

Control de calidad en el tamizaje para enfermedades infecciosas en bancos de sangre. ¿Por qué? y ¿cómo?

Amadeo Sáez-Alquezar¹, Pedro Albajar-Viñas², André Valpassos Guimarães¹, José Abol Corrêa¹

¹ Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ)/Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC), Rio de Janeiro, Brazil

² Organización Mundial de La Salud

INFORMACIÓN SOBRE EL ARTÍCULO

Autor correspondiente:

Dr. Amadeo Sáez-Alquezar
Programa Nacional de Controle
de Qualidade (PNCQ)/Sociedade
Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)
Rio de Janeiro, Brazil
Correo electrónico: amadeo62@gmail.com

Palabras clave:

control de calidad interno, control de calidad externo, enfermedades infecciosas, tamizaje, bancos de sangre, pruebas cualitativas

RESÚMEN

Procedimientos de control de calidad son indispensables para asegurar la confiabilidad de los resultados emitidos por los laboratorios responsables por el tamizaje serológico en bancos de sangre. Dentro de un sistema de gestión de la calidad las recomendaciones internacionales categoriza como de fundamental importancia de la adopción por lo menos de dos tipos de control: a) Control de calidad interno (CCI) y b) Control de calidad externo (CCE). En el CCE se considera que la participación en programas de evaluación externa debe tener una frecuencia mínima de evaluación mensual por el laboratorio. Por otro lado el CCI debe constituirse del uso diario de sueros control de baja reactividad (SCI) que deben ser introducidos sistemáticamente en todas las corridas, procesadas en el laboratorio para cada parámetro. Los criterios de aceptación y rechazo de las corridas, por medio del análisis del comportamiento de los SCI, podrá presentar algunas variaciones, pero lo realmente importante es que esos criterios sean definidos previamente y todavía más importante que sean obedecidos; y eso corresponde a la validación de las corridas analíticas de cada prueba. Esta ha sido, por ejemplo, la experiencia del PNCQ*,

el cual desde 2010 ha desarrollado programas de control de calidad externo en serología para bancos de sangre usando muestras de suero liofilizadas y bien caracterizadas para la reactividad referente a los parámetros usados en el tamizaje serológico de donantes de sangre. Esos programas han utilizado paneles ciegos de seis muestras para evaluaciones mensuales. En las últimas 50 evaluaciones, con la participación de 68 bancos de sangre en Brasil, se observó un número importante de no conformidades en todas las evaluaciones mensuales. Estos resultados sirven de apoyo a la recomendación de que las evaluaciones sistemáticas deben ser por lo mínimo mensuales.

(*): *Programa Nacional de Controle de Qualidade*

INTRODUCCIÓN

El escenario actual del tamizaje serológico para enfermedades infecciosas en bancos de sangre incluye el uso de pruebas serológicas cualitativas para HIV, HTLV, HCV, HBV y sífilis. En los países de América Latina, endémicos para la enfermedad de Chagas, también se realiza el tamizaje para anti-*T.cruzi*. Paralelamente al tamizaje serológico se recomienda el uso de pruebas NAT (nucleic acid testing) para HIV, HBV y HCV para disminuir el riesgo de transmisión durante el periodo de ventana inmunológica.

El tamizaje serológico se realiza utilizando pruebas sensibles y específicas, con metodologías ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) y CLIA (chemiluminescence immunoassay) en la mayoría de los casos en plataformas automatizadas para atender al gran volumen de muestras y al tiempo corto para la soltura de los resultados¹.

Todas las pruebas serológicas usadas en el tamizaje son cualitativas y deben ser acompañadas por procedimientos de control de calidad adecuados para ese tipo de pruebas y que aseguren la calidad de los resultados finales.

Procedimientos de control de calidad son indispensables para asegurar la calidad de los resultados emitidos por los laboratorios responsables por el tamizaje serológico. Recomendaciones internacionales y nacionales indican que dentro de un sistema de gestión de la calidad es de fundamental importancia que se adopten por lo menos dos tipos de control: a) Control de calidad interno y b) Control de calidad externo¹⁻⁴.

El control de calidad externo significa la participación en por lo menos un programa de evaluación externa de la calidad (PEEC) que use paneles bien caracterizados que contengan muestras para todos los parámetros del tamizaje y que además permitan tener una evaluación como mínimo mensual.

Desde el final de los años 90, por iniciativa de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) los laboratorios de referencia de bancos de sangre de la mayoría de los países de América Latina pasaron a participar en programas de control de calidad en serología y muchos de ellos pasaron a funcionar como centros organizadores en el desarrollo interno de cada país de esos mismos programas⁵⁻¹¹. Hasta los días de hoy se mantiene esa tradición de participar de los programas de evaluación externa (PEED), principalmente debido a las solicitudes contenidas en las normativas de los países y por recomendación de entidades internacionales. *No todos los programas tienen las mismas características y en general no atienden a la necesidad de evaluaciones mensuales.*

Ya con respecto a la adopción del control de calidad interno, por el uso de sueros control de baja reactividad, aunque las normativas nacionales recomienden su uso, quedan poco visibles los resultados obtenidos y parece existir poca uniformidad en los procedimientos y reglas a ser adoptados.

El objetivo de este trabajo (manuscrito) es presentar los procedimientos más adecuados para

el desarrollo de los programas de control de calidad externo y para la implementación del control de calidad interno, siempre pensando en pruebas serológicas cualitativas usadas en el tamizaje de donantes de sangre.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

De acuerdo con el Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) la ronda analítica es el intervalo de tiempo en que se llevan a cabo una serie de mediciones de manera estable en términos de precisión y exactitud pero hemos de llevar en consideración que pueden ocurrir efectos adversos que deberán ser detectados de forma adecuada¹². El Control de calidad interno corresponde al uso diario de sueros control de baja reactividad que deben ser introducidos en todas las corridas (rondas), efectuadas en el laboratorio para cada parámetro.

Hemos de considerar que la validación del programa de control interno es responsabilidad de cada laboratorio, de forma que pueda atender a las necesidades básicas dentro de sus características de funcionamiento. Al mismo tiempo es importante considerar la importancia de la armonización de los criterios de uso y de

aceptación en la práctica diaria de los sueros control interno de baja reactividad (SCI).

Ha de quedar bien claro que los SCI son diferentes de los sueros control positivos o negativos que hacen parte de los kits diagnósticos. Los SCI pueden ser preparados en los propios laboratorios o, lo más recomendable, que sean adquiridos de proveedores especializados en la producción de esos productos.

Los SCI deben ser usados diariamente en la rutina del laboratorio para monitorear el comportamiento de cada prueba. Sirven para validar las corridas analíticas. El número, la frecuencia y los niveles de los controles dependerán del número y de la magnitud de la ronda analítica. En las pruebas ELISA, que usan micro placas, se utiliza un SCI positivo y un negativo para cada micro placa de la rutina. Para los equipos de flujo continuo se recomienda el uso de un SCI positivo por cada 100 o 200 muestras.

Inicialmente cada SCI debe ser ajustado para el uso con cada prueba específica. En la mayoría de los laboratorios en América Latina se han adoptado los criterios de reactividad mostrados en el Cuadro 1¹.

Cuadro 1 Sueros Control Interno (SCI) de baja reactividad para monitorear las rondas diarias en los laboratorios que realizan el tamizaje serológico de donantes de sangre

| SCI Positivos | |
|-------------------------------------------|-----------|
| Índice: valor de lectura / valor de corte | >1.0 |
| Rango recomendado | 2.0 – 4.5 |
| Para pruebas competitivas, índice | >1.0 |
| Rango recomendado | 0.3 – 0.7 |
| SCI Negativos | |
| Índice: valor de lectura / valor de corte | >1.0 |
| Rango recomendado | <0.8 |
| Para pruebas competitivas | >2.0 |

Cuando los SCI son preparados internamente, se han de hacer ajustes (diluciones) para alcanzar el índice de reactividad dentro del rango establecido. Cuando se compran de proveedores, aunque la mayoría prepare esos sueros individualmente para cada una de las marcas comerciales, no siempre encontraremos los valores adecuados y frecuentemente tendremos que hacer ajustes por dilución para alcanzar los valores deseados. Claro que eso será posible únicamente cuando los valores de reactividad estén hacia arriba de los límites del rango deseado.

Después que se obtienen los valores de reactividad dentro del rango deseado, se recomienda que los SCI se almacenen a -20° C en alícuotas de volumen pequeño para uso diario. De esa manera se evita que ocurra decaimiento de la reactividad, como ocurre cuando alícuotas más grandes son almacenadas en refrigeración por periodos de varios días. Para cada uno de los SCI positivos escogidos para cada parámetro y para cada metodología, se realiza una estandarización efectuando veinte ensayos replicados para obtener la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación. La transformación de estos datos en unidades de desviación estándar (Z score) permite en primer lugar, excluir valores extremos (outliers) en las 20 determinaciones aplicando el test de Grubbs¹³ y al mismo tiempo facilita la construcción del gráfico de Levey Jennings¹⁴ que será usado para la inserción de los valores diarios de los SCI.

El gráfico de Levey Jennings sirve para reportar los valores sucesivos de control y permite un análisis diario del comportamiento de los SCI dentro de los límites de decisión: ± 1 DS, ± 2 DS y ± 3 DS. Por ese análisis se pueden evidenciar desvíos de la normalidad representados por tendencias (errores sistemáticos) o por dispersión de los resultados (errores aleatorios) y también por cambios repentinos que pueden

indicar cambio de lotes de reactivos o cambios importantes en los equipos.

La mejor manera de analizar las variaciones diarias de los SCI es utilizando algunas de las reglas de Westgard¹⁵. Por lo menos tres reglas consideradas de alerta (12DE, 22DE y 41DE) nos permiten identificar tendencias que pueden ser corregidas con antelación. Otras dos reglas consideradas mandatorias (1_{3DE} y 10x) nos indican que la corrida presento alteraciones importantes que ponen en riesgo los resultados obtenidos; de tal forma que no se deberán aceptar los resultados.

Además de los SCI positivos se deben utilizar SCI negativos. Los criterios de aceptación de reactividad de esos controles están en el Cuadro 1, y los procedimientos para estandarización y aplicación en el gráfico de Levey Jennings son los mismos que para los SCI positivos, con la única diferencia que en este caso, para el análisis del comportamiento diario, no se utilizan las reglas de Westgard. Importa únicamente verificar la uniformidad de los resultados, siempre negativos, alrededor de la media.

Como fue comentado anteriormente la validación del programa de control interno es responsabilidad de cada laboratorio, de forma que pueda atender a las necesidades básicas dentro de sus características de funcionamiento. Los criterios de aceptación y rechazo de las corridas, por medio del análisis del comportamiento de los SCI, podrá presentar algunas variaciones, pero lo más importante es que esos criterios sean definidos y todavía más importante que sean obedecidos. *Eso corresponde a la validación de las corridas analíticas de cada prueba.*

En la práctica diaria es bastante común que ocurran variaciones entre los distintos lotes de una misma prueba del mismo fabricante. Si esas variaciones son muy significativas podrán afectar directamente los resultados de las muestras analizadas, por lo que, las normas de algunos

países recomiendan que en el cambio de lotes de los kits de diagnóstico, el laboratorio haga una evaluación para garantizar la continuidad del desempeño del lote anterior³. Variaciones menos significativas se observan casi siempre en el cambio de lotes y ha de quedar bien claro que cuando ocurre este cambio, hace falta estandarizar nuevamente el SCI positivo que estaba siendo utilizado.

El uso de paneles de suero para poder evaluar los kits de diagnóstico antes de la utilización en la rutina, bien como en los cambios de lotes, para verificar si se mantiene el desempeño inicial: *Validación de lotes de kits antes de usarlos y validación lote a lote*².

En el Cuadro 2 están las recomendaciones finales para el uso del Control de calidad interno.

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO O PROGRAMAS DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD (PEEC)

Corresponde a una evaluación externa del desempeño de los laboratorios a modo de permitir que el procedimiento sirva para verificar

la calidad de los resultados generados por un laboratorio.

En general, los PEEC son desarrollados por instituciones consideradas de referencia o por proveedores de productos específicos para la calidad, que pasan a ser considerados como el Centro Organizador (CO). La participación en los PEEC puede ser voluntaria u obligatoria. Cuando la participación es voluntaria significa que existe una responsabilidad profesional individual de forma que los responsables por los laboratorios participantes están interesados en conocer y mejorar su desempeño. El inconveniente es que solamente los laboratorios que están preocupados por su desempeño son evaluados. Cuando la participación es obligatoria, los datos obtenidos en cada programa son más reales porque la evaluación engloba a todos los laboratorios de la red (estado, país.). De cualquier manera el hecho de que la participación sea obligatoria no garantiza el aprovechamiento de los resultados o la mejoría de los servicios porque no todos los participantes van a aprovechar las informaciones generadas en cada programa^{1,14}.

Cuadro 2 Recomendaciones a respecto del Control de calidad interno para uso en los laboratorios que realizan el tamizaje serológico de donantes de sangre

Los SCI positivos deberán ser ajustados para cada prueba, dentro de los criterios establecidos de reactividad (Cuadro 1)

Es fundamental que los SCI se apliquen en todas las corridas analíticas y que se haga el análisis de los resultados insertados en el gráfico de Levei Jennings, diariamente

Es necesario establecer criterios mínimos de aceptación y que se usen para validar las corridas diarias

En el cambio de lotes de los kits diagnósticos utilizados es necesario que se repita la estandarización de los SCI positivos

Siempre que sea posible también se recomienda que los nuevos lotes de kits diagnósticos sean evaluados utilizando paneles de sueros con muestras reactivas y no reactivas, bien caracterizadas. (evaluación lote a lote)

Las herramientas de trabajo de los PEEC son paneles ciegos de muestras de suero que el centro organizador envía a todos los laboratorios participantes (LP). Esas muestras deben estar muy bien caracterizadas por distintas pruebas comerciales para cada parámetro y las muestras reactivas deben ser confirmadas por pruebas suplementarias. Es imposible que las muestras sean caracterizadas para todas las pruebas que existen en el mercado para el ensayo de cada parámetro, pero se recomienda que se usen aquellas de uso más frecuente en la región, contemplando las metodologías más usadas actualmente que son ELISA y CLIA.

Tratándose del PEEC para evaluar el desempeño del tamizaje de bancos de sangre, es mejor que los paneles ciegos usados contengan muestras con reactividad variable para todos los parámetros del tamizaje y así tendríamos una reproducción exacta de las condiciones de rutina del tamizaje. También existe la posibilidad de usar paneles de sueros ciegos para únicamente un parámetro, como ocurre muy frecuentemente con respecto al tamizaje para anti-*T.cruzi* en países no endémicos para la enfermedad de Chagas.

La mejor manera de obtener las muestras de los paneles es a través de bolsas de plasma que fueron descartadas por haber presentado reactividad para alguno de los parámetros del tamizaje serológico. Esas unidades de plasma se transforman en suero por medio de un proceso de recalcificación y posterior diálisis o filtración. Cada unidad de suero deberá ser caracterizado antes de la preparación de los paneles.

En ciertas situaciones será necesario hacer diluciones para obtener la cantidad de muestra necesaria para el desarrollo de los programas, pues en verdad todos los LP deben recibir las mismas muestras para que el análisis y la comparación entre los resultados finales sean adecuados. Para cada parámetro existe un límite

de dilución para que las muestras mantengan sus características de reactividad para todas las pruebas de tamizaje y para las pruebas suplementarias usadas para confirmar la positividad.

El CO de un PEEC es responsable por la logística de preparar y enviar los paneles a todos los LP, que deberán procesar las muestras como si fuesen de la rutina normal. La idea es evaluar el desempeño de los LP dentro de un clima de cooperación y manteniendo la más estricta confidencialidad sobre los resultados individuales.

Como las pruebas serológicas usadas en el tamizaje son cualitativas, posibles fallas en los procedimientos internos de los laboratorios podrán dar origen a dos tipos de no conformidades: a) Resultados Falsos Reactivos (RFR) o b) Resultados Falsos no Reactivos (RFNR).

El CO debe evaluar el desempeño de los LP y preparar dos tipos de documentos: a) una evaluación individual para cada LP (confidencial) y b) un informe final donde consten informaciones estratégicas como la caracterización de las muestras del panel, porcentaje de RFR y RFNR generados en el programa, con cada una de las pruebas o metodologías adoptadas por los LP y el número total de LP. Estos datos no deben ser confidenciales y podrán estar abiertos para todos los LP y también para los responsables de la distribución de kits de diagnóstico y para las autoridades competentes del área de salud interesadas en el tema. El aprovechamiento es mucho mejor cuando se analizan y se discuten internamente los resultados de las evaluaciones y de los informes finales. Todas las NO-conformidades observadas (RFR y/o RFNR) deben ser documentadas y discutidas para poder encontrar las posibles causas que pudieron originarlas. En el Cuadro 3, se pueden observar los principales errores observados en el desarrollo de los PEEC.

Las recomendaciones finales para el mejor aprovechamiento de la implementación del

Cuadro 3 Problemas detectados más frecuentemente en el desarrollo de PEEC con los laboratorios de tamizaje serológico de bancos de sangre

| Problema | Fase |
|-----------------------------------------------------------|---------------------------|
| Contaminación de las muestras | Pre-analítica/ Analítica |
| Errores en la transcripción de los resultados | Analítica/ Post-analítica |
| Fallas de sensibilidad o especificidad de los kits usados | Pre-analítica/ Analítica |
| Procedimientos inadecuados de control de calidad interno | Analítica |
| Conservación inadecuada de las muestras | Analítica/ Pre-analítica |

control de calidad interno y de la participación en los programas de evaluación externa se presentan en el Cuadro 4.

En el escenario actual del control de calidad de los laboratorios se considera indispensable que las evaluaciones de los PEEC tengan una frecuencia, como mínimo mensual. Estudios recientes muestran que PEEC realizados en laboratorios de serología para el tamizaje de enfermedades infecciosas en bancos de sangre reportan no-conformidades (RFR y/o RFNR) en

prácticamente todos los meses en que hubo evaluación.

El “Programa Nacional de Controle de Qualidade” (PNCQ) es el mayor proveedor de ensayos de aptitud y de sueros control interno en el Brasil. Desde 2010, el PNCQ desarrolla programas de control de calidad externo en serología para bancos de sangre usando muestras de suero liofilizadas y muy bien caracterizadas para la reactividad referente a los parámetros usados en el tamizaje serológico de donantes de sangre.

Cuadro 4 Consideraciones sobre los procedimientos de control de calidad a ser adoptados en los laboratorios de Tamizaje serológico de donantes de sangre

Participación en por lo menos un PEEC con evaluaciones mensuales

Uso diario de SCI (+) y (-) para monitorear y validar las corridas analíticas

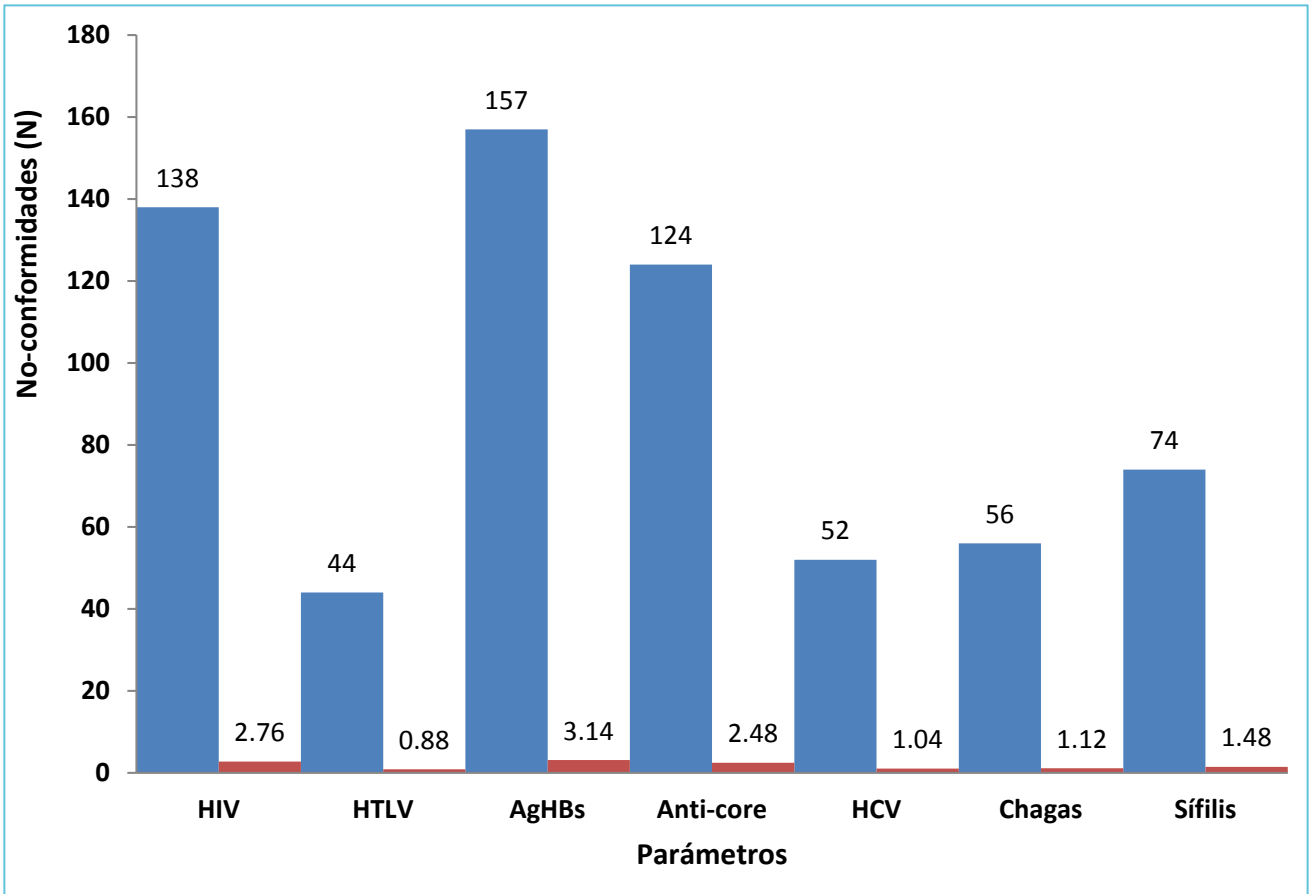
Educación y capacitación continua del personal técnico del laboratorio

Uso de kits diagnósticos de calidad comprobada (evaluación antes del uso)

Aseguramiento de la calidad interna de los equipamientos, procedimientos, reactivos diagnósticos y registros completos de todas las actividades

Visitas periódicas de inspección que hagan cumplir las normas oficiales

Figura 1 Número total de No-conformidades en la evaluación mensual de 50 PEED (en azul) y el promedio de No-conformidades por programa (en rojo)



Esos programas utilizan paneles ciegos de seis muestras para evaluaciones mensuales.

En los últimos 50 programas, con la participación de 68 bancos de sangre en Brasil, se observó un número importante de no conformidades (RFR y/o RFNR) en todas las evaluaciones mensuales (Figura 1), lo que refuerza la importancia del concepto de que las evaluaciones deben ser por lo mínimo mensuales. (Observaciones personales).

BIBLIOGRAFÍA

1. Sáez-Alquezar A, Consideraciones sobre el tamizaje serológico en donantes de sangre. Boletín electrónico del grupo cooperativo iberoamericano de medicina transfusional (GCIAMT), septiembre de 2010. gciamtboletin.blogspot.com.

2. BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada- RDC nº 153 de 14 de Junio de 2004. Diário Oficial da União. Brasília.

3. Panamerican Health Organization. Manual of quality control procedures for serology laboratories of the blood banks. Washington, technical document PAHO/HPC/HCT 94.21,1994.

4. World Health Organization. Control of Chagas disease. Geneva; WHO Technical Report Series 905. World health Organization, Geneva, 2002.

5. Duran MB & Guzmán MA. Evaluación externa de los resultados serológicos en los bancos de sangre de Colombia. Rev Panam Salud Publica. 2003 13(2/3): 138-143.

6. 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. J Clin Virol. 2005; 34 Suppl, 2. S47-S52.

7. Oknaian S, Remesar M, Ferraro I, del Pozo AE. External performance evaluation of screening in blood Banks in Argentina: results and strategies for improvement. *Rev Panam Salud Publica*. 2003; 13: 149-153.
8. Sáez-Alqu ezar, A.; Murta, M.; Marques, WP. Resultados de un Programa de Control de Calidad Externo del Tamizaje Serológico de Anticuerpos Contra Trypanosoma Cruzi en Donantes de Sangre en Brasil [The Results of an External Quality Control Program for Serological Screening for Antibodies to Trypanosoma Cruzi In Blood Donors In Brazil] *Pan american Journal of Public Health* 82, Vol. 13 (2/3) 129 – 137, 2003. [PMID: 12816129].
9. Sáez-Alqu ezar, A.; Otani, MM.; Sabino, EC.; Ribeiro dos Santos, G.; Salles, NA.; Chamone, DAF. Evaluation of the Performance of Brazilian Blood Banks in Testing for Chagas Disease. *Vox Sanguinis*, Vol. 74 (4): 228 – 231, 1998. [PMID: 9691403].
10. Sáez-Alqu ezar, A.; Otani, MM.; Sabino, EC.; Salles, NA.; Chamone, DAF. Programas de Control Externo de la Calidad en Serologia desarrollados en América Latina con el apoyo de la OPS entre 1997 y 2000 [External Serology Quality Control Programs developed with the Support of PAHO from 1997 through 2000]. *Pan American Journal of Public Health* 82, Vol. 13 (2/3) 91 – 102, 2003. [PMID: 12751462].
11. Sáez-Alquezar A, Control de calidad en serología para bancos de sangre en América Latina. *Revista Uruguaya de Patologia Clínica*, vol 40: 3-10, 2006.
12. Westgard J, Mercapide L, Sáez-Alquezar A, Porras A, Martinez O, Amaya E, Iturriza M, Mendoza E, Brambila E & Terrés A. Como garantizar La calidad Analítica. *Rev Mex Patol Clin*, vol 57(4) PP 179-189; Octubre 2010.
13. Grubb’s test for detecting outliers. Disponible en: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/GrubbsHowTo.cfm>.
14. Levey S and Jennings ER. The use of control charts in clinical laboratories. *Am J Clin Pathol*; 20:1059-1066, 1950.
15. Multirule and —Westgard Rules. Disponible en: <http://www.westgard.com/multirule>.