

*Artigo original*

## **Avaliação externa da qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV no Instituto Adolfo Lutz (IAL): desempenho dos laboratórios participantes**

### *External quality assessment on the HIV serologic testing conducted by the Central Laboratory of Instituto Adolfo Lutz (IAL): performance of the participant laboratories*

Márcia Jorge Castejon<sup>1</sup>; Rosemeire Yamashiro<sup>1</sup>; Camila Cardoso Oliveira<sup>11</sup>; Miriam Solange Fernandes Caruso<sup>11</sup>; Carmem Aparecida de Freitas Oliveira<sup>1</sup>; Alice Momoyo Sakuma<sup>11</sup>

<sup>1</sup>Centro de Imunologia. <sup>11</sup>Núcleo de Análise e Tratamento de Dados – Centro de Materiais de Referência. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil.

#### **RESUMO**

Os resultados dos exames sorológicos devem ser precisos e com correta interpretação, dada a importância médica e social de um teste HIV positivo. O objetivo deste estudo foi de avaliar o desempenho dos 19 laboratórios participantes no Programa de Avaliação Externa da Qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV (AEQ HIV - IAL). A avaliação externa foi realizada com o intuito de auxiliar os participantes no monitoramento da exatidão de seus resultados, e com isso oferecer melhor qualidade nos serviços prestados à população. Em 2014, esses laboratórios participaram de quatro rodadas do programa, em que foram distribuídos painéis de soros (itens de ensaio) caracterizados quanto à reatividade de anticorpos específicos anti-HIV empregando-se diferentes modalidades de testes imunodiagnósticos. Os laboratórios participantes realizaram a análise nos itens de ensaio por meio de conjuntos de testes sorológicos anti-HIV empregados na respectiva rotina laboratorial. Dos 17 laboratórios participantes em ensaios de triagem, 16 apresentaram 100% de desempenho satisfatório e um obteve 96,7% por apresentar resultado inadequado em um item de ensaio. A avaliação satisfatória anual dos laboratórios participantes em ensaios confirmatórios foi 100%, com exceção de dois participantes que obtiveram 75% em função do não cumprimento das regras estabelecidas pelo programa. O programa AEQ HIV - IAL evidenciou a implementação de atividades desenvolvidas nos laboratórios, baseada na competência dos recursos humanos, e atestou a utilização de reagentes diagnósticos de boa qualidade, que são cruciais para produzir resultados laboratoriais confiáveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** HIV. AEQ. Imunoensaios. Anticorpos. Controle de qualidade.

Suporte Financeiro: Sibratec - REDSANG “Estruturação de Rede de Laboratórios de Sangue e Hemoderivados”, com apoio Finep/MCTI.

**ABSTRACT**

The test results have to be accurate, and the interpretations of these findings must be correct, given the medical and social significance of a positive anti-HIV antibody testing. This study aimed at evaluating the performance of 19 laboratories participating in the IAL – External Quality Assessment Program for HIV serological assays (EQA HIV). The external evaluation was carried out to help the participant laboratories in monitoring the accuracy of their results, thereby offering better quality to the services provided to the population. Four rounds of the Program were performed in 2014. And for this purpose, the serum panels (test items) were characterized for the anti-HIV antibody reactivity status by using different immunodiagnostic testing approaches. The panels of these characterized samples were distributed to the participating laboratories. The analysis on the test items was performed by anti-HIV serological assays used in the respective participant laboratory routine. Of 17 laboratories participating in the screening assays assessment program, 16 presented 100% satisfactory performance and one got 96.7%, as it presented an inadequate test item result. In the confirmatory trials, the annual satisfactory assessment of the participants was 100%, except for two that obtained 75% due to non-compliance with the rules established by the Program. The IAL – EQA Program for HIV evidenced the implementation of the activities developed in the laboratories, based on the competence of human resources, and certified the use of high quality diagnostic reagents, which are crucial to produce reliable laboratory results.

**KEYWORDS:** HIV. EQA. Antibodies. Immunoassays. Quality control.

**INTRODUÇÃO**

O constante progresso tecnológico na área laboratorial tem possibilitado a ampliação do número e dos tipos de analitos passíveis de análise, aumentando significativamente, a importância do laboratório na decisão médica e na conduta terapêutica. A evolução tecnológica foi uma das principais alavancas que permitiu a implantação dos modernos conceitos da qualidade no laboratório clínico.<sup>1</sup>

No início desta década, vários questionamentos foram apontados com relação ao nível da qualidade dos serviços de saúde. Inúmeras iniciativas foram implantadas para a melhoria dos processos nesses serviços, com ênfase à segurança do paciente.<sup>2</sup> Neste contexto, diversos parâmetros, sistemas e condutas têm sido adotados para monitorar o desempenho dos laboratórios clínicos, com a finalidade de avaliar

a precisão e exatidão da metodologia utilizada e assegurar que medidas corretivas e preventivas sejam realizadas quando necessárias.<sup>3,4</sup>

Os testes laboratoriais de indício de infecção pelo HIV têm sido utilizados como importante ferramenta na realização do diagnóstico e na avaliação da qualidade do sangue em unidades hemoterápicas.<sup>5</sup> Portanto, os resultados dos exames sorológicos devem ser precisos e com correta interpretação, dada a importância médica e social de um teste HIV positivo.<sup>6</sup>

Considerando-se a introdução de novas tecnologias e a crescente disponibilidade de grande variedade de conjuntos de reagentes diagnósticos no mercado, é de suma importância o monitoramento da qualidade e de desempenho dos testes laboratoriais, no que diz respeito à avaliação da sensibilidade, da especificidade e demais performances para oferecer resultados confiáveis.

Embora os testes sorológicos tenham sido continuamente aprimorados, ainda não foram descritos reagentes que combinem máxima sensibilidade com máxima especificidade.<sup>5-8</sup> Por este motivo, preconiza-se o emprego de fluxogramas de testes para o diagnóstico da infecção pelo HIV, definidos de acordo com a finalidade da testagem - diagnóstico, vigilância ou seleção de doadores de sangue.<sup>9</sup> Os testes com alta sensibilidade são empregados na triagem sorológica para minimizar o número de resultados falso negativos e, quando na obtenção de resultados reagentes, os testes confirmatórios (altamente específicos) são utilizados para reduzir o aparecimento de resultados falso positivos.<sup>10</sup>

A capacidade de gerar resultados confiáveis não depende somente da qualidade do teste sorológico, mas também de padrões rígidos

aplicados nos laboratórios. Assegurar que a qualidade seja mantida e os procedimentos operacionais padrão sejam seguidos são um desafio contínuo para todos os laboratórios.<sup>10</sup> Garantir a acurácia dos resultados requer atenção à qualidade intrínseca dos testes e ao desempenho dos profissionais técnicos na execução dos ensaios.<sup>5</sup>

A avaliação regular do desempenho técnico laboratorial tem sido recomendada para certificar a validade das medições analíticas e como parte integrante da estratégia global da qualidade. Uma das alternativas é a participação em ensaios de proficiência, também conhecidos na área médica como programas de avaliação externa da qualidade (AEQ),<sup>11</sup> que se diferenciam pela aplicação mais ampla que abrange além da avaliação do processo analítico, as informações sobre o teste pré e pós-analítico.<sup>12</sup> O AEQ, quando utilizado em conjunto com o controle interno e uma gestão comprometida com a qualidade, auxilia na promoção do conhecimento dos processos de análise e garante ao laboratório a confiabilidade dos seus resultados.<sup>12</sup>

O principal objetivo de programa como este é de auxiliar os participantes a determinar a exatidão de seus resultados. A participação dos laboratórios reforça o interesse na garantia da qualidade e fornece base para as ações corretivas, quando os dados não atingem o nível de aceitação requerido.<sup>13</sup>

O Instituto Adolfo Lutz - Laboratório de Central de Saúde Pública é reconhecido como referência estadual para o diagnóstico laboratorial de HIV/Aids, sendo uma das atribuições da instituição promover e implementar programas de garantia da qualidade aos laboratórios públicos.

Desde 2009, o Centro de Imunologia (CIM) do IAL tem se empenhado nas atividades de produção e distribuição de material de referência para o controle de qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV.<sup>14-16</sup> Em 2014, iniciou a implementação do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV (AEQ HIV – IAL)<sup>17</sup> com intuito de proporcionar aos laboratórios participantes a avaliação de desempenho de suas atividades relacionadas à sorologia para HIV/Aids e, conseqüentemente, fornecer maior confiabilidade aos resultados emitidos dos ensaios utilizados para detecção de anticorpos anti-HIV. O relato da primeira avaliação do programa é descrito neste artigo.

## OBJETIVO

O objetivo do estudo foi de avaliar o desempenho analítico dos laboratórios participantes no Programa AEQ HIV – IAL para auxiliá-los a monitorar a exatidão de seus resultados de testes de anticorpos anti-HIV e, com isso, oferecer melhor qualidade nos serviços prestados à população.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto Adolfo Lutz (24 E/2013). Os laboratórios participantes firmaram o termo de adesão e compromissos para tomar parte no Programa AEQ HIV do Instituto Adolfo Lutz.

### Produção dos Itens de Ensaio

No período de janeiro a novembro de 2014, os itens de ensaio (soros) do Programa AEQ HIV foram preparados e estabelecidos como materiais de referência (MR) no Laboratório de HIV/Aids –

CIM - IAL, São Paulo, Brasil, para comporem os painéis constituídos de amostras caracterizadas como anticorpo anti-HIV positivo e negativo.

A metodologia para a confecção dos painéis AEQ HIV consistiu de uma série de procedimentos, desde a seleção da matéria-prima (bolsas de plasma) até a escolha dos itens de ensaio que constituíram cada painel. Na produção dos lotes de soros foram estabelecidas as seguintes etapas: processamento de transformação do plasma humano (bolsa de plasma) em soro, aplicação de testes de esterilidade, caracterização do material quanto à presença de anticorpos anti-HIV, fracionamento e realização de testes de homogeneidade.

Os soros foram obtidos por meio de processamento das bolsas de plasma empregando-se a técnica de trombinização, de acordo com a metodologia recomendada pela Organização Mundial da Saúde com modificações.<sup>14,18</sup>

A caracterização dos soros quanto à reatividade de anticorpos específicos anti-HIV foi realizada pelo emprego de diferentes modalidades de testes imunodiagnósticos para determinar o valor designado. Fizeram parte dos painéis AEQ HIV somente os itens de ensaio que obtiveram seus resultados concordantes em todos os ensaios sorológicos utilizados pelo provedor.

Avaliou-se a reatividade do analito (positividade ou negatividade de anticorpos anti-HIV) por meio de diferentes metodologias dos seguintes conjuntos de reagentes diagnóstico: Ensaios imunoenzimáticos: Murex HIV-1.2.O (Diasorin S.p.A., Dartford, UK), Genscreen Ultra Ag-Ab (Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France), Genscreen HIV 1/2 Versão 2 (Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France), GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA (Bio-Rad Laboratories, Redmond, USA);

Quimioluminescência: HIV 1/O/2 Enhanced (EHIV) (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc, NY, USA); Imunocromatografia de Fluxo: Rapid Check HIV 1 e 2 (Núcleo de Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil), TR DPP HIV 1/2 (BioManguinhos – Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil), Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 (BioManguinhos – Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil); Western blot: New Lav Blot I (Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France), Western Blot Cambridge Biotech HIV – (Maxim Biomedical, Inc, Rockville, USA). Foram seguidos os procedimentos recomendados pelos fabricantes dos respectivos conjuntos imunodiagnósticos.

Na determinação do valor designado dos itens de ensaio, foram testadas, concomitantemente, as amostras de painéis de referência SeraCare BBI Diagnostics (Boston, Biomedica Inc.- BBI) HIV- 1 PRB205 (painel de desempenho) e HIV-1 PRB972 (painel de soroconversão) para verificar o desempenho dos diferentes lotes dos conjuntos de reagentes diagnóstico utilizados, quanto a sensibilidade e a especificidade analítica.

Na produção dos lotes de soros, vários procedimentos foram cumpridos para garantir a qualidade do produto, como a adequada homogeneidade e a estabilidade avaliada e controlada.<sup>17,19,20</sup> Baseados nos protocolos estabelecidos no Laboratório de HIV/Aids – CIM- IAL para a produção do MR, os testes de homogeneidade e estabilidade nos itens de ensaio foram aplicados em conformidade com a ABNT ISO Guia 35.<sup>21</sup>

A aplicação dos testes de homogeneidade foi realizada entre a primeira quinzena de abril/2014 e a primeira quinzena de outubro/2014, após o envasamento dos soros, ou seja, antes da

liberação de cada rodada. A homogeneidade das amostras anti-HIV positivo foi avaliada verificando-se as variações do conteúdo do analito (presença de anticorpos anti-HIV) por meio da metodologia de quimioluminescência, em que a variabilidade entre frascos pode ser estimada pelos valores dos índices obtidos nas reações. O conjunto de reagentes diagnóstico empregado foi HIV 1/O/2 Enhanced - Siemens, de diferentes lotes, de acordo com o período da realização dos testes.

Os itens de ensaio foram distribuídos (volume 1mL) em tubos para congelamento (“criotubos”), os quais foram etiquetados, numerados e armazenados em freezer a -20°C em caixas para congelamento.<sup>22,23</sup> A identificação dos itens de ensaio foi realizada por códigos decifráveis somente pelo provedor.

Durante o transporte aos laboratórios participantes, os itens de ensaio foram acondicionados de forma a preservar a sua integridade e estabilidade.<sup>24</sup>

Após o término do período estabelecido para o retorno dos resultados ao provedor (IAL Central), a estabilidade dos itens de ensaio foi avaliada no Laboratório de HIV/Aids – CIM – IAL por meio dos conjuntos de reagentes diagnóstico HIV 1/O/2 Enhanced - Siemens e Imunoblot Rápido DPP HIV – 1/2 - BioManguinhos.

### **Programa AEQ HIV – IAL**

Os requisitos técnicos utilizados para a implementação do Programa AEQ HIV – IAL foram observados seguindo-se as recomendações da ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011.<sup>25</sup>

De fevereiro a março de 2014, foi encaminhada a carta convite para um grupo seletivo, constituído por 19 laboratórios, para

participarem no Programa AEQ HIV – IAL. Os critérios de seleção foram com vistas aos laboratórios que desenvolveram ações para o fortalecimento do compromisso com a melhoria da qualidade dos serviços e em função do valor financeiro disponível para o desenvolvimento do Programa. A adesão foi voluntária e gratuita, sendo garantida a imparcialidade, a independência e a confidencialidade quanto à identificação dos participantes, seus procedimentos e resultados. Junto ao convite, foram enviados o Termo de Adesão e o formulário para indicar os possíveis métodos de ensaio para efetuar a análise dos itens de ensaio. Coube ao participante informar a modalidade metodológica a ser empregada conforme sua rotina diagnóstica.

No período que antecedeu o recebimento dos itens de ensaio, foram fornecidos aos participantes os seguintes documentos: manual do participante e os formulários de recebimento de itens de ensaio, de registro de resultados e de sugestões, esclarecimentos e apelações. Após o término da rodada foram emitidos os relatórios referentes às quatro rodadas e o consolidado anual/2014.

A distribuição dos itens de ensaio aos participantes foi simultânea e foi realizada em quatro rodadas durante o ano de 2014, em intervalos de tempo estabelecidos pelo provedor. Em cada rodada o laboratório recebeu um painel de amostras composto por quatro itens de ensaio com reatividades previamente estabelecidas nos testes sorológicos anti-HIV.

A logística de distribuição dos painéis AEQ HIV – IAL aos participantes foi de forma terceirizada (Empresa Biológica Soluções em Logística e Serviços Ltda), atendendo às especificações de material biológico humano

a ser transportado, em conformidade com as normas de vigilância sanitária vigentes.<sup>24</sup>

No recebimento dos itens de ensaio, o participante foi orientado a preencher o formulário de recebimento para fornecer informações ao provedor sobre as condições em que as amostras chegaram ao laboratório.

Com o objetivo de garantir que o desempenho da avaliação refletisse exatamente a sua conduta na rotina laboratorial, foi recomendado ao participante tratar os itens de ensaio com os mesmos procedimentos utilizados para as amostras de pacientes; e independentemente do resultado obtido no teste de triagem, estes serem submetidos a todos os ensaios empregados na rotina do respectivo laboratório.

O resultado de cada item de ensaio foi expresso no formulário específico como reagente, não reagente ou indeterminado (resultado qualitativo), de acordo com a reatividade dos anticorpos anti-HIV detectada. Foi solicitado aos laboratórios informar os valores de densidade óptica (DO) e o ponto de corte (cut off) obtidos nas reações dos ensaios de triagem, e descrever o perfil de bandas encontrado nos testes confirmatórios – Western Blot (WB) e Imunoblot (IB). Outras informações foram incluídas no formulário, como: o nome/fabricante e o lote do conjunto de reagentes diagnóstico empregados e a identificação do profissional responsável pela análise dos itens de ensaio.

O cumprimento do prazo estipulado pelo provedor para reportar seus resultados também fez parte da avaliação de desempenho do laboratório.

### **Tratamento de Dados**

O tratamento de dados foi simplificado, por tratar-se de resultados qualitativos. O método

de avaliação consistiu em comparar o resultado de cada item de ensaio obtido nos conjuntos diagnósticos utilizados pelo participante com o valor designado pelo provedor e classificá-lo como adequado ou inadequado, de acordo com a concordância observada.

O desempenho do laboratório foi classificado como satisfatório ou insatisfatório, conforme o percentual de resultados adequados obtidos por item de ensaio na metodologia utilizada na rodada. O desempenho satisfatório foi dado ao participante que obteve o grau de acerto igual a 100%, para comprovar que a metodologia e os procedimentos operacionais utilizados estavam de acordo. Aos demais, foi emitido o grau de desempenho em porcentagem.

Os relatórios emitidos pelo provedor após as rodadas continham as informações necessárias para a análise e interpretação de maneira clara e abrangente, incluindo-se os dados relativos aos resultados dos participantes (representados de forma sigilosa) com indicações do desempenho individual e informações associadas. Os comentários e as orientações, quando necessários, foram incluídos para que ações fossem tomadas quanto aos resultados divergentes. O relatório consolidado (média das avaliações das quatro rodadas) foi emitido pelo grau de desempenho atingido pelo laboratório em 2014.

Além da avaliação dos resultados analíticos, a busca pela melhoria contínua da qualidade dos serviços prestados levou o provedor a verificar o preenchimento adequado de informações solicitadas no formulário de resultados, como: nome/fabricante do conjunto de reagentes diagnóstico e metodologia empregados, cut off (ponto de corte) da reação, descrição do perfil de bandas nos testes confirmatórios (Western

blot e imunoblot) e identificação do profissional responsável pela emissão dos resultados.

## RESULTADOS

Foram 100% (31/31) concordantes, as amostras dos painéis comerciais de soroconversão PRB972 (n=6) e de desempenho PRB205 (n=25), empregadas para a verificação dos lotes dos diferentes conjuntos de reagentes diagnósticos utilizados. A partir destes resultados, pode-se conferir o bom desempenho dos lotes utilizados na caracterização dos itens de ensaio para compor os painéis AEQ HIV – IAL.

Os testes de homogeneidade e estabilidade dos soros foram indispensáveis no processo de preparação dos itens de ensaio. Os lotes de soro produzidos foram homogêneos e permaneceram estáveis durante o período estabelecido aos participantes para análise dos itens de ensaio, assegurando-se a qualidade do produto encaminhado pelo Programa AEQ HIV – IAL.

A participação dos laboratórios foi concretizada após o recebimento do Termo de Adesão e compromissos preenchidos e assinados pelo representante legal.

Dos 19 laboratórios inscritos no Programa AEQ HIV, a participação foi da seguinte forma: 15 (79%) laboratórios aderiram aos ensaios de triagem e confirmatórios, somente dois (10,5%) participantes em ensaios de triagem e outros dois (10,5%) em ensaios confirmatórios.

De acordo com as respostas indicadas no formulário de recebimento de itens de ensaio encaminhado pelo participante, as amostras foram recebidas no laboratório em perfeitas condições para análise.

O conjunto de reagentes diagnóstico e a respectiva metodologia empregada pelos

participantes na análise dos itens de ensaio estão descritos na Tabela 1.

O fluxo de encaminhamento de resultados entre laboratório e o provedor ocorreu de forma rápida e dinâmica dentro do prazo estabelecido.

A avaliação de desempenho dos laboratórios em ensaios de triagem e confirmatório nas quatro rodadas e o global 2014 está descrita na Tabela 2.

Nos ensaios de triagem, os dois laboratórios que não devolveram os resultados na segunda

rodada, justificaram a não realização dos testes por falta de insumos; e a partir da terceira rodada, outros dois participantes deixaram de realizar esses ensaios em sua rotina laboratorial. As justificativas apresentadas pelos quatro participantes foram consideradas pertinentes e, desta forma, não foram avaliados nas respectivas rodadas. Na quarta rodada, apenas um participante reportou resultado inadequado (resultado reagente) para um item de ensaio em que o valor designado pelo provedor foi não reagente.

**Tabela 1.** Conjunto de reagentes diagnóstico/fabricante e metodologia empregados pelos laboratórios participantes no Programa AEQ HIV - IAL, 2014

Conjunto de reagentes Diagnóstico	Metodologia	número de laboratórios (*)
<b>TRIAGEM SOROLÓGICA</b>		
HIV1/O/2 Enhanced (EHIV) ↪ Siemens	quimioluminescência	10
Murex HIV- 1.2.O ↪ Diasorin	ensaio imunoenzimático	2
Architect HIV Ag/Ab Combo ↪ Abbott	quimioluminescência	6
Prism HIV Plus O ↪ Abbott	quimioluminescência	1
Rapid Check HIV 1 e 2 ↪ NDI	imunocromatografia	3
TR DPP HIV 1/2 ↪ BioManguinhos	imunocromatografia de dupla migração	5
Axsym- MEIA HIV 1/2 GO ↪ Abbott	imunoensaio enzimático de micropartículas	1
Teste Rápido HIV 1-2 Vikia ↪ Biomérieux	imunocromatografia	1
Genscreen Ultra HIV Ag-Ab ↪ BioRad	ensaio imunoenzimático	1
<b>CONFIRMATÓRIO</b>		
Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 ↪ BioManguinhos	imunocromatografia de dupla migração	13
Cambridge Biotech HIV-1 ↪ Western Blot - Maxim	Western blot	3
Inno ↪ Lia HIV I/II - Score ↪ Innogenetics	ELISA em tiras de nylon	1
New Lav Blot I ↪ Bio-Rad	Western blot	1

\*vários laboratórios utilizaram mais de um conjunto de reagentes na avaliação dos itens de ensaio  
AEQ HIV - IAL: Avaliação externa da qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV no Instituto Adolfo Lutz

**Tabela 2.** Avaliação do desempenho dos laboratórios participantes no Programa AEQ HIV - IAL, 2014

Ensaio	Número de laboratórios (*)	Grau de desempenho (%)				
		Rodada 1	Rodada 2	Rodada 3	Rodada 4	Anual
Triagem	12	100	100	100	100	100
	2	100	----	100	100	100
	2	100	100	----	----	100
	1	100	100	100	87,5	96,9
Confirmatório	15	100	100	100	100	100
	2	100	0	100	100	75

\*número de laboratórios de acordo com a participação e desempenho;  
(----): resultados não avaliados na rodada em função de justificativa pertinente pela não realização do ensaio  
AEQ HIV - IAL: Avaliação externa da qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV no Instituto Adolfo Lutz

Nos ensaios confirmatórios, dois laboratórios na segunda rodada não apresentaram justificativa pela falta do encaminhamento dos resultados; deste modo, conforme as regras estabelecidas no Programa AEQ HIV – IAL, esses participantes obtiveram avaliação insatisfatória.

Os relatórios foram colocados à disposição dos participantes dentro dos prazos estabelecidos para possibilitar uma pronta análise na investigação de possíveis falhas e implantação de ações corretivas pertinentes.

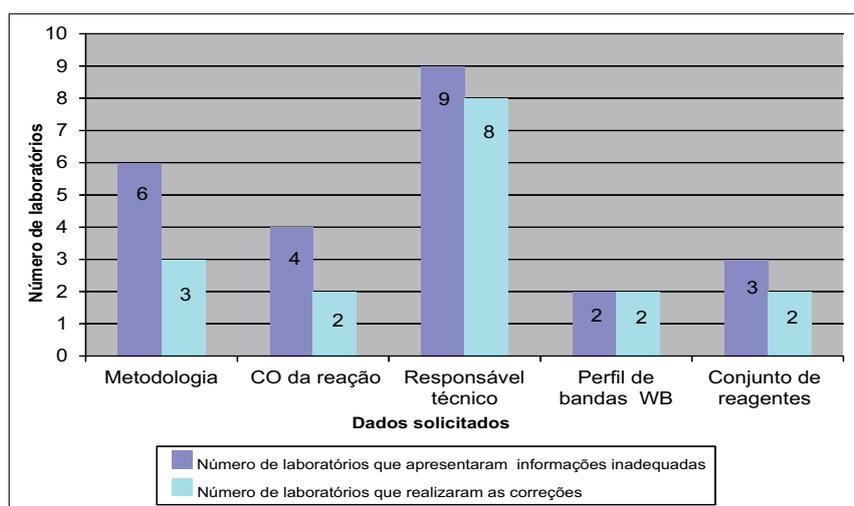
Na avaliação dos resultados, alguns participantes não preencheram adequadamente as informações solicitadas no formulário de resultados de itens de ensaio, como: identificação incorreta da metodologia, nome incompleto do conjunto de reagentes diagnóstico, não indicação do ponto de corte (CO) das reações, descrição inadequada do perfil de bandas no WB e a falta de identificação do responsável técnico pela emissão dos resultados.

Os participantes, por sua vez, receberam os relatórios contendo comentários e recomendações.

Deste modo, eles puderam avaliar seu próprio experimento e muitos tomaram medidas para melhoria da qualidade, que foi confirmado pelo provedor na rodada subsequente, conforme descrito na Figura abaixo.

## DISCUSSÃO

O resultado da avaliação externa da qualidade é meramente uma fotografia da qualidade dos laboratórios participantes no momento da sua execução. Um resultado inadequado em uma rodada específica não deve ser interpretado como estado de inaptidão do laboratório, e sim como sinalizador de um problema isolado que foi identificado para ser corrigido. O desempenho insatisfatório no ensaio de proficiência deve encorajar o laboratório a investigar as causas e adotar ações corretivas para eliminar os problemas e evitar a repetição do erro. Do mesmo modo, o desempenho satisfatório não serve como avaliação definitiva, sendo aconselhável revisar seus procedimentos para cada vez mais atingir seus objetivos.<sup>12,13</sup>



CO: cut off; WB: Western blot

AEQ HIV - IAL: Avaliação externa da qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV no Instituto Adolfo Lutz

**Figura 1.** Laboratórios que apresentaram o preenchimento inadequado do formulário e ações corretivas no Programa AEQ HIV - IAL, 2014

Nesta avaliação, dois laboratórios obtiveram desempenho de 75%, em função do não cumprimento das regras estabelecidas no Programa AEQ HIV – IAL em que a análise do item de ensaio no teste confirmatório, uma vez aderido pelo laboratório, deveria ter sido realizada independentemente do resultado obtido no teste de triagem. Neste contexto, é fundamental que o laboratório leia atentamente os documentos encaminhados pelo provedor, e em especial o manual do participante em que estão descritos os procedimentos e as regras estabelecidas no programa.

O desempenho de 87,5% obtido por um dos participantes em ensaios de triagem foi por ter sido inadequadamente considerado como reagente o resultado de um dos itens de ensaio. Contudo este dado não foi condizente com o valor encontrado: índice  $0,05/\text{valor de referência} \geq 1$ ; portanto, este item de ensaio seria não reagente. Provavelmente, tenha ocorrido erro de transcrição do resultado do item de ensaio no formulário de resultados. Erros desta natureza estão associados à etapa pós-analítica e correspondem às falhas na liberação dos resultados.<sup>1</sup> A conferência dos resultados antes da liberação final do laudo é primordial e não basta seguir os procedimentos corretos antes e durante a execução dos ensaios (fase pré-analítica e analítica) para a obtenção de resultados confiáveis, se o objetivo principal for esquecido, isto é, a emissão fidedigna dos resultados para não comprometer a interpretação clínica.<sup>11</sup> Um resultado errôneo prejudica a conclusão do diagnóstico clínico e pode causar danos irreparáveis ao paciente.

O Programa AEQ HIV – IAL optou por enviar aos laboratórios os painéis AEQ HIV de forma contínua (rodadas regulares) e convidou um grupo seletivo de 19 participantes com o

intuito de oferecer gratuitamente um serviço de qualidade. Essa opção foi um fator limitante do estudo em função de não ter obtido o conhecimento pleno do desempenho analítico dos laboratórios da rede pública no estado de São Paulo, mas por outro lado trabalhar com um pequeno grupo de participantes foi uma alternativa que possibilitou ao provedor adquirir competência e maior capacidade de organização do programa.

A Avaliação Externa de Qualidade tem uma aplicação mais ampla, que pode abranger também as informações sobre o pré e pós-analítico, com caráter educacional e de promoção da melhoria da qualidade.<sup>12</sup> A fase pós-analítica tem início no ambiente do laboratório, envolvendo os processos de validação e liberação de laudos, e termina após o médico receber o laudo final, seguido de sua interpretação e tomada de decisão perante o resultado reportado.<sup>1</sup> O provedor, ao analisar o formulário de resultado, verificou que alguns participantes não tomaram o devido cuidado durante o preenchimento das informações solicitadas além do resultado, como o nome do conjunto de reagentes diagnóstico e metodologia empregados e o valor de referência (ponto de corte), que quando contidas nos laudos de resultados auxiliam na interpretação clínica. Os comentários gerais ou específicos feitos pelo provedor, geralmente sobre o comportamento global de dados, costumam agregar valor adicional à análise e otimizar a busca para eliminar a reincidência de falhas.<sup>12</sup> A forma de verificar a eficácia das ações foi a realização de uma nova rodada do programa AEQ, em que o acompanhamento contínuo pode fornecer o perfil mais completo do dia a dia nos laboratórios participantes.

O programa AEQ apenas forneceu informações sobre o desempenho do processo. Portanto, coube ao participante analisar e interpretar os resultados com base no seu conhecimento dos processos analíticos implantados e dos dados fornecidos pelo provedor. Apenas os profissionais envolvidos na rotina laboratorial têm conhecimento completo dos processos para identificar a origem das falhas e agir para eliminá-las.<sup>12</sup> Desse modo, o programa do IAL auxiliou os participantes a elucidar a existência de falhas no processo e incentivou a implementação de um sistema integrado de gestão da qualidade e de boas práticas laboratoriais para reduzir a frequência de erros associados com os testes de diagnóstico sorológico. A participação nesses programas, prevista pela norma NBR ISO/IEC 17.025,<sup>26</sup> é uma abordagem amplamente utilizada para monitorar a qualidade do teste e resultar no aumento da precisão dos resultados e, conseqüentemente, na confiança adquirida pelos prestadores de serviços de saúde.<sup>27</sup>

Vale ressaltar que a participação em programas de avaliação externa da qualidade não substitui as medidas internas de controle de qualidade, como o emprego de amostras de controle de qualidade interno de testes imunodiagnósticos de HIV/Aids, 14 que devem ser utilizadas rotineiramente nos laboratórios. O principal objetivo para a utilização de ambos controles é de identificar a presença de possíveis erros analíticos e, desta forma, possibilitar ao laboratório ações para eliminá-los.

Em vista dos resultados dos itens de ensaio encaminhados pelos participantes não apresentarem discrepâncias, ou seja, sem a ocorrência de resultados HIV falso positivo ou falso negativo, pode-se inferir que os lotes dos

conjuntos diagnósticos empregados foram de boa qualidade e reprodutibilidade.

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados observados, conclui-se que a participação no Programa AEQ HIV - IAL possibilitou aos laboratórios o acesso para a melhoria contínua da qualidade, propiciando-se a comparabilidade de seus resultados com os de demais parceiros, bem como a tomada de medidas preventivas e corretivas, o conhecimento da qualidade e da reprodutibilidade dos conjuntos de diagnóstico utilizados pelos participantes.

Dada a concordância dos resultados dos itens de ensaio encaminhados pelos laboratórios atesta-se que os lotes de conjuntos diagnósticos empregados no período foram de boa qualidade e reprodutibilidade.

A expectativa do IAL em divulgar esses dados foi para demonstrar aos laboratórios a importância da participação em ensaios de proficiência, que contribuem com ganhos na sua produtividade e na qualidade dos serviços prestados à sociedade. Outrossim, em função da metodologia e da eficácia demonstrada, este programa poderá servir como modelo às instituições de saúde de outros estados do Brasil no estabelecimento de efetiva melhoria da qualidade do diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV na rede pública de laboratórios.

## AGRADECIMENTOS

À coordenação Sibratec - REDSANG “Estruturação de Rede de Laboratórios de Sangue e Hemoderivados”, com apoio Finep/MCTI.

À Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, ao Hemocentro da Santa Casa de São Paulo e à Associação Beneficente para Coleta de Sangue de São Paulo pela transferência de bolsas de plasma e aos laboratórios participantes.

Ao André Rodrigues de Campos e à Elizete dos Santos Goya, profissionais do Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Central – Centro de Imunologia, pelo suporte técnico na condução deste Programa.

## REFERÊNCIAS

1. Vieira KF, Shitara ES, Mendes ME, Sumita NM. A utilidade dos indicadores da qualidade no gerenciamento de laboratórios clínicos. *J Bras Patol Med Lab.* 2011; 47(3): 201-210.
2. Berlitz FA. Controle da qualidade no laboratório clínico: alinhando melhoria de processos, confiabilidade e segurança do paciente. *J Bras Patol Med Lab.* 2010; 46(5): 353-63.
3. World Health Organization. External quality assessment of transfusion laboratory practice. Guidelines on establishing an EQA scheme in blood group serology. Geneva, 2004.
4. Instituto Português de Acreditação. Guia interpretativo da ISO 15189. Portugal, 2006. [Acesso em 13 abr 2015]. Disponível em: [www.ipac.pt/docs/publicdocs/regras/OGC004.pdf](http://www.ipac.pt/docs/publicdocs/regras/OGC004.pdf)
5. Constantine NT, Zink H. HIV testing technologies after two decades of evolution. *Indian J Med Res.* 2005; 121(4): 519-38.
6. Centers for Disease Control. Current trends update: serologic testing for antibody to human immunodeficiency virus. *MMWR.* 1988; 36(52): 833-45.
7. World Health Organization. HIV testing methods. Technical update. UNAIDS. Geneva; 1997.
8. World Health Organization. HIV assays: operational characteristics (Phase 1). Report 15. Antigen/antibody ELISAs. Geneva; 2004.
9. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Soares CL, Veras MASM. Blood collection on filter paper for HIV antibodies detection: experience of SampaCentro Project. *J Bras Patol Med Lab.* 2015; 51(3): 108-115.
10. United Nations Program on HIV/AIDS. HIV Testing Methods: UNAIDS Technical Update (UNAIDS Best Practice Collection). Geneva; 1997.
11. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de out. 2005, Seção 1, p.33. [acesso em 12 maio 2014]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>
12. Oliveira CA, Mendes, ME. (Org.). Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática. 1. ed, v.2. Rio de Janeiro: ControlLab, 2011.
13. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Seleção, uso e interpretação de programas de ensaio de proficiência (EP) por laboratórios-2000. Séries Temáticas. Habilitação 2. Brasil, 2006.
14. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Manual técnico para implementação do controle de qualidade interno nos procedimentos laboratoriais para diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV no estado de São Paulo. São Paulo: IAL; 2007. [Acesso em 10 fev. 2012]. Disponível em: <http://bases.bireme.br>
15. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Campos AR, Sartorato MC, Cabral GB, et

- al. Implementação de controle de qualidade interno (CQI) nos ensaios sorológicos anti-HIV. Produção e distribuição de painéis de soro pelo Instituto Adolfo Lutz Central. 2009. Bepa; 65 (6): 30-2.
16. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Ueda M. Implementation of a strategy for improving the serological diagnosis of HIV/Aids by introducing the internal quality control. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010; 69(2):157-64.
17. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Oliveira CC, Caruso MSF, Sakuma AM. Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Ensaios Sorológicos Anti-HIV pelo Instituto Adolfo Lutz. *Bepa*. 2014; 11(125): 37-43.
18. World Health Organization. Guidelines for organizing national external quality assessment schemes for HIV serological testing. UNAIDS 96.5, 1996.
19. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Granato D, Oliveira CAF, Ueda M. Study on the stability of internal quality control sera for HIV/Aids immunodiagnostic tests. *J Bras Patol Med Lab*. 2014; 50(1): 36-45.
20. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Olivieri JC, Oliveira CAF, Ueda M. Homogeneity study of the internal quality control sera for immunodiagnosis of HIV/Aids. *J Bras Patol Med Lab*. 2014; 50(1): 46-52.
21. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ISO Guia 35: Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação. Brasil, 2012.
22. Kirkwood TBL. Predicting the stability of biological standards and products. *JSTOR: Biometrics*. 1977; 33(4):736-42.
23. Ministério da Saúde. Portaria nº 686, de 27 de agosto de 1998. Determina o cumprimento das diretrizes estabelecidas das boas práticas de fabricação e controle em estabelecimentos de produtos para diagnóstico in vitro. [Acesso em 05 set. 2014]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/686\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/686_98.htm)
24. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 20, de 10 de abril de 2014. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 de abr. 2014, Seção 1, p.67. Dispõe sobre regulamento sanitário para o transporte de material biológico humano. [acesso em 12 maio 2014]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>.
25. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ISO/IEC 17043. Avaliação da conformidade — Requisitos gerais para ensaios de proficiência. Brasil, 2011.
26. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO/IEC 17.025: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Brasil, 2005.
27. Garcia AD. Evaluation of proficiency testing program for laboratories conducting HIV-1 DNA detection for early infant diagnosis from dried blood spot specimens in resource-limited settings. (Master Thesis). Georgia: Georgia State University, 2013.

---

**Correspondência/Correspondence to**  
Márcia Jorge Castejon.  
Instituto Adolfo Lutz - Centro de Imunologia.  
Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar, São Paulo, SP, 01246-902, Brasil.  
E-mail: [mcastejon@ial.sp.gov.br](mailto:mcastejon@ial.sp.gov.br)