

Controle de Qualidade Interno e Externo em Sorologia

- AMADEO SÁEZ-ALQUEZAR
- ANDRÉ VALPASSOS PACIFICI GUIMARÃES



André Valpassos - PNCQ

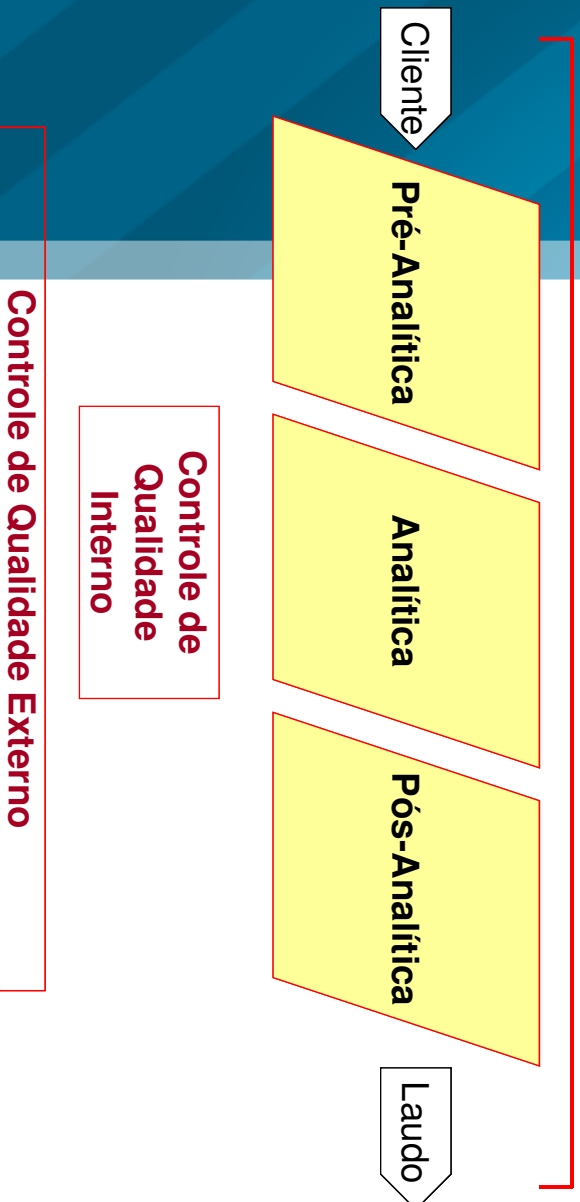
Procedimentos de Controle de Qualidade em Laboratórios de Sorologia

- ✓ Controle para Assegurar a Qualidade
SGQ, ISO, Boas Práticas, Acreditações (ONA)
- ✓ Controle de Qualidade Interno
Soros Controle Interno (baixa reatividade)
Avaliação de kits
 - Antes do Uso
 - Lote a lote

- ✓ Controle de Qualidade Externo
Participação em Programas de Avaliação Externa
(Programas de Controle de Qualidade Externo em Sorologia – PCQES)

LABORATÓRIO CLÍNICO: FASES

Sistema de Garantia da Qualidade

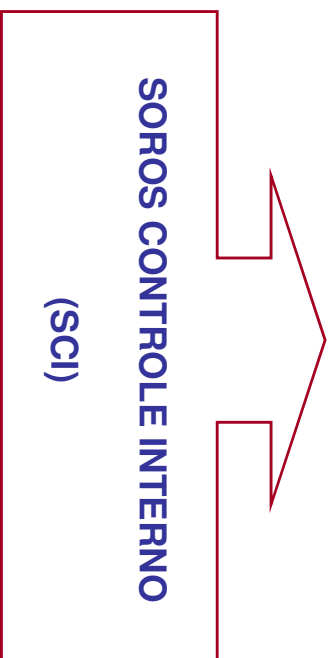


Garantia da Qualidade dos Resultados

- ✓ **Pessoal: Treinamento / Atualização**
- ✓ **Coleta / Recebimento de amostras**
- ✓ **Fornecedores: Reativos / equipamentos**
- ✓ **Calibração / Validação**
- ✓ **Assistência técnica / Manutenção**
- ✓ **Interpretação dos resultados**
- ✓ **Transcrição dos resultados**
- ✓ **Controle de Qualidade Interno**
- ✓ **Controle de Qualidade Externo**

Controle de Qualidade Interno

- Utilização de soros controle de baixa reatividade para monitorar as reações realizadas no laboratório



Soros Controle Interno (SCI)

- São “pools” de soros positivos ou negativos.
- Devem ser límpidos e estáveis.
- Em quantidade suficiente para serem usados por longos períodos.
- Podem conter conservantes:
 - Bronidox-L5.
 - Proclin 300

Soros Controle Interno (SCI)

- São diferentes dos controles internos dos kits.
- Podem ser preparados no laboratório ou comprados.
- Devem ser utilizados diariamente na rotina do laboratório, para monitorar o comportamento de cada metodologia.
- Servem para validar as reações.
- Sofrem variações nas mudanças de lotes de reativos.

Soros Controle Interno (SCI)

- Controles Positivos
 - ✓ Devem apresentar relação DO/CO > 1
 - ✓ Faixa recomendada: 2,0 – 4,5
 - ✓ Métodos competitivos: (< 1)
 - ✓ Faixa recomendada: 0,3 – 0,7
- Controles Negativos
 - ✓ Devem apresentar relação DO/CO < 1
 - ✓ Faixa recomendada: < 0,8
 - ✓ Mét. Competitivos: > 2,0

CO : Cut off (Valor de corte)

Soros Controle Interno (SCI)

- **Controles individuais**
 - Um SCI para cada parâmetro
 - Anti-HIV
 - Ag HBS
 - Etc..
- **Um SCI para cada Kit do mesmo parâmetro**
 - Anti-HTLV (Abbott/Murex)
 - Anti-HTLV (bioMérieux)

Depende da reatividade de cada kit

Soros Controle Interno (SCI)

- **Controles de múltipla reatividade**
 - Cada SCI pode ser usado para vários parâmetros
 - Anti-HIV + AgHBS + anti-HCV + anti-*T.cruzi*
 - Sífilis + anti-HBc + anti-HTLV
- **Levar em consideração as diferentes marcas de kits, para cada teste, que existem no mercado**
 - ✓ Grande número de kits para cada parâmetro
 - ✓ Diferenças significativas entre a reatividade dos kits
 - ✓ Ampla distribuição de marcas entre os usuários

Soros Controle Interno (SCI)

Preparo de Controles Individuais

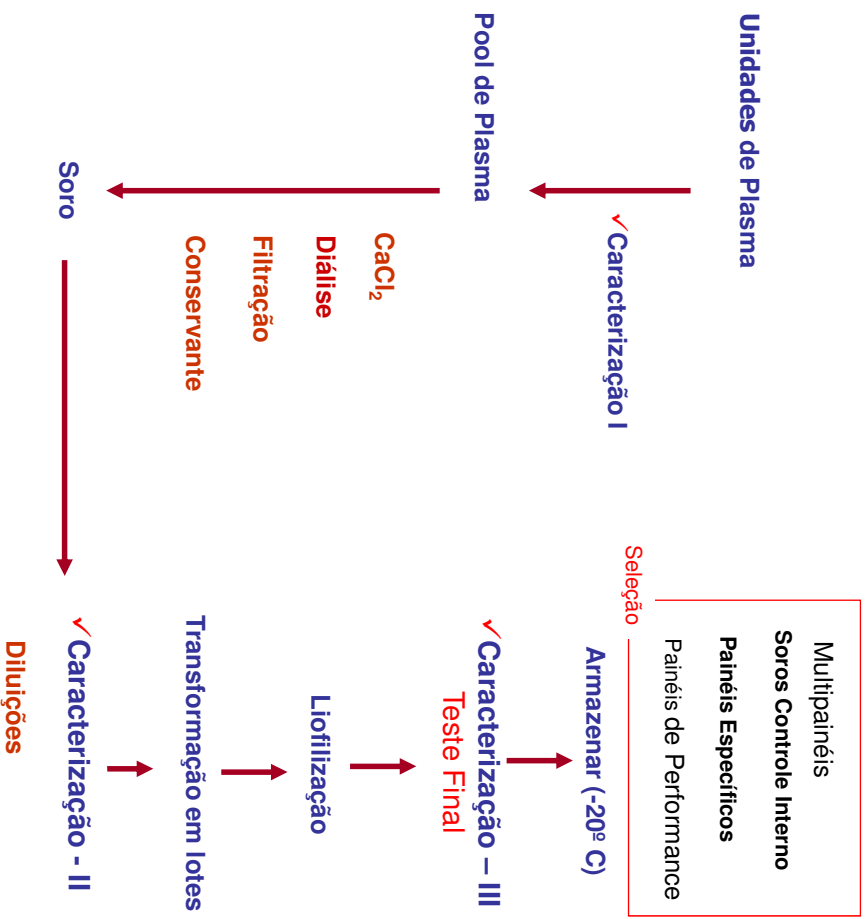
- **Guardar amostras reagentes por parâmetro**
- Mistura das amostras (pool), para obter o volume necessário.
- **Efetuar as diluições necessárias para obter a faixa de reatividade desejada.**
- Aliquotar em pequenos volumes (para uso diário) e conservar a -20° C

Soros Controle Interno (SCI)

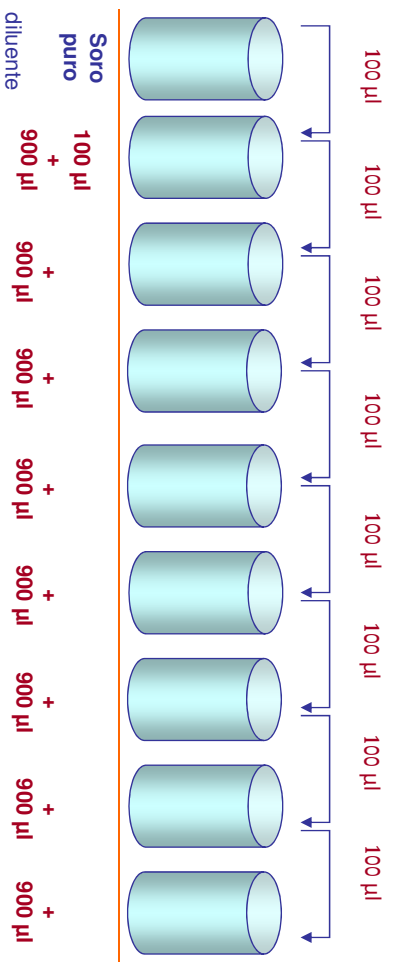
PNCQ

- **Obter bolsas de plasma reagentes para cada parâmetro**
- Transformar o plasma em soro para obter soluções mãe reagentes para cada parâmetro.
- **Efetuar as diluições necessárias para obter a faixa de reatividade desejada.**
- Aliquotar em pequenos volumes (para uso diário), adicionar conservante e armazenar a -20° C

PRODUÇÃO DE PAINÉIS DE SOROS

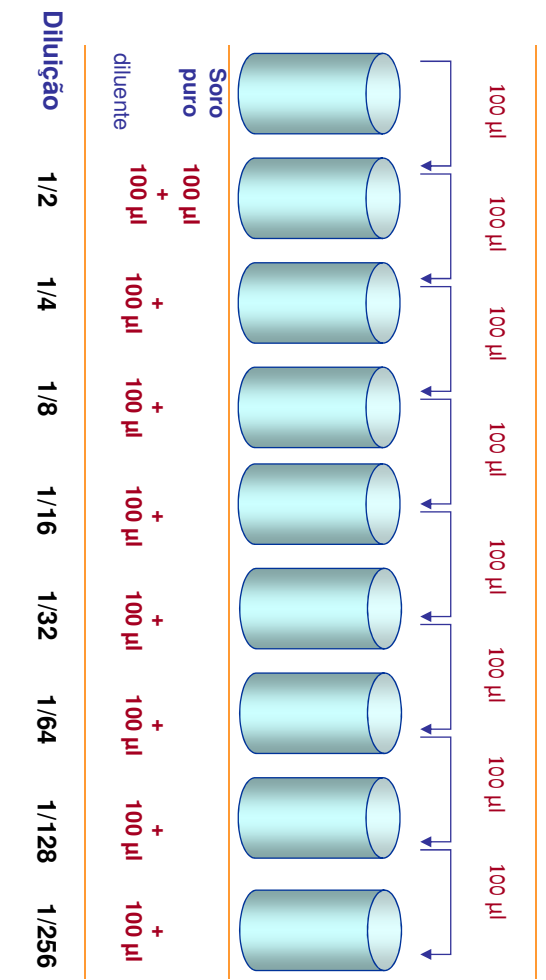


Diluições Seriadas



Diluição	1/10	1/10 ²	1/10 ³	1/10 ⁴	1/10 ⁵	1/10 ⁶	1/10 ⁷	1/10 ⁸
----------	------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

Diluições Seriadas



Diluições recomendadas para preparar SCL individuais

Parâmetros	Diluições
Anti-HIV	1/10 - 1/10 ² até 1/10 ⁸
Anti-HTLV	1/10-1/20 - 1/50 - 1/100- 1/200
Ag HBs	1/10 - 1/10 ² até 1/10 ⁸
Anti-HBc (core)	1/2 - 1/5 -1/10 até 1/100
Anti-HCV	1/10 - 1/50 - 1/100 - 1/200
Chagas	1/2 - 1/5 - 1/10 - 1/20
Sífilis (ELISA)	1/5 - 1/10 - 1/20 - 1/50 até 1/500
Sífilis (VDRL)	1/2 - 1/4 - 1/8 - 1/16 - 1/32 - 1/64

Soro anti-HIV positivo - Diluições com Kits diferentes

Amostra	ELISA 1	ELISA 2	ELISA 3	WB
Dil: 1/....	DO/CO	DO/CO	DO/CO	Resultado
1	>12,8	>23,5	19,5	+
10	>12,8	23,2	18,4	+
10 ²	>12,8	22,7	8,1	+
10 ³	>12,8	20,2	0,6	-
10 ⁴	>12,8	13,3	0,1	-
10 ⁵	>12,8	8,0	0,1	-
10 ⁶	7,9	3,1	0,1	↑ CQI
10 ⁷	3,2	1,4	0,0	
10 ⁸	1,5	0,8	0,0	

Diluição de amostras

Para preparar painéis de soros pode ser necessário obter volumes adequados de cada amostra.

Para esse propósito será necessário diluir amostras, com soro negativo ou misturar com outras amostras positivas.

É importante observar alguns critérios para fazer as diluições

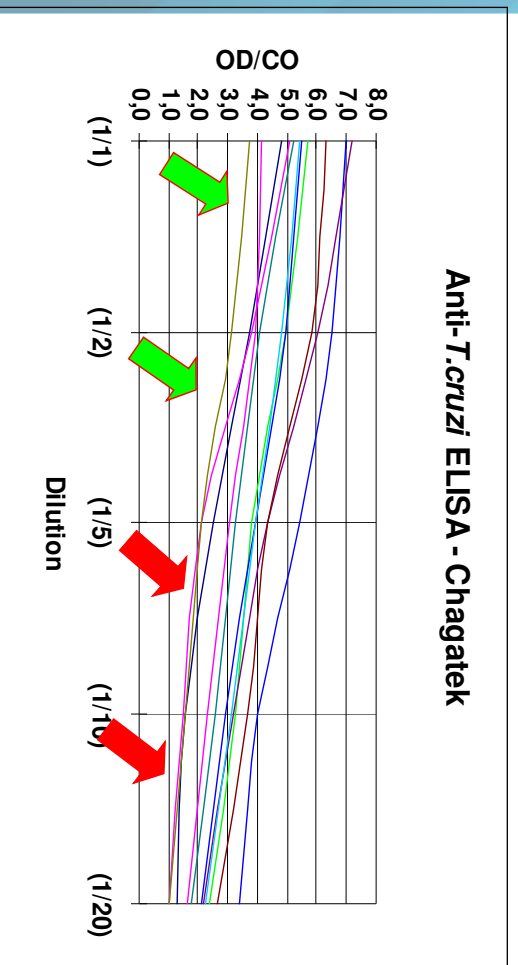
Diluição de amostras Anti-*T. cruzi* positivas

Dil	CHAGATEK			BIOSCHILE			WIENER rec		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 1	Sample 2	Sample 3
1/1	3,7	10,7	4,8	2,7	3,7	3,2	6,8	9,0	8,1
1/2	2,8	8,0	3,7	2,2	3,3	2,8	3,9	8,1	7,2
1/5	2,0	5,7	2,5	1,6	2,8	2,3	0,7	5,1	5,6
1/10	1,4	4,5	1,6	1,2	2,3	1,9	0,2	2,6	3,4
1/20	0,9	2,4	1,3	0,9	1,8	1,6	0,0	1,0	2,6

OD/CO values

Diluição de amostras para preparar painéis de referência anti-*T. cruzi*

Anti-*T. cruzi* ELISA - Chagatek



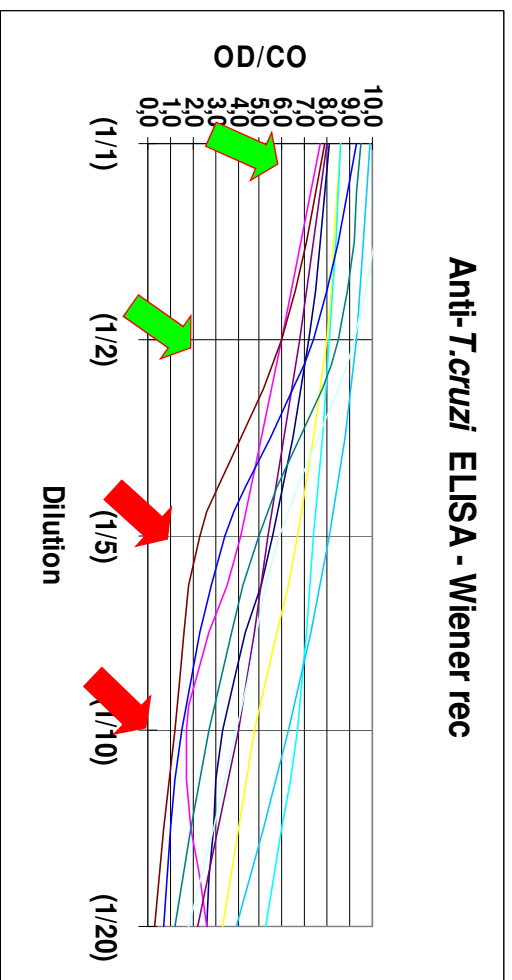
Initial OD/CO range (undiluted samples): 3,8-7,2

→ Acceptable dilution

→ Unacceptable dilution

Diluição de amostras para preparar painéis de referência anti-*T. cruzi*

Anti-*T. cruzi* ELISA - Wiener rec



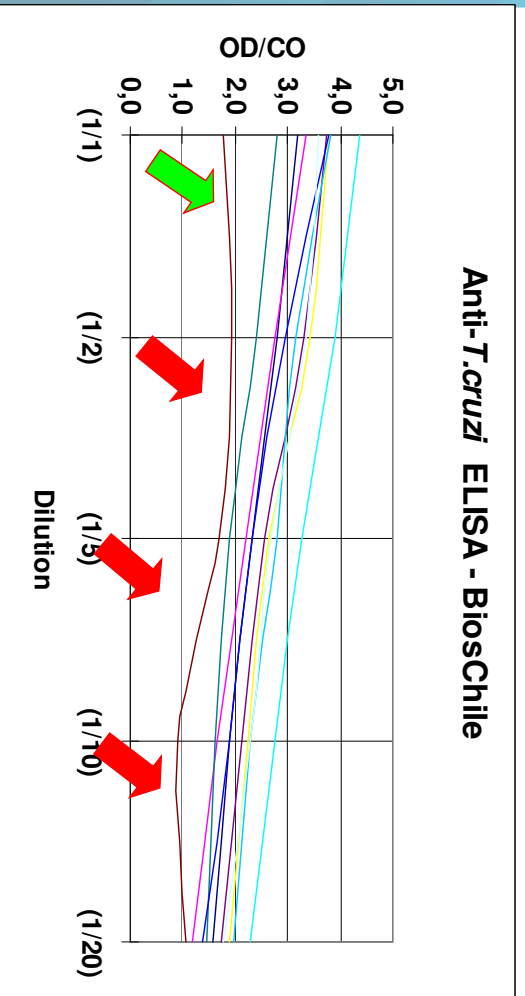
Initial OD/CO range (undiluted samples): 7,8 – 10,0

Acceptable dilution

Unacceptable dilution

Diluição de amostras para preparar painéis de referência anti-*T. cruzi*

Anti-*T. cruzi* ELISA - BiosChile



Initial OD/CO range (undiluted samples): 1,8 - 4,4

Acceptable dilution

Unacceptable dilution

Conceitos de Estatística

EXATIDÃO : concordância entre a melhor estimativa de um valor e o valor verdadeiro. Não tem valor numérico.

INEXATIDÃO: diferença numérica entre a média de um conjunto de medições em replicata e o valor verdadeiro.

Esta diferença (positiva ou negativa) pode ser expressa na unidade de medição ou como percentagem do valor verdadeiro.

Diferença entre o valor encontrado e o valor real, incluindo erros aleatórios e sistemáticos.

Conceitos de Estatística

PRECISÃO: melhor concordância em determinações repetitivas. Não tem valor numérico.

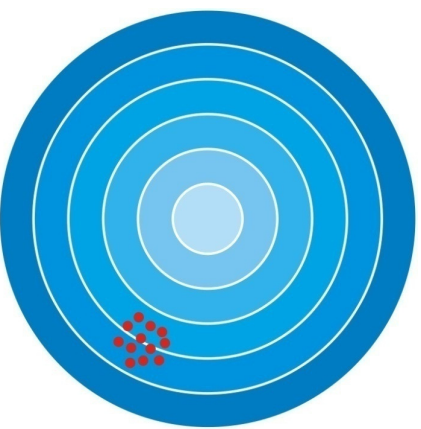
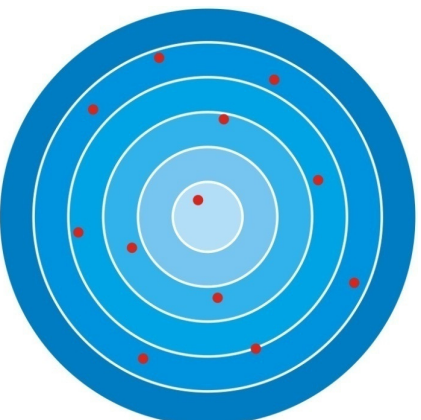
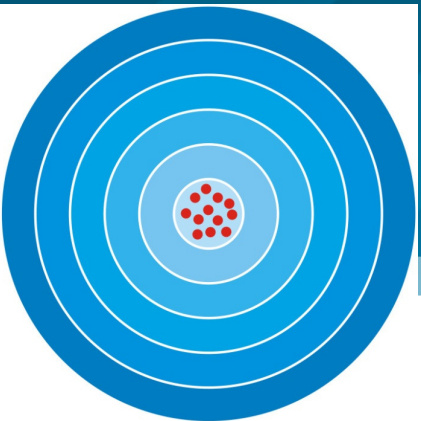
IMPRECISÃO: desvio-padrão ou coeficiente de variação dos resultados de um conjunto de medições em replicata, quando o procedimento está operando em condições estáveis.

IMPRECISÃO E EXATIDÃO

PRECISO E EXATO

IMPRECISO E INEXATO

PRECISO E INEXATO



REPETITIVIDADE (mesma corrida)

REPRODUTIBILIDADE (diferentes corridas analíticas)

Conceitos de Estatística

Média (\bar{X})

$$\bar{X} = \frac{\sum x_n}{n}$$

Tendência central de distribuição. Está relacionada com a exatidão

Desvio Padrão (s)

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X_n - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Descreve a dispersão ao redor da Média. Medida de Precisão

Coefficiente de Variação (CV) %

$$CV = (s / \bar{X}) \cdot 100$$

Desvio padrão expresso como % da Média
Desvio padrão relativo

Aplicação dos SCI na Rotina Diária

- **1ª Etapa**
 - Verificação inicial da reatividade
- **2ª Etapa**
 - Calibração do SCI
 - Exclusão de outliers
- **3ª Etapa**
 - Construção do gráfico de Levey Jennings
 - Inserção dos SCI / plotar os resultados
- **4ª Etapa**
 - Análise dos resultados
 - Adoção de medidas (ações)

SCI POSITIVO

Aplicação do Controle Interno

1ª Etapa:

✓ Verificação inicial

Verificar o comportamento dos soros controle interno frente às metodologias utilizadas na rotina do laboratório.

✓ Análise dos resultados

SCI – Verificação Inicial

1ª ETAPA

SCI anti-HIV POSITIVO (---/---/---)

Método:			
Marca:			
Kit:			
Lote:			
Diluição	DO	CO	DO/CO
1/10			
1/10 ²			
1/10 ³			
1/10 ⁴			
1/10 ⁵			
1/10 ⁶			
1/10 ⁷			
1/10 ⁸			
Diluição escolhida (---/---/---)			
	DO	CO	DO/CO
1			
2			

- **Controles Positivos**
 - ✓ Devem apresentar relação DO/CO > 1
 - ✓ Faixa recomendada: 2,0 – 4,5
- **Métodos competitivos: (< 1)**
 - ✓ Faixa recomendada: 0,3 – 0,7
- **Controles Negativos**
 - ✓ Devem apresentar relação DO/CO < 1
 - ✓ Faixa recomendada: < 0,8
 - ✓ Mét. Competitivos: > 2,0

Se necessário, fazer diluições intermediárias

Aplicação do Controle Interno

2ª Etapa:

✓ Calibração (I)

Para cada uma das metodologias, utilizando o Controle Interno Positivo escolhido, realizar 20 determinações.

Aplicação do Controle Interno

2ª Etapa:

✓ Calibração (II)

- As 20 determinações deverão ser realizadas em 4 ou 5 dias diferentes.
- No final, calcular a média e o desvio padrão, correspondente ao total das determinações efetuadas, para a relação DO/CO.

$$\text{Valor (DO/CO) - Média} = Z$$

$$\text{D. padrão}$$

SCI Positivo

DO	CO	DO/CO	Média	DO/CO - Média	D. padrão	Z
0,719	0,195	3,69	3,35	0,34	0,37214	0,91
0,753	0,195	3,86	3,35	0,51	0,37214	1,38
0,565	0,195	2,90	3,35	-0,45	0,37214	-1,21
0,711	0,204	3,49	3,35	0,14	0,37214	0,37
0,705	0,204	3,46	3,35	0,11	0,37214	0,29
0,721	0,204	3,53	3,35	0,19	0,37214	0,50
0,678	0,204	3,32	3,35	-0,03	0,37214	-0,07
0,798	0,203	3,93	3,35	0,58	0,37214	1,56
0,747	0,203	3,68	3,35	0,33	0,37214	0,89
0,606	0,203	2,99	3,35	-0,36	0,37214	-0,98
0,641	0,203	3,16	3,35	-0,19	0,37214	-0,51
0,715	0,200	3,58	3,35	0,23	0,37214	0,61
0,691	0,200	3,46	3,35	0,11	0,37214	0,29
0,609	0,200	3,05	3,35	-0,30	0,37214	-0,82
0,786	0,200	3,93	3,35	0,58	0,37214	1,56
0,663	0,198	3,35	3,35	0,00	0,37214	0,00
0,623	0,198	3,15	3,35	-0,20	0,37214	-0,54
0,575	0,198	2,90	3,35	-0,44	0,37214	-1,19
0,557	0,198	2,81	3,35	-0,54	0,37214	-1,44
0,546	0,198	2,76	3,35	-0,59	0,37214	-1,59
Média			3,35			
D. padrão			0,372145			
CV (%)			11,1			

Calibração do SCI

2ª ETAPA

anti-HCV

Determinações	anti-HCV		
	DO	CO	DO/CO
1	2,222	0,750	3,0
2	2,000	0,750	2,7
3	2,210	0,750	2,9
4	2,200	0,750	2,9
5	2,067	0,750	2,8
6	2,299	0,793	2,9
7	2,301	0,793	2,9
8	2,300	0,793	2,9
9	2,355	0,793	3,0
10	2,400	0,793	3,0
11	2,600	0,820	3,2
12	2,699	0,820	3,3
13	2,710	0,820	3,3
14	2,700	0,820	3,3
15	2,676	0,820	3,3
16	2,400	0,761	3,2
17	2,455	0,761	3,2
18	2,388	0,761	3,1
19	2,480	0,761	3,3
20	2,344	0,761	3,1
Média			3,1
D. Padrão			0,18845
CV %			6,16

Excelente

Calibração do SCI

2ª ETAPA

anti-HCV			
Determinações	DO	CO	DO/CO
1	2,350	0,750	3,1
2	2,200	0,750	2,9
3	1,900	0,750	2,5
4	1,788	0,750	2,4
5	2,410	0,750	3,2
6	2,900	0,793	3,7
7	2,866	0,793	3,6
8	2,935	0,793	3,7
9	2,800	0,793	3,5
10	3,122	0,793	3,9
11	3,600	0,820	4,4
12	3,299	0,820	4,0
13	3,430	0,820	4,2
14	3,500	0,820	4,3
15	3,200	0,820	3,9
16	2,988	0,761	3,9
17	2,700	0,761	3,5
18	2,880	0,761	3,8
19	3,700	0,761	4,9
20	2,888	0,761	3,8
Média			3,7
D. Padrão			0,60387
CV %			16,47

Aceitável

Calibração do SCI

2ª ETAPA

anti-HCV			
Determinações	DO	CO	DO/CO
1	2,038	0,750	2,7
2	2,900	0,750	3,9
3	2,766	0,750	3,7
4	2,111	0,750	2,8
5	2,200	0,750	2,9
6	2,888	0,793	3,6
7	3,555	0,793	4,5
8	3,900	0,793	4,9
9	2,876	0,793	3,6
10	4,100	0,793	5,2
11	4,333	0,820	5,3
12	3,230	0,820	3,9
13	4,544	0,820	5,5
14	4,811	0,820	5,9
15	4,721	0,820	5,8
16	4,999	0,761	6,6
17	3,765	0,761	4,9
18	4,777	0,761	6,3
19	3,949	0,761	5,2
20	2,555	0,761	3,4
Média			4,5
D. Padrão			1,1815
CV %			26,08

Alto

Aplicação do Controle Interno

- **3ª Etapa:**
 - Construir um gráfico para cada método e para cada controle interno positivo e negativo.
 - Adotar um intervalo de confiança ao redor da média da relação DO/CO:
 - Média +/- 3 desvios padrão.

SCI de Múltipla Reatividade

	MR01	MR02	MR03	MNR
HIV	++++	N	N	N
HTLV	++	N	N	N
HCV	+	N	N	N
AgHBs	++	N	N	N
Core	++++	N	N	N
Sífilis	N	N	++++	N
Chagas	N	++++	N	N

3ª ETAPA

Construção do Gráfico de Levey Jennings

Levey e Jennings, em 1950, propuseram plotar os resultados das diferenças entre as duplicatas e as médias em mapas, que passaram a serem denominados como mapas (gráficos) de “Levey and Jennings”.

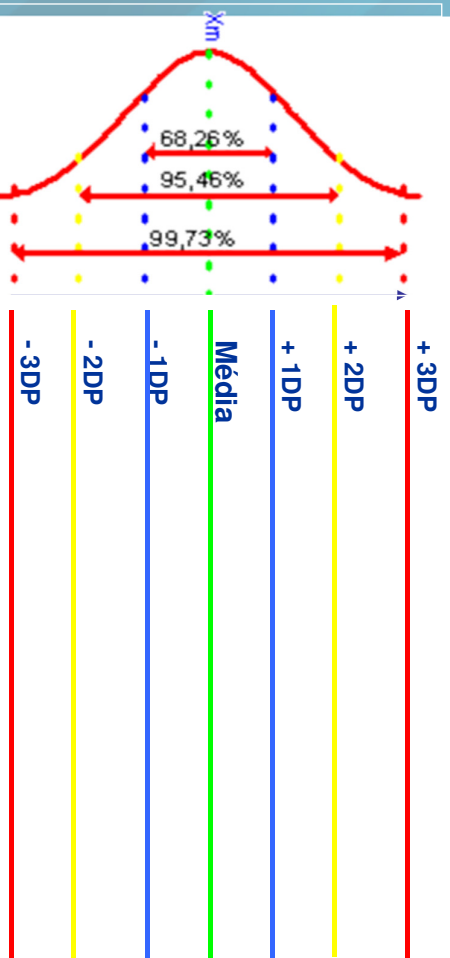
Henry e Segalove utilizaram os limites baseados em avaliações estatísticas a longo prazo, escolhendo os limites de +/- 3s como limites de controle da qualidade.

Essas são as bases do controle de processo utilizado atualmente em laboratórios clínicos.

Curva de Gauss e Gráfico de Levey-Jennings

Serve para reportar os valores sucessivos de controle.

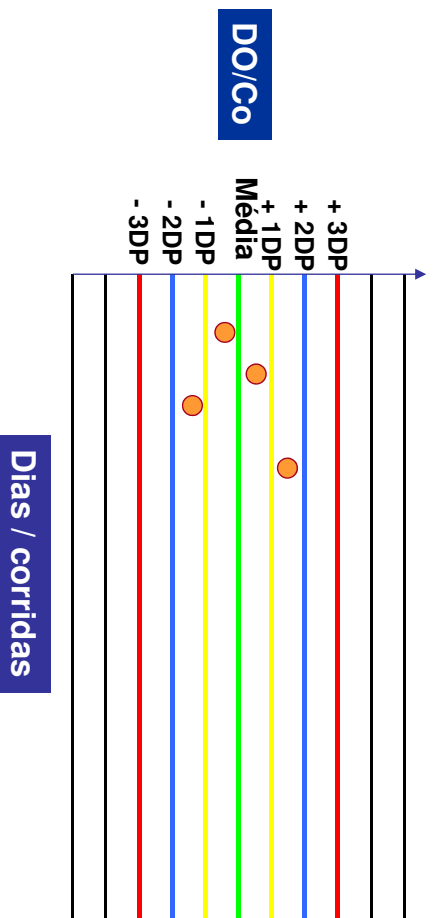
Limites de decisão : $\pm 1 DP$, $\pm 2 DP$ e $\pm 3 DP$



Extensão da distribuição normal com uma rotação de 90° que representa a área sob a curva de Gauss compreendida entre +/- 3 DP

Construção do Gráfico de Levey-Jennings

Cada ponto = D.O / CO

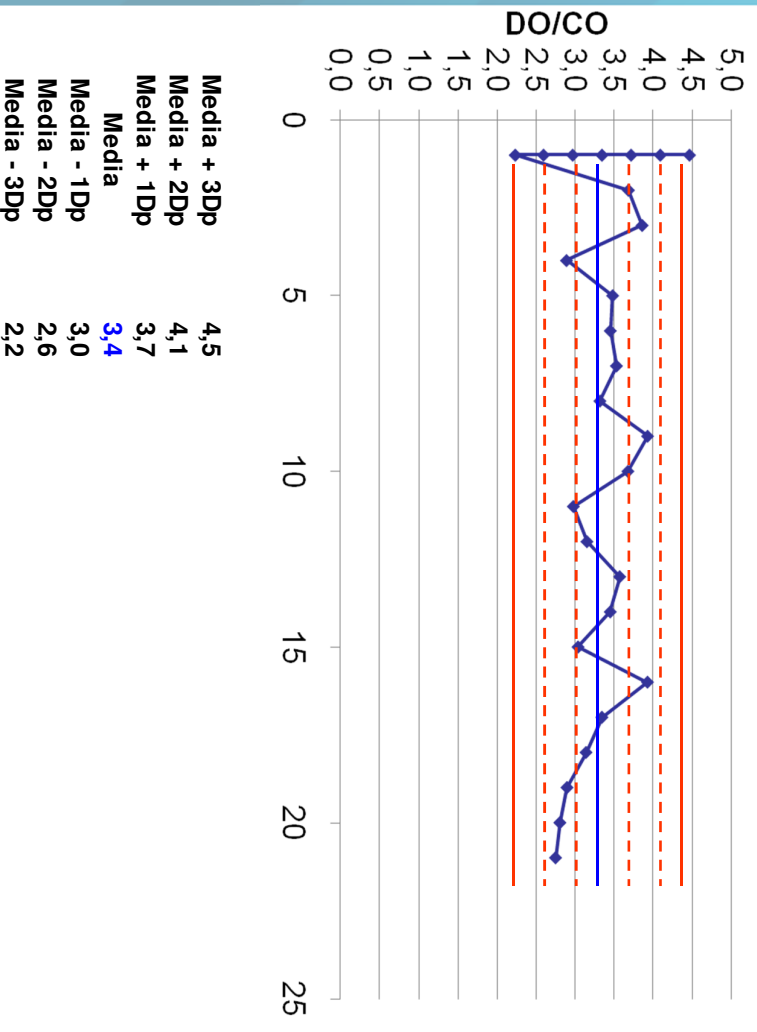


Média e DP obtidos na calibração do soro controle interno

Cálculos para o Gráfico de Levey-Jennings

SCI Positivo			
DO	CO	DO/CO	
0,719	0,195	3,69	
0,753	0,195	3,86	
0,565	0,195	2,90	
0,711	0,204	3,49	
0,705	0,204	3,46	
0,721	0,204	3,53	
0,678	0,204	3,32	Media + 3Dp
0,798	0,203	3,93	Media + 2Dp
0,747	0,203	3,68	Media + 1Dp
0,606	0,203	2,99	Media
0,641	0,203	3,16	Media - 1Dp
0,715	0,200	3,58	Media - 2Dp
0,691	0,200	3,46	Media - 3Dp
0,609	0,200	3,05	
0,786	0,200	3,93	
0,663	0,198	3,35	
0,623	0,198	3,15	
0,575	0,198	2,90	
0,557	0,198	2,81	
0,546	0,198	2,76	
Media		3,35	
D. padrão		0,372145	
CV (%)		11,1	

Gráfico de Levey - Jennings

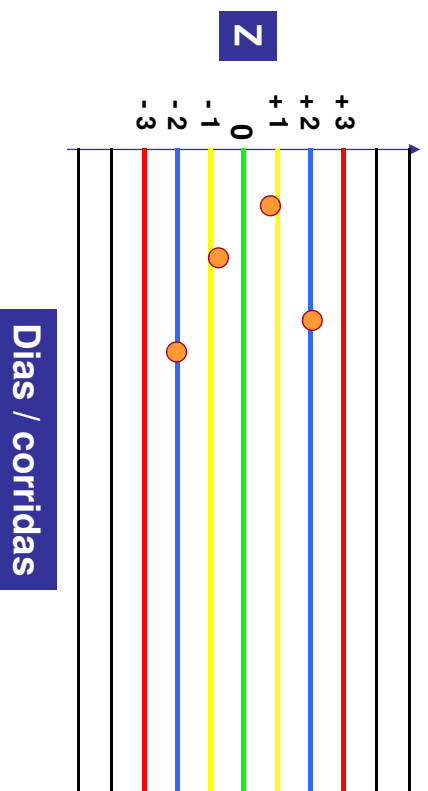


Cálculos para o Gráfico de Levey-Jennings

SCI Negativo			
DO	CO	DO/CO	
0,103	0,195	0,53	
0,102	0,195	0,52	
0,092	0,195	0,47	
0,090	0,204	0,44	
0,105	0,204	0,51	
0,102	0,204	0,50	
0,096	0,204	0,47	
0,098	0,203	0,48	
0,101	0,203	0,50	
0,096	0,203	0,47	
0,105	0,203	0,52	
0,100	0,200	0,50	
0,093	0,200	0,47	
0,094	0,200	0,47	
0,099	0,200	0,50	
0,106	0,198	0,54	
0,098	0,198	0,49	
0,117	0,198	0,59	
0,112	0,198	0,57	
0,104	0,198	0,53	
Media		0,50	
D. padrão		0,035869	
CV(%)		7,1	
			Media + 3Dp
			Media + 2Dp
			Media + 1Dp
			Media
			Media - 1Dp
			Media - 2Dp
			Media - 3Dp
			0,611
			0,575
			0,539
			0,503
			0,467
			0,431
			0,395

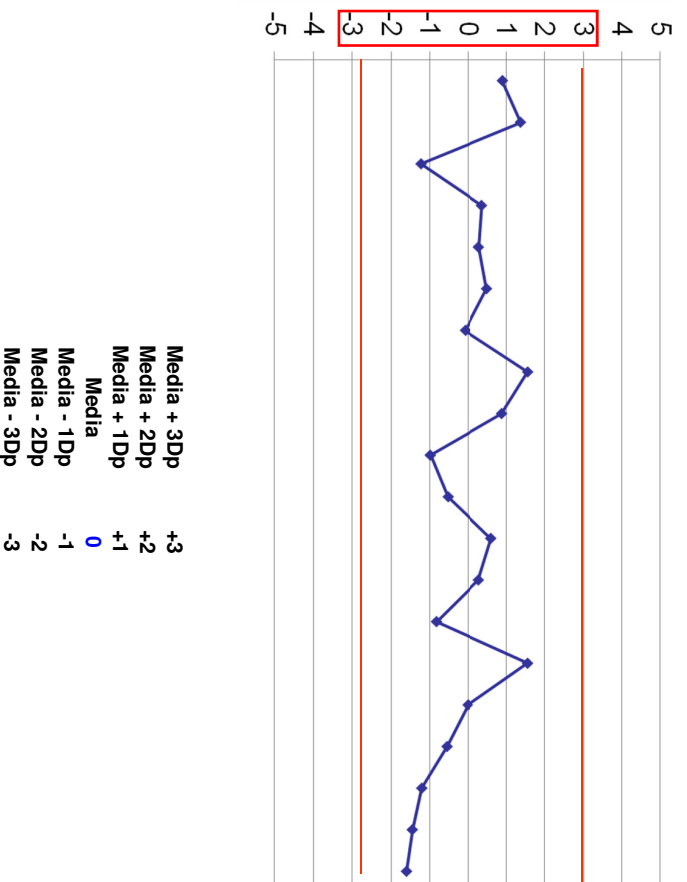
Construção do Gráfico de Levey-Jennings

Cada ponto = $D.O/CO - Média^* / DP$

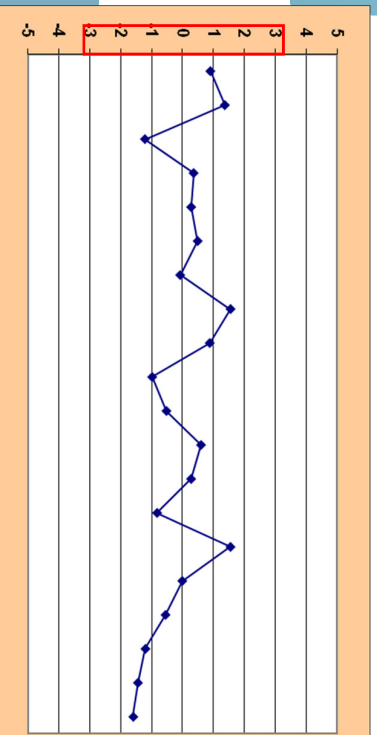
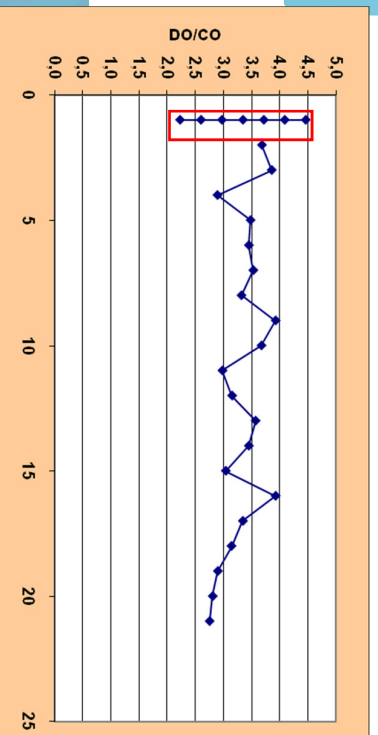


(*) Média dos valores de D.O obtidos nas 20 determinações realizadas na calibração do soro controle interno.

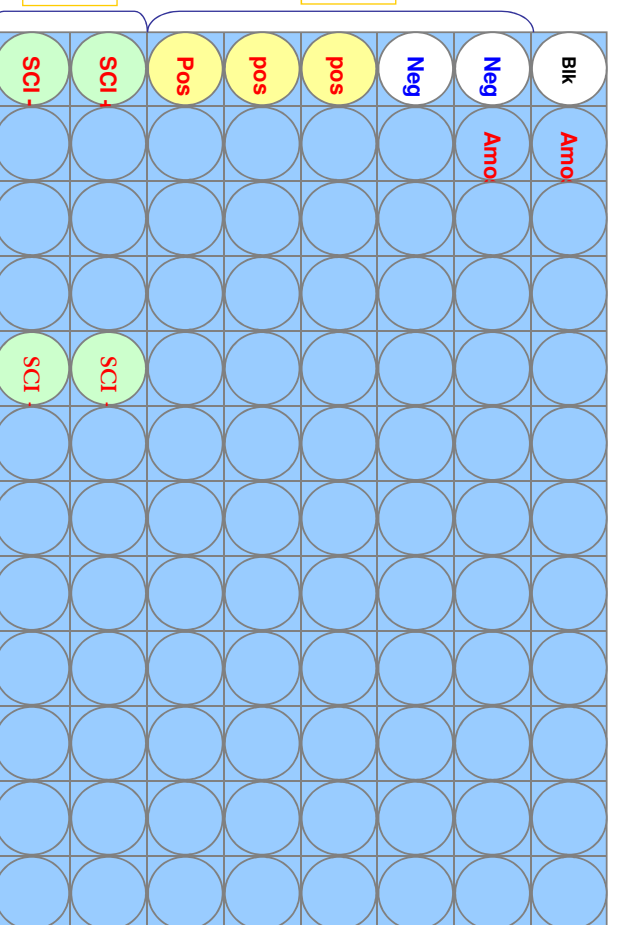
Gráfico de Levey - Jennings



Gráficos de Levey - Jennings



Uso diário do SCI - Microplaca ELISA



Soros controle
do KIT

Soros controle
Interno SCI

Uso diário do SCI

- Em equipamentos de alimentação contínua de amostras, estabelecer os períodos (a cada quantas amostras) deverão ser introduzidos os SCI (+) e (-)
 - A cada 100 ou duzentas amostras
 - Em cada turno (manhã, tarde, noite)

Gráfico de CQI Exemplo de comportamento ideal

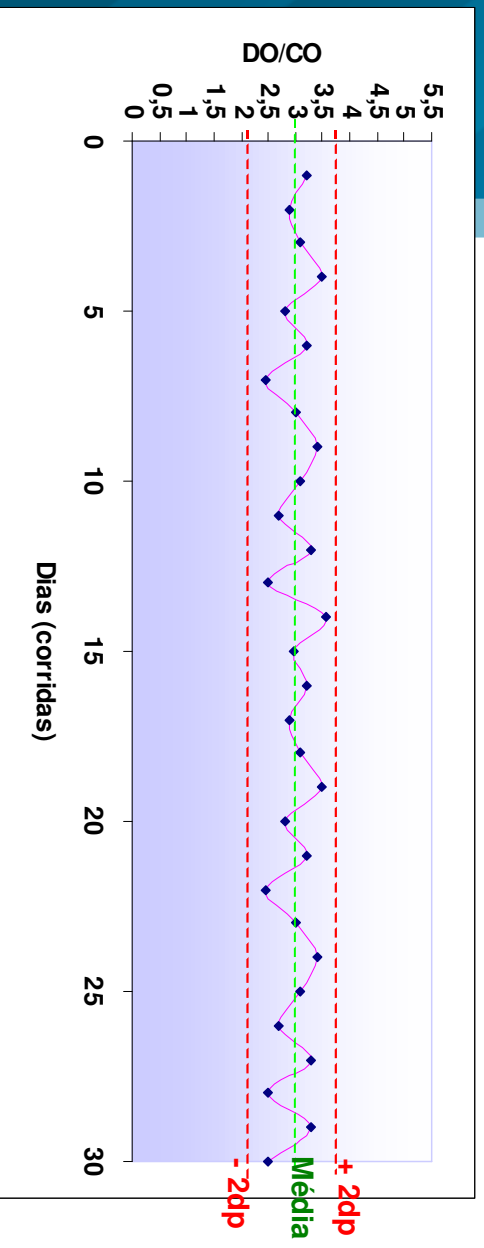
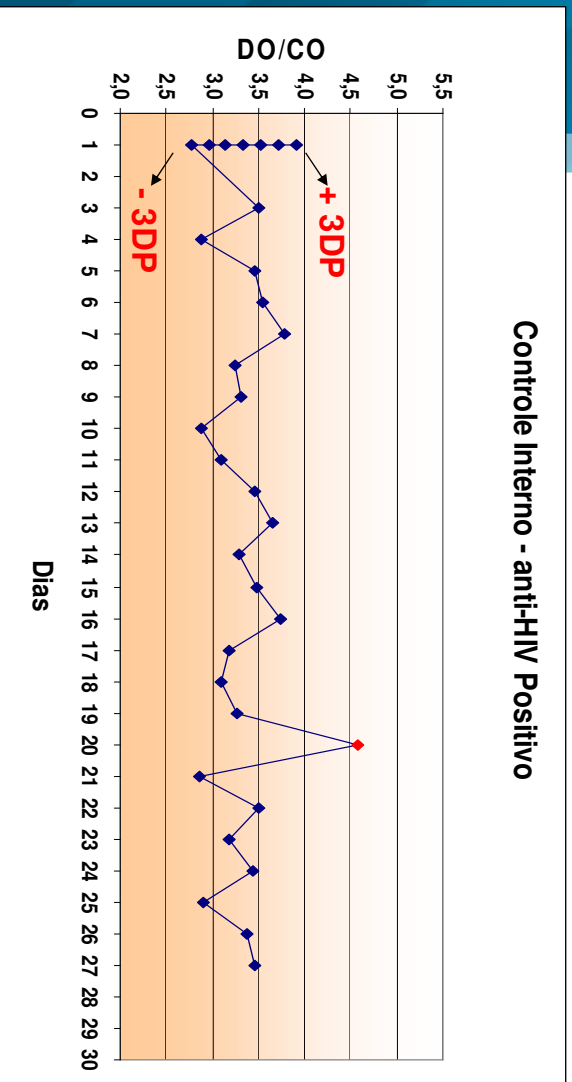


Gráfico de CQI

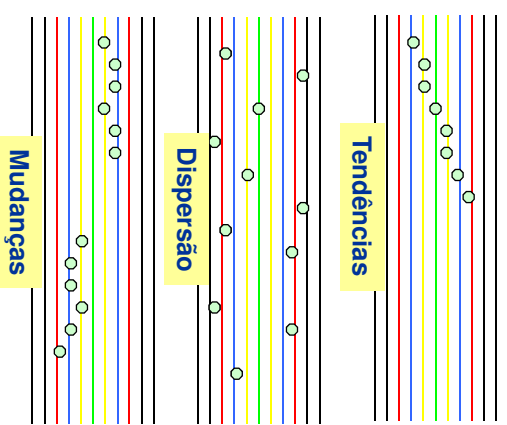
Exemplo de comportamento

Controle Interno - anti-HIV Positivo



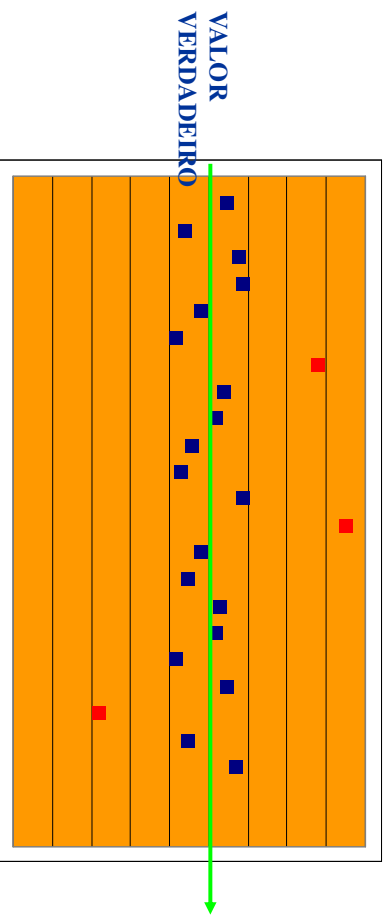
Interpretação dos Resultados Obtidos nos Gráficos de Levey - Jennings

- ✓ **Erros**
 - ✓ Randômicos
 - ✓ Sistemáticos
- ✓ **Tendências**
- ✓ **Dispersão**
- ✓ **Mudanças**



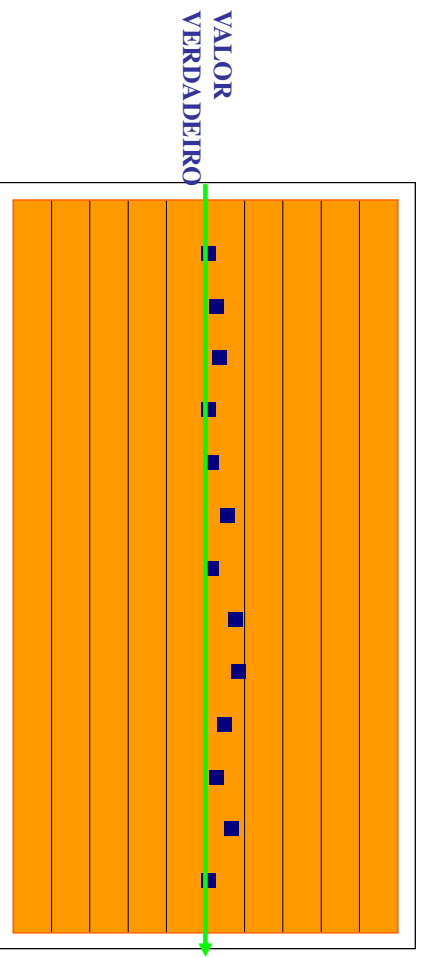
Erros Randômicos

- Erros randômicos criam uma dispersão característica dos resultados.
- Podem ser diminuídos através de treinamento, supervisão e adoção de POPS.



Erros Sistemáticos

- Erros sistemáticos criam um desvio característico nos resultados dos testes e podem ser explicados aplicando-se uma correção.

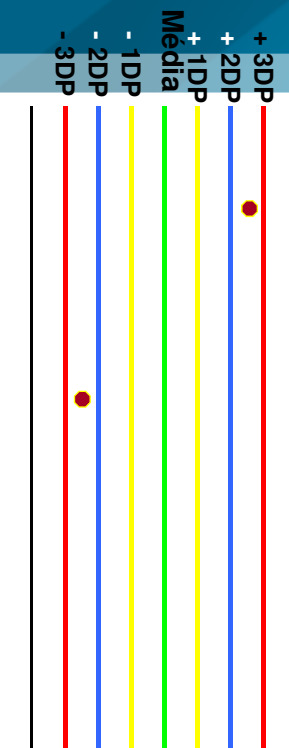


Regras de Westgard

- São seis as regras de Westgard comumente utilizadas, das quais 3, são regras de alerta e as outras 3 regras mandatórias.
- A violação das regras de alerta devem ativar uma revisão dos procedimentos do teste, performance dos reagentes e calibração dos equipamentos.
- A violação das regras mandatórias deve resultar na rejeição dos resultados obtidos na bateria de testes em questão.

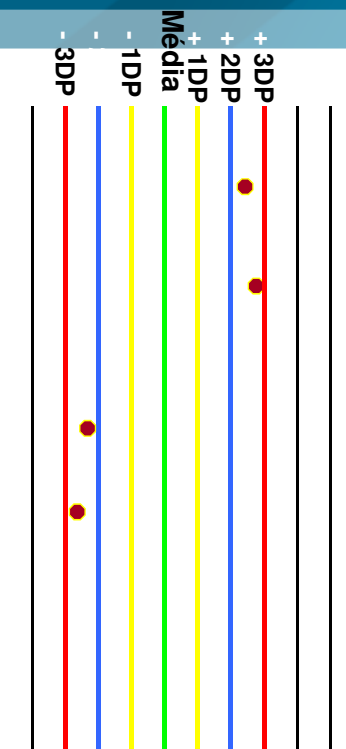
Regras de Alerta

➤ **Alerta 1_{2DP}** : É violada se o SCI excede a Média \pm 2DP



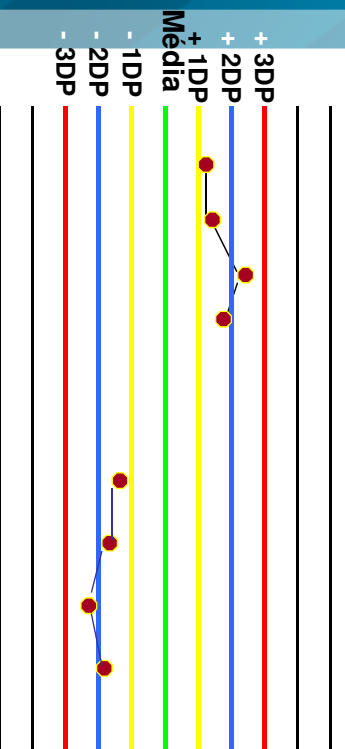
Regras de Alerta

➤ **Alerta 2_{2DP}** : Detecta erros sistemáticos e ocorre violação quando 2 valores consecutivos do SCL excedem, do mesmo lado, a Média $\pm 2DP$



Regras de Alerta

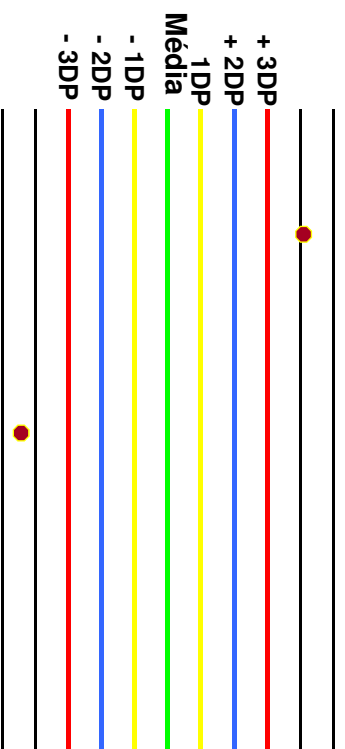
➤ **Alerta 4_{1DP}** : É violada se 4 valores consecutivos do SCL excedem o limite (Média $\pm 1DP$), do mesmo lado



Essa pode indicar a necessidade de melhorar a manutenção dos instrumentos ou a calibração dos reagentes

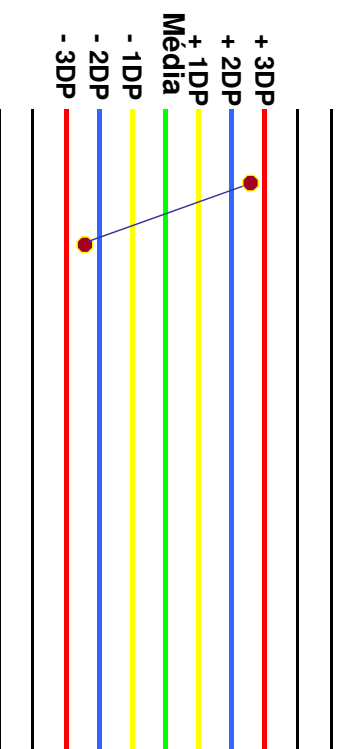
Regras Mandatórias

- **Mandatória 1** $3DP$: É violada quando o valor do CQI excede a Média $\pm 3DP$



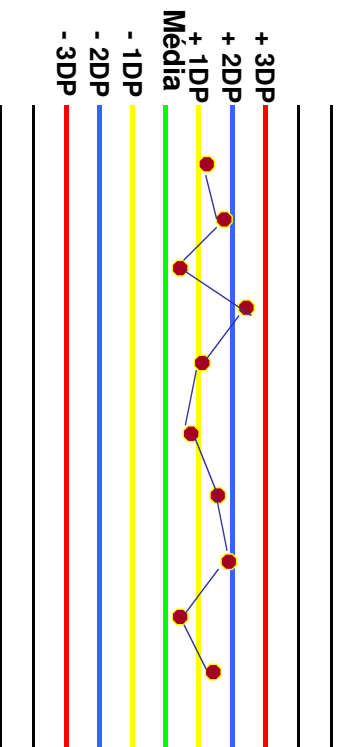
Regras Mandatórias

- **Mandatória R** $4SD$: É aplicada apenas quando o CQI é testado em duplicata. A regra é violada quando a diferença entre as duplicatas excede 4DP



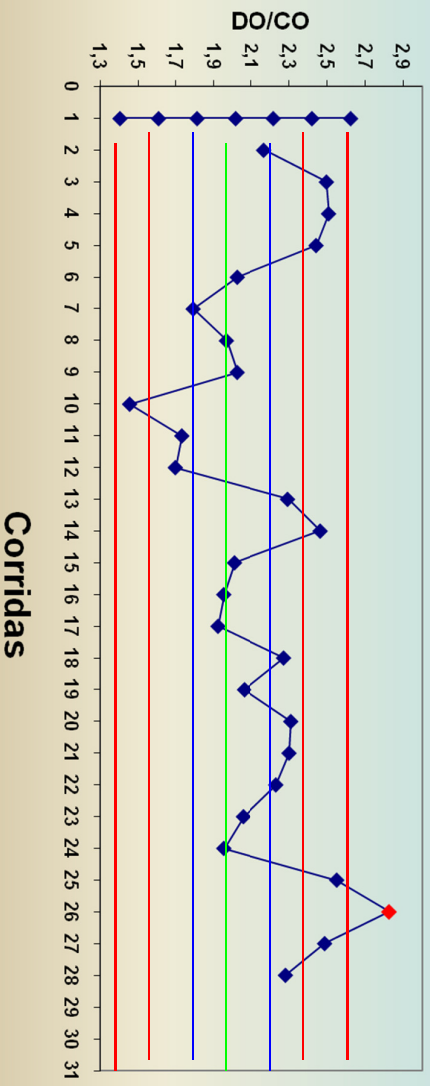
Regras Mandatórias

- **Mandatória 10x** : É violada quando pelo menos 10 valores consecutivos do CQI estão do mesmo lado da Média



Uso Diário do SCI

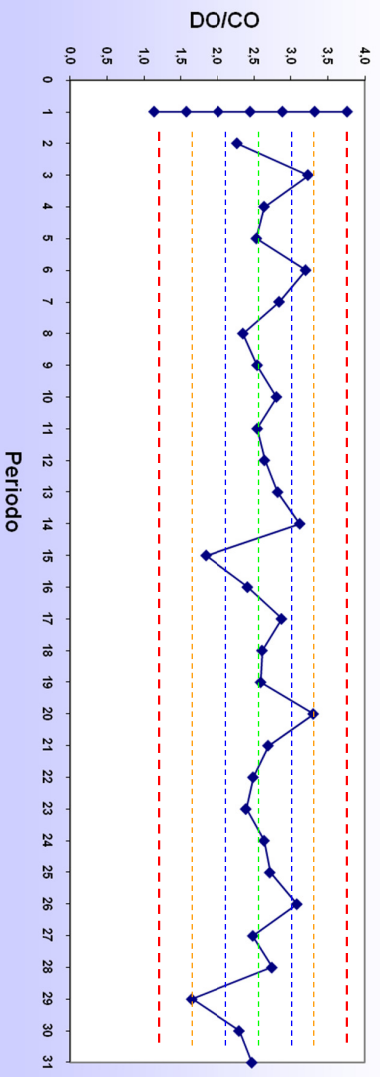
Controle Interno - anti-T.cruzi Positivo



Corridas

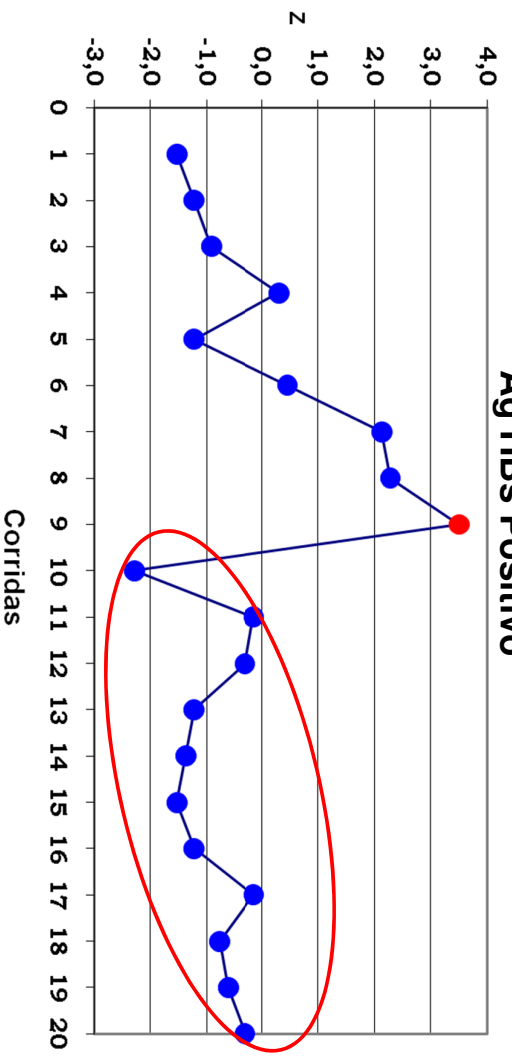
Uso Diário do SCI

Controle Interno - HCV Positivo



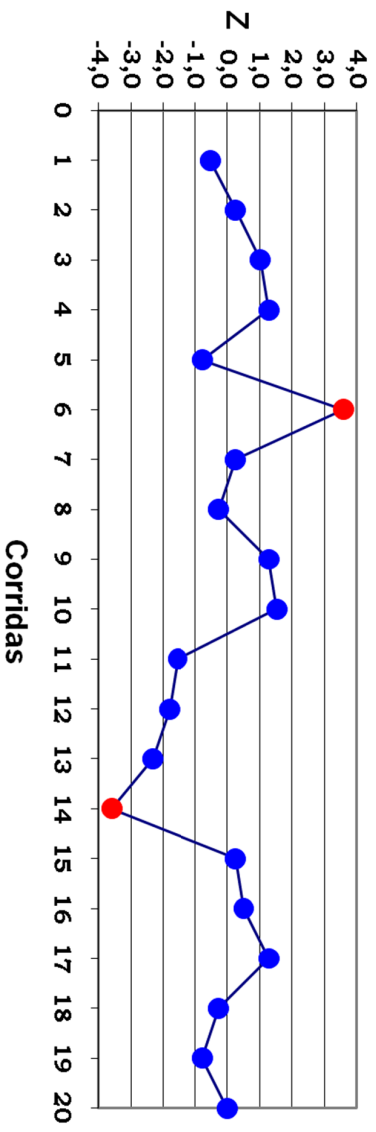
Uso Diário do SCI

Ag HBS Positivo



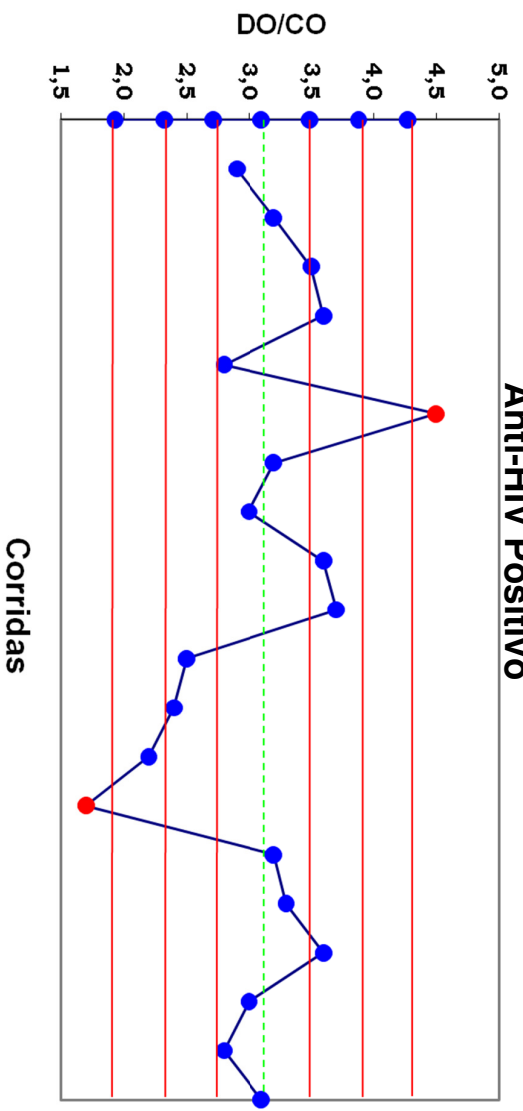
Uso Diário do SCI

Anti-HIV Positivo



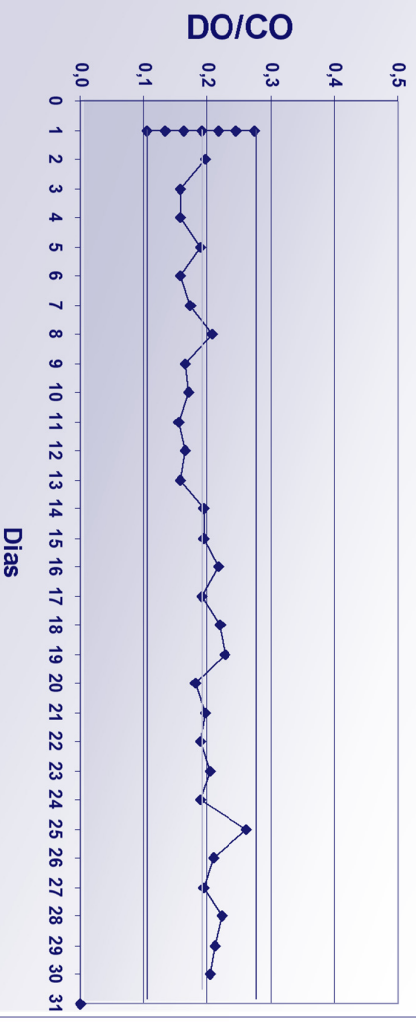
Uso Diarios do SCI

Anti-HIV Positivo



Uso Diário de SCI Negativos

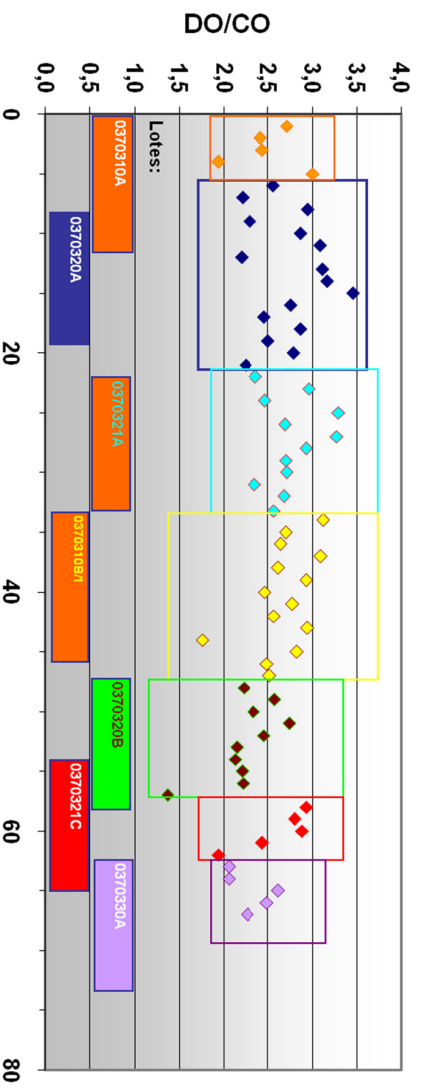
Controle Interno - HCV Negativo



Para a análise do comportamento dos SCI Negativos não se utilizam as regras de Westgard

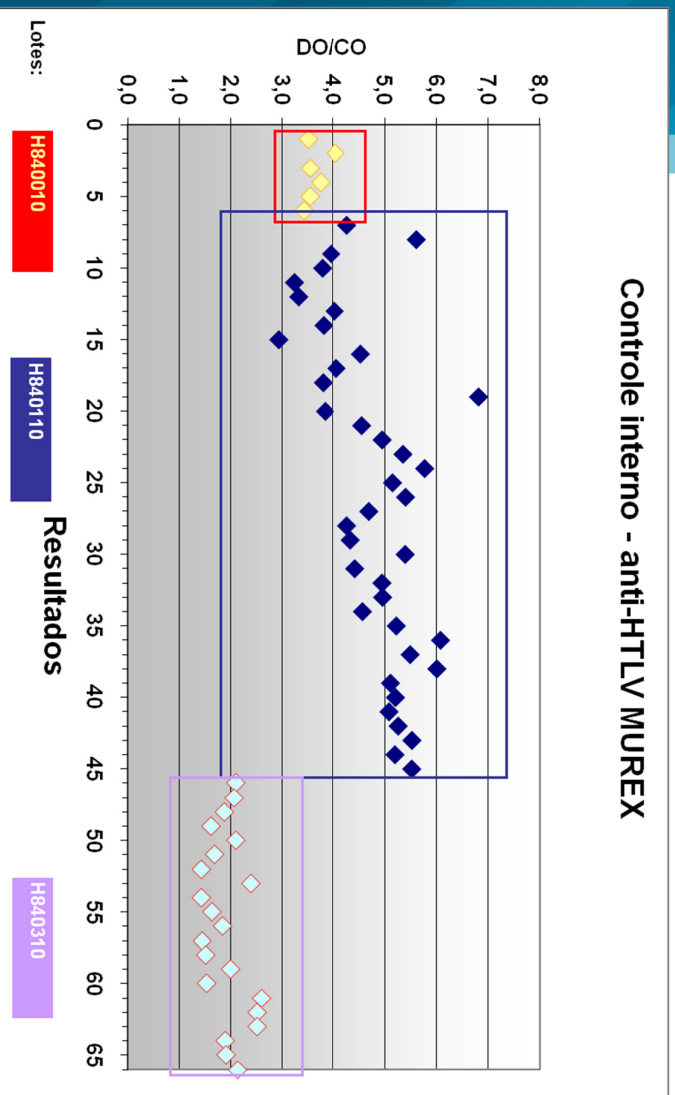
Comportamento do SCI nas Mudanças de Lotes (45 dias)

Control interno - Ag HBS - DiaSorin



Mudança de lotes (n = 3) durante um período de 66 dias

Controle interno - anti-HTLV MUREX



Análise dos resultados

Regras – Tendências – Dispersão - Mudanças

- ✓ Alerta 1_{2DP}
- ✓ Alerta 2_{2DP}
- ✓ Alerta 4_{1DP}
- ✓ Mandatória 1_{3DP}
- ✓ Mandatória R_{4DP}
- ✓ Mandatória 10x

- ✓ Tendências
- ✓ 4_{1DP}, 10x
- ✓ Dispersão
- ✓ 1_{2DP}, 1_{3DP}, R_{4DP}
- ✓ Mudanças
- ✓ Repentinhas
- ✓ Lotes diferentes

Ações Decorrentes da Violação das Regras de Westgard

✓ **ACEITAR O ENSAIO**

Somente uma regra de Alerta é violada

✓ **REJEITAR O ENSAIO**

Quando uma Regra Mandatória é violada

Avaliação de Kits Antes do uso e Controle Lote a Lote

➤ **Painel de soros com 20 amostras***

- Amostras Positivas N = 7
- Amostras Negativas N = 4
- Amostras Heterólogas N = 9

Todas as amostras são analisadas para todos os testes usados na triagem sorológica de doadores de sangue + anti-HBs. Testes confirmatórios são realizados nas amostras positivas

(*): PAINEL DE PERFORMANCE

AqHBS				A-HBS	Anti-HBC				
ELISA				Neutr.	ELISA	ELISA			
amostras	BMérieux	Murex	Dade B	DiaSorin	BMérieux	BMérieux	Murex	Dade	
1	>50	>30	>50	>50	(+)	0,6	0	0,1	0
2	>50	>30	>50	>50	(+)	0,5	0	0,1	0
3	7,3	22,1	35,6	15,1	(+)	0,3	0,1	0,1	0,1
4	44,3	>30	>50	>50	(+)	0,4	0,3	0,2	0,5
5	26,3	>30	>50	39,1	(+)	0,3	0,8	0,1	0,5
6	44,2	>30	>50	>50	(+)	0,4	0	0,1	0
7	4,9	13,3	29,5	10,7	(+)	0,3	0	0,1	0
8 - 11	Neg	Neg	Neg	Neg		Negativas			
12 - 13	Neg	Neg	Neg	Neg		Sífilis			
14 - 15	Neg	Neg	Neg	Neg		Chagas			
16 - 17	Neg	Neg	Neg	Neg		HCV			
18 - 19	Neg	Neg	Neg	Neg		HIV			
20	Neg	Neg	Neg	Neg		HTLV			

Painel de Performance: Anti-HIV

ELISA				anti-HIV		WB	
Amostras	BMérieux1+2+"O"	Bmérieux AgAc	Wiener	Murex AgAc	Genelabs		
1	22,9	17,3	11,3	10,7	Positivo		
2	21,8	18,3	5,2	11,9	Positivo		
3	17,1	24,2	13,5	9,7	Positivo		
4	> 23,7	18,6	12,7	12	Positivo		
5	> 23,7	21,5	10,3	11,6	Positivo		
6	> 23,7	23	12,4	13,8	Positivo		
7	> 23,7	21,3	11,5	12	Positivo		
8	0,4	0,3	0,6	0,4		Sífilis	
9	0,4	0,3	0,4	0,4		Chagas	
10	0,3	0,3	0,3	0,4		HCV	
11	0,3	0,5	0,4	0,3		HTLV	
12	0,4	0,3	0,3	0,3		HBS Ag	
13	0,6	0,3	0,3	0,4			
14	0,5	0,3	0,4	0,3			
15	0,6	0,3	0,3	0,3			
16	0,6	0,3	0,4	0,3			
17	0,6	0,3	0,3	0,3			
18	0,4	0,3	0,6	0,3			
19	0,5	0,4	0,3	0,4			

Controle de Qualidade Externo

- **Corresponde a uma avaliação externa do desempenho dos laboratórios.**
- **Programas de Controle de Qualidade Externo em Sorologia (PCQES) são considerados como um desafio para verificar se o Sistema de Gerenciamento da Qualidade e o Controle de Qualidade Interno estão funcionando adequadamente.**
- **As ferramentas de trabalho são amostras (+) e (-).**

Controle de Qualidade Externo

- **Programas disponíveis no PNCQ**
 - **Imunologia Básica** (Sífilis, Chagas, HBsAg, HIV, ASO e hCG)
 - **Imunologia Avançada** (HAV IgG e IgM; HCV; anti-HBs; anti-HBe; HBe; CMV IgG e IgM; Toxoplasmose IgG e IgM; Rubéola IgG e IgM; Mononucleose; Fator Reumatóide; Proteína C Reativa; IgG, IgM; IgA; IgE; C₃; C₄; anti-HBc IgG e IgM; HIV 1/2 e Herpes simples IgG e IgM)
- **Sorologia para Bancos de Sangue** (Sífilis, Chagas, HBsAg, anti-HBc, HTLV, HCV e HIV)

Multipainel para Controle Esterno Painel Cego

- 10 a 24 amostras de soro
- **Amostras positivas :**
 - HIV
 - HTLV
 - AgHBS , Anti-HBc
 - *Anti - T. cruzi*
 - Sífilis
 - HCV
- **Amostras negativas**

GABARITO

Amostras	HIV	HTLV	AgHBS	anti-HBc	HCV	anti- <i>T.cruzi</i>	Sífilis	NEG
1	1							
2								2
3						3		
4			4	4	4			
5		5						
6							6	
7			7	7				
8				8			8	
9	9							
10	10							
11		11		11				
12			12	12				
13						13		
14					14			
15			15	15				
16						16		
17					17			
18		18		18		18		
19	19			19				
20					20			
21			21	21				
22						22		
23	23							
24		24						

Painel para PCQES Painel Cego

- 10 amostras de soro
- **Amostras positivas**
 - *T. cruzi*
- **Amostras negativas**

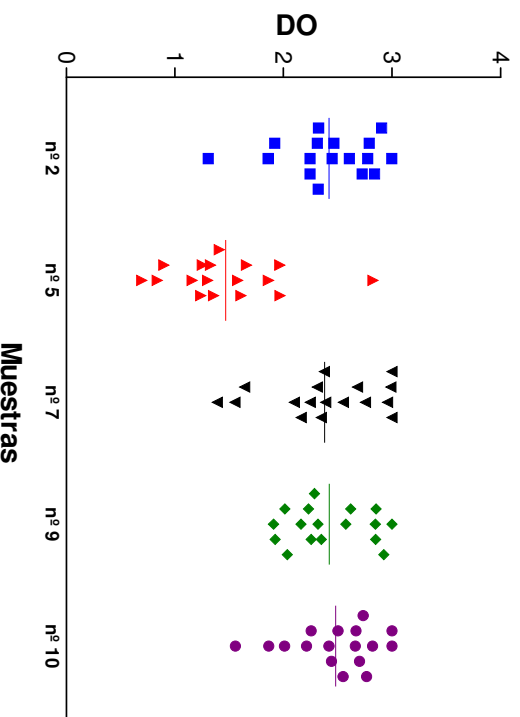
Observação: Programa específico para laboratórios na Costa Rica

Painéis de Soro Utilizados nos Programas de Avaliação Externa para a Triagem de anti-*T. cruzi* – Costa Rica

PROGRAMAS				
PACR1205	PACR0606	PACR0107	PACR0707	PACR0108
N	Positiva	N	Positiva	N
Positiva	Positiva	N	Positiva	Positiva
N	N	Positiva	N	Positiva
N	N	Positiva	N	Positiva
Positiva	Positiva	N	Positiva	N
N	N	Positiva	N	Positiva
Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
N	N	Positiva	Positiva	N
Positiva	N	N	N	Positiva
Positiva	Positiva	N	Positiva	Positiva

PROGRAMAS DE AVALIAÇÃO EXTERNA RESULTADOS

Gráfico 2. Distribución de los valores de D.O reportados por los LP en las muestras anti-*T. cruzi* positivas, utilizando el test Wiener anti-*T. cruzi* (Lisado)



Caracterização das Amostras

- ✓ Os testes usados na triagem sorológica são qualitativos
 - Detectam se o parâmetro investigado, está presente ou ausente
- ✓ Os resultados obtidos pelos Laboratórios Participantes serão comparados com o painel enviado. Dessa forma o painel de referência deverá ser muito bem caracterizado, para assegurar a confiabilidade dos resultados

Diferentes testes usados na caracterização de um Multipainel

Testes	HIV*	HTLV**	AghBs	Anti-HBc	Anti-HCV***	Chagas	Sífilis
ELISA	8	3	6	4	3	7	4
MEIA	2	-	1	1	-	-	-
CHLIA®	1	-	1	-	-	-	-
HAI	-	-	-	-	-	3	2
VDRL	-	-	-	-	-	-	5
RPR	-	-	-	-	-	-	3
Confirmatório	WB	WB	Neutroal	Anti-HBs	IB	WB	FTA abs
Total	12	4	9	6	4	11	15
Total	61						

(*) : anti-HIV 1+2, anti-HIV 1+2+“O” y HIV Ag/Ab
 (**): anti-HTLV 1+2 (***) Anti-HCV y HCV Ag/Ac

®: Architect – Vítrós - Lyason

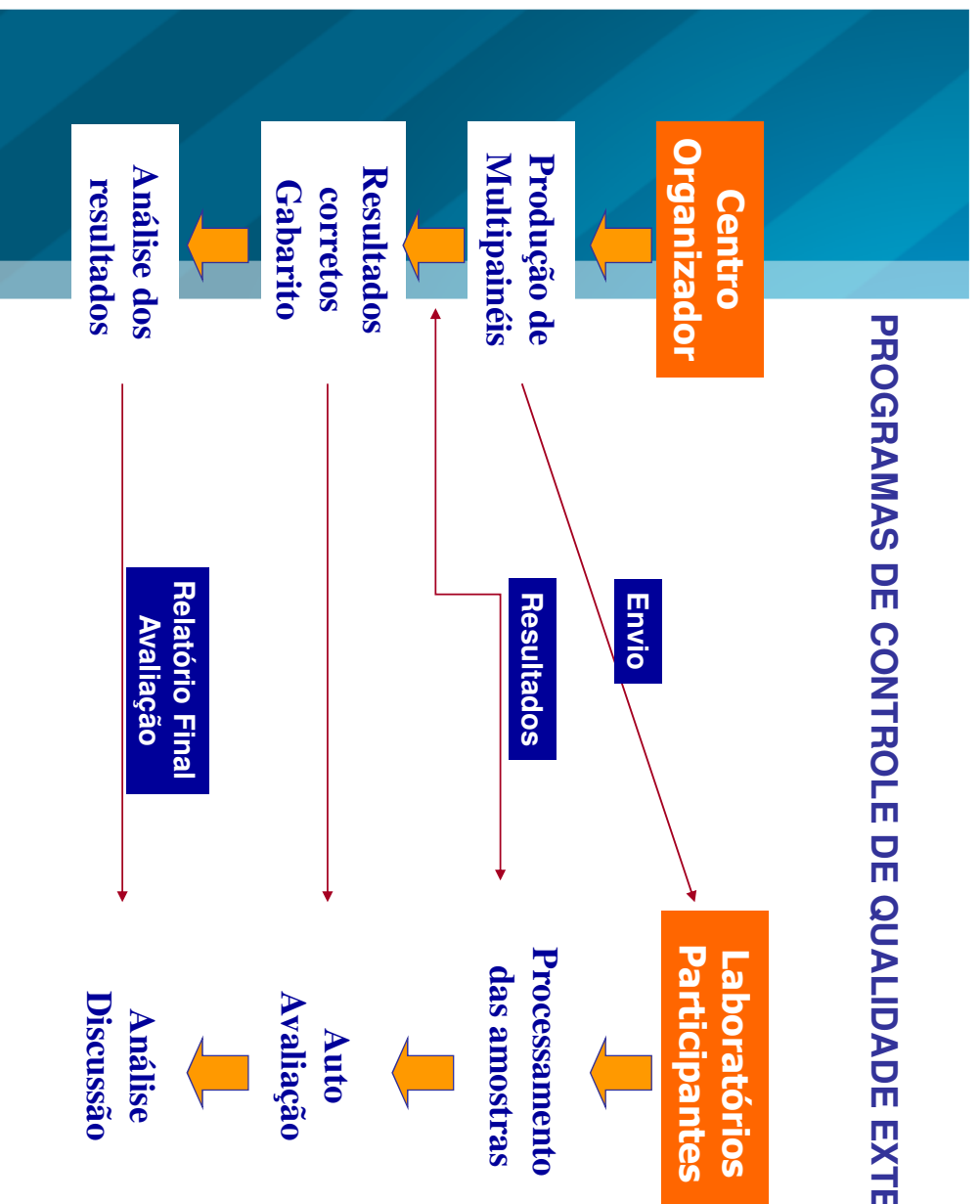
Painéis de soros para programas de avaliação externa (anti-*T.cruzi*)

Caracterização do painel para Chagas

ELISA		HAI					
Chagatek Bioschile biomérieux Wiener rec Wiener Lis Imunoserum biomérieux							
Amostras	DO/CO	DO/CO	DO/CO	DO/CO	DO/CO	DO/CO	Resultado
1	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0	0,3	NR
2	5,6	4,0	9,8	8,9	9,2	7,5	1/2560
3	8,1	2,7	5,3	7,4	8,8	5,7	1/80
4	9,4	2,6	6,8	4,5	8,0	7,1	1/160
5	0,3	0,1	0,1	0,0	0,0	0,3	NR
6	4,8	2,3	4,8	6,7	4,2	4,5	1/160
7	7,5	3,7	10,0	8,3	8,6	6,3	1/1280
8	0,3	0,1	0,1	0,0	0,0	0,3	NR
9	6,6	2,9	7,9	6,4	8,6	6,8	1/640
10	7,4	3,8	8,5	6,9	9,1	6,7	1/320

Amostras No 2, 3, 4, 6, 7, 9 e 10 TESA plot positivas

PROGRAMAS DE CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO



Controle Externo - Conteúdo do Relatório Final

- ✓ Número, tipo e distribuição geográfica dos Laboratórios Participantes.
- ✓ **Caracterização do Multipainel (IMPORTANTE)**
- ✓ Estratégias usadas pelos Laboratórios Participantes
- ✓ **Resultados Falsos Positivos e Falsos Negativos**
Número, % e distribuição por metodologia, por parâmetro e por marca comercial dos kits usados.
- ✓ Resumo das discordâncias observadas durante o desenvolvimento dos programas
- ✓ **Informações consideradas relevantes.**
- ✓ Testes confirmatórios utilizados

Modelo de relatório final do Programa Básico e Avançado

RELATÓRIO SEGUNDA AVALIAÇÃO DO PRO-EX 0332

Imunologia Básica

Constituinte: HVV

Método

==> Estatística geral

Descrição	QGAV
REAGENTE	1.721
NÃO REAGENTE	116
NÃO CONCLUSIVO	14

Responsabilidades do Centro Organizador

- ✓ Produzir Amostras (+) e (-) bem caracterizadas.
- ✓ Organizar e gerenciar os Programas.
- ✓ Analisar os dados e preparar o relatório final
- ✓ Enviar gabaritos, painéis de soros ou multipainéis e as avaliações.
- ✓ Desenvolver programas de educação continuada
- ✓ Avaliar o grau de satisfação dos laboratórios participantes

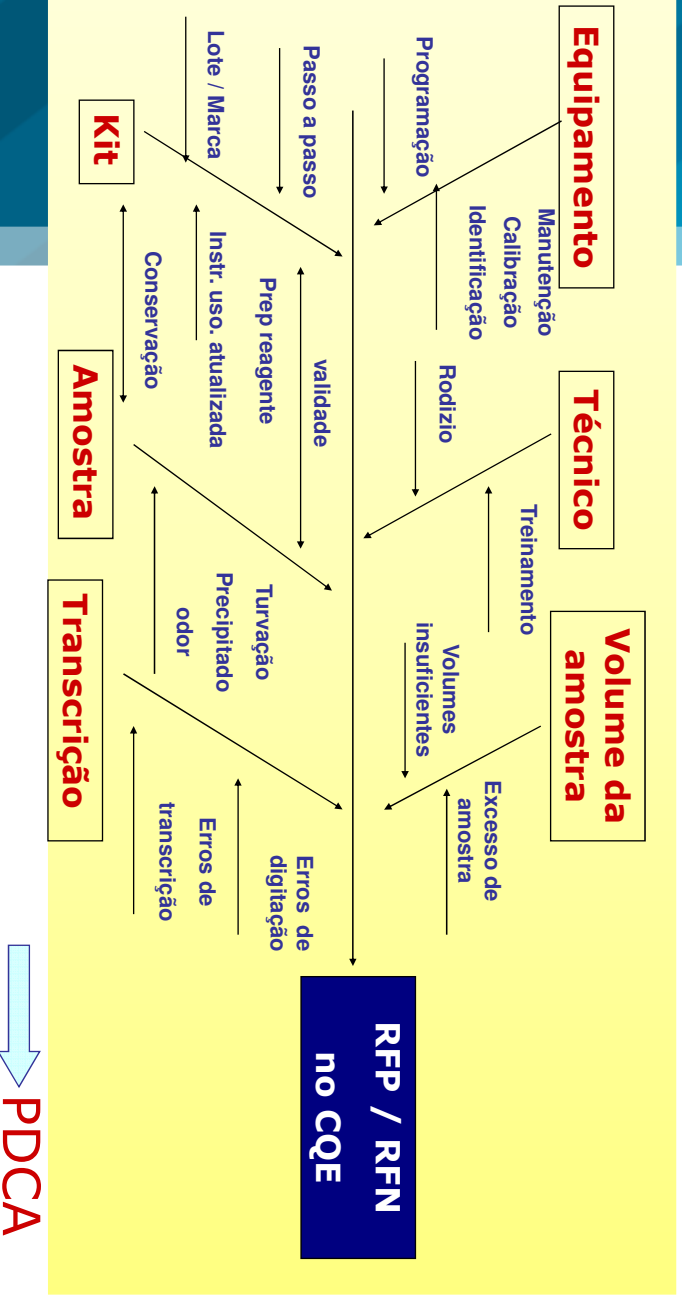
Responsabilidades dos Laboratórios Participantes

- ✓ **Adesão aos programas**
- ✓ **Processamento das amostras**
 - ✓ Nas mesmas condições da rotina diária
- ✓ **Enviar os resultados ao CO, observando a data limite**
- ✓ **Auto avaliação**
- ✓ **Análise do relatório final**
 - ✓ Com a participação de todos os colaboradores
- ✓ **Tratar das não conformidades**

Controle Externo - Comentários

- ❑ Os Programas tem como objetivo avaliar o desempenho dos LPS. São desenvolvidos com a intenção de cooperar, assegurando a confidencialidade dos resultados individuais.
- ❑ Possíveis falhas nos procedimentos internos dos LPS podem dar origem a Resultados Falsos Positivos e / ou Resultados Falsos Negativos.

Diagrama de Causa e Efeito - exemplo



Causas selecionadas: 1º nível

Contribuidores da causa principal: 2º nível

Variáveis que podem afetar a qualidade dos resultados

- **Formação, treinamento e atualização da equipe do laboratório.**
- **Amostras.**
- **Reagentes e equipamentos.**
 - Lotes / características;
 - Assistência técnica / treinamento / manutenção.
- **Controles internos utilizados.**
- **Interpretação dos resultados.**
- **Transcrição dos resultados.**

Principais problemas detectados durante o desenvolvimento do Controle Externo

- Contaminação das amostras gerando RFP, que pode ocorrer como consequência de falha humana ou devido aos equipamentos usados.
- Erros na transcrição dos resultados (RFP e RFN)
- Falhas na sensibilidade e/ou especificidade dos kits utilizados (RFP e/ou RFN)
- Procedimentos inadequados de CQI (RFP e/ou RFN)

Considerações Finais sobre o Controle Externo

- ✓ **Objetivo**
Avaliar o desempenho dos Laboratórios Participantes
- ✓ **Intenção**
Cooperar, assegurando a confidencialidade dos resultados individuais
- ✓ **Deteção de não concordâncias**
Resultados Falsos Positivos (RFP)
Resultados Falsos Negativos (RFN)

Considerações Finais sobre o Controle Externo

- ✓ **Documentar e investigar as causas das não conformidades: RFP e/ou RFN**
Revisão de todas as etapas do processo
Equipamentos, reagentes, lotes, pipetas, operadores, tempos, SCI, etc..
- Participação de toda a equipe do Laboratório Participante**
Aplicar as ferramentas da qualidade
- ✓ **Documentar as causas encontradas**
- ✓ **Adotar medidas corretivas e preventivas**

Muito Obrigado

a.guimaraes@pncq.org.br