

MANUAL DE HEMOCENTROS E BANCOS DE SANGUE



PNCQ[®]
Programa Nacional
de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

PRO-IN

Programa de Controle
Interno da Qualidade
do PNCQ



Em diversos volumes e vários níveis!
A maioria é liofilizada, aumentando
a sua estabilidade!

Acesse o site e faça seu pedido:
pncq.org.br/grupo_produto/pro-in



Confira algumas das amostras disponíveis:

Anti-HBc, HBsAg e
HBV biologia molecular

Anti-HCV

Anti-HIV 1/2,
Anti-HTLV

ASO

BHCG

Bioquímica

Chagas

Coagulograma

Coombs direto
e indireto

COVID-19
anticorpos (IgG/IgM),
antígeno (Ag) e biologia
molecular

D-dímero

Dengue - IgG/IgM

Fator reumatóide

Fatores da
coagulação

Gasometria

Grupo sanguíneo
e Fator RH

Hematologia

Hemoglobina glicada e
Hemoglobina HEMOCUE

Hormônios

Leptospirose

Marcadores
cardíacos

Microalbuminúria

Procalcitonina

Proteína C
Reativa (PCR)

Rotavírus

Sangue oculto

Sífilis VDRL

Toxicologia - voláteis
em urina e metais em
sangue total, soro e urina

Toxoplasmose
IgG/IgM

Urinálise tira reagente,
análise bioquímica e
automação

Vitamina D

Zika vírus - IgG

Pro-IN em Tempo Real: Ferramenta **GRATUITA** para os **laboratórios**
que adquirem amostras do **PRO-IN** e auxilia na elaboração e na
avaliação de seu controle interno, com:

- ➔ Gráfico de Levey Jennings automático; ➔ Comparação com laboratórios que utilizam mesma metodologia;
- ➔ Composição de Valores próprios, com Média, DP e CV; ➔ Regras de Westgard personalizadas.

Acesse pelo **QR Code**, na etiqueta dos
frascos, as instruções de reconstituição,
armazenamento, estabilidade, valores
médios e desvio padrão.



MANUAL DE HEMOCENTROS E BANCOS DE SANGUE

3ª Edição



Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas



ÍNDICE

1.	Introdução	01
2.	Descrição do programa	02
3.	Procedimentos para o envio de resultados pela internet	09
4.	Avaliação dos resultados	13
5.	Como participar do programa	17
6.	Identificação dos métodos	18
7.	Como comprovar sua participação no PNCQ	19
8.	Descrição dos programas externos de controle de qualidade	19
9.	Cronograma dos programas de controle externo de qualidade em sorologia	21
10.	Responsabilidades do PNCQ	23
11.	Responsabilidades dos serviços de hemoterapia participantes	24
12.	Multipainel	24
13.	Caracterização das amostras-controle	25
14.	Interpretação e análise de resultados	27
15.	Erros mais frequentes observados no desenvolvimento dos programas externos de controle de qualidade	29
16.	Considerações finais	31
17.	Programa de controle interno de qualidade em sorologia	32
18.	Características das amostras-controle	33

19.	Aplicação das amostras-controle na rotina diária do laboratório	33
20.	Interpretação dos gráficos de Levey-Jennings	38
21.	Sistemas de leitura	39
22.	Armazenagem dos soros reagentes	40
23.	Uso dos soros-controle não reagentes	40
24.	Índice de reatividade dos soros	41
25.	Mudanças de lote dos kits diagnósticos	41
26.	Métodos de floculação, hemoaglutinação (HA) e imunofluorescência (IFI)	42
27.	Ferramentas da qualidade	43
28.	PRO-IN em Tempo Real	43
29.	Painéis de performance	43
30.	Programa lote a lote	44
31.	Painéis específicos	46
32.	Programas de educação continuada em sorologia	47
33.	Bibliografia recomendada	48

1. INTRODUÇÃO

Considerando:

A necessidade dos Hemocentros e Bancos de Sangue de atender aos padrões exigidos pelas normas nacionais e internacionais vigentes, que definem regulamentos técnicos para procedimentos hemoterápicos;

A possibilidade de utilização da experiência comprovada do PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE – PNCQ, em preparar amostras-controle para sorologia a partir de plasmas de Bancos de Sangue, e amostras-controle para Imuno-hematologia;

O PNCQ administra o maior e melhor programa de Ensaio de Proficiência do País, para mais de 6200 laboratórios clínicos, privados e estatais;

O PNCQ já avalia o desempenho dos testes sorológicos para mais de 120 Hemocentros e Serviços de Hemoterapia no País e no Exterior, fornecendo amostras-controle liofilizadas para o Controle Interno e Externo da Qualidade (Ensaio de Proficiência); e

As avaliações de desempenho são disponibilizadas pela Internet em 48 horas, após a data limite de entrega dos resultados, mediante senha, garantindo o sigilo de seus resultados.

Oferecemos ao seu serviço o nosso Programa de Controle de Qualidade ou Ensaio de Proficiência para os Hemocentros e Serviços de Hemoterapia, a seguir especificados:

- a. Programas de Controle de Qualidade Externo (testes de proficiência) para a triagem sorológica em doadores de sangue;
- b. Programas de Controle de Qualidade Interno em sorologia para os parâmetros de uso obrigatório na triagem de doadores de sangue;
- c. Programas de Controle de Qualidade Externo para a triagem molecular (NAT) em doadores de sangue;
- d. Programas de Controle de Qualidade Interno em provas moleculares (NAT) para RNA-HIV, DNA-HBV, RNA-HCV;
- e. Amostras controle para o Controle Externo em Imuno-hematologia;
- f. Programa de hemocomponentes;
- g. Programa de Educação Continuada em Sorologia.

2. DESCRIÇÃO DO PROGRAMA

2.1 CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO EM SOROLOGIA

Para o Controle de Qualidade Externo em Bancos de Sangue ou Hemocentros, o PNCQ fornece trimestralmente 18 (dezoito) frascos com amostras de soros liofilizadas, com

reatividades para todos os parâmetros da triagem obrigatória em doadores de sangue.

O participante processará, todos os meses, 6 (seis) frascos identificados numericamente e por cor das etiquetas e envia os resultados, através do site do Programa Nacional de Controle de Qualidade (www.pncq.org.br), onde passarão por um processo de análise estatística de avaliação por consenso.

Mensalmente será gerada uma avaliação individual, confidencial para cada participante e também um relatório geral contendo todas as informações geradas no programa ao que todos os participantes poderão ter acesso.

2.2 AMOSTRAS CONTROLE

As amostras-controle fornecidas são preparadas a partir de unidades de plasmas humanos que foram descartadas na triagem sorológica em serviços de hemoterapia por terem apresentado reatividade para pelo menos um dos parâmetros de triagem sorológica obrigatória. Essas unidades foram transformadas em soro, caracterizadas e liofilizadas antes de serem distribuídas aos participantes do Programa na forma de painéis cegos de 6 amostras. Os painéis utilizados possuem amostras com reatividade para os parâmetros que constam na legislação vigente para a triagem sorológica/molecular de doadores de sangue:

- a. Anti-HIV 1 + 2;

- b. Anti-HTLV I/II;
- c. Ag Hbs;
- d. Anti-HBc total;
- e. Anti-HCV;
- f. Anti-*T. cruzi* (Chagas);
- g. Sífilis.

2.3 VALIDAÇÃO DAS AMOSTRAS-CONTROLE PARA OS TESTES SOROLÓGICOS

As amostras-controle preparadas são reagentes ou não reagentes. A validação ou caracterização das amostras-controle é realizada em nosso Laboratório de Referência. A caracterização inclui o uso de testes sorológicos de diferentes procedências e metodologias e sempre que possível com testes confirmatórios.

2.4 EMBALAGEM DAS AMOSTRAS-CONTROLE

As amostras-controle são envasadas e liofilizadas em frascos de vidro, estéreis e hermeticamente fechados. Para a remessa por correio, estes frascos são acondicionados em caixa de plástico, colocada dentro de uma caixa de isopor, protegidas por outra de papelão, de acordo com a legislação.

Parâmetro	Teste	Metodologia	Confirmatório
HIV	Anti-HIV 1+2+“O” Ag p24 + anti-HIV	CLIA / E-CLIA	WB
HTLV	Anti-HTLV I/II	CLIA / E-CLIA	WB
HBV	Ag HBs Anti-HBc (total)	CLIA / E-CLIA	
HCV	Anti-HCV	CLIA / E-CLIA	
Chagas	Anti- <i>T.cruzi</i>	CLIA / E-CLIA	
Sífilis	Anti- <i>T.pallidum</i> Não Treponêmico	CLIA / E-CLIA RPR	

Tabela 1 Caracterização das amostras controle usadas nos programas de controle de qualidade externo.

2.5 REMESSA DAS AMOSTRAS-CONTROLE

As amostras-controle, reagentes e não reagentes, para os controles internos e externos, são enviadas trimestralmente aos participantes, de acordo com o cronograma do Programa Nacional de Controle de Qualidade. Os formulários destinados à transcrição dos resultados estão disponíveis na Internet e podem ser impressos.

2.6 TESTE DAS AMOSTRAS-CONTROLE

O Serviço de Hemoterapia ou Banco de Sangue deve analisar mensalmente os analitos sorológicos em 6 (seis) amostras de soro, identificadas com o número do lote e de acordo com os

formulários disponíveis na página do PNCQ, na Internet.

Os dados resultantes das determinações devem ser enviados ao Programa Nacional de Controle de Qualidade, via Internet, na página Web do PNCQ até a data limite da devolução estabelecida, para fins de avaliação. A data estabelecida para devolução dos resultados será sempre até o dia 5 (cinco) de cada mês, independentemente de ser sábado, domingo ou feriado, para que os participantes recebam sua avaliação mensal no prazo estabelecido.

OBSERVAÇÃO

O importante em controle externo é conhecer as não-conformidades o mais breve possível, para a aplicação das ações corretivas pertinentes. Portanto, o participante deve cumprir a data limite de entrega de resultados, o que irá permitir ser avaliado junto com os resultados dos outros participantes e conhecer o desempenho de todos os equipamentos e reagentes utilizados.

2.7 CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO EM SOROLOGIA

A implantação do Controle da Qualidade Interno, sua avaliação e ações corretivas, se necessárias, é de total responsabilidade da equipe técnica do Serviço de Hemoterapia. O Programa Nacional de Controle de Qualidade fornece somente as amostras-controle reagentes e não reagentes, para que os

participantes implantem seu próprio controle interno. Entretanto, disponibiliza o PRO-IN EM TEMPO REAL, gratuitamente, para o participante elaborar o Gráfico de Levey-Jennings, através da Internet.

2.8 CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO E INTERNO PARA TRIAGEM MOLECULAR (NAT) EM DOADORES DE SANGUE

O NAT é uma técnica implementada nos hemocentros públicos e privados na triagem dos doadores cujo objetivo é a detecção de agentes infecciosos, diminuição do período de janela imunológica e redução do risco de transmissão de HIV e Hepatites por transfusões de hemocomponentes.

O objetivo do programa externo de qualidade para o NAT é a possibilidade de avaliação do desempenho do laboratório na obtenção de resultados fidedignos e segurança na detecção de fatores que acarretem prejuízos ou afetem a qualidade do serviço oferecido.

O programa de controle externo do PNCQ consiste no fornecimento trimestral de painéis de amostras-controle liofilizadas para o teste de detecção de ácidos nucleicos dos agentes infecciosos de HIV, HCV e HBV.

2.9 CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO E INTERNO EM IMUNOHEMATOLOGIA

A Imunohematologia estuda os antígenos presentes nas hemácias, seus anticorpos correspondentes e sua importância clínica no contexto das doenças hematológicas e das reações transfusionais. Os testes imunohematológicos realizados no doador e receptor são críticos para a realização de uma transfusão segura. A fim de garantir um procedimento que confira uma maior confiabilidade aos resultados obtidos é de fundamental relevância a participação em programas de ensaio de proficiência. O PNCQ oferece um Programa de Controle de Qualidade Externo em Imunohematologia em Serviços de Hemoterapia cujo principal objetivo é auxiliar o laboratório a desempenhar os testes e procedimentos com confiabilidade nos processos de análises manuais e automatizadas.

- a. Sangue total para determinação do Grupo Sanguíneo e Fator Rh;
- b. Prova Reversa e teste Direto da Antiglobulina (Coombs Direto);
- c. Soro para determinação qualitativa do PAI (Prova de Anticorpos Irregulares);
- d. Identificação de Anticorpo irregular (IAI);
- e. Fenótipo Kell; e
- f. Prova Cruzada.

OBSERVAÇÃO

As determinações para os testes de Coombs devem ser realizadas trimestralmente, imediatamente após o recebimento das amostras-controle.

3. PROCEDIMENTOS PARA O ENVIO DE RESULTADOS PELA INTERNET

O Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ só recebe os resultados através do acesso de nosso “site” na Internet. Este procedimento, implantado em 2003, racionalizou o processo de recebimento dos resultados dos Serviços de Hemoterapia, reduzindo o prazo para disponibilização das avaliações, permitindo aos nossos clientes, com bastante antecedência, conhecer o desempenho e iniciar qualquer ação corretiva que se fizer necessária.

O Serviço de Hemoterapia, se necessitar, pode imprimir suas planilhas para serem utilizadas em bancada, pois elas não mais serão enviadas em papel. Para fins de registro, após o lançamento dos resultados, via Internet, o comprovante de envio deve ser salvo em modo digital ou impresso, para a efetivação de sua autenticidade. Normalmente, decorridas 48 horas após a data limite para envio dos resultados, estabelecida pelo PNCQ, sua avaliação estará disponibilizada na Internet, e também poderá ser impressa em seu local de serviço.

3.1 ITENS NECESSÁRIOS

- a. Existir um provedor da Internet em seu município;
- b. Possuir um computador com a seguinte configuração mínima:
 - Computador Celeron ou compatível;
 - Sistema Operacional Windows 7 ou superior;
 - Navegador Internet atualizado;
 - Impressora a jato de tinta ou laser (opcional).

3.2 COMO ACESSAR O SITE DO PNCQ PARA LANÇAR SEUS RESULTADOS

- a. Acessar o “site” do PNCQ digitando www.pncq.org.br;
- b. Clicar na Área do Participante para Laboratórios Participantes;
- c. Digitar seu número de participante, sua senha e clicar no botão Entrar. Caso não possua uma senha cadastrada, siga as instruções que aparecerão logo abaixo na tela;
- d. Para preencher seus resultados, clicar sobre a lupa ao lado do lote que tenha a situação definida como aberta;
- e. Aparecerão na tela vários botões, com os seus programas de especialidades;
- f. Escolher o grupo a ser respondido, clicando sobre ele;
- g. Nesta fase, se desejar imprimir a planilha em branco, clicar no local adequado. A impressão é individual e por grupo;
- h. As instruções para preencher cada grupo e as instruções de

manuseio de material estão contidas dentro do item Instruções Gerais;

- i. Para visualizar as avaliações de lotes anteriores basta clicar sobre a lupa ao lado do lote que tenha a situação definida como avaliado, selecionar o grupo desejado e imprimir. Lembre-se de configurar sua impressora com o formato do papel para paisagem, para uma visualização adequada da impressão de sua avaliação;
- j. Após dois dias úteis a partir da data limite de entrega, os resultados enviados pela Internet já estão avaliados e disponíveis no “site” para visualização e impressão;
- k. Para acessar a avaliação, basta clicar no botão retangular que aparecerá na tela nomeado como “baixar avaliação completa”, onde será feito o download de todos os arquivos em PDF de sua avaliação ou selecionar pontualmente cada grupo de cada programa que deseja imprimir.

3.3 PROBLEMAS MAIS COMUNS NO ACESSO À INTERNET

3.3.1 DEMORA DE ACESSO AO “SITE” DO PNCQ

- a. O prazo para o envio dos resultados pela Internet é até o dia 5 (cinco) de cada mês, independente de finais de semana ou feriados. Porém, à medida que esta data se aproxima e também porque muitos participantes deixam para enviar no último dia, o tráfego em nossos servidores aumenta. Devido a este aumento de tráfego, aliados ao tipo da conexão, alguns participantes não conseguem fazer com rapidez o envio de seus resultados, e às vezes, nem acessar seus analitos;

- b. Para evitar este contratempo, basta fazer o envio de seus resultados tão logo o material seja recebido e analisado. Não é necessário esperar o último dia do prazo para fazer o envio;
- c. Os resultados podem ser enviados de forma gradual e o sistema estará disponível até a data limite para adição ou correção de qualquer resultado e, após a análise de todos os analitos, basta clicar no botão “Enviar para Análise do PNCQ”;
- d. Caso haja algum problema em acessar a página do PNCQ, favor verificar no seu computador as partes de conexões e, junto ao seu TI, se as configurações estão corretas.

3.3.2 CASO VOCÊ TENHA PROBLEMA COM O NAVEGADOR, VERIFICAR:

- a. Se seu navegador (browser) está atualizado.

3.3.3 ESQUECIMENTO DA SUA SENHA DE ACESSO

- a. Nossos atendentes não estão autorizados a informar sua senha por telefone ou e-mail, visto que a maneira mais segura para seu acesso é através de seu endereço de e-mail;
- b. Para isto, acessar o site do PNCQ, clicar na Área do Participante para Laboratórios Participantes e clicar no botão Esqueci a Senha;
- c. Em seguida, digitar seu número de participante e CNPJ, e clicar no botão Enviar;

- d. Sua senha será enviada automaticamente para o endereço de e-mail cadastrado. Portanto, lembre-se de manter seu e-mail sempre atualizado.

3.3.4 A IMPORTÂNCIA DO SEU E-MAIL ATUALIZADO

- a. Mantenha seu endereço de e-mail constantemente atualizado, pois ele é o caminho mais rápido para entrarmos em contato;
- b. Para isto, basta acessar o site do PNCQ, clicar na Área para Laboratórios Participantes, digitar seu número de participante e sua senha e clicar no botão Entrar;
- c. Clicar sobre o botão Atualizar Cadastro;
- d. Alterar seu endereço de e-mail comercial ou de cobrança, bem como atualizar seu número de telefone, se for o caso.
- e. Ao usar e-mail para enviar mensagem para o PNCQ, identificar sempre seu laboratório através de seu número de participante, existente no Contrato com o PNCQ, pois isto facilita e agiliza a resposta ao mesmo.

4. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

É realizada mensalmente para os participantes que remetem seus resultados até a data de devolução determinada pelo programa até o dia 5 (cinco) de cada mês posterior ao envio das amostras.

Esta avaliação da qualidade analítica do participante é realizada a partir dos seguintes itens básicos:

1. Os analitos são agrupados por métodos ou por equipamentos, conforme o caso;
2. O resultado qualitativo do analito é obtido por consenso das determinações e confirmado pelos resultados dos Laboratórios de Referência do PNCQ;
3. O Programa Nacional de Controle de Qualidade, ao receber os resultados, via Internet, providencia os cálculos estatísticos relativos às amostras e emite o relatório de avaliação geral, que é novamente avaliado e validado por um Assessor, o qual libera a avaliação para que o Centro de Processamento de Dados (CPD) emita os relatórios individuais dos participantes, disponíveis em nossa página da Web;
4. Quando na avaliação de um analito o resultado de consenso não alcançar uma maioria de 75% (setenta e cinco por cento) dos participantes, a Coordenadoria pode invalidar a avaliação ou validar de acordo com os resultados dos Laboratórios de Referência.

4.1 REMESSA DOS RELATÓRIOS DE AVALIAÇÃO PELO PNCQ

Depois da emissão dos relatórios individuais, o CPD disponibiliza os mesmos na Internet para conhecimento dos

participantes. Esta avaliação estará disponível para os participantes em até 48 horas depois da data limite de entrega.

4.2 UTILIZAÇÃO DO RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO

No relatório de avaliação mensal ou trimestral, os Serviços de Hemoterapia ou Bancos de Sangue têm a possibilidade de verificar seu desempenho, assim como o desempenho estatístico dos outros participantes, dos equipamentos ou métodos e também dos reagentes utilizados pelo grupo.

4.3 CONCEITOS EMITIDOS PARA VERIFICAÇÃO DO DESEMPENHO

Os conceitos emitidos para avaliação dos resultados dos testes quantitativos são:

- Média \pm 1 DP: “B” = Bom;
- Média \pm 2DP: “A” = Aceitável;
- Média \pm 3DP: “I” = Insuficiente.

Os conceitos de avaliação para os resultados dos testes qualitativos serão:

- “B” para os resultados concordantes;
- “I” para os discordantes.

A avaliação percentual do desempenho, nos relatórios mensais e anuais, é determinada pelo cálculo percentual dos

acertos (B+A) e pelas não-conformidades (I), obtidas durante o período. A partir deste desempenho percentual de acertos e de acordo com as normas do PNCQ em seu sistema de gestão da qualidade, é outorgada uma segunda classificação:

- EXCELENTE: de 100 a 81%;
- BOA: de 80 a 76%;
- REGULAR: de 75 a 65%;
- RUIM: de 64 a 0%.

4.4 DECLARAÇÃO DA AVALIAÇÃO

O desempenho percentual mensal está contido na primeira página do relatório de avaliação se o participante enviou até 70% (setenta por cento) dos programas contratados.

4.5 CERTIFICADO ANUAL DE DESEMPENHO

O Certificado Anual de Desempenho é fornecido aos participantes que devolveram os resultados e foram avaliados em, no mínimo, 11 (onze) rodadas de controle durante o período de um ano de participação, de outubro a setembro.

4.6 DISCORDÂNCIA DE RESULTADOS DAS AVALIAÇÕES

O Serviço de Hemoterapia, ao receber sua avaliação, deve verificar seu desempenho e tomar as providências pertinentes para sanar alguma não conformidade, se houver.

Pode e deve também, sempre que julgar necessário ou sentir-se prejudicado por uma avaliação, solicitar uma revisão, com os argumentos, documentos ou literatura comprobatória.

O PNCQ encaminha essa argumentação a um Assessor Científico para que analise e emita sua opinião. Na avaliação, se favorável ao participante, o relatório será revisto; caso contrário, manter-se-á a avaliação inicial.

O participante será sempre comunicado sobre esta decisão, seja ela favorável ou não. Ao enviar os resultados, emita uma cópia a qual servirá como registro comprobatório do envio e de sua participação.

5. COMO PARTICIPAR DO PROGRAMA

- a. O Serviço de Hemoterapia interessado poderá imprimir do nosso site o contrato ou solicitar por telefone, carta, e-mail, ou pessoalmente na Secretaria ou no estande do PNCQ nos Congressos da SBAC, as informações e o contrato para participar;
- b. Preencher o contrato e o cadastro e remeter para o PNCQ para cadastramento;
- c. Informar no contrato o número de inscrição no CNES e anexar cópia do Alvará Sanitário;
- d. Efetuar o pagamento da taxa de inscrição, constante do

- contrato;
- e. Após a assinatura do contrato de participação e cadastramento, o Serviço de Hemoterapia passará a receber, de acordo com o cronograma de envio de amostra, o KIT CONTROLE PNCQ, contendo as amostras-controle para análise, condizente com o contrato e as especialidades escolhidas, assim como, os boletos bancários para pagamento da mensalidade e despesas de frete;
 - f. O valor da mensalidade do contrato dependerá das especialidades escolhidas pelo Serviço de Hemoterapia, dentro de suas necessidades de controle e de sua complexidade, adicionado do valor do Sedex de envio do Kit.

6. IDENTIFICAÇÃO DOS MÉTODOS

1. O Serviço de Hemoterapia ou Banco de Sangue ao ingressar no PNCQ e acessar o formulário disponível na Internet para o envio dos resultados, deve clicar na seta e informar o método ou equipamento utilizado para os testes laboratoriais e os reagentes;
2. O PNCQ guarda esses métodos nos formulários de resultados, que são personalizados para cada serviço, facilitando a identificação e transcrição durante o registro dos resultados e na inserção dos dados no CPD;
3. Quando houver necessidade de mudança de metodologia

ou reagentes, esta poderá ser feita mediante seleção nos formulários na Internet, na hora de enviar os resultados.

7. COMO COMPROVAR SUA PARTICIPAÇÃO NO PNCQ

1. Pelo relatório mensal da avaliação;
2. Pelo contrato com o PNCQ;
3. Pelo Certificado Anual de Participação.

8. DESCRIÇÃO DOS PROGRAMAS EXTERNOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

8.1 PROGRAMA DE CONTROLE EXTERNO DE QUALIDADE EM SOROLOGIA

Os programas de Controle Externo de Qualidade em Sorologia, que também são chamados de “Programas de Avaliação Externa da Qualidade” ou ensaios de proficiência, correspondem a um procedimento para verificar o desempenho dos laboratórios participantes. Esses programas fornecem informações que conseguem identificar erros nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica nas rotinas dos laboratórios e podem ser considerados como um desafio para verificar se o sistema de gestão da qualidade e os procedimentos de controle interno da qualidade, estão funcionando adequadamente.

Nosso modelo de controle externo de qualidade foi adotado no Brasil desde 1993 e também é adotado e reconhecido pela

Organização Pan-Americana da Saúde (OPS/OMS) desde 1995, para todos os países da América Latina e da Região do Caribe. Cada Banco de Sangue Participante recebe um Multipainel de soros com 18 (dezoito) amostras-controle, bem caracterizadas pelo PNCQ.

Os testes devem ser realizados mensalmente em 6 (seis) amostras-controle identificadas e os resultados enviados pelos participantes são comparados com a caracterização do Multipainel indicada pelo PNCQ. A caracterização de todas as amostras-controle do Multipainel consta no Relatório Final, o qual é disponibilizado na Internet a todos os participantes. A periodicidade para o envio dos Multipainéis é de quatro vezes ao ano, de acordo com o cronograma do PNCQ.

8.2 PROGRAMA DE IMUNO-HEMATOLOGIA

- a. Consiste no envio de amostras-controle, 4 vezes por ano, para controle externo da qualidade Sangue total para determinação do Grupo Sanguíneo e Fator Rh, Prova Reversa e teste Direto da Antiglobulina (Coombs Direto);
- b. Soro para determinação qualitativa do PAI (Prova de Anticorpos Irregulares), Identificação de Anticorpo irregular (IAI), Fenótipo Kell e Prova Cruzada.

8.3 PROGRAMA DE HEMOCOMPONENTES

Consiste no envio das amostras-controle, 4 vezes por ano, para os controles externos de Hemograma Completo (Hematócrito, Hemácias, Leucócitos, Hemoglobina e Plaquetas), Fator VIII e PTT, Hemocultura, Leucócitos residuais, Grau de Hemólise, Proteínas residuais, pH sanguíneo, Hemácias residuais, Plaquetas residuais e Peso.

8.4 PROGRAMA DE NAT – NUCLEIC ACID AMPLIFICATION TECHNOLOGIES

Consiste no fornecimento trimestral de painéis de amostras-controle liofilizadas para o teste de detecção do RNA ou DNA dos agentes infecciosos de HIV, HCV e HBV - Uso obrigatório para triagem de doadores de sangue nos Serviços de Hemoterapia do Brasil.

9. CRONOGRAMA DOS PROGRAMAS DE CONTROLE EXTERNO DE QUALIDADE EM SOROLOGIA

O PNCQ é responsável pela produção e caracterização dos Multipainéis e pela coordenação e gestão dos programas. Os laboratórios participantes devem atender às recomendações do PNCQ no desenvolvimento dos programas.

Inicialmente o PNCQ envia os Multipainéis para todos os Laboratórios Participantes, com instruções detalhadas para o processamento das amostras e para o envio dos resultados pela

Web (www.pncq.org.br). É muito importante que os Laboratórios Participantes tratem as amostras do Multipainel nas mesmas condições de processamento de sua rotina diária.

Os resultados deverão ser enviados dentro do prazo estabelecido pelo PNCQ, informando os valores de leitura de todas as amostras, o valor de corte, a marca e as especificações do kit e dos equipamentos utilizados e a interpretação final dos resultados para cada amostra.

Ao término do prazo estabelecido para envio dos resultados, o PNCQ enviará a avaliação do Multipainel para todos os Serviços de Hemoterapia Participantes e também um Relatório Final que contém todas as informações estatísticas obtidas durante o desenvolvimento do programa:

1. Número de Serviços de Hemoterapia Participantes;
2. Caracterização do Multipainel;
3. Estratégias de dosagens usadas pelos Serviços de Hemoterapia Participantes;
4. RFP (Resultados Falsos Positivos) e RFN (Resultados Falsos Negativos) observados (N, % e distribuição):
 - a. Por parâmetro;
 - b. Por tipo de ensaio;
 - c. Por marca comercial.

O Relatório Final não é um documento confidencial e deve circular entre todas as pessoas envolvidas nos testes e pela gestão

da qualidade do laboratório. Junto com o relatório final, cada Serviço de Hemoterapia Participante recebe um gráfico onde constam as avaliações, por parâmetro, de todos os Serviços de Hemoterapia Participantes (em %).

O PNCQ estabelece, previamente, um critério de avaliação que permite enviar a todos os Serviços de Hemoterapia Participantes um documento onde consta a mesma, por parâmetro. Este sim, é um documento confidencial que se envia especificamente para cada Serviço de Hemoterapia Participante.

É importante levar em consideração que os programas são desenvolvidos com a intenção de cooperar, assegurando a confidencialidade dos resultados individuais de cada um dos Serviços de Hemoterapia Participantes. Por esse motivo o relacionamento entre o PNCQ e cada Serviço de Hemoterapia Participante deve ser o mais próximo e amigável possível. Ao mesmo tempo devemos considerar que, tanto o PNCQ como os Serviços de Hemoterapia Participantes, têm responsabilidades que deverão ser respeitadas para que os programas funcionem adequadamente.

10. RESPONSABILIDADES DO PNCQ

- a. Produzir e caracterizar os painéis de soros;
- b. Organizar e coordenar os programas;
- c. Enviar os Multipainéis aos Serviços de Hemoterapia

- Participantes em condições adequadas que garantam a estabilidade das amostras durante o transporte;
- d. Analisar os dados enviados pelos Serviços de Hemoterapia Participantes;
 - e. Preparar e enviar um relatório final;
 - f. Enviar a caracterização do Multipainel;
 - g. Enviar as avaliações individuais de cada Serviço de Hemoterapia Participante;
 - h. Enviar as avaliações gerais obtidas por consenso de todos os Serviços de Hemoterapia participantes.

11. RESPONSABILIDADES DOS SERVIÇOS DE HEMOTERAPIA PARTICIPANTES

- a. Aderir aos Programas;
- b. Processar as amostras-controle dos programas contratados, como se fossem amostras da rotina diária;
- c. Enviar os resultados ao PNCQ dentro dos prazos estabelecidos, até o dia 5 de cada mês;
- d. Proceder a auto avaliação;
- e. Analisar cuidadosamente o relatório final;
- f. Documentar e tratar todas as não-conformidades, se observadas.

12. MULTIPAINEL

Para a situação específica dos Serviços de Hemoterapia

responsáveis pela avaliação sorológica de doadores de sangue, o maior interesse é verificar o desempenho global dos Serviços de Hemoterapia que executam diariamente os testes de uso obrigatório. Para isso, é recomendado o uso de um painel de soros, com amostras reagentes para todos os parâmetros de uso obrigatório na avaliação e também amostras não reagentes. A esta modalidade de painel de soros, denominamos de Multipainel.

13. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS-CONTROLE

Os testes usados na avaliação sorológica em bancos de sangue são testes qualitativos, ou seja, indicam se o parâmetro investigado está presente ou ausente. Os resultados enviados pelos Serviços de Hemoterapia Participantes serão comparados com a caracterização do Multipainel realizada no PNCQ e por consenso de todos os resultados dos participantes, confirmado pelos laboratórios de referência, gerando um conceito de acordo com seu desempenho.

Por esse motivo, a caracterização do Multipainel é rigorosa usando diversos kits diagnósticos para cada parâmetro e também testes complementares, no sentido de que possa ser usado como referência. Considerando todos os parâmetros da avaliação sorológica de doadores de sangue, a caracterização apresenta um padrão tanto para as amostras reagentes quanto para as não reagentes para todos os parâmetros, a saber:

- Anti-HIV 1 + 2 + “O”;

- Anti-HTLV I/II;
- HBsAg;
- Anti-HBc total;
- Anti-HCV;
- Anti-*T. cruzi* (Chagas);
- Sífilis.

A caracterização é realizada através de diversos testes para cada parâmetro, além de testes complementares, confirmatórios. No caso específico do HIV se utilizam testes anti-HIV1+2, anti-HIV1+2+“O” e teste Combo (Ag/Ac) para evitar resultados discrepantes devido à presença de tipos ou subtipos distintos ou à presença do Ag p24, os quais seriam detectados apenas por certos kits que contivessem as frações antigênicas ou anticorpos específicos.

Para as amostras Anti-HTLV reagentes se utilizam testes com as frações antigênicas correspondentes ao HTLV-I e HTLV-II. Sempre que possível as amostras anti-HIV e anti-HTLV reagentes são confirmadas por testes complementares tipo Western blot e as amostras HBsAg reagentes por um teste confirmatório de neutralização.

As amostras anti-HBc reagentes correspondem às amostras em que está presente o HBsAg ou o anti-HBs, para evitar resultados duvidosos quando o único marcador sorológico é o anti-HBc.

As amostras anti-*T.cruzi* reagentes são caracterizadas por vários testes ELISA/CLIA/e-CLIA (com antígenos recombinantes/lisado parasitário) e por algum teste de hemaglutinação indireta (HAI).

Para as amostras de Sífilis reagentes, a caracterização se faz por meio de testes treponêmicos (ELISA/CLIA/e-CLIA ou TPHA) e não treponêmicos (VDRL e RPR).

Atualmente, os testes mais usados na avaliação sorológica de doadores de sangue são CLIA e e-CLIA. Dessa maneira, o uso dessas metodologias na caracterização final das amostras do Multipainel, enriquece sobremaneira a confiabilidade dos resultados.

Outro aspecto importante, é que as amostras reagentes para determinado(s) parâmetro(s) devem apresentar resultados não reagentes para outros parâmetros, no sentido de evitar resultados falso positivos de leitura próxima ao valor de corte, que poderiam comprometer a avaliação dos Laboratórios Participantes.

14. INTERPRETAÇÃO E ANÁLISE DE RESULTADOS

O programa tem como objetivo avaliar o desempenho dos Laboratórios Participantes. É importante levar em consideração que, no caso dos testes sorológicos utilizados na avaliação de doadores de sangue, os resultados obtidos pelos Laboratórios

Participantes correspondem a um índice (leitura/valor de corte) que será interpretado como reagente ou não reagente. Essa situação é diferente daquela em que os resultados correspondem a um valor numérico que indica a concentração.

Levando em consideração que os resultados dos testes da avaliação sorológica podem fornecer unicamente resultados reagentes ou não reagentes, possíveis falhas nos procedimentos internos dos Laboratórios Participantes podem originar RFP e/ou RFN.

Os RFP ou RFN observados, não devem ser atribuídos exclusivamente à procedência ou às características dos kits diagnósticos utilizados. Esses resultados devem servir como um alerta para a necessidade de revisão de todas as etapas do processo, incluindo equipamentos, pessoal e sistema de gestão da qualidade.

Comparando os valores dos índices reportados por diversos Laboratórios Participantes ou com a própria caracterização do Multipainel, utilizando a mesma metodologia, o valor numérico desse índice poderá apresentar variações significativas, que não correspondem à concentração do parâmetro, mas na maioria dos casos estão relacionados ao lote do kit diagnóstico, à plataforma utilizada ou ao sistema de leitura.

Independentemente do nível do índice observado, o que realmente interessa é saber se esse número está acima ou abaixo do valor de corte, indicando se a amostra é reagente ou não reagente.

15. ERROS MAIS FREQUENTES OBSERVADOS NO DESENVOLVIMENTO DOS PROGRAMAS EXTERNOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

No desenvolvimento destes programas podem ser detectados diferentes tipos de erros que são cometidos pelos Laboratórios Participantes, tais como:

- a. Contaminação das amostras. Pode ocorrer como consequência de falha humana, no manejo das amostras, erros de pipetagem em procedimentos manuais e também devido aos equipamentos utilizados que provoquem arraste (*carry over*). Observam-se RFP e ocorrem na fase analítica;
- b. Erro sistemático na ordem de processamento das amostras. Inadvertidamente, pode haver troca na ordenação das amostras, principalmente nos procedimentos manuais. Observam-se RFP e RFN e em geral ocorrem na fase analítica;
- c. Erro aleatório na ordem de processamento das amostras. Inadvertidamente, o operador pode misturar as amostras

antes do processamento. Observam-se RFP e RFN. São pouco frequentes e podem ocorrer na fase pré-analítica ou analítica;

- d. Erros na transcrição de resultados. São bastante frequentes e ocorrem na fase pós-analítica. Embora os resultados obtidos na fase analítica tenham sido corretos, os erros de transcrição acabam gerando RFP e RFN concomitantemente;
- e. Falhas devido à especificidade dos kits de reagentes utilizados. Para a avaliação sorológica sempre se escolhem os kits que apresentam melhor sensibilidade que, em geral, tendem a apresentar alguns problemas com a especificidade. Se bem que atualmente a qualidade dos kits diagnósticos tenha melhorado significativamente, ainda devemos dar uma atenção especial a esse tipo de comportamento. Observam-se RFP que são mais frequentes para alguns parâmetros como anti-HCV, anti-HIV, HBsAg e anti-*T. pallidum*;
- f. Falhas devidas à sensibilidade dos kits utilizados. Em determinadas situações, devido às características de alguns kits, ou melhor, às características de alguns lotes de reagentes, observam-se falhas na sensibilidade, que poderão gerar RFN. Ocorrem na fase analítica; recomenda-se o uso de painéis de performance para avaliar o

desempenho na troca de lotes de kits;

- g. Procedimentos inadequados de controle de qualidade interno. Quando o comportamento das amostras-controle do controle interno, que devem ser usados diariamente para validar os testes, não são analisados corretamente ou quando não são utilizados, eventuais erros durante o processamento na fase analítica, podem não ser detectados. Essa situação pode gerar RFP ou RFN;
- h. Erros referentes à fase pré-analítica. Em geral estão relacionados à conservação inadequada das amostras, ao uso de amostras fora do prazo de validade ou à perda de amostras antes do processamento.

16. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante muitos anos, a participação dos laboratórios de controle sorológico em Programas de Controle Externo de Qualidade foi opcional. Não existiam normas que obrigassem à participação nesses programas. O que se observava, era que apenas os laboratórios interessados em melhorar a qualidade, acabavam participando.

Atualmente, a participação é obrigatória no Brasil e na maioria dos países da América Latina, o que representa um grande avanço na legislação, referente às normas de funcionamento para

melhorar a qualidade dos resultados finais e diminuir os riscos aos pacientes. Ao mesmo tempo, é importante comentar que unicamente a participação não é suficiente para promover a melhoria da qualidade. É fundamental que os laboratórios participem ativamente dos programas, analisando cuidadosamente os resultados e aproveitando todas as informações contidas nos relatórios finais, que devem circular por toda a equipe do laboratório. Frente a resultados discordantes, devem ser documentadas e registradas as não-conformidades e organizar reuniões, usando as ferramentas da qualidade para encontrar a causa que originou a não-conformidade e tomar ações corretivas ou preventivas que também deverão ser documentadas.

17. PROGRAMA DE CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE EM SOROLOGIA

O Controle Interno de Qualidade recomendado para laboratórios que executam o controle sorológico em bancos de sangue, corresponde à utilização de amostras-controle bem caracterizadas para monitorar os ensaios realizados no laboratório. As amostras-controle, para controle interno da qualidade, podem ser “pools” de soros líquidos ou liofilizados, reagentes e não reagentes, estáveis, para que possam ser utilizados por largos períodos.

É importante levar em consideração que as amostras-controle, para o controle interno, são diferentes dos controles

reagentes e não reagentes, chamados de calibradores, que acompanham os kits diagnósticos. O Controle Interno de Qualidade deve ser utilizado diariamente na rotina do laboratório, para monitorar o comportamento de cada conjunto de ensaios. Serve para validar as provas e, em geral, mostra alterações nas mudanças de lotes dos kits diagnósticos. As amostras-controle devem ser para um único parâmetro.

18. CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS-CONTROLE

As amostras-controle devem apresentar reatividade dentro de limites pré-estabelecidos. As amostras-controle reagentes devem apresentar um índice, leitura/valor de corte (L/CO) $> 1,0$. O índice recomendado é entre 2,0 e 4,5 e as amostras-controle não reagentes devem apresentar um índice L/CO $< 0,8$. Para uso com ensaios do tipo competitivo, as amostras-controle reagentes devem apresentar um índice L/CO $< 1,0$. O índice recomendado é entre 0,3 e 0,7 e as amostras-controle não reagentes devem apresentar um índice L/CO $> 2,0$.

Obs.: Neste texto adotamos a denominação L/CO que corresponde ao Valor de leitura/Valor de corte (*cut off*).

19. APLICAÇÃO DAS AMOSTRAS-CONTROLE NA ROTINA DIÁRIA DO LABORATÓRIO

São necessárias 4 (quatro) etapas para poder aplicar adequadamente os soros para monitoramento da rotina do laboratório:

- a. A primeira etapa corresponde à verificação da reatividade da amostra-controle para cada um dos ensaios utilizados. Deve ser encontrada uma reatividade dentro dos índices pré-estabelecidos. Às vezes é necessário fazer diluições para encontrar a reatividade esperada, ou no caso de amostras liofilizadas aumentar o volume de eluição. Estas ações são de responsabilidade do laboratório participante;
- b. A segunda etapa corresponde à calibração da amostra-controle realizando 20 (vinte) determinações, para cada um dos testes usados na rotina do laboratório, utilizando o soro reagente selecionado. As 20 determinações deverão ser realizadas em 4 ou 5 dias consecutivos (5 ou 4 determinações do mesmo soro por dia). Ao final das 20 determinações, calcula-se a média e o desvio padrão (DP) correspondente às determinações efetuadas para o índice DO/CO. A mesma calibração deve ser feita com os soros não reagentes. Com os resultados obtidos, para cada método, da média e do DP, podemos calcular o coeficiente de variação (CV) e também excluir valores extremos (*outliers*). Para o cálculo do coeficiente de variação, que se expressa em percentagem, utilizamos a fórmula: $CV (\%) = DP \times 100 / \text{Média}$. A média corresponde a uma tendência central de distribuição e está relacionada com a exatidão, ao

passo que o desvio padrão descreve a dispersão ao redor da média e está relacionado com a precisão. O coeficiente de variação corresponde ao desvio padrão, expresso em percentagem da média. Pela análise do valor do CV podemos facilmente ter uma ideia da dispersão dos valores obtidos, com respeito à tendência central (média). Valores baixos do CV significam que os valores obtidos estão bem próximos à média, indicando uma boa precisão nas análises efetuadas. Para os testes sorológicos qualitativos, valores do CV inferiores aos 10% podem ser considerados excelentes, entre 10,1% e 20%, aceitáveis e superiores aos 20%, altos. Após ter realizado as 20 determinações de cada amostra-controle, é necessário verificar se existe algum valor que possa ser considerado valor extremo (*outlier*). Para tal fim se recomenda utilizar o método de Grubbs. Inicialmente calculamos o valor de “Z”, para cada um dos valores do índice DO/CO das 20 determinações, utilizando a fórmula: $[\text{valor (DO/CO)} - \text{Média/Desvio padrão}]$. Cada determinação terá um valor de “Z” que corresponde ao número de desvios padrão que esse resultado está afastado da média. Para um N de determinações iguais a 20, o “Z” crítico é 2,71. Valores de “Z” superiores ao valor crítico correspondem a valores extremos (*outliers*) e deverão ser excluídos. Depois que os valores extremos (*outliers*) tenham sido excluídos, deverão ser realizadas novas determinações e os valores obtidos (DO/CO) inseridos no lugar dos excluídos. Deve ser realizado um novo cálculo da

média, DP e CV, antes de prosseguir para a etapa seguinte;

- c. Na terceira etapa, deve ser elaborado o gráfico de Levey-Jennings e proceder à inserção diária dos valores obtidos com os soros-controle. A melhor maneira de construir o gráfico é utilizando os valores de “Z”, tanto para os limites da média 3DP, que agora será 0,3, quanto para os valores do soro-controle de uso diário. Para provas de ELISA, que utiliza microplacas, recomenda-se colocar um soro reagente e um soro não reagente em cada placa, preferivelmente na mesma posição. Para sistemas contínuos, que não utilizam microplacas, recomenda-se estabelecer previamente quantos testes serão colocados na distribuição dos soros como, por exemplo, a cada 100, 200 ou 300 determinações. Em rotinas maiores, onde existem vários turnos de trabalho, pode ser interessante colocar os soros a cada turno;
- d. A quarta etapa corresponde à análise e interpretação dos resultados obtidos com os soros de controle interno. Essa análise deverá ser feita diariamente, para que a liberação dos resultados possa ser feita após a avaliação do resultado das determinações do Controle Interno de Qualidade, de maneira confiável. Para a análise dos resultados do Controle Interno de Qualidade, são utilizadas as Regras de Westgard. A formulação das Regras de Westgard está apoiada em métodos estatísticos. Essas regras são usualmente usadas

para analisar os dados dentro de um gráfico de Controle de Levey-Jennings. Servem para definir os limites de desempenho específicos para um ensaio em particular e podem ser usadas ainda para detectar erros aleatórios e sistemáticos.

São 6 (seis) as Regras de Westgard usualmente utilizadas em laboratórios de sorologia, sendo que 3 (três) são regras de Alerta e as outras 3 (três) são regras Mandatórias.

- A 1ª Regra de Alerta é a 1_{2DP} . É violada quando um ponto excede à média $\pm 2DP$.
- A 2ª Regra de Alerta é a 2_{2DP} . É violada quando dois pontos consecutivos excedem ao valor da média $\pm 2DP$, do mesmo lado.
- A 3ª Regra de Alerta é a 4_{1DP} . É violada quando quatro pontos consecutivos excedem do mesmo lado, à média $\pm 1DP$.
- A 1ª Regra Mandatória é a 1_{3DP} . É violada quando um ponto excede à média $\pm 3DP$.
- A 2ª Regra Mandatória é a R_{4DP} . É aplicada unicamente quando o soro se utiliza em duplicata. É violada quando a diferença entre as duplicatas excede $4DP$.
- A 3ª Regra Mandatória é a $10X$. É violada quando

pelo menos dez pontos consecutivos estão do mesmo lado da média.

Em laboratórios de sorologia, onde a maioria dos testes utilizados é qualitativo, consideramos que a Regra 2_{2DP} deve ser considerada como Regra de Alerta. A violação das regras de alerta deve acionar uma revisão dos procedimentos do teste, performance dos reagentes e calibração dos instrumentos e equipamentos. A violação das regras Mandatórias deve resultar na rejeição dos resultados obtidos na corrida de testes realizada.

20. INTERPRETAÇÃO DOS GRÁFICOS DE LEVEY-JENNINGS

A análise correta dos resultados obtidos com os soros-controle permite detectar a presença de erros aleatórios e sistemáticos, de tendências, de formas de dispersão e de mudanças repentinas. A violação das Regras 4_{1DP} e $10X$, indicam tendências e estão associadas a erros sistemáticos. Erros sistemáticos criam um desvio característico nos resultados.

Em geral são observadas tendências, por exemplo, em todos os resultados do mesmo lado da média ou incremento/declínios progressivos dos resultados. Podem ser induzidas por fatores, tais como, variações da temperatura de incubação, lavagem da microplaca, mudanças de lotes dos reagentes ou modificações dos métodos utilizados.

Por sua vez, a violação das regras 1_{2DP} , 1_{3DP} e R_{4DP} estão associadas a trocas e erros aleatórios. A presença de erros aleatórios se traduz por uma dispersão característica, com valores muito afastados do valor médio. Erros de pipetagem ou mudanças nos tempos de incubação são exemplos de erros aleatórios. Tanto os erros sistemáticos como os aleatórios podem ser diminuídos através de treinamento, de supervisão e pela adoção de procedimentos operacionais padrão (POP), também chamados de procedimentos da qualidade (PQ).

Mudanças repentinas no comportamento dos soros-controle podem ser observados quando ocorrem modificações significativas em alguma etapa do processamento, como por exemplo, mudança dos equipamentos, dos tempos de incubação ou da lavagem de microplacas e a utilização de novos lotes de kits de reagentes.

21. SISTEMAS DE LEITURA

A grande maioria dos testes sorológicos é de leitura por instrumentos e, entre eles, os mais usados atualmente são os testes CLIA e E-CLIA, onde se mede a intensidade de luz emitida. Nos testes de ELISA, muito usados no passado, a unidade de leitura é dada em Densidade Óptica ou Absorbância (DO ou A).

De qualquer maneira, todos os sistemas utilizam um valor de corte (*cut off* = CO) que separa os resultados reagentes dos não

reagentes. Na maioria dos casos o valor de corte se calcula utilizando um fator específico para cada teste, somado à média dos resultados obtidos com os controles negativos do kit. Em outros casos, o valor de corte é fixo para cada método.

A interpretação dos resultados é realizada sempre verificando o índice entre o valor de leitura do teste e o valor de corte. No presente texto utilizamos o conceito do índice: *Leitura /cut off* ou L/CO. Quando o valor da L é igual ao valor de corte, o índice L/CO é igual a 1,0.

22. ARMAZENAGEM DOS SOROS REAGENTES

Os soros líquidos ou liofilizados, depois que forem calibrados, para cada método, devem ser conservados em alíquotas para que possam ser utilizados por largos períodos como amostras-controle. Duas recomendações são necessárias:

- a. Após a seleção e calibração de um soro-controle, o mesmo deve ser alíquotado para uso diário, sendo armazenado a -20°C ;
- b. As amostras-controle recebidas liofilizadas podem ser estocadas na geladeira (2° a 8°C) e diluídas de acordo com a necessidade.

23. USO DOS SOROS-CONTROLE NÃO REAGENTES

Segue as mesmas etapas de calibração e uso diário que os

soros-controle reagentes mas, para a análise dos resultados, não se utilizam as regras de Westgard. A análise deve ser feita verificando a presença de valores fora dos limites estabelecidos de $L/CO \pm 3 DP$ ou do surgimento de tendências que podem indicar erros sistemáticos e problemas de contaminação.

24. ÍNDICE DE REATIVIDADE DOS SOROS

É importante levar em consideração que testes para a detecção do mesmo parâmetro, em geral apresentam índices de reatividade (L/CO) distintos para a mesma amostra positiva. Isso significa que um soro reagente, dentro dos limites estabelecidos, para um teste do reagente da marca “A”, talvez não esteja dentro dos mesmos limites para um teste, para o mesmo parâmetro, do reagente da marca “B”. No caso específico do anti-HIV, onde às vezes são executados dois testes no controle sorológico, quase sempre é necessário utilizar dois soros, um para cada teste. Não se deve confundir reatividade, que é o nível do índice DO/CO , com sensibilidade. Alguns kits diagnósticos podem ter a mesma sensibilidade, mas com reatividades distintas.

25. MUDANÇAS DE LOTE DOS KITS DIAGNÓSTICOS

Nas mudanças de lotes dos kits utilizados na rotina, observam-se alterações no comportamento dos soros-controle que foram calibrados para o lote anterior. Essas alterações podem ocorrer com maior ou menor intensidade, mas o procedimento

correto é voltar a fazer a calibração a cada mudança de lote. Claro que se as mudanças de lotes forem muito frequentes, o laboratório terá um custo adicional importante, de gastos com reagentes e tempo operacional. Atualmente os lotes dos testes por CLIA/e-CLIA são para um número maior de teste e em geral tem mostrado menos variações do que ocorria com os testes por ELISA. Recomenda-se negociar, com os distribuidores de kits diagnósticos, com o objetivo de manter os mesmos lotes por períodos aceitáveis.

O PNCQ disponibiliza para os participantes amostras-controle liofilizadas para o controle interno da qualidade, do mesmo lote, com duração superior a um ano.

26. MÉTODOS DE FLOCULAÇÃO, HEMOAGLUTINAÇÃO (HAI) E IMUNOFLUORESCÊNCIA (IFI)

São métodos de processamento manual, cada vez menos utilizados e muito menos recomendados e de leitura visual onde os resultados são expressos em título. Para métodos de floculação (VDRL e RPR), o soro reagente deverá apresentar título maior ou igual a 1/4, para métodos do HAI maior ou igual a 1/80 e para o IFI maior ou igual a 1/40. Para a calibração do soro-controle é recomendado realizar de 5 a 10 determinações de dois a cinco dias consecutivos. O valor de referência será o título médio encontrado na calibração ± 1 título.

27. FERRAMENTAS DA QUALIDADE

São consideradas ferramentas da qualidade, a implantação dos procedimentos da qualidade, o treinamento do pessoal responsável pela execução dos mesmos, o controle interno e externo da qualidade e, em consequência, a acreditação do sistema de gestão da qualidade. Se for identificada alguma não-conformidade, a causa deverá ser identificada e tomada uma medida corretiva, a qual também deverá ser documentada. A análise concisa das não-conformidades pode ajudar para que se tomem medidas preventivas adequadas.

28. PRO-IN EM TEMPO REAL

O PNCQ oferece gratuitamente, em seu site, um programa denominado PRO-IN EM TEMPO REAL, onde o participante que utiliza as amostras-controle fornecidas pode inserir os seus resultados do controle interno, obtendo imediatamente um Gráfico de Levey-Jennings, comparando-os ainda com outros resultados de participantes que utilizam o mesmo equipamento e reagente. Este gráfico pode ser impresso e deve ser guardado como registro e comprovante da realização do controle interno da qualidade.

29. PAINÉIS DE PERFORMANCE

Com a intenção de poder auxiliar os laboratórios de

sorologia na avaliação do desempenho dos kits diagnósticos utilizados em suas rotinas, o PNCQ disponibiliza um conjunto de painéis de soros que contêm amostras reagentes, não reagentes e heterólogas que permitem uma análise rápida da especificidade e sensibilidade e, além disso, podem ser usadas para detectar variações que talvez ocorram na mudança de lotes dos kits.

Os painéis de performance utilizados nestes programas contêm 20 (vinte) amostras de soro (2,0 mL cada), sendo 7 (sete) reagentes para o parâmetro em estudo, 3 (três) não reagentes e 10 (dez) heterólogas. A reatividade destes soros está presente em pelo menos 2 a 3 testes sorológicos, com resultados confirmados pelo teste complementar correspondente.

As amostras não reagentes estão confirmadas pelo menos em dois testes sorológicos para cada parâmetro dos testes obrigatórios no controle sorológico. As amostras heterólogas são não reagentes para o parâmetro especificado, mas são reagentes para algum outro parâmetro do controle em bancos de sangue.

30 - PROGRAMA LOTE A LOTE

Quando contratado, no início do programa, o Laboratório Participante recebe um conjunto de 7 (sete) Painéis de Performance para:

- a. Anti-HIV 1 + 2;
- b. Anti-HTLV I/II;

- c. HBsAg;
- d. Anti-HBc total;
- e. Anti-HCV;
- f. Anti-*T. cruzi* (Chagas);
- g. Sífilis.

Quando o Laboratório Participante recebe os Painéis de Performance, deve realizar os testes sorológicos de sua rotina, anotando em um formulário: o nº de lote do kit do reagente, os resultados obtidos com o índice leituras/valor de corte e a data da realização do ensaio.

Cada vez que ocorrer uma mudança no lote do kit, este procedimento deverá ser repetido, comparando-o com os resultados anteriores. Desta maneira, teremos uma noção real sobre o comportamento do kit em seus diversos lotes.

A periodicidade para o envio dos Painéis de Performance é semestral.

Esses mesmos Painéis de Performance podem ser usados de outras duas maneiras distintas:

- a. Quando começar a utilizar um novo kit na rotina diária para verificar o comportamento com respeito a amostras reagentes e não reagentes;
- b. Em procedimentos iniciais, para escolher um determinado kit, entre várias opções que estejam sendo ofertadas, como por exemplo, em processos de licitação.

O Quantitativo de cada amostra pode variar, sempre respeitando o limite de 20 amostras para o painel.

31 - PAINÉIS ESPECÍFICOS

Além dos Painéis de Performance, o PNCQ coloca à disposição dos laboratórios de sorologia de bancos de sangue, Painéis Específicos para cada um dos parâmetros de uso obrigatório no controle de doadores de sangue. Os Painéis Específicos são constituídos por 12 (doze) amostras com 2,0 mL cada, sendo 11 (onze) reagentes e 1 (uma) não reagente, todas liofilizadas. Os Painéis Específicos servem para uso no controle interno dos kits utilizados na rotina dos laboratórios e também para avaliações internas de desempenho. Estão à disposição Painéis Específicos para:

- a. Anti-HIV 1 + 2;
- b. Anti-HTLV I/II;
- c. HBsAg;
- d. Anti-HBc total;
- e. Anti-HCV;
- f. Anti-*T. cruzi* (Chagas);
- g. Sífilis.

A caracterização das amostras dos Painéis Específicos é realizada da mesma maneira que as dos de Performance. Esses painéis quando armazenados à temperatura de 2 a 8°C, conservam-

se satisfatoriamente durante cinco anos.

32 - PROGRAMAS DE EDUCAÇÃO CONTINUADA EM SOROLOGIA

O PNCQ oferece um programa de educação continuada em sorologia (EDUCAC), do qual podem fazer parte, gratuitamente, os laboratórios que participem dos programas de controle de qualidade externo e/ou interno em sorologia. A intenção desse programa é a de oferecer textos ou questões específicas, que possam ajudar na atualização dos profissionais envolvidos nos procedimentos de controle e diagnóstico sorológico em bancos de sangue ou em laboratórios clínicos em geral.

A cada 3 (três) meses estará à disposição dos participantes, na página do PNCQ na Web, um texto ou enunciado com referências bibliográficas pertinentes, referente a temas sobre controle e diagnóstico de doenças infecciosas, junto com um questionário de 5 (cinco) perguntas sobre o referido texto. Cada pergunta tem 4 (quatro) alternativas, sendo que apenas uma é verdadeira. Os participantes podem baixar o texto, os trabalhos recomendados nas referências e as perguntas para estudo e, ao final, responder as questões na própria página da Web. Ao término do prazo estipulado para as respostas, cada participante recebe uma avaliação que indica quais foram os acertos. Os textos podem corresponder a pequenas revisões atualizadas sobre um tema específico ou também a artigos científicos publicados

recentemente que possam contribuir para a atualização dos participantes, ou até sobre o sistema de gestão da qualidade. A Educação Continuada pode ser enviada também versando sobre técnicas laboratoriais ou procedimentos pré-analíticos.

33 - BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

1. Resolução – RDC/ANVISA Nº 34, de 11 de junho de 2014 - Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue.
2. Portaria/Ministério da Saúde Nº 158, de 4 de fevereiro de 2016 - Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos.
3. Resolução – RDC/ANVISA 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.
4. Resolução – RDC/ANVISA Nº 786, de 5 de maio de 2023 - Dispõe sobre os requisitos técnico-sanitários para o funcionamento de Laboratórios Clínicos, de Laboratórios de Anatomia Patológica e de outros Serviços que executam as atividades relacionadas aos Exames de Análises Clínicas (EAC) e dá outras providências.
5. Grijalva MJ, Chiriboga RF, Vanhassel H, Arcos-teran L. Improving the safety of the blood supply in Ecuador through external performance evaluation of serological screening of blood donors. Journal of Clinical Virology 34 Sppl. 2: S47-S52,

2005.

6. Grubb's test for detecting outliers. Disponível em: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/GrubbsHowTo.cfm>.
7. Levey S. and Jennings ER. The use of control charts in clinical laboratories. Am. J. Clin. Pathol. 20:1059-1066, 1950.
8. Multirule and “Westgard Rules”. Disponível em: <http://www.westgard.com/multirule>.
9. Sáez-Alquezar, A; Tamizaje para enfermedades infecciosas en bancos de sangre: pruebas, estrategias y control de calidad. GCIAMT, Feb, 2023. <https://lnkd.in/dC54wtrE>.
10. Sáez-Alquezar A, Albajar-Viñas P, Guimarães AV, Corrêa JA. Quality control in screening for infectious diseases at blood banks. Rationale and methodology. eJIFCC; 2015 Vol26 N° 4 , pp 278-285.
11. Sáez-Alquézar A, Murta M, Marques WP, Da Silva GR. Resultados de um programa de qualidade externo do controle serológico de anticorpos contra Trypanosoma cruzi em doadores de sangue do Brasil. Rev. Panam. Saúde Pública 13(2/3): 129-136, 2003.
12. Sáez-Alquézar A, Otani MM, Sabino EC, Ribeiro dos Santos G, Salles NA, Chamone DF. Evaluation of the performance of Brazilian blood banks in testing chagas. Vox Sang, 74: 228-231, 1998.
13. Sáez-Alquézar A, Otani MM, Sabino EC, Salles NA, Chamone DF. Programas de controle externo da qualidade em serologia desenvolvidos na América Latina com o apoio da OPS ente

- 1997 e 2000. Rev Panam Saúde Pública 13(2/3): 91-102, 2003.
14. Sáez-Alquézar A, Controle e diagnóstico serológico na infecção pelo Trypanosoma cruzi. Rev. Arg. Transf. vol XXIX(3/4), 117-124, 2003.
 15. Schmunis G & Cruz JR. Safety of the blood supply in Latin America. Clinical Microbiology Reviews. 18(1): 12-29, 2005.
 16. Organização Pan-Americana da Saúde. Área de tecnologia, atenção da saúde e investigação. Projeto de tecnologias de saúde para a qualidade da atenção. Fornecimento de sangue para transfusões nos países do Caribe e da América Latina em 2006 e 2007: Avance desde 2005 do plano regional de segurança transfusional. (THR/HT/2009/01ESP) Washington D.C. 2009.
 17. Westgard J, Mercapide L, Sáez-Alquezar A, Porras A, Martínez O, Amaya E, Iturriza M, Mendoza E, Brambila E & Terrés A. Como garantizar la calidad analítica. Rev Mex Patol Clin.2010; vol 57(4): 179-189.

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

[illegible]

This image shows a full page of blank handwriting practice paper. It features 20 evenly spaced, light blue horizontal lines running across the width of the page. The lines are uniform in thickness and color, providing a guide for letter height and placement. There are no margins, text, or other markings on the page.

CURSO

PNCQ GESTOR VR. 8.0

ALÉM DE CUMPRIR A LEGISLAÇÃO,
PREPARE-SE PARA A ACREDITAÇÃO!

Software
PNCQ Gestor
Versão 8.0*

CURSO
Presencial

CONSULTORIA
por e-mail

O software e o curso PNCQ Gestor

auxiliam seu laboratório nesse processo!

*Em cumprimento aos requisitos do
**Manual do SNA-DICQ 8ª ed. e da
RDC 786:2023 da ANVISA.**



INSCREVA-SE
pncq.org.br/cursos

Se você se interessou, preencha agora mesmo a ficha de pré-inscrição.

**Precisamos de um número mínimo de interessados
PARA CONFIRMAR A REALIZAÇÃO DO CURSO!**

Descontos na Acreditação
inicial do SNA-DICQ




SNA-DICQ

Não é necessário pagar nada agora!


ATUALIZE SEU SGQ E SUA EQUIPE!

Valores diferenciados para os
laboratórios que já participaram
do curso – consulte-nos!



 55 (21) 3172-7100 / 2569-6867

 pncq@pncq.org.br

 Rua Dr. Rodrigues de Santana, 68 – Benfica
Rio de Janeiro/RJ – Brasil – CEP: 20910-240

 /PNCQoficial

 @PNCQoficial

 /company/pncq-oficial



pncq.org.br

Nossas Certificações:



O PNCQ é acreditado pela
Cgcre do INMETRO
como Provedor de Ensaio
de Proficiência em
conformidade com a
ISO/IEC 17043 sob o
número 0013



O PNCQ é acreditado pela
Cgcre do INMETRO
como Produtor de Material
de Referência em
conformidade com a
ABNT NBR ISO 17034:2017
sob o número 0012



Empresa certificada pela ABNT
em conformidade com a
ABNT NBR ISO 9001:2015
sob o número 23.008/04

