16</sup> e rapidamente direcionada à pesquisa e produção de reagentes para determinação de

tipagem sanguínea, tanto para uso na pesquisa quanto na rotina da imuno-hematologia laboratorial<sup>17</sup>.

Entre 1979 e 1983 foram testados diversos protocolos para produção de anticorpos monoclonais para detecção de grupo sanguíneo ABO<sup>18-24</sup>. Alguns anticorpos apresentaram resultados promissores para uso clínico<sup>25</sup>, porém, na maioria dos casos, os títulos (concentração) ainda eram baixos e as reações fracas com subgrupos sanguíneos os tornavam inadequados para tal finalidade<sup>26</sup>.

Fletcher, Harbour e Zwart<sup>27</sup> relataram a produção de anticorpos anti-A e anti-B após imunização de camundongos com hemácias A e B e substância B como imunógenos. Os anticorpos produzidos foram testados em técnicas manuais e automatizadas e comparados com reagentes policlonais. O anti-A produzido apresentou baixo título e avidéz (afinidade) menor que o soro policlonal de origem humana, entretanto, nos testes automatizados, o desempenho foi semelhante. Já o anti-B produzido apresentou título mais baixo quando comparado com anticorpos monoclonais produzidos anteriormente, porém mostrou boa performance nos testes de avidéz.

Messeter *et al.*<sup>26</sup> obtiveram sete anticorpos monoclonais aglutinantes contra antígenos do sistema ABO (três anti-A, dois anti-B e dois anti-AB) por meio da imunização de camundongos com substâncias solúveis de grupo sanguíneo, hemácias inteiras ou membrana de hemácias de diferentes tipagens. Estes anticorpos foram extensivamente estudados em testes manuais e automatizados, e seis deles apresentaram resultados tão bons quanto ou melhores que os soros comerciais policlonais disponíveis na época. A exemplo, os anticorpos monoclonais anti-A e anti-B apresentaram claramente reações mais intensas quando testados com hemácias A2B e comparados com os correspondentes policlonais.

Por outro lado, os reagentes anti-D policlonais disponíveis eram principalmente do tipo IgG e só causavam aglutinação quando potencializados. Os anticorpos anti-D IgM eram escassos<sup>17</sup>. A produção dos primeiros poucos anti-D IgG monoclonais foi relatada posteriormente por Crawford *et al.*<sup>28</sup>, Doyle *et al.*<sup>29</sup> e Thomposon *et al.*<sup>30</sup>.

Dentre os diversos estudos publicados na época, McGowan *et al.*<sup>31</sup> apresentaram um estudo multicêntrico, para testar diferentes anticorpos de especificidades Anti-A, anti-B e anti-AB, comparando reagentes mono e policlonais, usando técnicas manuais e automatizadas, e realizou testes: a) de avidéz dos reagentes após um ano de armazenamento a +4°C, -20°C e em nitrogênio líquido; b) de degradação acelerada, com armazenamento a 37°C por um mês e outra alíquota passou por seis ciclos de temperatura entre os limites de -20°C e +20°C com testes de titulação e escore total de reação, e anticorpos de especificidade anti-A monoclonais se

mostraram mais potentes e estáveis que os policlonais, exceto os reagentes armazenados a 37°C por um mês, que exibiram sinais de degradação, particularmente quando testado com hemácias A2B<sup>31</sup>.

Neste mesmo estudo, McGowan *et al.*<sup>31</sup> também realizaram um teste longitudinal de estabilidade, no qual alíquotas de cada reagente foram estocadas a +4°C e -150°C e testadas após um, seis, 10 e 12 meses e se mostraram estáveis. Entretanto, após o armazenamento, uma queda na potência foi observada em todos os reagentes anti-A monoclonais quando testados com hemácias A2B. Nesta situação, o reagente monoclonal que apresentou a maior diferença de título tinha valor inicial de 128 e, após 10-12 meses na condição de estocagem de 4°C, apresentou título de 16.

Depois disso, diversos outros estudos investigando o uso, a reatividade e a estabilidade de reagentes monoclonais para determinação de grupos sanguíneos foram publicados e as metodologias de produção aprimoradas<sup>32-36</sup>. Em se tratando de reagentes anti-D, os estudos são voltados também para a capacidade de detecção de fenótipos variantes e fracos, além da estabilidade<sup>37,38</sup>.

As principais vantagens do uso de reagentes de anticorpos monoclonais para determinação de grupo sanguíneo em comparação com os anticorpos policlonais são: a tecnologia de produção de anticorpos monoclonais é bem estabelecida e fornece produtos de alta qualidade, potentes e específicos e em grandes quantidades; a composição é conhecida e constante lote a lote, os reagentes monoclonais são livres de anticorpos concomitantes e não dependem de plasmas de doadores; o custo pode ser considerado relativamente baixo quando é eliminado o trabalho de avaliar grande número de pequenas doações individuais necessárias para a produção de reagentes policlonais<sup>17</sup>.

## 5 GARANTIA DA QUALIDADE

Estima-se a produção anual de aproximadamente 85 milhões de concentrados de hemácias no mundo e espera-se que essa demanda aumente ainda mais devido ao envelhecimento demográfico da população e conseqüente aumento nos procedimentos que requerem suporte transfusional. Embora estratégias de gerenciamento e revisão de políticas transfusionais tenham sido adotadas pelos serviços para equilibrar a oferta e procura, a compatibilização dos hemocomponentes ainda é desafiadora<sup>9</sup>.

Os serviços de saúde são responsáveis por organizar seus processos de forma a atender os requisitos legais e garantir a qualidade e segurança do sangue e hemocomponentes. A implementação e manutenção de um sistema de gestão da qualidade, a realização de controles

da qualidade dos hemocomponentes, o monitoramento e gestão de riscos, a adoção de estratégias proativas e não reativas, o acompanhamento de indicadores de processos visando identificar áreas que necessitam de atenção e o monitoramento das mudanças ao longo do tempo são essenciais para o sucesso das atividades técnicas de uma instituição<sup>39</sup>.

Além disso, para obtenção de resultados confiáveis nos testes realizados e consequente garantia da segurança transfusional, é imprescindível a padronização e validação dos processos críticos, uso, manutenção, calibração e qualificação de equipamentos, treinamento inicial e periódico dos colaboradores e realização de controles da qualidade<sup>6,40</sup>.

O Conselho da Europa iniciou em 1962 o acordo N° 39 de intercâmbio de reagentes para determinação de grupos sanguíneos. Ficou então definido um protocolo de especificações relacionadas a potência, especificidade, estabilidade, validade, conservação, coloração, distribuição, volume, rotulagem, instruções de uso e certificação para estes reagentes, sejam eles de origem humana, animal, vegetal ou outras. Desta forma, estes países ficaram sujeitos às mesmas regras, permitindo o intercâmbio destes reagentes entre eles<sup>41,42</sup>.

O Conselho da Europa também estabeleceu recomendações sobre aspectos éticos, sociais e científicos. A recomendação n° R (95) 15 trata da preparação, uso e garantia da qualidade dos hemocomponentes<sup>43</sup>. Atualizada regularmente, a recomendação apresenta diretrizes de boas práticas e especificações para os estabelecimentos de transfusão de sangue através de um guia para preparação, uso e garantia da qualidade dos hemocomponentes<sup>44</sup>.

No âmbito da União Europeia, a vigente diretiva europeia do sangue 2002/98/CE, de 27 de janeiro de 2003, estabelece as normas de qualidade e segurança em relação à coleta, análise, processamento e distribuição do sangue humano e de seus componentes para os estados membros<sup>45</sup>. A diretiva 2005/62/CE, de 30 de setembro de 2005, trata do sistema de qualidade dos serviços de sangue<sup>46</sup>.

Assim como no Brasil, os reagentes imuno-hematológicos são considerados dispositivos de diagnóstico *in vitro* pela União Europeia. A produção e uso destes reagentes devem atender às diretiva 93/42/EEC do Conselho das Comunidades Europeias<sup>47</sup>, relativa aos dispositivos médicos, e diretiva 98/79/EC do Parlamento Europeu e do Conselho da União Europeia<sup>48</sup>, a qual trata dos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*. Além disso, os reagentes para determinação de grupo sanguíneo também devem atender especificação técnica comum 2009/886/EC para dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*<sup>49</sup>.

Esta especificação traz os critérios para a avaliação de desempenho dos reagentes e produtos para detecção dos antígenos dos sistemas ABO, Rh e Kell. Essa avaliação deve ser realizada com amostras representativas da população europeia, as amostras positivas devem



incluir aquelas com expressão fraca de antígenos e variantes e os resultados devem ser comparados com metodologias de última geração já implementadas. Os efeitos de potenciais substâncias interferentes devem ser identificados como parte da análise de risco exigida para cada novo reagente<sup>49</sup>.

Também, na especificação técnica comum 2009/886/EC, são determinados os critérios dos testes de qualidade que devem ser realizados pelo fabricante para assegurar que cada novo lote produzido seja suficientemente sensível e específico para identificar sistematicamente os antígenos, epítomos e anticorpos pertinentes. Entre os testes, está a testagem dos soros anti-A e anti-B com no mínimo duas hemácias dos fenótipos A1, A2B e Ax e fenótipos B e A1B, respectivamente. Para o soro anti-D, preconiza-se a testagem com no mínimo duas hemácias de fenótipos R1r, R2r e D fraco. Os resultados dos testes devem ser inequívocos para todas as técnicas recomendadas e concordantes com a avaliação de desempenho<sup>49</sup>.

Os serviços de hemoterapia europeus somente podem utilizar reagentes licenciados ou que foram avaliados e considerados adequados por uma autoridade nacional de saúde responsável e devem exigir dos fornecedores dados completos das validações de cada lote<sup>44</sup>. Todos os procedimentos e testes laboratoriais que podem afetar a qualidade e segurança do sangue devem ser validados antes de serem utilizados e revalidados conforme periodicidade definida pelo estabelecimento. Todo equipamento deve ser validado, calibrado e mantido de acordo com a finalidade a que se destina<sup>46</sup>.

Controles internos e externos da qualidade de reagentes imuno-hematológicos são indicados na União Europeia. Cada novo lote de reagente imuno-hematológico deve ser testado para demonstrar a adequação à finalidade pretendida. Para testes de detecção de antígenos, os controles devem incluir controle positivo, de preferência com antígenos em heterozigose, e controles negativos. A frequência de realização de controle interno da qualidade depende da técnica empregada, devendo ser realizado pelo menos a cada bateria de testes nas rotinas automatizadas ou pelo menos uma vez por dia, desde que os mesmos lotes sejam utilizados<sup>44</sup>.

O Comitê Consultivo Profissional dos Serviços de Transplante de Tecido e de Transfusão Sanguínea do Reino Unido publicou em 2013 a 8ª edição das diretrizes para os serviços de transfusão de sangue do Reino Unido que preconiza a implementação de um sistema de gestão da qualidade e controles internos e externos. Neste documento, são apresentadas as normas e as especificações para avaliação de desempenho e controle da qualidade de reagentes para determinação de grupos sanguíneos. Além do atendimento à diretiva a 98/79/EC e à especificação técnica comum europeia, este comitê prevê o atendimento de outros padrões internacionais importantes como, por exemplo, a avaliação da performance dos reagentes e da

potência (titulação) e especificidade dos diferentes lotes de antissoros produzidos através de testes com hemácias de diferentes fenótipos. Adicionalmente, são apresentadas as diretrizes gerais para a produção dos reagentes de hemácias utilizados nos testes imuno-hematológicos. Para os reagentes de hemácias, o fenótipo deve ser confirmado em duplicata, as hemácias devem estar suspensas em meio conservante que garanta a estabilidade dos antígenos, o teste de antiglobulina direto deve ser negativo e, em se tratando de hemácias para a prova reversa, devem ser pelo menos uma do fenótipo A1 e uma do fenótipo B<sup>50</sup>.

A Sociedade de Transfusão Sanguínea da Austrália e Nova Zelândia também estabelece suas diretrizes para transfusão e prática laboratorial imuno-hematológica. Os reagentes devem ser avaliados antes de serem introduzidos na rotina através de testes de aceitação, sendo recomendada a avaliação da intensidade de reação dos reagentes de hemácias contra soros de concentração ou título conhecidos e a titulação dos antissoros frente a hemácias padrão. Além de garantir a qualidade inicial, os resultados dos testes de aceitação fornecem parâmetros importantes para a avaliação do desempenho contínuo dos reagentes. É permitido que os testes de aceitação sejam centralizados. A decisão de centralização deve ser baseada em riscos potenciais, entre eles o tempo de trânsito, a estabilidade do reagente a temperatura ambiente, os danos potenciais durante o transporte e o monitoramento das condições de transporte<sup>51</sup>.

A sociedade de transfusão sanguínea da Austrália e Nova Zelândia também preconiza a adesão a um programa de avaliação externa da qualidade para os testes imuno-hematológicos realizados pelo laboratório e verificação recorrente dos reagentes durante o seu uso. Especificamente com relação aos reagentes para determinação da tipagem ABO e RhD, é preconizado o uso regular de controles positivos e negativos durante a realização dos testes, quando há alteração dos lotes e quando o analisador é inicializado, no caso de automação. A frequência na utilização dos controles depende dos padrões de trabalho, dos métodos utilizados e das instruções do fabricante, porém, recomenda-se no mínimo uma vez ao dia, ou todos os dias em que o laboratório realizar a testagem ABO/RhD<sup>51</sup>.

No Brasil, A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Nº 343 de 13 de dezembro de 2002 e posterior RDC ANVISA Nº 153 de 24 de julho de 2004 já estabeleciam aos serviços de hemoterapia a realização de controles da qualidade a cada lote de reagentes imuno-hematológicos recebidos, a verificação periódica destes reagentes durante manipulação e armazenamento, e a participação em ao menos um programa de controle externo da qualidade<sup>52-54</sup>.

Neste cenário, Novaretti *et al.*<sup>40</sup> apresentaram diversos aspectos práticos que envolvem o controle da qualidade e parâmetros a serem avaliados relacionados a inspeção visual, análise das embalagens, análise de bula e testes laboratoriais de controle a serem executados.

Em 2010 e 2011, com a publicação das respectivas RDC ANVISA Nº 57 e Portaria do Ministério da Saúde Nº 1353, foram estabelecidos os parâmetros de avaliação dos reagentes imuno-hematológicos para cada lote e remessa recebidos, a fim de comprovar que os reagentes estão dentro dos padrões de qualidade e que não foram alterados durante o transporte<sup>55,56</sup>.

Entre as características dos reagentes que devem ser avaliadas no recebimento dos mesmos pelos serviços de hemoterapia estão: especificidade e potência. Testes de intensidade de reação, avides e titulação com hemácias e plasmas de diferentes fenótipos são preconizados para as análises destas características. Tais parâmetros permanecem nas vigentes e complementares Portaria de Consolidação Nº 5 de 2017 do Ministério da Saúde e RDC ANVISA Nº 34 de 2014<sup>6,57</sup>.

A potência configura a capacidade do reagente produzir a reação quando entra em contato com o respectivo antígeno/anticorpo. A especificidade é a característica inerente do reagente que o torna capaz de reconhecer apenas o respectivo antígeno/anticorpo. O teste de avides avalia a afinidade dos anticorpos pelos antígenos por meio da medida da velocidade de reação. Já a titulação é um método utilizado para determinar, através do processo de diluição seriada, a concentração dos anticorpos presentes no soro avaliado. Para a determinação da intensidade de reação, os reagentes são testados, conforme as recomendações do fabricante, com suspensões de hemácias/plasmas de diferentes fenótipos e a intensidade de reação é medida de acordo com o grau de aglutinação das hemácias<sup>58,59</sup>.

São preconizados controles em todas as técnicas empregadas, utilizando sistematicamente amostras positivas e negativas durante os procedimentos. Os serviços de hemoterapia brasileiros devem, também, participar de um programa de controle externo da qualidade<sup>6,57</sup>.

O quadro 1 apresenta um resumo dos controles da qualidade preconizados pelas diferentes autoridades técnicas e sociedades científicas para os serviços hemoterápicos da Austrália e Nova Zelândia, do Reino Unido, Europeus e do Brasil.

Quadro 1 - Critérios preconizados pelas diferentes autoridades técnicas e sociedades científicas para os serviços hemoterápicos da Austrália e Nova Zelândia, do Reino Unido, da Europa e do Brasil para garantia da qualidade dos testes de fenotipagem ABO e RhD.

| Documento  | Instituição   | Critérios para Garantia da Qualidade  |
|--|---|---|
| Diretrizes para prática laboratorial imuno-hematológica e transfusional - 1ª edição - 2020 <sup>51</sup> | Sociedade de transfusão sanguínea da Austrália e Nova Zelândia<br>Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion | <p>Sistema de gestão da qualidade;</p> <p>Controle externo da qualidade. Pelo menos 2 rodadas por ano;</p> <p>Testes de aceitação dos reagentes antes do uso: Recomenda-se testar a intensidade de reação dos reagentes de hemácias contra soros de concentração ou título conhecidos e a titulação dos antissoros frente a hemácias padrão. É permitida a centralização dos testes de aceitação mediante avaliações de risco;</p> <p>Controle interno da qualidade durante o uso: sensíveis e específicos e que reflitam a população testada e executados nas mesmas condições dos testes. Para reagentes de fenotipagem ABO/RhD: uso regular de controles positivos e negativos durante os testes, obrigatório controle a cada mudança de lote ou no mínimo uma vez por dia (quando o teste for realizado).</p> |
| Diretrizes para os serviços de transfusão de sangue do Reino Unido - 8ª edição - 2013 <sup>50</sup>      | Comitê Consultivo Profissional dos Serviços de Transplante de Tecido e de Transfusão Sanguínea do Reino Unido             | <p>Sistema de gestão da qualidade;</p> <p>Controle externo da qualidade;</p> <p>Controle interno da qualidade;</p> <p>Cada novo lote de reagente produzido: Avaliação da performance dos reagentes e da especificidade e potência (titulação) dos antissoros. Fenótipos requeridos para avaliação do anti-A: A1, A2B, Ax, A3, hemácias A de cordão. Fenótipos requeridos para avaliação do anti-B: B, A1B, Bx, B3, Bv, hemácias B de cordão. Fenótipos requeridos para avaliação do anti-D: R1r, R2r, D fraco e fenótipos D parciais. Reagentes de hemácias A1 e B: fenótipo deve ser confirmado em duplicata e o teste de antiglobulina direto deve ser negativo.</p>  |
| Guia para preparação, uso e garantia da qualidade dos  |   | <p>Sistema de gestão da qualidade;</p> <p>Controle externo da qualidade;</p>  |

|   |  |   |
|---|--|---|
| <p>hemocomponentes:<br/>Recomendação N° R(95)15 -<br/>20ª edição - 2020 <sup>44</sup></p>   | <p>Diretoria Europeia para a<br/>qualidade de medicamentos e<br/>assistência médica e<br/>Conselho da Europa</p> | <p>Cada novo lote de reagente deve ser testado com controles positivos e negativos. Os controles positivos para reagentes de detecção de antígenos devem expressar o antígeno de preferência com antígenos em heterozigose.</p> <p>Controle interno da qualidade durante o uso: A frequência depende da técnica empregada, devendo ser realizado pelo menos a cada bateria de testes nas rotinas automatizadas ou pelo menos uma vez por dia, desde que os mesmos lotes sejam utilizados.</p>   |
| <p>Portaria de Consolidação nº 5<br/>de 28 de setembro de 2017.<br/>Consolidação das normas<br/>sobre as ações e os serviços<br/>do Sistema Único de Saúde <sup>6</sup></p> | <p>Ministério da Saúde - Brasil</p>  | <p>Sistema de gestão da qualidade;</p> <p>Controle externo da qualidade;</p> <p>Testes de aceitação dos reagentes antes do uso: a cada lote e remessa recebida com testes de potência (intensidade de reação, titulação e avidéz) e especificidade (intensidade de reação). Fenótipos requeridos para avaliação do anti-A: A1, A2, A1B, A2B. Fenótipos requeridos para avaliação do anti-B: B, A1B. Fenótipos requeridos para avaliação do anti-D: R0r, R1r, R2r. Reagentes de hemácias A1 e B: testar com plasmas B e A, respectivamente, e AB.</p> <p>Controle interno da qualidade durante o uso: Verificação periódica durante o uso, conforme protocolo do serviço, controle das técnicas empregadas com uso sistemático de padrões positivos e negativos.</p> |

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A evolução da hemoterapia pode ser observada pelo desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas e reagentes empregados nos testes laboratoriais, pela constante descoberta de novos antígenos e sistema de grupos sanguíneos e até das políticas transfusionais. A introdução dos soros monoclonais na rotina da imuno-hematologia proporcionou a realização de exames com reagentes mais potentes e específicos e que podem ser produzidos em quantidade adequada para suprir a demanda dos serviços. No entanto, são escassos os estudos sobre a qualidade dos reagentes imuno-hematológicos e o acesso às regulações equivalentes de outros países para garantia da qualidade e segurança transfusional.

Esta revisão demonstrou que os mais diferentes órgãos regulamentadores e diretivas estabelecem aos produtores e usuários de reagentes políticas de boas práticas e normas e critérios de aceitação para avaliação de desempenho e controle da qualidade de reagentes para determinação de grupos sanguíneos. A implementação de um sistema de gestão da qualidade, com controles internos e externos da qualidade são preconizados aos serviços de hemoterapia brasileiros, europeus, britânicos, australianos e neozelandeses. Neste contexto, observa-se a robustez da legislação brasileira em relação à garantia da qualidade dos exames imuno-hematológicos, sendo comparável à dos demais países desenvolvidos.

## REFERÊNCIAS

1. Daniels G. Human blood groups. 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2013.
2. International Society of Blood Transfusion (org.). Working Party: Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology [internet]. ISBT; 2021 [citado em 04 abr. 2022]. Disponível em: <https://www.isbtweb.org/isbt-working-parties/rcibgt.html>
3. Harmening DM. Modern blood banking and transfusion practices. 5th ed. Filadélfia: F.A. Davis Company; 2005.
4. Oliveira MBSC, Ribeiro FC, Vizzoni AG, organizadores. Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; 2013.
5. Klein HG, Anstee DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. 12th ed. Chichester: Wiley-Blackwell; 2014.
6. Ministério da Saúde (BR). Portaria de consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços do Sistema Único de Saúde [internet]. Brasil: Ministério da Saúde; 2017 [citado em 02 out 2019]. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida----o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>
7. Dias VS, Barquette FRS, Bello AR. Padronização da qualidade: alinhando melhorias contínuas nos laboratórios de análises clínicas. RBAC. 2017;49(2):64-169.
8. Pasquini NC. Implantação de sistema de qualidade (PALC) em laboratório clínico: Um estudo de caso. Revista Tecnológica da Fatec Americana. 2018;06(1):82-94.
9. Rahfeld P, Withers SG. Toward universal donor blood: enzymatic conversion of A and B to O type. J Biol Chem. 2020;295(2):325-334.
10. Rocha CG, Dantas FLR. A Importância do Status Secretor dos Glicogenados ABH na Análise de Propensão do Paciente a Algumas Doenças. Braz. J. Hea. Rev. 2020;3(5):15109-24. <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/18735>
11. Quraishy N, Sapatnekar S. Advances in blood typing. Adv Clin Chem. 2016; 77:221-269.
12. Person RDM, Arnoni CP, Muniz JG, Vendrame TAP, Latini FRM, Cortez AJP, *et al.* Serologic strategy in detecting RHD altered alleles in Brazilian blood donors. Hematol. Transfus. Cell Ther. 2020;42(4):365-372.
13. Vege S, Westhoff CM. Rh and RhAG blood group systems. In: Shaz BH, Hillyes CD, Gil MR (org.). Transfusion medicine and hemostasis. 3rd ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2019. p. 149-155.
14. Batissoco AC, Novaretti MCZ. Aspectos moleculares do sistema sanguíneo ABO. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2003;1(25):47-58.

15. Mujahid A, Dickert F. Blood group typing: from classical strategies to the application of synthetic antibodies generated by molecular imprinting. *Sensors*. 2015;16(1):51.
16. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975;256(5517):495-497.
17. Voak D. Monoclonal antibodies as blood grouping reagents. *Baillieres Clin Haematol*. 1990;3(2):219-242.
18. Majdic O, Knapp W, Vetterkain M, Mayy WR, Speissar P. Hybridomas secreting monoclonal antibodies to human group A erythrocytes. *Immunobiology*. 1979;156:226-227.
19. Voak D, Sacks S, Alderson T, Takei F, Lennox E, Jarvis J, *et al*. Monoclonal anti-A from a hybrid-myeloma: evaluation as a blood grouping reagent. *Vox Sang*. 1980;39(3):134-140.
20. Edelman L, Rouger P, Doinel C, Garchon H, Bach JF, Reviron J, Salmon C. Thermodynamic and immunological properties of a monoclonal antibody to human blood group A. *Immunology*. 1981;44(3):549-554.
21. Sacks SH, Lennox ES. Monoclonal anti-B as a new blood-typing reagent. *Vox Sang*. 1981;40(2):99-104.
22. Bundle DR, Gidney MA, Kassam N, Rahman AF. Hybridomas specific for carbohydrates: synthetic human blood group antigens for the production, selection and characterization of monoclonal typing reagents. *J Immunol* 1982;129(2):678-682.
23. Barrie EK, Fraser RH, Munro AC, Williamson AR, Hamilton EA, Mitchell R. Monoclonal anti-B produced by the immunization of mice with soluble salivary glycoproteins. *Eur J Immunogenet*. 1983; 10(1):41-44.
24. Rouger P, Edelman L, Doinel C, Reviron J, Salmon C, Bach JF. Study of blood group B antigen with a specific monoclonal antibody (anti-B, b-183). *Immunology*, 1983;49(1):77-82.
25. Voak D, Lennox E, Sacks S, Milstein C, Darnborough J. Monoclonal anti-A and anti-B: development as cost-effective reagents. *Med. Lab. Sci*. 1982;39(2):109-122.
26. Messeter L, Brodin T, Chester MA, Lowh B, Lundblad A. Mouse monoclonal antibodies with anti-A, anti-B and anti-A,B specificities; some superior to human polyclonal ABO reagents. *Vox Sang*. 1984;46(4):185-194.
27. Fletcher A, Harbour C, Zwart R. Monoclonal antibodies specific for blood groups A and B. *Aust J Exp Biol Med Sci*. 1984;62(4):421-428.
28. Crawford DH, Barlow MJ, Harrison JF, Winger L, Huehns ER. Production of human antibody to Rhesus D antigen. *Lancet*. 1983;321(8321):386-388.
29. Doyle A, Jones TJ, Bidwell JL, Bradley BA. *In vitro* development of human monoclonal antibody-secreting plasmacytomas. *Hum Immunol*. 1985;13(3):199-209.



30. Thompson KM, Melamed MD, Eagle K, Gorick BD, Gibson T, Holburn AM, *et al.* Production of human monoclonal IgG and IgM antibodies with anti-D rhesus specificity using heterohybridomas. *Immunology*. 1986;58(1):157-160.
31. McGowan A, Tod A, Chirnside A, Green C, McColl K, Moore S, *et al.* Stability of murine monoclonal anti-A, anti-B and anti-A,B ABO grouping reagents and a multi-center evaluation of their performance in routine use. *Vox Sang*. 1989;56(2):122-130.
32. Voak D. Monoclonal blood group antibodies. *Beirt Infusionsther*. 1989;24:200-213.
33. Odeigah PG. Monoclonal antibodies in ABO serology: an evaluation. *East Afr Med J*. 1989;66(11):764-768.
34. Sonneborn HH, Dahr W, Helmbold W, Kasulke D. Monoclonal antibodies in blood group serology. Part 1: Technique of production, ABO and Lewis system. *InfusionstherTransfusionsmed*. 1993;20(6):328-335.
35. Okubo Y. Reactivity of monoclonal antibodies as blood grouping reagentes. *Nihon rinsho*. 1997;55(9):2340-2346.
36. Strobel E. Comparison of monoclonal and polyclonal anti-P1 reagents. *Clin Lab*. 2001;47(5-6):249-255.
37. Barros C, Otta M, Wakim VL, Zaqueroni M, Júnior WB, Castilho L. Avaliação de reagentes anti-D na detecção dos antígenos D fraco e D parcial. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2006; 28(4):269-274.
38. Kulkarni SS, Vasantha K, Gupte SC, Mohanty D, Ghosh K. Potential of commercial anti-D reagents in the identification of partial D variants in Indian population. *Indian J Med Res*. 2007;125(5):641-644.
39. Vuk T, Qiu Y, Bust L, Strengers P, Seidl C. Quality monitoring and risk management in blood transfusion services. *ISBT Sci Ser*. 2018;13(3):284-289.
40. Novaretti MCZ, Bueno VJ, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DAF. Controle de qualidade interno de reagentes em imunohematologia - aspectos práticos. *Rev. Bras. Hematol Hemoter*. 2002;24(4):270-85.
41. Council of Europe. European Treaty Series – N° 39: European agreement on the exchanges of blood-grouping reagents [internet]. Strasbourg: Council of Europe; 1962 [citado em 02 jun 2022] Disponível em: <https://rm.coe.int/168006b646>
42. Council of Europe. European Treaty Series – N° 39: European agreement on the exchanges of blood-grouping reagents: protocol to the agreement [internet]. Strasbourg: Council of Europe; 1962 [citado em 02 jun 2022]. Disponível em: <https://rm.coe.int/168006b661>
43. Council of Europe. Committee of ministers. Recommendation No. R (95) 15, of 12 October 1995. On the preparation, use and quality assurance of blood components [internet]. Council of Europe; 1995 [citado em 25 jun 2021]. Disponível em: <https://ekea.gr/wp-content/uploads/Rec9515-Preperation-use-and-quality-assurance-of-blood-components.pdf>

44. Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components: Recommendation No. R (95) 15 [internet]. 20th ed. Strasbourg: European Directorate for the Quality of medicines & healthcare of the Council of Europe (EDQM); 2020 [citado em 02 jun 2022]. Disponível em: <https://www.quotidianosanita.it/allegati/allegato8291904.pdf>
45. European Union. Directive n° 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council, of 27 January 2003. Setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components and amending Directive 2001/83/EC [internet]. European Union; 2003 [citado em 25 jun 2021]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:033:0030:0040:EN:PDF>
46. European Union. Commission Directive n° 2005/62/EC, of 30 September 2005. Implementing Directive 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council as regards community standards and specifications relating to a quality system for blood establishments [internet]. European Union; 2005 [citado em 25 jun 2021]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005L0062&from=EN>
47. European Union. Council Directive 93/42/EEC, of June 1993. Concerning medical devices [internet]. European Union; 1993 [citado em 25 jun. 2021]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31993L0042&from=PT>
48. European Union. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council, of 27 October 1998. On *in vitro* diagnostic medical devices [internet]. European Union; 1998 [citado em 25 jun 2021]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31998L0079&from=PT>
49. European Union. Commission Decision no 2009/886/EC, of 27 November 2009. Amending Decision 2002/364/EC on common technical specifications for *in vitro* diagnostic medical devices [internet]. European Union; 2009 [citado em 15 jul. 2021]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:318:0025:0040:EN:PDF>
50. Joint United Kingdom Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom [internet]. 8th ed. Londres: TSO; 2013 [citado em 02 jun 2022]. Disponível em: <https://www.transfusionguidelines.org/red-book>
51. Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion Ltd. Guidelines for transfusion and immunohaematology laboratory practice [internet]. 1st ed. Sydney: ANZBST; 2020 [citado em 02 jun 2022]. Disponível em: [https://anzsbt.org.au/wp-content/uploads/2021/04/Guideline\\_-for\\_Transfusion\\_and\\_Immunohaematology\\_Laboratory\\_Practice\\_FINAL\\_Published\\_20210426.pdf](https://anzsbt.org.au/wp-content/uploads/2021/04/Guideline_-for_Transfusion_and_Immunohaematology_Laboratory_Practice_FINAL_Published_20210426.pdf)
52. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). RDC n° 343, de 13 de dezembro de 2002. Regulamento técnico para a obtenção, testagem, processamento e controle de qualidade de sangue e hemocomponentes para uso humano [internet]. Brasil: ANVISA; 2002 [citado em 02 out 2019]. Disponível em [http://www.aep.org.br/doc/resolucao\\_rdc\\_343\\_de\\_13\\_de\\_dezembro\\_de\\_2002.pdf](http://www.aep.org.br/doc/resolucao_rdc_343_de_13_de_dezembro_de_2002.pdf)

53. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). RDC nº 153, de 14 de junho de 2004. Determina o regulamento técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea [internet]. Brasil: ANVISA; 2004 [citado em 02 out 2019]. Disponível em [http://www.sbpc.org.br/upload/noticias\\_gerais/320100416113458.pdf](http://www.sbpc.org.br/upload/noticias_gerais/320100416113458.pdf)
54. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Boletim do programa de avaliação externa da qualidade em serviços de hemoterapia [internet]. Brasil: ANVISA; 2009 [citado em 01 out 2019]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/4048533/5235251/1%C2%BA+Boletim+do+Programa+AEQ/ac40dd7b-1bec-4c07-9615-dd453d7e8a69>
55. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). RDC nº 57, de 16 de dezembro de 2010. Determina o regulamento sanitário para serviços que desenvolvem atividades relacionadas ao ciclo produtivo do sangue humano e componentes e procedimentos transfusionais [internet]. Brasil: ANVISA; 2010 [citado em 02 out 2019]. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/anexo/anexo\\_res0057\\_16\\_12\\_2010.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/anexo/anexo_res0057_16_12_2010.pdf)
56. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº 1353, de 13 de junho de 2011. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos [internet]. Brasil: ANVISA; 2011 [citado em 02 out 2019]. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt1353\\_13\\_06\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt1353_13_06_2011.html)
57. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). RDC nº 34, de 11 de junho de 2014. Dispõe sobre as boas práticas no ciclo do sangue [internet]. Brasil: ANVISA; 2014 [citado em 07 out 2019]. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867975/%281%29RDC\\_34\\_2014\\_COMP.pdf/dd1d629-50a5-4c5b-a3e0-db9ab782f44a](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867975/%281%29RDC_34_2014_COMP.pdf/dd1d629-50a5-4c5b-a3e0-db9ab782f44a)
58. Judd WJ, Johnson ST, Storry JR. Judd's Methods in Immunohematology. 3rd ed. Bethesda: AABB Press; 2008.
59. Ministério da Saúde (BR). Imuno-hematologia laboratorial [internet]. 1st ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2014 [citado em 02 jun 2021]. Disponível em [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno\\_hematologia\\_laboratorial.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf)