

RECOMENDAÇÕES DA
Sociedade Brasileira
**de Patologia Clínica/
Medicina Laboratorial**
(SBPC/ML):

**BOAS PRÁTICAS EM
LABORATÓRIO CLÍNICO**

Recomendações da
Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica/
Medicina Laboratorial
(SBPC/ML)
**Boas práticas em
laboratório clínico**

É proibida a comercialização deste livro.

Recomendações da
Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica/
Medicina Laboratorial
(SBPC/ML)

**Boas práticas em
laboratório clínico**



Copyright ©2020 Editora Manole Ltda., por meio de contrato com a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML)

Copyright © Logotipo: Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML)

Minha editora é um selo editorial Manole

Gestor-editor: Walter Luiz Coutinho

Editora: Sônia Midori Fujiyoshi

Capa: Sopros Design

Projeto gráfico: Vivian Valli

Diagramação: Dília Editorial

Coordenação Editorial: Dília Editorial

CIP-Brasil. Catalogação na Publicação
Sindicato Nacional dos Editores de livros, RJ

R248

Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) : boas práticas em laboratório clínico / organização Nairo Massakazu Sumita ... [et al.]. - 1. ed. - Barueri [SP] : Manole, 2020.
592 p. : il. ; 24 cm.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7868-395-5

1. Diagnóstico de laboratório. I. Sumita, Nairo Massakazu.

20-65518

CDD: 616.0756

CDU: 616-074

Meri Gleice Rodrigues de Souza - Bibliotecária - CRB-7/6439

13/07/2020

15/07/2020

Todos os direitos reservados.

Nenhuma parte deste livro poderá ser reproduzida, por qualquer processo, sem a permissão expressa dos editores.

É proibida a reprodução por xerox.

A Editora Manole é filiada à ABDR – Associação Brasileira de Direitos Reprográficos.

Edição – 2020

Editora Manole Ltda.

Avenida Ceci, 672 – Tamboré

06460-120 – Barueri – SP – Brasil

Tel.: (11) 4196-6000

www.manole.com.br

<https://atendimento.manole.com.br/>

Impresso no Brasil

Printed in Brazil

Durante o processo de edição desta obra, foram tomados todos os cuidados para assegurar a publicação de informações precisas e de práticas geralmente aceitas. Do mesmo modo, foram empregados todos os esforços para garantir a autorização das imagens aqui reproduzidas. Caso algum autor sinta-se prejudicado, favor entrar em contato com a Editora.

Os autores e os editores eximem-se da responsabilidade por quaisquer erros ou omissões ou por quaisquer consequências decorrentes da aplicação das informações presentes nesta obra. É responsabilidade do profissional, com base em sua experiência e conhecimento, determinar a aplicabilidade das informações em cada situação.

ORGANIZADORES

Nairo Massakazu Sumita
Adagmar Andriolo
Carlos Eduardo dos Santos Ferreira
Gustavo Aguiar Campana
Guilherme Ferreira de Oliveira
Fábio Vasconcellos Brazão
Leonardo de Souza Vasconcellos
Alvaro Pulchinelli Junior
Annelise Corrêa Wengerkievicz Lopes
Wilson Shcolnik
Maria Elizabete Mendes

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML)

Diretoria: Biênio 2020/2021

Presidente: Carlos Eduardo dos Santos Ferreira

Vice-presidente: Gustavo Aguiar Campana

Diretoria Executiva:

Diretor Administrativo-financeiro: Fábio Vasconcellos Brazão

Diretor Científico: Alvaro Pulchinelli Junior

Diretor de Comunicação e Marketing: Annelise Corrêa Wengerkievicz Lopes

Diretor de Acreditação e Qualidade: Guilherme Ferreira de Oliveira

Diretor de Ensino: Leonardo de Souza Vasconcellos

Presidente do Conselho de Ex-presidentes: Wilson Shcolnik

Organizadores

Adagmar Andriolo

Médico Patologista Clínico. Professor-associado, Livre-docente de Medicina Laboratorial da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Chefe da Disciplina de Clínica Médica e Medicina Laboratorial do Departamento de Medicina da EPM-Unifesp. Editor-chefe do *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. Coordenador da Comissão de Residência Médica da EPM-Unifesp.

Annelise Corrêa Wengerkievicz Lopes

Médica Patologista Clínica. Diretora de Comunicação de Marketing da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. Diretora Médica do Laboratório Médico Santa Luzia (Rede Dasa), Florianópolis, SC.

Alvaro Pulchinelli Junior

Médico Patologista Clínico, Toxicologista e Médico do Trabalho. Doutor em Ciências pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). MBA em Gestão de Sistemas de Saúde pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). Professor-afiliado da Disciplina de Clínica Médica e Medicina Laboratorial da EPM-Unifesp. Preceptor no Centro Alfa da EPM-Unifesp. Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. Membro da Câmara Técnica de Toxicologia da Associação Médica Brasileira (AMB). Assessor Médico em Bioquímica Clínica e Toxicologia do Fleury Medicina e Saúde.

Carlos Eduardo dos Santos Ferreira

Médico Patologista Clínico. Gerente Médico do Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE). Coordenador Médico do Setor de Imunoquímica do Laboratório Central do Hospital São Paulo da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Mestre em Medicina pela EPM-Unifesp. Doutor em Medicina pela Disciplina de Cardiologia – Setor de Lípides da EPM-Unifesp. MBA em Gestão de Saúde pelo Instituto de Ensino e Pesquisa (Insper/HIAE). Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021.

Fábio Vasconcellos Brazão

Médico Patologista Clínico. Diretor Médico do Laboratório Ruth Brazão, Belém, PA. Médico Patologista Clínico da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCMP). Coordenador Médico do Laboratório da Unimed Belém. Especialização em Patologia Clínica pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Presidente Regional Norte da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2016-2017. Diretor Administrativo-financeiro da SBPC/ML – biênios 2018-2019 e 2020-2021. MBA em Gestão de Cooperativas (Faccat).

Guilherme Ferreira de Oliveira

Médico Patologista Clínico. Mestre em Promoção da Saúde pela Universidade de Franca, São Paulo (Unifran). Especialista em Medicina Tropical pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). MBA em Gestão Empresarial pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). Diretor Administrativo de Expansão do Grupo Sabin. Diretor de Acreditação e Qualidade da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênios 2004-2005, 2018-2019 e 2020-2021.

Gustavo Aguiar Campana

Médico Especialista em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial pelo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). MBA em Gestão em Saúde pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). Vice-Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. Diretor Médico da Diagnósticos da América (DASA).

Leonardo de Souza Vasconcellos

Médico Patologista Clínico. Mestre e Doutor em Medicina pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Professor de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina da UFMG. Professor/Orientador Pleno dos Programas de Pós-graduação em Patologia e em Saúde do Adulto da UFMG. Coordenador do Programa de Residência Médica em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial do Hospital das Clínicas da UFMG. Presidente do Departamento de Patologia Clínica da Associação Médica de Minas Gerais (AMMG). Diretor de Ensino da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021.

Maria Elizabete Mendes

Médica Patologista Clínica. Doutora em Medicina pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Chefe de Seção Técnica de Bioquímica de Sangue da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP (DLC-HCFMUSP). Coordenadora do Núcleo da Qualidade e Sustentabilidade da DLC-HCFMUSP. Membro do Grupo de Discussão de Indicadores da Controllab e Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Editora-adjunta do *Jornal Brasileiro de Patologia/Medicina Laboratorial* (JBP/ML).

Nairo Massakazu Sumita

Médico Patologista Clínico. Professor-assistente Doutor da Disciplina de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Diretor do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP) – LIM 03 da Patologia Clínica.

Consultor Médico em Bioquímica Clínica do Fleury Medicina e Saúde. Consultor Científico do Latin American Preanalytical Scientific Committee (Lasc) e Membro do *Editorial Board* do site <specimencare.com>. Presidente Regional São Paulo Capital da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. Diretor para América Latina da World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine (WASPaLM).

Wilson Shcolnik

Médico Patologista Clínico. Doutorando em Patologia da Universidade de São Paulo (USP). Mestre em Saúde Pública pela Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP/Fiocruz). MBA em Gestão pela Qualidade Total pela Universidade Federal Fluminense (UFF). Presidente do Conselho de Ex-presidentes da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. *Fellow* do Colégio Brasileiro de Executivos em Saúde (CBEX-RJ). Presidente da Associação Brasileira de Medicina Diagnóstica (Abramed). Gerente Corporativo de Relações Institucionais do Grupo Fleury.

Autores

Adagmar Andriolo

Médico Patologista Clínico. Professor-associado, Livre-docente de Medicina Laboratorial da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Chefe da Disciplina de Clínica Médica e Medicina Laboratorial do Departamento de Medicina da EPM-Unifesp. Editor-chefe do *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. Coordenador da Comissão de Residência Médica da EPM-Unifesp.

Adriana de Oliveira Vieira

Bacharel e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade do Grande Rio (Unigranrio). Especialista em Ciências do Laboratório Clínico pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e Biologia Molecular pela Faculdade Unyleya. Analista da Gestão de Serviços da Controllab.

Adriana Nascimento de Carvalho

Bióloga. Graduação pela Universidade de Guarulhos (UNG). Pós-graduação em Análises Clínicas pela Universidade Nove de Julho (Uninove). Especialização em Qualidade e Serviços pela Fundação Getulio Vargas (FGV). Certificação *Yellow Belt* em Lean Six Sigma. Auditora Interna do Sistema Integrado de Gestão da Qualidade da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Biologista Encarregada do Núcleo de Qualidade e Sustentabilidade da DLC-HCFMUSP.

Alex Freire Sandes

Médico Hematologista e Hemoterapeuta. Professor-adjunto da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Médico Consultor em Hematologia e Citometria de Fluxo do Fleury Medicina e Saúde.

Alexandre Wagner Silva de Souza

Médico Reumatologista. Professor-afiliado da Disciplina de Reumatologia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Diretor Científico da Sociedade Paulista de Reumatologia (SPR). Coordenador da Comissão de Vasculites da Sociedade Brasileira de Reumatologia (SBR). Assessor Médico em Reumatologia e Imunologia do Fleury Medicina e Saúde.

Alvaro Pulchinelli Junior

Médico Patologista Clínico, Toxicologista e Médico do Trabalho. Doutor em Ciências pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). MBA em Gestão de Sistemas de Saúde pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). Professor-afiliado da Disciplina de Clínica Médica e Medicina Laboratorial da EPM-Unifesp. Preceptor do Centro Alfa da EPM-Unifesp. Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. Membro da Câmara Técnica de Toxicologia da Associação Médica Brasileira (AMB). Assessor Médico em Bioquímica Clínica e Toxicologia do Fleury Medicina e Saúde.

Ana Margarita Baldion Elorza

Médica Anatomopatologista e Patologista Clínica. Docente de Cátedra da Universidad de los Andes y Pontificia Universidad Javeriana, Bogota, Colombia. Chefe da Seção de Patologia do Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá. Membro do Latin American Scientific Preanalytical Committee (Lasc).

Ana Paula Chaves Sobral Gomes

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Estácio de Sá. Especialista (*lato sensu*) em Análises Clínicas e Toxicológicas pela Universidade Estácio de Sá. Assistente da Gestão de Serviços da Controllab.

André Mario Doi

Médico Patologista Clínico. Graduado pela Faculdade de Medicina de Sorocaba/Pontificia Universidade Católica (PUC-SP). Residência Médica pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Doutorado pelo Disciplina de Medicina Translacional da EPM-Unifesp. Médico do Laboratório Clínico do Hospital do Israelita Albert Einstein (HIAE). Coordenador Geral do Brazilian Committee for Antimicrobial Susceptibility Tests (BrCAST) – biênio 2019-2020.

Andreza Oliveira dos Santos

Graduação em Biomedicina pela Fundação Lusíada, Santos, SP. Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Analista de Laboratório no Setor de Hematologia e Coagulação do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE). Analista em Coagulação da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

Antonia Maria de Oliveira Machado

Médica Patologista Clínica. Graduação em Medicina pela Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP). Mestrado e Doutorado em Medicina pela Disciplina de Doenças Infeciosas da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Diretora Técnica do Laboratório Central do Hospital São Paulo – Hospital Universitário (HU) da Unifesp. Membro do Brazilian Committee for Antimicrobial Susceptibility Tests (BrCAST) nos períodos de 2014 a 2016 e 2019 a 2020. Coordenadora do Comitê de Microbiologia no período de 2020 a 2021.

Bianca Verrastro Antunes

Médica. Título de Especialista em Patologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e Associação Médica Brasileira (AMB). Médica-assistente da Seção de Bioquímica de Urina da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Pós-graduação *lato sensu* em Geriatria e Gerontologia.

Carla Doerzapff Chaves

Médica Patologista Clínica e Hematologista. Auditora do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (PALC-SBPC/ML). Gestora Técnica do PALC. Livre-docente em Hematologia. Hematologista da 5ª Enfermaria da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro (SCMRJ).

Carlos Augusto Senne Soares

Médico Patologista Clínico. Diretor-presidente do Laboratório Senne Líquido Diagnóstico. Graduado pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP). Título de Especialista em Patologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Professor Instrutor da FCMSCSP. Membro Efetivo da Banca Examinadora do Título de Especialista da SBPC/ML. Chefe da Seção de Líquido Cefalorraquidiano do Laboratório do Instituto de Infectologia Emílio Ribas. Responsável pela Seção de Líquido Cefalorraquidiano do Departamento de Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE). Ex-chefe da Seção de Líquido Cefalorraquidiano do Laboratório Central dos Hospitais da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (SCMSP) – 1973 a 1985. Ex-presidente do Departamento Científico de Patologia Clínica da Associação Paulista de Medicina (APM) – 1981 a 1987. Ex-secretário do Grupo de Trabalho sobre Líquido Cefalorraquidiano da Academia Brasileira de Neurologia (ABN) – 1985 a 1986. Ex-diretor Científico da SBPC/ML – 1993 a 1995. Ex-presidente da SBPC/ML – 1995 a 1997. *Fellow* da American College of Pathology (1994). *Fellow* da American Society of Clinical Pathology (1995). Membro Fundador da Sociedade Brasileira de Infectologia (SBI). Membro Fundador do Departamento Científico de Líquido Cefalorraquidiano da ABN.

Carlos Eduardo dos Santos Ferreira

Médico Patologista Clínico. Gerente Médico do Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE). Coordenador Médico do Setor de Imunoquímica do Laboratório Central do Hospital São Paulo da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Mestre em Medicina pela EPM-Unifesp. Doutor em Medicina pela Disciplina de Cardiologia – Setor de Lípidos da EPM-Unifesp. MBA em Gestão de Saúde pelo Instituto de Ensino e Pesquisa (Insper/HIAE). Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021.

Carlos R. Vega Salinas

Tecnólogo Médico com Graduação pela Universidade de Talca Chile, com 30 anos de experiência no laboratório clínico. Chefe do Laboratório da Clínica Dávila. Líder do Projeto de Acreditação

pela Norma ISO 15189. Presidente da Sociedade Científica de Tecnólogos Médicos do Chile. Auditor do Sistema Nacional de Acreditação. Membro do Latin American Scientific Preanalytical Committee (Lasc). Coordenador do Projeto de Acreditação do Laboratório da Clínica Dávila pelo College of American Pathologists (CAP).

Carolina Giselle Trunzo

Bioquímica com Graduação pela Universidad de Morón, Buenos Aires. Master em Gestão e Administração de Sistemas e Serviços de Saúde pela Universidad Favaloro. Chefe de Gestão e Processos do Laboratório Hospital Británico de Buenos Aires – Laboratório Central. Membro do Latin American Scientific Preanalytical Committee (Lasc).

Cássia Maria Zoccoli

Farmacêutica e Bioquímica. Graduação em Farmácia com habilitação em Análises Clínicas pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Analista Clínica Assessora em Microbiologia do Laboratório Médico Santa Luzia/Grupo Dasa. Membro do Brazilian Committee for Antimicrobial Susceptibility Tests (BrCAST), desde 2016.

César Alex de Oliveira Galoro

Médico Patologista Clínico. Doutor em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). *Post-doctoral Fellowship* pela McGill University, Montreal, Canadá. MBA em Gestão da Saúde pela Fundação Getulio Vargas (FGV-SP). Gestor Médico do Grupo Sabin. Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2016-2017.

Claudia Diório Uliani

Administradora. Bacharel em Administração pela Universidade Anhembi Morumbi. Curso Superior de Formação Específica em Gestão Empresarial de Serviços de Saúde pela Universidade Anhembi Morumbi. Curso Superior de formação Específica em Gestão de Planejamento Financeiro pela Universidade Anhembi Morumbi. Gestora da Comissão de Não Conformidades e Multiplicadora Líder da Comissão de Indicadores de Desempenho da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Auditora Interna da DLC-HCFMUSP em Sistema Integrado de Gestão das normas ISO 9001/2015; ISO 14001/2015; OHSAS 18001/07; PALC 2016/ ISO 45001:18. Auditoria Interna de Comportamento Seguro em Saúde e Segurança da DLC-HCFMUSP.

Claudio Ivan Suárez Sanchez

Médico Patologista. Graduação pela Universidad de Chile. Mestre em Engenharia Industrial pela Universidad del Desarrollo. Certificado Lean Healthcare pela University of Michigan. Experiência Acadêmica e de Saúde, Pública e Privada em Laboratório. Consultor de Processos de Laboratório. Director of Medical Affairs na Siemens Healthineers.

Claudio Rodrigues Bastos

Licenciado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Augusto Motta (Unisuam). Especialista em Ciências do Laboratório Clínico e Diagnóstico *in vitro* pela Universidade do Grande Rio (Unigranrio). Analista da Gestão de Serviços da Controllab.

Cleber Ribeiro de Jesus

Tecnólogo. Graduado pela Faculdade de Tecnologia de São Paulo. MBA em Gestão Estratégica e Econômica de Projetos pela Fundação Getulio Vargas (FGV-SP). Membro da Comissão de Gestão de Equipamentos da Divisão de Laboratório Central e da Engenharia Clínica do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP).

Cristóvão Luis Pitangueira Mangueira

Médico Patologista Clínico e Reumatologista. Graduação em Medicina pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP). Residência Médica em Patologia Clínica pelo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Título de Especialista pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Residência Médica em Reumatologia pelo HCFMUSP. Doutor em Medicina pela FMUSP. MBA em Gestão de Saúde pelo Instituto de Ensino e Pesquisa, São Paulo (Insper). Diretor Médico do Departamento de Patologia Clínica e Anatomia Patológica do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE). Docente do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein (IIEP-HIAE). Supervisor do Programa de Residência Médica em Patologia Clínica do HIAE.

Cyntia Giovanini Candido do Nascimento Freire

Farmacêutica e Bioquímica. Graduada pela Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo). Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas Clínica pela Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo). Farmacêutica Encarregada do Setor de Bioquímica de Urina do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

Daniela Camarinha

Administradora de Empresas com Pós-graduação em Gestão Empresarial, MBA em Marketing de Serviços e Comunicação e Mestrado em Estratégia. Participou do Programa de Formação de Líderes em Saúde na Cleveland Clinic, Estados Unidos. Professora de Marketing no MBA de Gestão da Saúde da Fundação Getulio Vargas (FGV). Sócia-fundadora e CEO da empresa YouCare – Gestão, Marketing e Acesso. Membro do Comitê de Saúde da FGV. Membro da Comissão do Congresso de Laboratórios e Clínicas da Federação dos Hospitais, Clínicas, Casas de Saúde, Laboratórios de Pesquisas e de Análises Clínicas e demais Estabelecimentos de Serviços de Saúde do Estado de São Paulo (Fehoesp). Diretora Comercial e de Marketing da Federação Brasileira de Administradores Hospitalares (FBAH). Autora do Capítulo “Ferramentas de Mídia no Marketing Laboratorial” no livro *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial: inovação no laboratório clínico*, 2019.

Edson Martins Ferraz Júnior

Biólogo. Graduado pelo Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, em Belo Horizonte. MBA em Gestão Empresarial pela Fundação Getulio Vargas (FGV). Membro do Comitê Consultivo da Associação Nacional de Atenção ao Diabetes (Anad). Especialista Laboratorial no Departamento de Imunologia do Laboratório Hermes Pardini na área de eletroforese, citometria de fluxo e gestor da qualidade no período de 1995 a 2007. Assessor Científico da Sebia de 2007 a 2014. Gerente de Produtos da Sebia de 2014 a 2016. Gerente

de Produtos da Bio-Rad de 2016 a 2019. Gerente de Marketing da Sebia de 2019 a 2020. Gerente de Vendas e Marketing Nacional desde 2020.

Eduardo Jorge Emery Carvalho Pinto

Médico Patologista Clínico. Ex-professor-assistente de Imunologia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (Unirio). Mestre em Imunologia e Microbiologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Coordenador do Comitê de Imunologia da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Membro da Câmara Técnica de Patologia Clínica do Conselho Regional de Medicina do Estado do Rio de Janeiro (Cremerj).

Eduardo Miguel Brambila Colombres

Farmacologista Químico. Graduado pela Facultad de Ciencias Químicas da Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (Buap), México. Mestre e Doutor em Ciências. Especialidade em Biología Clínica pelo Instituto Politécnico Nacional, México. Professor-pesquisador da Facultad de Ciencias Químicas da Buap. Responsável pelo Laboratório de Pesquisa em Química Clínica da Facultad de Ciencias Químicas. Diretor do Programa de Controle de Qualidade Eccecx-Conaquic, México. Membro do Latin American Scientific Preanalytical Committee (Lasc).

Elenice Messias do Nascimento Gonçalves

Biomédica. Especialista em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP). Mestre em Ciências – Biología da Relação Patógeno-Hospedeiro pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP. Doutora em Ciências pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Bióloga Encarregada do Laboratório de Parasitologia Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP. Multiplicadora das Comissões de Controle da Qualidade, Documentos, RNC e Ensino e Pesquisa da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP. Professora Convidada no Curso de Pós-graduação da Universidade Nove de Julho (Uninove), São Paulo.

Érico Bandeira Veríssimo

Médico. Graduado em Medicina pelo Instituto de Ciências da Saúde das Faculdades Unidas do Norte de Minas (ICS-Funorte). Médico-residente em Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP).

Fábio Vasconcellos Brazão

Médico Patologista Clínico. Diretor Médico do Laboratório Ruth Brazão, Belém, PA. Médico Patologista Clínico da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCMP). Coordenador Médico do Laboratório da Unimed Belém. Especialização em Patologia Clínica pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Presidente Regional Norte da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2016-2017. Diretor Administrativo-financeiro da SBPC/ML – biênios 2018-2019 e 2020-2021. MBA em Gestão de Cooperativas (Faccat).

Fernando Brunale Vilela de Moura Leite

Médico Patologista Clínico. Graduação em Medicina pela Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (Unesp). Residência Médica em Patologia Clínica pelo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Título de Especialista em Patologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Doutorado em Medicina Translacional/Espectrometria de Massas pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Coordenador Médico do Laboratório Senne Liquor Diagnóstico. Aluno de Pós-doutorado pela Unifesp.

Fernando de Almeida Berlitz

Farmacêutico e Bioquímico. Graduação pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). MBA em Gestão Empresarial e Marketing pela Escola Superior de Propaganda e Marketing (ESPM). Certificado Lean Six Sigma *Master Black Belt* pela Seta Desenvolvimento Gerencial (Seta DG). Membro da Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (Calc) do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (Palc) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Membro do Comitê Consultivo do Programa de Indicadores Laboratoriais da SBPC/ML e Controllab. Assessor Científico para Indicadores de Desempenho e Controle da Qualidade na Controllab. Especialista em Consultoria Laboratorial na Siemens Healthineers. Diretor na Berlitz Strategie – Consultoria e Treinamento.

Gedson Humberto Novais Pinto

Biomédico. Mestrado em Doenças Infecciosas pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). MBA pela Fundação Getúlio Vargas (CEAG-FGV). Atuou no período de 1994 a 1996 no Banco de Sangue da Santa Casa de São Paulo e de 1996 a 2016 no Grupo Fleury na área de Análises Clínicas na função de Assessor Científico em Imunologia e Hematologia, Controle da Qualidade, Desenvolvimento e Implantação de Novos Métodos, Otimização de Processos e ministrando treinamento técnico e científico, e também como Coordenador de Cultura Organizacional atuando em projetos de fusão e aquisição. Gerente de Produtos da Sebia.

Glais Libanori

Médica Patologista Clínica. Graduada pela Faculdade de Medicina do ABC (FMABC). Especialização em Patologia Clínica pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Título de Especialista pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). MBA de Gestão em Saúde pelo Instituto de Ensino e Pesquisa (Insper). Ex-médica Patologista Clínica da Associação e Fundo de Incentivo à Pesquisa (Afip). Regional Medical Affairs Manager, Latin America BD Life Sciences – Integrated Diagnosis Systems (IDS).

Guilherme Ferreira de Oliveira

Médico Patologista Clínico. Mestre em Promoção da Saúde pela Universidade de Franca, São Paulo (Unifran). Especialista em Medicina Tropical pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). MBA em Gestão Empresarial pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). Diretor Administrativo de Expansão do Grupo Sabin. Diretor de Acreditação e Qualidade da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênios 2004-2005, 2018-2019 e 2020-2021.

Gustavo Arantes Rosa Maciel

Médico Ginecologista. Professor Livre-docente da Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Coordenador do Setor de Ginecologia Endócrina e Climatério do Hospital das Clínicas da FMUSP. Pesquisador Responsável pelo Laboratório de Ginecologia Estrutural e Molecular (LIM-58) da FMUSP. Consultor Médico em Ginecologia e Biologia Molecular do Laboratório Fleury Medicina e Saúde.

Gustavo Loureiro

Residência Médica em Hematologia e Hemoterapia pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Título de Especialista em Patologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Doutorado em Hematologia pela EPM-Unifesp. Assessor Médico para Hospitais e Bioquímica Clínica do Grupo Fleury.

Helida Patricia de Oliveira Silva

Farmacêutica Bioquímica. Graduação pela Universidade Federal de Alfenas (Unifal). Pós-graduação em Toxicologia Ocupacional pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Pós-graduação em Gerenciamento de Projetos – Práticas do Project Management Institute (PMI) pelo SENAC. Pós-graduação em Marketing pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). Gerente da Medical Affairs Laboratórios Diagnósticos para Região da América Latina na Siemens Healthineers.

Ismar Venâncio Barbosa

Médico Patologista Clínico. Pós-graduação em Gestão Empresarial pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). *Leader Auditor* ISO pela MCG. Assessor Médico Grupo Fleury Nova América, Rio de Janeiro. Diretor Médico da Empresa Qualilab Serviços Médicos. Membro Efetivo do Conselho Fiscal da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021.

João Carlos de Campos Guerra

Médico Hematologista, Onco-hematologista e Patologista Clínico. Especialista em Patologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Especialista em Hematologia e Hemoterapia pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) e pela Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (ABHH). Doutor em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Diretor Científico do Grupo Cooperativo Latino Americano de Hemostasia e Trombose (CLAHT). Professor-assistente do Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em Ciências da Saúde da Faculdade Israelita em Ciências da Saúde Albert Einstein. MBA em Gestão de Saúde pelo Insper. Presidente do Centro de Hematologia de São Paulo (CHSP). Coordenador Médico do Setor de Hematologia/Coagulação do Departamento de Patologia Clínica do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE).

João Nóbrega de Almeida Júnior

Médico-assistente do Serviço de Microbiologia da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Doutor em Ciências pela FMUSP.

Jorge Luiz Mello Sampaio

Médico Patologista Clínico. Graduação em Medicina pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Título de Especialista em Patologia Clínica pela Associação Médica Brasileira (AMB). Doutorado em Microbiologia e Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) e Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Professor Doutor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Médico do Setor de Microbiologia do Fleury Medicina e Saúde. Coordenador-geral do Brazilian Committee for Antimicrobial Susceptibility Tests (BrCAST), 2014 a 2016.

Jovanna Itzel Borace

Tecnóloga Médica. Graduada pela Faculdade de Medicina da Universidad Nacional de Panamá. Mestre em Gerência de Serviços de Saúde com 24 anos de experiência no laboratório clínico. Diretora do Laboratório Clínico do Hospital Santo Tomás, Panamá. Ex-presidente do Colégio Nacional de Laboratoristas Clínicos do Panamá. Coordenadora de Prática Hospitalar da Escuela de Tecnología Médica da Universidad Latina de Panamá. Representante do Ministério da Saúde perante ao Conselho Nacional de Acreditação do Panamá. Membro da Confederação Latino-americana de Bioquímica Clínica. Membro do Latin American Scientific Preanalytical Committee (Lasc).

Justine Beirith Montalvão

Farmacêutica e Bioquímica. Graduação pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). MBA em Gerenciamento de Projetos pela Instituto Superior de Administração e Economia (Isae) – Fundação Getulio Vargas (FGV). Especialização em Lean Six Sigma pela FAE Business School. Gerente Nacional da Consultoria Laboratorial na Siemens Healthineers.

Kaline Maria Nogueira de Lucena Fonseca

Médica Patologista Clínica. Graduada em Medicina pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Residência Médica em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial pelo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Responsável Técnica e Assessora Médica do Centro de Patologia Clínica – Grupo Fleury (Natal, Rio Grande do Norte). Diretora Regional da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), Rio Grande do Norte – biênio 2020-2021.

Kátia Regina César

Biomédica. Mestre em Ciências Nefrológicas pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Coordenadora Técnica de Controle de Qualidade e *Point of Care* do Fleury Medicina e Saúde.

Leonard de Vinci Kanda Kupa

Farmacêutico e Bioquímico. Graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Regional de Blumenau (FURB). Mestrado e Doutorado em Toxicologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP). Pós-doutorando do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Professor Doutor (MS3) da FCF/USP.

Leonardo de Souza Vasconcellos

Médico Patologista Clínico. Mestre e Doutor em Medicina pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Professor de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina da UFMG. Professor/Orientador Pleno dos Programas de Pós-graduação em Patologia e em Saúde do Adulto da UFMG. Coordenador do Programa de Residência Médica em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial do Hospital das Clínicas da UFMG. Presidente do Departamento de Patologia Clínica da Associação Médica de Minas Gerais (AMMG). Diretor de Ensino da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021.

Lia Marques de Oliveira Lavorato

Técnica de Laboratório. Especialização em Manutenção Produtiva Total. Certificação *Green Belt* Lean Six Sigma. Certificação em Metrologia e Calibração. Multiplicadora Líder do Grupo de Gestão de Equipamentos da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP).

Lívia de Oliveira Soares

Graduada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Celso Lisboa. Especialista em Qualidade, Segurança, Meio Ambiente e Saúde. Supervisora da Gestão de Serviços da Controllab.

Luana de Oliveira Turibio

Técnico em Segurança do Trabalho pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial (Senac). Especialista em Estratégias para Elaboração de Programa de Prevenção de Riscos Ambientais pelo Senac. Gestora de Saúde e Segurança Ocupacional (SSO) do Núcleo de Qualidade e Sustentabilidade da Divisão de Laboratório do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCMUSP). Formação em Auditoria Interna nas normas ISO 9001/2015; ISO 14001/2015; OHSAS 18001/07; PALC 2016; ISO 45001:18. Auditora Interna da DLC-HCFMUSP em Sistema Integrado de Gestão da Qualidade pelas normas ISO 9001/2015; ISO 14001/2015; OHSAS 18001/07; PALC 2016; ISO 45001:18. Auditoria Interna de Comportamento Seguro em Saúde e Segurança da DLC-HCFMUSP.

Luciane de Carvalho Sarahyba da Silva

Biomédica. Graduação pela Universidade de Mogi das Cruzes (UMC). Sócia-fundadora da Empresa Suzimara & Sarahyba Consultoria e Treinamento Ltda. Cofundadora da Seção de Biologia Molecular da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Especialista em Gestão e Coordenação em processos de Biologia Molecular e Administração Laboratorial. MBA em Gestão em Saúde pela Fundação Getúlio Vargas (FGV). Pós-graduação *lato sensu* em Patologia Clínica pela USP. Pós-graduação *lato sensu* em Administração Hospitalar pela Fundação Getúlio Vargas (EAESP-FGV). Membro do Comitê da Qualidade da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Auditora pelo Programa de Acreditação do College of American Pathologists (CAP) em Biologia Molecular. Auditora nos Sistemas de Gestão da Qualidade: Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (PALC-SBPC/ML), ISO 9001:2015, ISO 14001:2015, OHSAS 18001:2007.

Luis Eduardo Coelho Andrade

Médico Reumatologista e Patologista Clínico. Professor-associado, Livre-docente da Disciplina de Reumatologia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Médico Consultor em Imunologia e Reumatologia do Fleury Medicina e Saúde. Coordenador da Comissão de Laboratório da Sociedade Brasileira de Reumatologia. Coordenador da Comissão de Padronização e Controle de Qualidade da International Union of Immunology Societies. Cooordenador do International Consensus on ANA Patterns (ICAP).

Luís Fernando Brüzzi Porto

Médico Patologista Clínico. Patologista Clínico do Departamento de Patologia Clínica do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), Regional Rio de Janeiro. Cel MD RR Ex-chefe do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Central da Polícia Militar (HCPM). Membro do Heart Team do Hospital Pró-Cardíaco. Revisor do Periódico *Journal of Cardiovascular Sciences*. Médico do Laboratório de Urgências do Hospital Municipal Rocha Maia, Rio de Janeiro.

Luisane Maria Falci Vieira

Médica Patologista Clínica do Laboratório Lustosa. MBA em Gestão da Saúde. Presidente Regional da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) para Minas Gerais. Membro da Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (Calc) da SBPC/ML.

Luiza Bottino Grangeiro Balli

Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Mestre em Química pela UFRJ. MBA em Gestão de Serviços pela Fundação Getulio Vargas (FGV-RJ). Supervisora da Gestão de Serviços da Controllab.

Marc Yves Chalom

Químico. Bacharel em Química pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Pós-graduação em Marketing e MBA em Gestão Executiva pela Fundação Getulio Vargas (FGV). Especialista na Área Técnica e de Aplicações em Equipamentos de Cromatografia e Espectrometria de Massas. Ex-gerente de Aplicações da Thermo Fisher Scientific para o Grupo *Chromatography and Mass Spectrometry Division* (CMD) no Brasil. Assessor Científico no Desenvolvimento de Metodologias Analíticas e Capacitação de Usuários para as Áreas de Análises Clínicas, Segurança Alimentar, Farmacêutica e Geoquímica. Membro do Comitê Organizador do Clinical and Pharmaceutical Solution Through Analysis (CPSA).

Marçal Cavalcante de Andrade Silva

Médico Hematologista. Consultor em Hematologia e Citometria de Fluxo do Fleury Medicina e Saúde. Médico-assistente do Laboratório de Citometria de Fluxo da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

Marcelo Cidade Batista

Médico Patologista Clínico e Endocrinologista. Formado pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Doutor em Tecnologia Nuclear Aplicada à Medicina pelo

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo (USP). Pós-doutorado no *Developmental Endocrinology Branch*, National Institutes of Health (NIH), Estados Unidos. Médico Consultor do Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE) e Diretor Médico dos Laboratórios Endoplus e Bio-Médico.

Marcio Santos Garcia

Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas. Técnico em Patologia Clínica pelo Colégio São Judas Tadeu (CSJT). Graduado em Administração pela Faculdade Anhembí Morumbi. Membro do Grupo de Toxicologia da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

Márcio Yuiti Tomiyoshi

Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas. Mestre em Imunologia de Tumores pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP). Especialista no Mercado de Pesquisa Científica e Diagnóstico Clínico com ênfase em Controle de Qualidade. Gerente de Marketing da Bio-Rad Laboratórios do Brasil.

Marcos Antonio Gonçalves Munhoz

Médico Patologista Clínico. Colaborador do Serviço de Hematologia, Citologia e Genética da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

Maria Elizabete Mendes

Médica Patologista Clínica. Doutora em Medicina pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Chefe de Seção Técnica de Bioquímica de Sangue da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP (DLC-HCFMUSP). Coordenadora do Núcleo da Qualidade e Sustentabilidade da DLC-HCFMUSP. Membro do Grupo de Discussão de Indicadores da Controllab e Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Editora-adjunta do *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBP/ML)*.

Maria Leide de Sena Badaró.

Bióloga. Graduada pelas Faculdades Farias Brito (atual Universidade de Guarulhos). Especialista em Engenharia de Saneamento Básico pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP). Gestora Ambiental e de Atendimento a Emergência no Núcleo de Qualidade e Sustentabilidade da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Auditoria Interna nas Normas NBR ISO 9002, 14001 e 18001 da DLC-HCFMUSP.

Maria Mercedes Zirpoli

Bioquímica. Graduada pela Universidade de Buenos Aires, Argentina. Especialista em Gestão e Administração de Sistema de Saúde concedido pela Universidade Austral, Argentina. Especialista em Gestão da Qualidade Certificada pelo Colégio de Bioquímica da Província de Buenos Aires. Subchefe do Laboratório do Hospital Universitário Austral, Buenos Aires, Argentina. Auditora do Organismo Argentino de Acreditação, Norma ISO 15189. Membro do Latin American Scientific Preanalytical Committee (LASC).

Maria Severina dos Santos

Farmacêutica e Bioquímica. Bacharel em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Nove de Julho (Uninove). Farmacêutica da Seção de Toxicologia e do Centro de Monitorização de Imunossuppressores da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

Marileia Scartezini

Farmacêutica Bioquímica, Mestre em Bioquímica e Doutora em Genética pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Pós-doutora em Hipercolesterolemia Familiar pela University College London (UCL), Reino Unido. Professora da Disciplina de Bioquímica Clínica da UFPR, aposentada. Pesquisadora e Colaboradora do Programa de Pós-graduação de Ciências Farmacêuticas da UFPR. Revisora do *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* (JBPML). Associada do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, participação nas Diretrizes Brasileiras de Dislipidemias. Assessora Científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC). Consultora Científica em Dislipidemias e TLR (POCT).

Marinês Dalla Valle Martino

Médica Patologista Clínica. Médica com Título de Especialista em Patologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Mestrado e Doutorado pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP). Professora-adjunta da Disciplina Microbiologia da FCMSCSP. Coordenadora Médica do Setor de Microbiologia do Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE). Professora da Disciplina Agente Hospedeiro da Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein. Membro do Brazilian Committee for Antimicrobial Susceptibility Tests (BrCAST), 2014 a 2019. Membro do Subcomitê de Controle de Qualidade do BrCAST.

Matheus Vescovi Gonçalves

Médico Hematologista. Professor-adjunto da Disciplina de Hematologia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Médico Consultor em Hematologia e Citometria de Fluxo do Fleury Medicina e Saúde.

Myriam de Siqueira Feitosa

Médica Patologista Clínica. Mestre em Patologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Ex-médica da Área de Bioquímica Clínica da Unidade Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas (HC) da UFMG. Ex-coordenadora da Plataforma Hospitalar do HC-UFMG. Ex-coordenadora Médica da Unidade Laboratório de Patologia Clínica do HC-UFMG, 1994 a 2019. Ex-chefe da Unidade Laboratório de Patologia Clínica do HC-UFMG, 2016-2019.

Nairo Massakazu Sumita

Médico Patologista Clínico. Professor-assistente Doutor da Disciplina de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Diretor do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP) – LIM 03 da Patologia Clínica. Consultor Médico em Bioquímica Clínica do Fleury Medicina e Saúde. Consultor Científico do Latin American Preanalytical Scientific Committee (Lasc) e Membro do *Editorial Board* do

site <specimenscare.com>. Presidente Regional São Paulo Capital da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. Diretor para América Latina da World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine (WASPaLM).

Neide Yamamoto Abe

Graduada em Matemática pela Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU), São Paulo. Gestora em Controle de Documentos e Registros da Qualidade da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

Nico VandePoele

Bacharel em Química Clínica com formação dupla em Tecnologia de Informações e Química pela Higher Technical Institute na Bélgica. Gerente de Assuntos Científicos pela Divisão de Controle de Qualidade da Bio-Rad, Irvine, Estados Unidos.

Nilcéia Maria Viviani

Bióloga. Graduada em Biologia pela Universidade Mackenzie. Mestre em Ciências pela Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo (FMUSP). Responsável pelo Laboratório de Hemoglobinopatias do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP (DLC-HCFMUSP).

Nilo José Coêlho Duarte

Médico Patologista Clínico. Chefe do Setor de Toxicologia do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP) – LIM-03 da Patologia Clínica. Médico Patologista Clínico do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital do Coração (HCor).

Paschoalina Romano

Farmacêutica Bioquímica. Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP). Mestre em Ciências da Saúde pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Doutora em Ciências da Saúde pela FMUSP. Biologista Encarregada da Seção de Toxicologia e Centro de Monitorização de Imunossuppressores da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP (DLC-HCFMUSP).

Paula Célia Mariko Koga

Farmacêutica e Bioquímica. Graduação em Farmácia-Bioquímica pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Especialização *lato sensu* em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Mestrado em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo (USP). Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Especialista em Microbiologia no Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE).

Pérsio de Almeida Rezende Ebner

Biomédico. Graduado pelo Centro Universitário Barão de Mauá (CBM). Biologista Chefe do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Ex-auditor Interno

do Sistema Integrado de Gestão pelas Normas NBR ISO 9001 e Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (Palc) na DLC-HCFMUSP. Membro da Comissão de Controle de Qualidade da DLC-HCFMUSP. Especialização em Administração Hospitalar pelo Centro Universitário São Camilo (CUSC).

Rafael Monsores Lopes

Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade do Grande Rio (Unigranrio). Gestor de Serviços da Controllab. Membro do Comitê Consultivo do Programa de *Benchmarking* e Indicadores Laboratoriais da SBPC/ML e Controllab.

Rafaelle Silva da Costa

Licenciada e Bacharel em Química pela Universidade do Grande Rio (Unigranrio). Pós-graduada MBA em Gestão Integrada em Qualidade, Segurança, Meio Ambiente e Saúde pela Universidade Católica de Petrópolis (UCP) e Assistente da Gestão de Serviços da Controllab.

Renan Barros Domingues

Neurologista. Residência Médica pelo Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Doutor em Medicina pelo Departamento de Patologia da USP (1997). Doutorado sanduíche pela Universidade do Alabama em Birmingham, Estados Unidos (1996). Pós-doutorado em Neurologia pela Universidade de Lille, Nord Pas de Callais, França (2014). Ex-professor-adjunto da Escola de Medicina da Santa Casa de Vitória (Emescam). Ex-coordenador do Grupo de Pesquisas do CNPq – Grupo Multidisciplinar de Estudos em Doenças Crônicas do Sistema Nervoso até 2013. Ex-professor do Programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Ex-editor Associado da Revista *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* de 2013 a 2018. Membro Titular e da Comissão de Telemedicina da Academia Brasileira de Neurologia (ABN). Professor da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (SCMSP). Assessor Científico do Laboratório Senne Liquor Diagnóstico.

Ricardo Alexandre dos Santos

Farmacêutico. Bacharel em Farmácia e Bioquímica pela Universidade São Judas Tadeu (USJT). Pós-graduando em Farmácia Clínica e Prescrição Farmacêutica do Programa de Pós-graduação do Instituto de Ciência, Tecnologia e Qualidade (ICTQ). Analista do Setor de Toxicologia do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Membro da Comissão de Controle da Qualidade em Água Reagente da DLC-HCFMUSP. Analista do Fleury Medicina e Saúde.

Ricardo Gross Hojda

Engenheiro. Mestre em Engenharia de Produção pela Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP). Especialista em Qualidade pela USP. Auditor Líder de ISO 9001, ISO 14001 e ISO 45001 de Organismo de Certificação. Professor de Cursos de Pós-graduação da Fundação Vanzolini. Consultor de Empresas na Implementação de Sistemas de Gestão, Comportamento Seguro e Riscos Críticos. Diretor e Instrutor de Treinamentos da Stance Gestão e Treinamento.

Robson Cupertino de Lima

Professional Coach e Especialista em Segurança Comportamental. Graduado em Educação e Formação em Saúde e Segurança do Trabalho. Pós-graduado em Andragogia (Educação de

Adultos) pela Faculdade Adventista. *Practitioner* de Programação Neurolinguística (PNL) pela Sociedade Brasileira de PNL (SBPNL). Pós-graduado em Psicodrama pela Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP). Instrutor e Consultor da Stance Gestão e Treinamento.

Sandro Félix Perazzio

Médico Reumatologista. Professor Visitante da Disciplina de Clínica Médica e Medicina Laboratorial do Departamento de Medicina da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Assessor Médico em Reumatologia e Imunologia do Fleury Medicina e Saúde.

Suzimara Aparecida Vicente Tertuliano de Oliveira

Enfermeira. Habilitação Médico-Cirúrgico e Licenciatura pela Uniararas – Fundação Hermínio Ometto. Sócia-fundadora da Empresa Suzimara & Sarahyba Consultoria e Treinamento Ltda. Consultora para Projetos em Patologia Clínica, Gestão Laboratorial e Gestão da Qualidade. Membro do Comitê da Qualidade da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Atuou como Gestora e Coordenadora de Enfermagem da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP) e do Laboratório do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (Icesp). Cofundadora da Coleta Ambulatorial no Laboratório do Icesp. Auditora Interna em Sistemas de Gestão da Qualidade: ISO 9001: 2015, ISO 14001: 2015, OHSAS 18001:2007, Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (Palc-SBPC/ML) e Programa de Acreditação do College of American Pathologists (CAP).

Syllene Nunes

Médica Cirurgiã-geral e Plástica. Graduada pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Mestrado e Doutorado em Cirurgia pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp). Pós-doutorado em Ciências da Saúde pela Universidade de São Paulo (USP). Especialista em Gerenciamento de Projetos de Inovação pela USP, Campus São Carlos. Especialista em Gestão de Atenção Primária pela Cambridge Health Alliance-Harvard e Fundação Educacional Lucas Machado (Feluma/MG). Gerente de Iniciativas Estratégicas em Saúde e Soluções Clínicas para América do Sul da Abbott.

Valdir Fernandes de Aranda

Graduado em Farmácia-Bioquímica com as Modalidades Análises Clínicas e Análises Toxicológicas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP). Vinculado às Áreas de Hematologia e Coagulação do Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE/MDP – Laboratório Clínico).

Valéria Aparecida Faria

Bióloga. Graduada pela Universidade de Guarulhos (UNG). Especialista em Gestão Ambiental pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP). Gestora em Treinamentos do Sistema da Qualidade no Núcleo de Qualidade da Divisão de Labora-

tório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP). Auditoria Interna em Sistema Integrado de Gestão da Qualidade da DLC-HCFMUSP pelas normas ISO 9001/2015; ISO 14001/2015; OHSAS 18001/07; PALC 2016/ ISO 45001:18. Auditoria Interna da DLC-HCFMUSP em Comportamento Seguro em Saúde e Segurança.

Vera Lucia Pagliusi Castilho

Médica Patologista Clínica. Doutora em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Médica-chefe do Laboratório de Parasitologia Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP (DLC-HCFMUSP). Professora Convidada no Módulo de Patologia Clínica – Área de Parasitologia do Departamento de Patologia da FMUSP. Gestora da Comissão de Ética da DLC-HCFMUSP. Membro atuante da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq do HCFMUSP.

Victor Lage de Araujo

Médico Patologista Clínico. Graduação pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Título de Especialista em Patologia Clínica pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Especializações *lato sensu* em Análises Clínicas, Hemoterapia, Controle de Infecção Relacionada à Saúde. Membro Internacional do College of American Pathologists (CAP). Mestrado em Medicina Baseada em Evidências pela University College London (UCL).

Vilma Novaes Santana de Souza

Técnica de Laboratório. Tecnóloga pelo Colégio Padre José de Anchieta. Aperfeiçoamento Profissional em Controle Dimensional pelo Senai. Certificação em Calibração de Volume em Vidrarias de Laboratório. Membro do Grupo de Gestão de Equipamentos do Núcleo de Qualidade e Sustentabilidade da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DLC-HCFMUSP).

William Pedrosa

Médico Endocrinologista do Instituto Mineiro de Endocrinologia. Assessor Científico do Laboratório Hermes Pardini. Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Doutor em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial Faculdade de Medicina da UFMG.

Wilson Shcolnik

Médico Patologista Clínico. Doutorando em Patologia da Universidade de São Paulo (USP). Mestre em Saúde Pública pela Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP/Fiocruz). MBA em Gestão pela Qualidade Total pela Universidade Federal Fluminense (UFF). Presidente do Conselho de Ex-presidentes da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – biênio 2020-2021. *Fellow* do Colégio Brasileiro de Executivos em Saúde (CBEX-RJ). Presidente da Associação Brasileira de Medicina Diagnóstica (Abramed). Gerente Corporativo de Relações Institucionais do Grupo Fleury.

Sumário

Apresentação	XXXV
Gestão da qualidade	
1 Princípios básicos de medicina laboratorial	1
Adagmar Andriolo	
2 Planejamento adequado melhora o laboratório clínico	8
Maria Elizabete Mendes, Nairo Massakazu Sumita	
3 Como definir e acompanhar os indicadores laboratoriais.....	15
César Alex de Oliveira Galoro, Fernando de Almeida Berlitz, Luiza Bottino Grangeiro Balli, Wilson Shcolnik	
4 Sistematização para a implantação de ações corretivas e preventivas	20
Maria Elizabete Mendes, Claudia Diório Uliani, Nairo Massakazu Sumita	
5 Como estruturar um sistema eficiente de gestão de equipamentos no laboratório clínico	28
Maria Elizabete Mendes, Cleber Ribeiro de Jesus, Lia Marques de Oliveira Lavorato, Vilma Novaes Santana de Souza, Nairo Massakazu Sumita	
6 Gestão documental no laboratório clínico	39
Maria Elizabete Mendes, Neide Yamamoto Abe, Valéria Aparecida Faria, Nairo Massakazu Sumita	
7 Práticas seguras no laboratório clínico	47
Maria Elizabete Mendes, Luana de Oliveira Turibio, Maria Leide de Sena Badaró, Ricardo Gross Hojda, Robson Cupertino de Lima, Nairo Massakazu Sumita	
8 Princípios para organização do fluxo da automação no laboratório clínico	60
Luís Fernando Brüzzi Porto	

9	Medicina laboratorial inclusiva: cuidando de pacientes transgênero.....	68
	Luisane Maria Falci Vieira	
10	Farmacoeconomia: incorporação de novas tecnologias em saúde.....	83
	Alvaro Pulchinelli Junior	
11	Marketing estratégico	87
	Daniela Camarinha	
12	Aplicação da estratégia <i>Team-Based Learning</i> no treinamento de equipes no laboratório.....	94
	Ismar Venâncio Barbosa	
13	Aplicando conceitos <i>Lean</i> para melhorar o fluxo de trabalho do laboratório clínico	98
	Fernando de Almeida Berlitz, Helida Patricia de Oliveira Silva, Claudio Ivan Suárez Sanchez, Justine Beirith Montalvão	
Garantia da qualidade		
14	A importância da água grau reagente no laboratório clínico	106
	Maria Elizabete Mendes, Adriana Nascimento de Carvalho, Ricardo Alexandre dos Santos, Nairo Massakazu Sumita	
15	Controle da qualidade da água reagente no laboratório clínico.....	115
	Maria Elizabete Mendes, Adriana Nascimento de Carvalho, Ricardo Alexandre dos Santos, Nairo Massakazu Sumita	
16	Aplicação da métrica Sigma no laboratório clínico.....	128
	Fernando de Almeida Berlitz, Maria Elizabete Mendes	
17	Como realizar a equivalência entre sistemas analíticos na prática laboratorial ...	139
	Maria Elizabete Mendes, Adriana Nascimento de Carvalho, Nairo Massakazu Sumita	
18	Como analisar o Controle de Qualidade Interno (CQI) diariamente e a interpretação de Gráficos de CQI.....	147
	Márcio Yuiti Tomiyoshi, Nico VandePoele	
19	Importância dos materiais de controle interno da qualidade para resultados confiáveis	153
	Controllab: Lívia de Oliveira Soares, Claudio Rodrigues Bastos	

20	Especificação da qualidade analítica na prática operacional do laboratório clínico	160
	Controllab: Rafael Monsores Lopes, Ana Paula Chaves Sobral Gomes	
21	Avaliação externa da qualidade no laboratório clínico	167
	Controllab: Adriana de Oliveira Vieira, Luiza Bottino Grangeiro Balli, Rafaelle Silva da Costa	
Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC – SBPC/ML)		
22	Dúvidas frequentes na implantação do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos	178
	Carla Doerzapff Chaves, Guilherme Ferreira de Oliveira	
Fase pré-analítica		
23	Fase pré-pré-analítica	184
	Leonardo de Souza Vasconcellos	
24	Ações para minimizar a hemólise	190
	Latin American Preanalytical Scientific Committee (LASC): Glais Libanori, Adagmar Andriolo, Ana Margarita Baldion Elorza, Carlos R. Vega Salinas, Carolina Giselle Trunzo, Eduardo Miguel Brambila Colombres, Jovanna Itzel Borace, Luisane Maria Falci Vieira, Maria Mercedes Zirpoli, Nairo Massakazu Sumita	
25	Ações para evitar erros na coleta de sangue.....	198
	Suzimara Aparecida Vicente Tertuliano de Oliveira, Luciane de Carvalho Sarahyba da Silva	
Fase pós-analítica		
26	Crêterios para liberaçãõ automática de resultados	206
	Myriam de Siqueira Feitosa, Leonardo de Souza Vasconcellos	
27	Sistematizaçãõ para comunicaçãõ de resultados crêterios	212
	Victor Lage de Araujo, Leonardo de Souza Vasconcellos	
Bioquímica		
28	Vantagens da troponina ultrasensível no diagnõstico do infarto agudo do miocárdio	220
	Carlos Eduardo dos Santos Ferreira	

29	Abordagem laboratorial da hipercolesterolemia familiar	223
	Marileia Scartezini	
30	Gasometria.....	228
	Nairo Massakazu Sumita, Maria Elizabete Mendes	
31	Dificuldades na interpretação dos resultados de eletroforese de proteínas.....	235
	Gustavo Loureiro	
32	Desenvolvimento de metodologias analíticas para LC-MS.....	240
	Marc Yves Chalom, Leonard de Vinci Kanda Kupa, Paschoalina Romano, Pésio de Almeida Rezende Ebner, Nilo José Coêlho Duarte	
33	Validação de método em espectrometria de massas	248
	Paschoalina Romano, Leonard de Vinci Kanda Kupa, Maria Severina dos Santos, Nilo José Coêlho Duarte, Marc Yves Chalom, Pésio de Almeida Rezende Ebner	
34	Controle da qualidade em espectrometria de massas.....	253
	Paschoalina Romano, Marcio Santos Garcia, Ricardo Alexandre dos Santos, Pésio de Almeida Rezende Ebner	
Hematologia e coagulação		
35	Como realizar a comparação entre microscopistas	258
	Marcos Antonio Gonçalves Munhoz	
36	Exames de triagem para avaliação das coagulopatias	268
	João Carlos de Campos Guerra, Valdir Fernandes de Aranda, Andreza Oliveira dos Santos	
37	O papel da citometria de fluxo nas doenças hematológicas.....	274
	Alex Freire Sandes, Matheus Vescovi Gonçalves, Marçal Cavalcante de Andrade Silva	
38	Diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias	283
	Nilcéia Maria Viviani, Érico Bandeira Veríssimo, Maria Elizabete Mendes, Nairo Massakazu Sumita	
Marcadores tumorais		
39	A utilidade e os cuidados na medida e interpretação dos resultados de marcadores tumorais bioquímicos circulantes.....	289
	Adagmar Andriolo	
40	Novos marcadores no diagnóstico e acompanhamento do câncer de próstata ..	294
	Adagmar Andriolo	

Microbiologia

- 41 Como implementar as normas do BrCAST no laboratório clínico 299**
André Mario Doi, Antonia Maria de Oliveira Machado, Cássia Maria Zoccoli,
Jorge Luiz Mello Sampaio, Marinês Dalla Valle Martino, Paula Célia Mariko Koga
- 42 Novos desafios para o estudo das infecções por fungos..... 304**
João Nóbrega de Almeida Júnior

Urinálise

- 43 Interferentes na análise bioquímica da urina com tiras reagentes 309**
Kaline Maria Nogueira de Lucena Fonseca
- 44 Controle da qualidade no exame de urina de rotina..... 316**
Maria Elizabete Mendes, Cyntia Giovanini Candido do Nascimento Freire,
Bianca Verrastro Antunes, Nairo Massakazu Sumita
- 45 Análise microscópica manual e automatizada do sedimento urinário..... 323**
Maria Elizabete Mendes, Cyntia Giovanini Candido do Nascimento Freire,
Bianca Verrastro Antunes, Nairo Massakazu Sumita

Endocrinologia

- 46 Quando aplicar a espectrometria de massas nas análises hormonais..... 327**
William Pedrosa
- 47 Avaliação laboratorial da tireoide: atualização..... 333**
Marcelo Cidade Batista
- 48 Avaliação hormonal da mulher em idade reprodutiva..... 346**
Gustavo Arantes Rosa Maciel
- 49 A interferência das variantes de hemoglobina e das talassemias na dosagem de hemoglobina glicada..... 353**
Edson Martins Ferraz Júnior, Gedson Humberto Novais Pinto

Imunologia

- 50 Dúvidas e dificuldades na interpretação do fator antinúcleo..... 359**
Cristóvão Luis Pitangueira Mangueira
- 51 Investigação laboratorial das doenças autoimunes e imunodeficiências..... 366**
Sandro Félix Perazzio, Alexandre Wagner Silva de Souza, Luis Eduardo Coelho Andrade

52 Controle de qualidade em imunossorologia	383
Eduardo Jorge Emery Carvalho Pinto	
Parasitologia	
53 Novos métodos para pesquisa de parasitas nas fezes.....	391
Vera Lucia Pagliusi Castilho, Elenice Messias do Nascimento Gonçalves	
Liquor	
54 Novos parâmetros para o diagnóstico das doenças neurológicas no liquor.....	398
Senne Liquor Diagnóstico: Carlos Augusto Senne Soares, Fernando Brunale Vilela de Moura Leite, Renan Barros Domingues	
Espermograma	
55 Atualização no exame de espermograma	404
Fábio Vasconcellos Brazão	
Toxicologia	
56 Como utilizar os testes rápidos para detecção de drogas de abuso	410
Alvaro Pulchinelli Junior	
57 As indicações para dosagem de elementos-traço.....	414
Alvaro Pulchinelli Junior	
Teste laboratorial remoto (TLR)/point-of-care (POC)	
58 Point-of-care test: validação × verificação × comparabilidade	419
Kátia Regina César	
Laboratório do futuro	
59 Modelagem e adaptabilidade: principais características do laboratório do futuro	423
Syllene Nunes	
Índice remissivo	543

Apresentação

A **PRESENTE DIRETORIA** da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) sente-se honrada com mais uma publicação do livro anual, que já é tradição, sobre as recomendações da SBPC/ML frente aos diferentes assuntos técnicos/científicos que circulam a prática da Medicina Laboratorial pelo mundo. Estas recomendações e diretrizes técnicas visam à disseminação do conhecimento para os laboratórios clínicos do país, bem como a contribuir com o processo de educação continuada de todos os profissionais da área da saúde.

O tema deste ano “Boas práticas em laboratório clínico” é clássico, pois, ao longo das últimas décadas, nós que atuamos no setor de análises clínicas já pudemos constatar o quanto os processos são mutáveis e a atualização nos diferentes assuntos se faz mandatória. Em ano de pandemia pelo coronavírus, o mundo se encontra em profunda transformação social e com impacto direto no nosso setor da Medicina Laboratorial. Estamos diante de muitas novidades e ainda não são totalmente conhecidos os impactos trazidos por essas mudanças. As diferentes fases do processo dentro da prática laboratorial serão discutidas nesta edição em conteúdo amplo e com base nas evidências científicas atuais.

Deixo aqui registrado o meu agradecimento a todos os autores que, gentilmente, concordaram em participar deste projeto e, em especial, aos Drs. Nairo Massakazu Sumita (Presidente Regional São Paulo e Editor-Chefe deste projeto editorial há décadas) e Alvaro Pulchinelli Junior (Diretor Científico da SBPC/ML), que dedicaram um esforço incansável na organização deste projeto. Fica também registrado o meu igual agradecimento às empresas que contribuíram com a SBPC/ML, tornando possível a concretização desse projeto: Abbott, Binding Site, BD, Controllab, HemoCue, Merck, Radiometer, Sebia, Siemens, Sysmex e TM.

CARLOS EDUARDO DOS SANTOS FERREIRA
Presidente da Sociedade Brasileira de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
(SBPC/ML) – Biênio 2020-2021

1 Princípios básicos de medicina laboratorial

Adagmar Andriolo

INTRODUÇÃO

Medicina laboratorial é uma das 54 especialidades médicas reconhecidas pela Associação Médica Brasileira (AMB). O título de especialista em medicina laboratorial, também identificada como Patologia Clínica, é obtido pelo médico ao concluir um Programa de Residência Médica em Patologia Clínica reconhecido pela Comissão Nacional de Residência Médica (CNRM) ou pela aprovação em concurso realizado pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

Os médicos patologistas clínicos são capacitados a contribuir ao atendimento à saúde, supervisionando a realização de exames laboratoriais, responsabilizando-se pela confiabilidade do resultado liberado. Adicionalmente, cabe ao patologista clínico a prestação de assessoria aos médicos ou a outros agentes de saúde que atendem diretamente o paciente, desde a correta indicação dos exames a serem realizados para um caso em especial até a análise crítica de eventuais resultados inesperados. Entre estes dois momentos, o patologista clínico participa indicando as condições necessárias para a realização da coleta da amostra biológica a ser examinada, fornece as instruções necessárias para o adequado preparo do paciente e identifica potenciais causas de variação ou interferência nos resultados, seja por uso de medicações, seja pela presença concomitante de morbidades. Em algumas situações, cabe ao patologista clínico contraindicar a realização de um exame proposto.

Ainda que não haja dados recentes apoiando esses números, assume-se que a atividade laboratorial represente algo em torno de 5% dos gastos de um hospital geral, mas alavancam cerca de 60 a 70% de todas as decisões médicas além do diagnóstico, como ao estabelecer critérios para admissão, alta e conduta terapêutica.

Quando adequadamente aplicados, os recursos laboratoriais propiciam redução das incertezas do raciocínio clínico, facilitando a confirmação ou exclusão diagnóstica, indicando a etiologia de alguma doença existente, contribuindo para o estabelecimento do estadiamento e do prognóstico e, em algumas doenças, indicando a melhor conduta terapêutica a ser assumida.

A introdução de procedimentos analíticos automatizados e dos recursos de tecnologia da informação, além de agilizar a obtenção de resultados, tornou-os informações com elevado grau de exatidão e precisão.

CONCEITOS BÁSICOS

Além da correta indicação, para que tenham alguma utilidade clínica, os testes laboratoriais precisam ter algumas características de desempenho para garantir o grau de confiabilidade necessária, como a precisão, a exatidão, a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos positivo e negativo.

- Precisão é a capacidade do método de fornecer resultados próximos entre si, quando a mesma amostra é submetida a medidas repetidas, nas mesmas condições analíticas. Essa característica é avaliada pelo controle interno da qualidade. Na prática, o laboratório realiza, diariamente, um número variável de medidas de uma mesma amostra. Os resultados obtidos ao longo dos dias não serão numericamente os mesmos, mas devem se distribuir de forma equilibrada, com valores mais elevados e mais baixos, com pequena dispersão em relação à média das medidas obtidas a cada dia. Essa característica, também conhecida como reprodutibilidade e boa prática laboratorial, determina que a precisão seja avaliada em amostras com diferentes concentrações – baixa, média, elevada – da substância em análise;
- Exatidão é capacidade do método de produzir um resultado muito próximo ao valor real. Essa característica é avaliada pela realização de medidas de determinada substância em uma amostra cujo valor real seja conhecido. Essa amostra, em geral, é denominada padrão de referência, e a boa prática laboratorial determina que sejam utilizadas soluções de padrão de referência de diferentes concentrações – baixa, média e elevada. Uma alternativa para a avaliação da exatidão da metodologia utilizada se dá por meio da participação do laboratório em programas de proficiência interlaboratorial, que permitem a comparação de resultados obtidos em uma mesma amostra biológica, analisada simultaneamente por diversos laboratórios, utilizando a mesma metodologia. Admite-se que a média dos resultados obtidos pelos diferentes laboratórios seja o valor-alvo. No mercado nacional, são ofertados vários programas de proficiência, como: a Proficiência em Ensaio Laboratoriais da Controllab; o Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC); o Programa do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS); e o Programa do College of American Pathologists (CAP), dos Estados Unidos; entre outros;
- Sensibilidade clínica de um teste laboratorial se refere à probabilidade de que um resultado seja alterado quando analisada uma amostra proveniente de um paciente portador da doença para a qual o teste se destina a diagnosticar. Em termos práticos, trata-se da porcentagem de resultados alterados obtidos ao serem analisadas amostras provenientes de uma população constituída apenas de indivíduos afetados da doença para a qual o teste deve ser aplicado;
- Sensibilidade analítica diz respeito à menor quantidade diferente de zero de determinada substância que pode ser corretamente medida por um ensaio;
- Especificidade clínica se refere à probabilidade de que um resultado esteja dentro do intervalo de referência quando analisada uma amostra proveniente de um indivíduo sem a doença, ou seja, é a porcentagem de resultados dentro da faixa de referência ao serem analisadas amostras provenientes de uma população constituída apenas de indivíduos sem a doença para a qual o teste deve ser aplicado;
- Especificidade analítica se refere à capacidade do teste em medir apenas a substância-alvo;

- Valor preditivo positivo é a probabilidade de que um resultado positivo seja verdadeiro, ou seja, represente a presença da doença;
- Valor preditivo negativo se refere à probabilidade de que um resultado negativo também seja verdadeiro, significando real ausência de doença.

Causas de variação dos resultados laboratoriais

O resultado obtido de um procedimento analítico pode ser influenciado por diferentes fatores, na fase pré-analítica, analítica ou pós-analítica.

As causas de variação pré-analíticas podem depender do próprio paciente e do seu preparo, da oportunidade da coleta da amostra e das condições nas quais a amostra é coletada, transportada e preservada.

Algumas das condições relacionadas ao paciente incluem o gênero, a idade, o tempo de jejum, a atividade física e a dieta prévios à coleta da amostra, assim como o uso de drogas para fins terapêuticos ou recreacionais.

Gênero

Além das diferenças hormonais específicas e das características de cada gênero, alguns outros parâmetros sanguíneos e urinários são encontrados em concentrações distintas entre homens e mulheres. Entre outros fatores, podem ser referidas as diferenças metabólicas e de massa muscular. Em geral, os intervalos de referência para esses parâmetros são específicos. Além das alterações hormonais típicas do ciclo menstrual das mulheres, podem ser observadas variações cíclicas de outras substâncias, como a concentração de aldosterona, cerca de 100% mais elevada na fase pré-ovulatória do que na fase folicular.

Idade

Alguns parâmetros bioquímicos têm concentração sérica dependente da idade do indivíduo, resultante de diversos fatores, como maturidade funcional dos órgãos e sistemas, conteúdo hídrico, massa corporal magra e volume de tecido adiposo. Em situações específicas, os intervalos de referência devem considerar essas diferenças. Doenças subclínicas são mais comuns em idosos e devem ser consideradas na avaliação da variabilidade dos resultados, embora as próprias variações biológicas e ambientais não devam ser subestimadas.

Jejum

Corresponde ao período no qual não ocorre ingestão de calorias. Preconiza-se algum período de jejum prévio à coleta de sangue para exames laboratoriais, porque os estados pós-prandiais podem ser acompanhados de turbidez do soro, capaz de interferir em algumas metodologias. Outra razão é a influência que o processo digestivo *per si* pode ter sobre algum parâmetro a ser examinado. Um exemplo significativo deste efeito é a elevação fisiológica da enzima fosfatase alcalina, especialmente a isoenzima intestinal, no período pós-prandial imediato. Devem ser evitadas coletas de sangue após períodos muito prolongados de jejum, acima de 12 horas. Nas populações pediátrica e geriátrica, sempre que possível, o tempo de jejum deve guardar relação com os intervalos de alimentação, evitando-se a possibilidade de ocorrência de episódios de hipoglicemia.

Atividade física

Propicia mobilização de água e outras substâncias entre os diferentes compartimentos corporais e variações nas necessidades energéticas do organismo. Esses efeitos, em geral, são transitórios, mas sempre é preferível que se realize a coleta de amostras com o paciente em condições basais, mais facilmente reprodutíveis e padronizáveis. O exercício físico mais intenso, por exemplo, pode causar aumento na atividade sérica de algumas enzimas, como creatinoquinase, aldolase e asparato aminotransferase, o qual pode persistir por 12 a 24 horas, de acordo com a intensidade do esforço físico.

Dieta

A dieta habitual, mesmo que se mantenha um período de jejum prévio à coleta de sangue, pode interferir na concentração de alguns componentes, conforme as características orgânicas do próprio paciente. Alterações bruscas na dieta, como ocorrem, em geral, nos primeiros dias de uma internação hospitalar ou instituição de um regime alimentar, exigem tempo para que haja um equilíbrio metabólico.

Fármacos e drogas de abuso

Ambos podem ser responsáveis por variações nos resultados de exames laboratoriais, seja pelo próprio efeito fisiológico *in vivo*, seja por interferência analítica *in vitro*. Os efeitos fisiológicos incluem a indução e a inibição enzimáticas, a competição metabólica e a ação farmacológica. Dos efeitos analíticos, devem ser referidas a possibilidade de competição na ligação às proteínas e eventuais reações cruzadas. As interferências *in vitro*, geralmente, dependem da metodologia utilizada.

Álcool e fumo são drogas consideradas de uso recreacional, ainda muito frequentes em nosso meio. O tabagismo causa elevação na concentração de hemoglobina, nos números de leucócitos e de hemácias e no volume corpuscular médio, além de elevação na concentração de outras substâncias, como adrenalina, aldosterona, antígeno carcinoembriônico, glicemia e cortisol.

O consumo casual de etanol promove alterações significativas e quase imediatas na concentração plasmática de glicose, de ácido láctico e de triglicérides, por exemplo. O uso crônico provoca elevação da atividade da gama glutamiltransferase, entre outras alterações. Por essa razão, está indicada a abstinência do uso de bebidas alcoólicas por um período de 72 horas antes da coleta de sangue.

Variação cronobiológica

São as alterações cíclicas que ocorrem na concentração de alguns parâmetros biológicos em função do tempo. O ritmo de variação recebe denominação específica, na dependência do período necessário para que o ciclo se complete e a variação volte a ocorrer, como: circadiano (diário), circaseptano (7 dias), circadiceptano (14 dias), circatrigintano (mensal), circanual (sazonal ou anual), entre outros. As concentrações do ferro e do cortisol séricos, por exemplo, podem variar em até 50% entre amostras coletadas às 8h e às 14h e às 8h e às 16h, respectivamente. Para esses parâmetros, as coletas realizadas à tarde fornecem resultados consistentemente mais baixos do que os obtidos nas amostras coletadas pela manhã.

Procedimentos diagnósticos e/ou terapêuticos

Muitos laboratórios clínicos têm se tornado centros diagnósticos, nos quais, além da coleta de amostras biológicas, o paciente é submetido a exames de imagem, dos quais alguns implicam administração de meios de contrastes. Procedimentos clínicos, como o exame digital retal, a eletroneuromiografia e alguns procedimentos terapêuticos, como hemodiálise, diálise peritoneal, cirurgias e transfusão sanguínea, podem causar interferências nos resultados dos exames laboratoriais.

Posição do paciente

Quando o indivíduo permanece em uma posição corporal, ocorre adaptação na distribuição dos fluidos corporais intravasculares e extravasculares, o que implica um estado de equilíbrio na concentração de numerosos componentes séricos. Em posição supina, um adulto tem entre 600 e 700 mL menos volume de sangue do que quando em decúbito; o tempo de equilíbrio na concentração de algumas substâncias é de 30 minutos ao passar da posição ereta para a deitada, e de 10 minutos da posição deitada para a ereta. Ao ocorrer mudança postural, desencadeia-se um movimento no sentido de alcançar um novo equilíbrio. Por exemplo, quando o indivíduo se move da posição supina para a posição ereta ocorre um afluxo de água e substâncias filtráveis do espaço intravascular para o intersticial. Por essa razão, substâncias não filtráveis, como proteínas de alto peso molecular, terão sua concentração relativa elevada até que o novo equilíbrio hídrico se estabeleça. Níveis de albumina, colesterol, triglicérides, hematócrito, hemoglobina e drogas que se ligam às proteínas podem apresentar aumento de 8 a 10% da concentração inicial.

Torniquete

A aplicação de torniquete, com a finalidade de evidenciar a rede venosa, provoca um grau de estase circulatória. A boa prática laboratorial impõe que o torniquete seja utilizado por um curto período, para evitar estase prolongada e/ou hemólise, aplicado cerca de 8 cm acima do local da punção e a compressão não deve interromper o fluxo arterial, ou seja, o pulso precisa permanecer palpável. A aplicação do torniquete por um tempo superior a 2 minutos promove aumento da pressão intravascular, facilitando a saída de líquido e de moléculas pequenas para o espaço intersticial, resultando em hemoconcentração. A aplicação por um tempo maior causará alterações metabólicas, como a glicólise anaeróbica, que eleva a concentração de lactato e reduz o pH.

A presença de hemólise e de lipemia pode ser a causa de variação dos resultados ou até mesmo condicionar à rejeição da amostra, na dependência dos exames a serem realizados.

Hemólise

Alguns exames, como a hemoglobina glicada e a gasometria, são realizados em sangue total e a ocorrência de hemólise não exerce nenhuma influência. Para outros, como o hemograma, a hemólise pode ser um fator impeditivo. Para os exames realizados em soro ou plasma, na maioria das vezes, um pequeno grau de hemólise tem pouco efeito sobre o resultado, mas, quando a intensidade for significativa, além da liberação de maior quantidade de hemoglobina, ocorre aumento da presença de outras substâncias normalmente intraeritrocitárias, como algumas enzimas e íons.

Amostras de soro hemolisadas fornecerão resultados elevados de potássio, magnésio e fosfato e da atividade de algumas enzimas, como aldolase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina e desidrogenase láctica, e resultados falsamente reduzidos de insulina e de troponinas, na dependência do conjunto diagnóstico utilizado.

Lipemia

A elevada concentração de lipídeos na amostra pode interferir na realização de exames. A elevação significativa dos níveis de triglicérides, que pode ocorrer no período pós-prandial ou de maneira constante nos pacientes portadores de alguma dislipidemia, faz com que o soro assuma algum grau de turbidez, interferindo na precisão em algumas metodologias, especialmente naquelas que se utilizam de leituras colorimétricas ou turbidimétricas. A presença de turbidez acentuada em amostras de plasma ou soro tem relevância clínica e deve ser relatada pelo laboratório, como observação no laudo.

As variações decorrentes do procedimento técnico propriamente dito são denominadas causas analíticas, e aquelas como resultado de cálculos, transcrições ou interpretação de dados correspondem às causas pós-analíticas.

Intervalos de referência

Ao estabelecer intervalos de referência para qualquer parâmetro, devem ser consideradas algumas características do grupo utilizado, como controle, e da população na qual os exames serão realizados. Destacam-se, entre outras, idade, gênero, etnia, fatores ambientais, estado nutricional, grau de atividade física, período de ciclo menstrual, uso de medicamentos e existência de doença crônica.

Em geral, o conceito de “cl clinicamente normal” ou “aparentemente normal” é aplicado a um grupo de indivíduos que estejam em condições habituais em relação à atividade física e à dieta, livres de qualquer anormalidade óbvia. Em algumas situações, torna-se necessário incluir, no grupo-controle, indivíduos portadores de determinadas doenças.

A definição de intervalos de referência a partir de dados estatísticos tem sido substituída pela eleição de valores críticos, clinicamente significativos, que atendam melhor às finalidades a que o teste se destina.

Qualquer definição de limite de referência pressupõe um compromisso entre sensibilidade e especificidade. Quanto mais rigoroso for o critério de definição de um teste, ou seja, quanto mais estreita for a faixa de referência, maior será a especificidade e menor a sensibilidade.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

ANDRIOLO A (ED.). Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar da Unifesp-EPM, Medicina Laboratorial. 2. ed. Barueri: Manole; 2008.

ANDRIOLO A (ED.). Manual da Residência de Medicina Laboratorial. Barueri: Manole; 2019.

BURTIS CA, ASHWOOD ER, BRUNS DE (EDS.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 2006. 4. ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2006.

FORSMAN FR. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? Clin Chem. 1996;42:813-16.

MCCALL RE, TANKERSLEY CM. Phlebotomy Essentials. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.

- MCPHERSON RA, PINCUS MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 23. ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2017.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Interference testing in clinical chemistry. Proposed Guideline. Document EP7-A2. Wayne: NCCLS; 2005. v.25; n.27.
- PLEBANI M. The clinical importance of laboratory reasoning. Clin Chim Acta. 1999;280(1-2):35-45.
- SUMITA NM, ANDRIOLO A, SHCOLNIK W, ET AL. (orgs.). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPCML): Fatores Pré-Analíticos e Interferentes em Ensaios Laboratoriais. Barueri: Manole; 2018.
- YOUNG DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 4. ed. Washington: AACC Press; 1995.
- YOUNG DS. Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests. 3. ed. Washington: AACC Press; 2007.
- YOUNG DS, FRIEDMAN RB. Effects of disease on clinical laboratory tests. 4. ed. Washington: AACC Press; 2002.

2 Planejamento adequado melhora o laboratório clínico

Maria Elizabete Mendes, Nairo Massakazu Sumita

O PLANEJAMENTO COMPREENDE uma metodologia gerencial que permite estabelecer a direção a ser seguida pelo laboratório, visando ao maior grau de interação com o ambiente. Na administração estratégica, os gestores trabalham em um processo contínuo e interativo para manter o laboratório como um conjunto apropriadamente integrado ao seu ambiente. Recomenda-se ao dirigente laboratorial que, ao planejar, busque uma visão integrada do laboratório, respeitando alguns fundamentos, como: promover a participação, trabalhos feitos sob coordenação, sincronizados e com muita persistência. Do planejamento, decorrem as macropolíticas, as políticas funcionais, a filosofia de atuação, a macroestratégia, as estratégias funcionais, os grandes objetivos e os objetivos funcionais.

No mundo dos negócios laboratoriais, a maior parte do pensamento convencional sobre planejamento estratégico, ou seja, o estabelecimento de metas e a formulação de planos para atingi-las, é malconduzida e, às vezes, obsoleta. Muitas organizações perdem um tempo excessivo e energia intelectual preciosa tentando planejar e fazer um prognóstico do seu futuro. Criam planos estratégicos grandiosos, apoiados em orçamentos detalhados, estimativas de recursos, planos táticos e cronogramas, mas a maioria desses esforços tem pouca ligação com o sucesso dos negócios. No outro extremo, estão aqueles empreendimentos que não planejam adequadamente; quando esse processo não faz parte das funções empresariais regulares do dirigente laboratorial, torna-se compulsório porque ocorre tardiamente e a reboque das situações vivenciadas, podendo afetar a sobrevivência do laboratório.

Os principais objetivos do planejamento no laboratório clínico são: atingir objetivos máximos da empresa, procurando alcançá-los plenamente; respeitar os princípios de maior penetração e abrangência do negócio pelas modificações provocadas nas suas características; maximizar os resultados e minimizar as deficiências, proporcionando mais eficiência e efetividade.

É preciso planejar e projetar o futuro para tornar um laboratório bem-sucedido. A liderança deve dominar ambas as práticas. Enquanto projetar o futuro é um processo que envolve decidir como agir, com base no que está ocorrendo no ambiente imediato e no futuro próximo, planejar é a tradução dessa decisão em ações gerenciáveis. Planejar as mudanças, que serão parte da rotina do laboratório clínico para o período vindouro, é uma boa prática de gestão. O conhecimento sobre a concorrência, a avaliação do poder de negociação com os fornecedores, as ameaças trazidas pelas inovações, os novos concorrentes do mercado de atuação e o valor que o seu laboratório agrega para os clientes,

trazem a percepção da necessidade de mudar, estimulando dirigentes laboratoriais a se anteciparem, renovando-se para se adaptar e evoluir.

ANÁLISE DE RISCOS NO LABORATÓRIO

As transformações requerem a avaliação do estado atual do laboratório, fazendo-se um diagnóstico com a análise dos riscos aos quais o laboratório está submetido do ponto de vista de negócio, pessoas, legislação vigente, finanças, saúde e segurança, boas práticas do negócio, menu de exames e produtos ofertados, meio ambiente, infraestrutura, sistemas de informação, e do ponto de vista tecnológico e inovador. Recomenda-se o uso da ferramenta de análise de modos e efeitos de falhas (FMEA – *failure mode and effects analysis*), porque dela emergem os pontos que devem ser prioritariamente executados, tanto ameaças quanto oportunidades ao laboratório.

ANÁLISE SWOT

Recomenda-se uma análise dos cenários por meio da matriz de forças, fraquezas, oportunidades e ameaças (SWOT – *strengths, weaknesses, opportunities and threats*). Essa ferramenta de gestão e de planejamento possibilita a análise dos pontos contribuintes para o sucesso ou fracasso, identificando-se o impacto que esses fatores têm para o desempenho e qual será a tendência para o futuro. Trata-se de uma forma simples de verificação da posição estratégica do laboratório porque efetua uma síntese das análises internas e externas, priorizando ações para o fortalecimento dos aspectos positivos e escolhendo que será melhorado, na busca das chances de crescimento e do aumento de oportunidades, sempre considerando os riscos e sua análise.

Planejando-se adequadamente, há um maior compromisso do laboratório com o futuro. As diretrizes estratégicas podem criar uma moldura, restringindo as possíveis decisões e alocações de recursos ao longo do período de projeções, de modo que as partes do negócio sigam em uma direção comum. Na preparação dessas diretrizes, são considerados o ecossistema onde ela está inserida, o grupo de pessoas ou entidades que influenciam ou são influenciadas pelas atividades do seu negócio, o quadro geral das forças, fraquezas, oportunidades e ameaças, avaliando-se as perspectivas financeiras, dos clientes, dos processos internos e da aprendizagem.

MAPA ESTRATÉGICO

Criar um mapa estratégico com o destino e as rotas disponíveis para o futuro do laboratório é uma prática de gestão correta. Trata-se de uma representação do planejamento estratégico, no qual são explicitadas, de maneira resumida, as importantes medidas de desempenho de um laboratório, reunindo três dos principais pontos elementares de uma boa gestão: foco, sinergia e controle.

A partir desses elementos gerais, serão definidos objetivos, metas e estratégias específicas, visando à geração de valor ao cliente. As propostas de valor são importantes para explicitar o quão responsável elas podem ser para ajudar a atingir os objetivos-chave (melhorar o custo total, liderar em produtos ou fidelizar clientes). Importante que haja o planejamento financeiro para que se busque o crescimento da receita, de produtividade e/ou de utilização de recursos. Em seguida, deve-se estabelecer a estratégia dos clientes (aquisição e retenção de clientes, aumento da receita por cliente, redução de custo por cliente). Sem a adoção de

boas estratégias internas, não se conseguirá alcançar os objetivos financeiros e os relacionados aos clientes da melhor maneira. Ainda, é interessante estabelecer como transformar tudo isso em aprendizado e crescimento. Em geral, essas estratégias são definidas a partir de três principais áreas: capital humano, capital organizacional e capital de informação. O mapa estratégico é uma ferramenta indispensável na passagem da fase de planejamento para a de execução dos projetos estratégicos. Ao elaborá-lo de maneira clara e objetiva, o laboratório estará dando um grande passo para colher bons frutos. O mapa estratégico coloca sobre quatro perspectivas os objetivos gerais do laboratório e ilustra como a contribuição de cada área e/ou indivíduo influenciará no resultado final. Os quatro pilares – financeiro, clientes, processos internos e aprendizado/crescimento. Esses pontos precisam estar permanentemente em equilíbrio em uma relação de causa-efeito, sendo esses agrupadores de objetivos, indicadores/metast e iniciativas.

As estratégias são planos que a alta administração do laboratório tem para alcançar resultados mais efetivos para o cumprimento de sua missão e seus objetivos gerais, que envolvem o desenvolvimento de uma postura organizacional, baseada em análises dos ambientes internos e externos. Elas devem ser compreendidas como um processo complexo e podem ter cinco definições:

- Plano: a estratégia é uma diretriz para que algo seja realizado;
- Pretexto: a estratégia é uma manobra para competir com os concorrentes;
- Padrão: a estratégia é realizada por convenção ou força cultural estabelecida;
- Posição: a estratégia visa a se posicionar de alguma maneira perante os mais diversos públicos;
- Perspectiva: a estratégia levanta as intenções coletivas sobre o comportamento de determinados públicos para compreender as melhores decisões que podem ser tomadas.

Vale ressaltar que as estratégias são embasadas em dados, sendo esta uma das premissas da inteligência do negócio.

O posicionamento estratégico é a forma como uma empresa deve atuar para agregar vantagem competitiva. Para isso, o quadro dirigente do laboratório deve ter uma visão ampla dos recursos existentes, dos seus públicos e do cenário em que está inserido. Compreender isso também é necessário para fazer ajustes pontuais, de modo que os resultados sejam ainda mais positivos. Assim, os executivos podem assumir uma das posições estratégicas: estratégias desenvolvidas na base do preço, na diferenciação competitiva ou no benefício oferecido (nessas situações, a gestão de marcas é feita com foco nos resultados que os clientes terão quando usarem determinado produto ou serviço).

PLANEJAMENTO E MUDANÇAS

As mudanças podem ser incrementais (com a implementação de pequenas melhorias), como ao melhorar processos internos, ampliar a participação no mercado laboratorial regional, aumentar sua produtividade, gerar melhores resultados financeiros e melhorar as negociações com as fontes pagadoras. Podem ser transformadoras, como uso da inteligência artificial dentro do negócio, alterar a forma como os clientes veem a empresa e focar em um nicho de mercado. Outras podem trazer uma evolução para o negócio, como criar novas unidades de negócio, gerar melhores condições de trabalho para os colaboradores, investir nas boas práticas de patologia clínica, estabelecer uma política de valorização e

retenção de talentos. Mudanças revolucionárias ocorrem com novas propostas e estratégias, por exemplo, uma parceria com um grande laboratório, uma inovação disruptiva, um novo modelo de gestão introduzido ou um novo mercado de atuação.

O objeto das mudanças é geralmente identificado em quatro áreas que afetam qualquer organização: tarefas individuais, processos organizacionais, direção estratégica e cultura organizacional. As mudanças nas tarefas individuais poderiam ser localizadas na maneiras de realizar o trabalho, na natureza dos materiais e recursos utilizados, na natureza da tecnologia e do processo de trabalho, nas práticas de segurança, nas normas operacionais com o padrão de qualidade esperado e na colocação de indivíduos em tarefas específicas. Modificações no processo organizacional podem se referir à estrutura da organização e atribuições de responsabilidades, aos níveis de supervisão, ao tamanho e à natureza das equipes de trabalho, às condições de trabalho e à disposição das áreas de trabalho, à autoridade e responsabilidade outorgada a cada funcionário. Mudanças de direção estratégica podem afetar a filosofia, a missão e os objetivos da organização, servindo como diretrizes para a tomada de decisões.

A cultura organizacional representa um conjunto de valores e crenças compartilhadas que influenciam a vida organizacional e sua maneira de ser. Determina todas as formas de interações internas e grande parte do comportamento organizacional em relação às interações com o meio ambiente. Pelo fato de ser o resultado de um processo longo de existência de uma organização, quanto mais antiga a organização, mais forte é sua cultura. Nesse sentido, um processo de mudança pode ser longo e doloroso.

A gestão de mudanças está vinculada às inovações dentro do laboratório clínico, cujo foco é a necessidade de constante adaptação em uma abordagem para gerenciar as transições do negócio diante de decisões de grande impacto, como a reorientação da utilização de recursos estratégicos, a elaboração de novos processos operacionais e a modificação das dotações orçamentárias. Formular um plano estratégico de mudança envolve determinar cursos de ação apropriados para alcançar os objetivos estabelecidos para a mudança organizacional. Isso inclui atividades, como análise, planejamento e seleção de estratégias que aumentem as chances dos objetivos a serem alcançados. Além das estratégias, os gerentes devem definir os próprios métodos de mudança como parte do plano.

São consideradas possíveis restrições para selecionar estratégias de remodelações: características do que deve ser mudado, disponibilidade de recursos, atitude da direção diante do risco de qualquer mudança, capacidades organizacionais para introduzir e sustentar o processo de mudança. As alternativas estratégicas devem ser aceitas à medida que atendam aos seguintes critérios: correspondam ao ambiente externo predominante, envolvam uma vantagem competitiva sustentável, sejam consistentes com outras estratégias do laboratório, forneçam uma flexibilidade adequada para a empresa, sejam compatíveis com a missão e com os objetivos organizacionais estabelecidos, sejam viáveis (sob o ponto de vista técnico e organizacional) e factíveis (sob o ponto de vista dos recursos disponíveis).

Há dois componentes muito importantes para uma empresa inovar e mudar: uma liderança que perceba o momento de mudar, que saiba mobilizar a empresa para mudar, e os mecanismos de gestão.

Se o laboratório tem mecanismos de gestão que viabilizam o processo de inovação, ele será uma empresa inovadora. Então, estruturar o laboratório para inovar significa desenvolver lideranças que acreditem e façam isso, criando mecanismos de gestão que reforcem

uma cultura de inovação e mudanças, já que a cultura deve compatibilizar o discurso com a prática. Determinam o processo de mudanças:

- Senso de urgência: se as pessoas não tiverem o senso de urgência para mudar, não há mudança. Ou existe um senso de urgência ou existe um sonho. Só se muda pelo risco ou pelo sonho;
- Construção de uma visão, isto é, saber para onde se vai. Só se muda quando se conhece o novo rumo;
- Coalizões efetuadas;
- Estabelecimento dos novos valores, firmados após a mudança ser implantada.

PLAN-DO-STUDY-ACT (PDSA) E AS MUDANÇAS NO LABORATÓRIO

O desenvolvimento técnico-científico contínuo da atividade médica obriga o laboratório clínico a implantar novas tecnologias e métodos, claramente identificados quanto a sua origem, indicações clínicas, meios necessários, validação, custos e viabilidade operacional.

Em um processo de mudanças, é preciso considerar a etapa de transição, empregando-se outro instrumento de gestão da qualidade, para solucionar desafios futuros: o ciclo do *plan-do-check-act* (PDCA). Na fase *plan*, são estudados os porquês de cada mudança, elaborando-se os planos de ações e cuidando para que os riscos sejam prevenidos e os efeitos colaterais minimizados. Na fase *do*, deve-se sensibilizar e engajar todos para a aplicação dos novos métodos definidos, capacitando-os para alterarem processos, desenvolverem novos produtos/serviços e implantarem novas maneiras de gerenciar, coletando dados sobre o cumprimento dos novos padrões estabelecidos. Na implantação do planejamento, o time deve buscar as metas, etapa a etapa, tomando decisões por consenso e procurando otimizar o trabalho pelo uso de ferramentas. Na etapa *check*, verifica-se se os itens planejados estão sendo cumpridos, medindo os resultados e avaliando a efetividade das ações.

Na fase *study*, o ciclo de planejar-fazer-estudar-agir (PDSA) é um atalho para testar uma mudança, planejando-a, experimentando-a, observando os resultados e agindo sobre o que é aprendido. Este é o método científico usado para a aprendizagem orientada para a ação.

A fase *act*, as ações, dentro das novas diretrizes planejadas, perpetuam-se (quando corretas), ajustes são efetuados ou revisões completas são promovidas, se necessário.

A medida do sucesso de um processo de mudanças baseia-se na declaração e no compartilhamento de visão da mudança, na comunicação efetiva, no comprometimento e nos bons exemplos dados por lideranças inspiradoras, na manutenção do ritmo de transformações propostas, na análise constante do desempenho em cada etapa da jornada, na incorporação das mudanças no cotidiano do laboratório e na celebração dos resultados positivos alcançados.

A capacidade do laboratório clínico de ter hoje um desempenho eficaz depende de decisões que foram tomadas no passado, já que as decisões tomadas hoje, de seguir em uma ou em outra direção, modelam suas opções no futuro.

PLANO DA QUALIDADE

Um plano de qualidade é um documento, ou vários documentos, que, juntos, especificam padrões, práticas, recursos, especificações e a sequência de atividades relevantes para um produto, serviço, projeto ou contrato específico. Estes resultam das políticas estratégicas de qualidade implantadas (que estão vinculadas aos planos estratégicos institucionais) e dos

regulamentos legais específicos, padrões do setor, políticas e procedimentos da organização, diretrizes internas e boas práticas necessárias para atender aos requisitos de produtos ou serviços dos clientes. Esses planos têm múltiplos usos: garantir a conformidade com os requisitos do cliente, assegurar a conformidade com padrões e procedimentos externos e internos, facilitar a investigação da rastreabilidade, fornecer evidências objetivas e uma base para o treinamento, juntamente com vários planos para os produtos, serviços e projetos do laboratório e auxiliar na avaliação da eficácia e da eficiência do sistema de gestão da qualidade (SGQ). Os planos de qualidade devem ser integrados aos planos estratégicos gerais da organização. À medida que os objetivos e planos são implantados em toda a organização, cada função cria sua melhor maneira de contribuir para as metas e os objetivos de nível superior.

Os planos da qualidade iniciam-se na definição do desenho do processo, suas especificações, pontos de verificação, controle e registros, de modo a atender aos requisitos da norma de referência adotada e às necessidades dos diversos clientes do laboratório clínico. Tais atividades levam em consideração o estabelecimento e a formalização de rotinas e procedimentos técnicos consistentes com a política e as diretrizes do SGQ; o volume da produção realizada; a identificação de processos e métodos de controle dos equipamentos para obtenção dos níveis de qualidade estabelecidos, bem como de todo treinamento e capacitação de profissionais que os operacionalizam; a atualização, quando aplicável, das técnicas e dos controles correspondentes; a identificação dos pontos de verificação, durante a realização das diversas atividades; o estabelecimento de critérios de aceitação para os diversos processos envolvidos na prestação dos serviços; a necessidade e implementação de registros do SGQ; os riscos identificados em cada processo e no negócio. Recomenda-se que os planos de qualidade definam:

- Objetivos a serem atingidos, como características ou especificações, uniformidade, eficácia, estética, tempo de ciclo, custo, recursos naturais, utilização, rendimento, confiabilidade etc.;
- Etapas nos processos que constituem a prática ou os procedimentos operacionais da organização;
- Alocação de responsabilidades, autoridade e recursos durante as diferentes fases do processo ou projeto;
- Normas, práticas, procedimentos e instruções documentadas específicas a serem aplicados;
- Programas adequados de teste, inspeção, exame e auditoria em estágios apropriados;
- Um método para medir a consecução dos objetivos da qualidade.

Um planejamento bem desenvolvido traz bons acontecimentos, resultados positivos e mudanças inovadoras para o futuro.

INDICADORES DE DESEMPENHO

São métricas que quantificam o desempenho de processos do laboratório de acordo com seus objetivos organizacionais, que agem como instrumentos de gestão essenciais para medir o resultado de uma empresa. Com eles, é possível acompanhar se metas traçadas estão sendo alcançadas. O conjunto de indicadores permite a identificação dos motivos pelos quais os objetivos não estão sendo alcançados, quais são as oportunidades de melhorias e aprimoram a tomada de decisão com alta precisão. Sua aplicação na gestão apresenta as seguintes vantagens:

- Aumentam a assertividade da tomada de decisão;
- Oferecem mais segurança para o negócio;
- Permitem aproveitar novas oportunidades (de investimentos, atuação, mudanças etc.);
- Melhoram o controle sobre resultados;
- Favorecem a motivação.

ANÁLISE CRÍTICA DO DESEMPENHO

A gestão laboratorial tem como uma das suas mais importantes etapas a análise crítica do desempenho organizacional, pois requer uma avaliação criteriosa dos indicadores identificados para monitorar as metas estabelecidas para aquele período, identificando *gaps* e problemas, e apontando novos caminhos. Uma avaliação incompleta ou incorreta traz sérios prejuízos ao desenvolvimento do negócio. Sua importância é evidenciada pela necessidade prática de demonstrar a passagem do discurso para a ação, mostrando a medida do desempenho, o cumprimento das metas e o posicionamento em relação ao alcance dos objetivos estratégicos. Efetuá-la é responsabilidade da direção e das lideranças que têm a capacidade de identificar adversidades, ameaças e pontos fracos, já que contribuíram para a evolução do que foi planejado e são conhecedores dos fatores mais relevantes que influenciaram o resultado atingido, estando aptos a propor soluções.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

ALDAY HEC. O planejamento estratégico dentro do conceito de administração estratégica. Rev FAE. 2000;3(2):9-16.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 15189:2015. Laboratórios clínicos – requisitos de qualidade e competência. São Paulo: ABNT; 2015.

CHIAVENATO I, SAPIRO A. Planejamento estratégico. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.

CLSI. Quality management system: development and management of laboratory documents. CLSI document QMS02-A6. 6. ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). Laboratory general checklist. CAP accreditation program 2019. Disponível em: <<https://www.cap.org/laboratory-improvement/accreditation/accreditation-checklists>>. Acesso em: 18 maio 2020.

GARTNER MT, SÁNCHEZ PB. Gestão do negócio. In: Mendes ME, Gartner MT, Sumita NM, Sánchez PB. Gestão por processos no laboratório clínico: uma abordagem prática. São Paulo: EPR; 2006. p. 77-87.

MENDES ME. Laboratório e gestão. In: Mendes ME, Gartner MT, Sumita NM, Sánchez PB. Gestão por processos no laboratório clínico: uma abordagem prática. São Paulo: EPR; 2006. p. 11-26.

MOYSÉS FILHO J, KESTELMAN HN, BECKER JUNIOR LC, ET AL. Planejamento e gestão estratégica em organizações de saúde. Rio de Janeiro: FGV; 2010.

REZENDE DA. Planejamento estratégico para organizações públicas e privadas: guia prático para elaboração de projeto de plano de negócios. Rio de Janeiro: Brasport; 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC), versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 18 maio 2020.

TACHIZAWA T, RESENDE W. Estratégia empresarial: tendências e desafios. São Paulo: Makron Books; 2000.

WRIGHT P, KROLL MJ, PARNELL J. Administração estratégica: conceitos. São Paulo: Atlas; 2000.

3 Como definir e acompanhar os indicadores laboratoriais

César Alex de Oliveira Galoro, Fernando de Almeida Berlitz, Luiza Bottino Grangeiro Balli, Wilson Shcolnik

INTRODUÇÃO

A qualidade total sempre foi uma busca constante nos laboratórios clínicos, a fim de atender às constantes mudanças da prática médica e à implantação de novas metodologias.¹ O foco inicial na garantia da qualidade da fase analítica difundiu o uso de indicadores do controle de qualidade interno (CQI) e da avaliação externa da qualidade (AEQ), porém propiciou que as fases pré e pós-analíticas permanecessem extremamente vulneráveis.²

Para melhorar a qualidade dos laboratórios clínicos, torna-se necessário um conhecimento mais profundo das fragilidades de cada etapa do processo laboratorial, com a classificação dos riscos e dos desafios que precisam ser tratados.³

Para isso, a International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) lançou um grupo de trabalho denominado *Laboratory Errors and Patient Safety* (WG-LEPS), com a missão de estimular estudos sobre o tema, coletar dados disponíveis e recomendar estratégias e procedimentos para melhorar a segurança do paciente. Seu objetivo é identificar uma lista de indicadores de qualidade (IQ) mensuráveis e relacionados às especificações da qualidade, para promover a redução de erros no processo laboratorial e contribuir para a qualidade dos serviços laboratoriais e segurança dos pacientes.⁴

Da mesma maneira, a norma ISO 15189:2012, uma referência para a acreditação de laboratórios clínicos, dispõe que “o laboratório deve estabelecer indicadores para monitorar e avaliar o desempenho ao longo de todas as etapas do processo laboratorial (pré-analítica, analítica e pós-analítica)”⁵

No Brasil, foi lançado em 2006, o Programa de *Benchmarking* de Indicadores Laboratoriais (PBIL), organizado pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e pela Controllab, empresa brasileira que presta serviços de controle de qualidade para laboratórios clínicos em diversos países.⁶ Atualmente, o programa conta com mais de 250 laboratórios participantes, sendo alguns de outros países, como Portugal, Angola, Argentina, Bolívia, Equador, México, Chile, Honduras, Peru e Uruguai.

Uma tendência que mereceu ampla discussão ao longo das últimas décadas foi a competição baseada em valor, proposta por Porter e Teisberg (2006), na qual foram valorizados os desfechos, definidos como “resultados em saúde que importam para a condição do paciente ao longo do ciclo de atendimento”. Tal competição, baseada em resultados, representa um forte estímulo para a adoção das práticas de medição de indicadores de desempenho e *benchmarking*.⁷

Entretanto, apesar das exigências das normas de qualidade, da existência de uma lista já conhecida de indicadores laboratoriais para todas as fases do processo laboratorial e do conhecimento da fragilidade das etapas extra-analíticas, mais sujeitas a erros que a fase analítica, pouco foco é dado ao monitoramento e às tratativas das falhas demonstradas por esses indicadores.⁸

Assim, considerando-se que o uso de IQ é imprescindível para a avaliação de desempenho do processo total e que não há documentos de consenso das etapas para a implantação desses indicadores nas fases extra-analíticas, propôs-se uma lista de atividades para sua implantação, conforme mostrado a seguir.⁸

INDICADORES NO LABORATÓRIO

Indicadores adequadamente estruturados no laboratório permitem a tomada de decisão baseada em dados reais⁹ e estimulam os responsáveis pelos processos a terem uma visão ampliada dos resultados alcançados. A tomada de decisão baseada nesse cenário contribui para a melhoria dos processos.

Os passos enumerados a seguir colaboram para uma implantação que estruture adequadamente os indicadores que serão monitorados no laboratório:⁸

1. Selecione os IQ de acordo com as necessidades de sua instituição, considerando seu ambiente de atuação, sua clientela, sua estratégia, os pontos de melhoria prioritários e as maiores fragilidades do processo e os riscos à segurança dos pacientes;
2. Tente padronizar e automatizar a coleta de dados dos IQ escolhidos diretamente de seu sistema de informação laboratorial (SIL). Caso não seja possível, considere o uso de *softwares* que tenham essa funcionalidade;
3. Defina a responsabilidade dos membros da equipe para a coleta e a avaliação dos IQ;
4. Implante um sistema de documentação ou utilize um *software* que permita a avaliação dos resultados dos IQ;
5. Defina os limites de aceitabilidade dos resultados de cada IQ. Recomenda-se utilizar os dados obtidos de programas de *benchmarking* para garantir que as metas definidas estejam sempre atualizadas e alinhadas aos objetivos do mercado;
6. Defina a periodicidade para avaliação dos IQ, que deve estar alinhada ao tempo necessário para a tomada de ação, de acordo com a sua criticidade e a necessidade de correção, sem impacto ao negócio e ao cliente;
7. A avaliação dos resultados dos IQ deve incluir:
 - » Análise das violações dos limites de aceitabilidade;
 - » Tendências nos resultados, mesmo que ainda estejam dentro dos limites;
 - » Comparação dos resultados com referências nacionais e internacionais.
8. Os IQ com resultados inadequados, diante da avaliação realizada, devem ser devidamente tratados, com abertura de não conformidade e planos de ação, acompanhados pelo sistema de gestão de qualidade, a fim de garantir as suas implantações e efetividade.

Para a escolha dos IQ, sugere-se uma lista que seja ampla o suficiente, para avaliação dos pontos críticos de cada uma das etapas do processo laboratorial, e restrita o suficiente, que permita seu acompanhamento com os recursos disponíveis na instituição, incluindo o levantamento dos dados, a análise dos resultados e a implantação de melhorias. Para au-

xiliar na identificação dos processos mais sensíveis e que requerem um acompanhamento imediato com uso de indicadores, pode-se utilizar as matrizes de priorização, como a matriz GUT, que leva em consideração os critérios gravidade, urgência e tendência de todas as fragilidades identificadas para classificá-las.¹⁰

Existem muitas sugestões de indicadores de desempenho para atender ao escopo integral do processo do laboratório clínico. Essas sugestões são geralmente resultado de uma revisão de literatura médica ou baseadas em melhores práticas do mercado de medicina laboratorial. Tsai e colaboradores (2019) demonstram o uso de algoritmos de seleção de indicadores de desempenho a partir da revisão de literatura em medicina laboratorial.¹¹ Para fins de monitoramento de desempenho, os laboratórios clínicos podem ser vistos como uma associação de processos de produção para prestação de serviços, isso permite que os indicadores, tradicionalmente utilizados em outros mercados, possam ser adaptados para utilização no ambiente laboratorial.

Azadmanjir e colaboradores (2015) recomendam que os gestores de laboratórios clínicos usem ferramentas de *business intelligence* (BI), com painéis de informações (*dashboards*) que fornecem um ambiente adequado à tomada de decisão inteligente e à resolução de problemas. Esse *dashboard* de informações permitirá que os gestores monitorem o desempenho do laboratório clínico por meio de indicadores-chave de desempenho e identifiquem as causas dos problemas, como aumento de custos, aumento do tempo de resposta, entre outros.¹²

PROGRAMAS DE INDICADORES LABORATORIAIS

O programa de indicadores do WG-LEPS tem 27 indicadores, com 53 variáveis medidas.⁴ O PBIL contém, além dos indicadores do WG-LEPS, indicadores demográficos, para a gestão de recursos e a gestão organizacional, que permitem a obtenção de mais detalhes sobre o processo laboratorial e suas falhas. O College of American Pathologists (CAP) utiliza sete indicadores básicos, que compreendem as fases extra-analíticas do processo laboratorial.¹³

Para facilitar a obtenção desses dados, o PBIL permite a integração com o SIL de diferentes desenvolvedores do mercado brasileiro e internacional. A tecnologia utilizada para realizar a integração com o PBIL é simples de implementar, pois é de utilização rotineira nas soluções de integração laboratorial. A integração ocorre por meio de um serviço *representational state transfer* (REST) e as mensagens estruturadas em JSON ou XML são trocadas entre os sistemas.

A ferramenta desenvolvida permite que, de maneira parcial ou total, os mais de 300 dados necessários para o cálculo de mais de 150 indicadores disponíveis no programa e harmonizados internacionalmente sejam enviados por interface ao sistema utilizado pelo PBIL da SBPC/ML – Controllab. Essa ação possibilita que o laboratório deixe de enviar os dados de forma manual e passe apenas a acompanhar o desempenho dos seus indicadores pelo sistema do PBIL ou até mesmo pelo BI do próprio *software*, com a possibilidade de comparação assegurada (*benchmarking*).

O envio dos dados automatizados é realizado dentro do ciclo do PBIL, fazendo com que algumas etapas não sejam, necessariamente, executadas de forma manual pelo usuário. As principais etapas suprimidas pela automação são a de “configuração” e “entrada de

dados”, antes necessárias para que o usuário selecionasse os dados a serem enviados ao PBIL e, em seguida, reportasse de forma manual cada um dos valores mensais obtidos. Com a integração dos sistemas, a empresa desenvolvedora de SIL é que seleciona quais dados estão disponíveis em seu sistema, para serem enviados ao PBIL. O ciclo resumido de funcionamento do PBIL da SBPC/ML – Controllab pode ser observado na Figura 1.

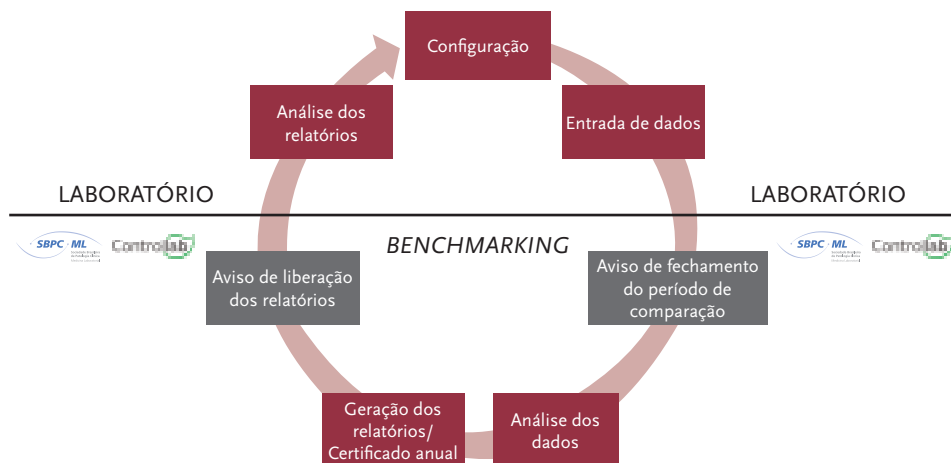


FIGURA 1 Ciclo resumido de funcionamento do Programa de *Benchmarking* de Indicadores Laboratoriais da SBPC/ML – Controllab.

Fonte: adaptada de Controllab.

Após a realização das análises estatísticas e a liberação dos indicadores e informações de *benchmarking*, o sistema do PBIL da SBPC/ML – Controllab também possibilita o retorno de informações para o SIL, proporcionando, além de comparação do desempenho do laboratório frente a outros laboratórios e importantes informações mercadológicas.

CONCLUSÃO

Nas últimas décadas, os laboratórios clínicos tiveram muitos avanços que permitiram a implantação de muitos novos exames e aumentaram sua importância na gestão da saúde. A maior complexidade de seus processos exigiu também maior empenho na gestão da qualidade e implantação de mecanismos de controle que garantissem a segurança dos pacientes.

Durante a evolução dos sistemas de gestão da qualidade, o foco inicial foi prioritário na fase analítica, em detrimento das fases extra-analíticas, fazendo com que estas se tornassem as principais fontes de erros laboratoriais.

Para a gestão da qualidade de todas as fases do processo laboratorial, propõe-se o uso de IQ já definidos e harmonizados internacionalmente. Para que o seu uso seja efetivo, deve-se estabelecer um processo de medição, análise de resultados e implantação de melhorias, do mesmo modo com que se trata os indicadores da fase analítica.

REFERÊNCIAS

1. PLEBANI M. The changing face of clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med.* 1999;37(7):711-7.
2. AITA A, SCIACOVELLI L, PLEBANI M. The silk road to total quality in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57(6):769-72.
3. AITA A, SCIACOVELLI L, PLEBANI M. Extra-analytical quality indicators – where to now? *Clin Chem Lab Med.* 2019;57(1):127-33.
4. SCIACOVELLI L, PANTEGHINI M, LIPPI G, ET AL. Defining a roadmap for harmonizing quality indicators in Laboratory Medicine: A consensus statement on behalf of the IFCC Working Group “Laboratory Error and Patient Safety” and EFLM Task and Finish Group “performance specifications for the extra-analytic. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(10):1478-88.
5. PEREIRA P. ISO 15189:2012 Medical laboratories – requirements for quality and competence. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/56115.html>>. Acesso em: 10 maio 2020.
6. SHCOLNIK W, DE OLIVEIRA CA, DE SÃO JOSÉ AS, ET AL. Brazilian laboratory indicators program. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(11):1923-34.
7. PORTER ME, TEISBERG EO. *Redefining health care: creating value-based competition on results.* Boston: Harvard Business School; 2006.
8. CADAMURO J, GAKSCH M, MRAZEK C, ET AL. How do we use the data from pre-analytical quality indicators and how should we? *J Lab Precis Med.* 2018;3:40.
9. OLIVEIRA CA, MENDES ME. Gestão da fase analítica do laboratório como assegurar a qualidade na prática. Disponível em: <www.controllab.com.br>. Acesso em: 10 maio 2020.
10. SIDNEY KMM. *Riscos potenciais do processo medicamentoso clínico em unidade de terapia intensiva.* Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2018. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/34777>>. Acesso em: 10 maio 2020.
11. TSAI ER, TINTU AN, DEMIRTAS D, ET AL. A critical review of laboratory performance indicators. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2019;56(7):458-71.
12. AZADMANJIR Z, TORABI M, SAFDARI R, ET AL. A map for clinical laboratories management indicators in the intelligent dashboard. *Acta Inform Med.* 2015;23(4):210-4.
13. MEIER FA, BADRICK TC, SIKARIS KA. What’s to be done about laboratory quality? Process indicators, laboratory stewardship, the outcomes problem, risk assessment, and economic value responding to contemporary global challenges. *Am J Clin Pathol.* 2018;149(3):186-96.

4 Sistematização para a implantação de ações corretivas e preventivas

Maria Elizabete Mendes, Claudia Diório Uliani,
Nairo Massakazu Sumita

A EXCELÊNCIA DO desempenho e o sucesso do laboratório exigem uma interação de processos e de ações. Para atingir bons resultados, é necessário identificar e resolver gargalos ou detectar e implantar oportunidades de melhorias (OM).

A ação preventiva (AP) é aquela implantada para eliminar as causas-raízes de uma não conformidade (NC) potencial. É considerada uma ação proativa, representa uma OM para o sistema de gestão da qualidade (SGQ). Uma iniciativa de melhoria é bem-sucedida quando o laboratório a integra na sua rotina e a sustenta ao longo do tempo, demonstrando a sua efetividade. Melhorar processos é uma ação básica para os laboratórios responderem às mudanças que ocorrem constantemente no seu ambiente de atuação e manterem o sistema produtivo competitivo.

Melhoria contínua (*kaizen*) corresponde à prática que visa a tornar gradativamente os resultados melhores, mais eficientes e eficazes, sejam eles sob a forma de produtos, processos ou serviços. É uma das ferramentas da *lean manufacturing* (melhorar todas as partes de uma empresa através da padronização dos processos de produção). Trata-se de um processo cíclico, sem fim, porque se considera que sempre há novas OM para serem identificadas e colocadas em prática. Tem como princípios fundamentais a padronização dos processos de produção, a busca por medidas para conter e corrigir as causas dos problemas (e não apenas suas consequências) e a análise de dados para fazer uma gestão baseada em fatos. O *kaizen* tem como objetivo de gerar melhorias, resultante de esforços contínuos e coordenados.

Segundo Ohno (1997), não há melhoria sem padronização, já que, por meio dela, pode haver medidas que permitam a análise e o monitoramento para eliminar desperdícios, estabilizar a produção e identificar melhorias. A busca de melhores resultados na produção, do aperfeiçoamento da qualidade e da utilização racional dos recursos disponíveis é essencial para alcançar a competitividade no mercado laboratorial. As principais preocupações são melhorar a qualidade dos produtos e serviços em benefício dos clientes, reduzir custos de operação e produção, dar flexibilidade ao sistema produtivo e evitar perdas. Uma vez que a prioridade de melhorar tenha sido determinada, uma operação precisa considerar a abordagem ou a estratégia que se deseja usar para executar o processo de aprimoramento e desenvolvimento de uma solução. Os projetos de melhoria demandam uma análise da condição vigente, do estado desejado, das etapas para alcançar essa nova situação almejada, o monitoramento de dados e os resultados.

Mecanismos para avaliar os riscos e as oportunidades no laboratório clínico ajudam a prevenir crises e problemas. A mentalidade de riscos facilita a identificação de vulnerabi-

lidades e de forças do laboratório, contribuindo para a prevenção de uma forma proativa, eliminando-se a instalação de eventuais perigos e danos ao negócio e ao paciente. Há instrumentos para avaliar riscos, como *Failure Modes and Effects Analysis* (FMEA), *Failure Reporting, Analysis, and Corrective Action System* (FRACAS), entre outros, que propiciam coibir, reduzir e prevenir efeitos negativos e reforçar os pontos fortes.

O evento não conforme é algo que está em desacordo com especificações definidas em requisitos legais, regulamentares, de credenciamento ou com as políticas, os processos ou procedimentos aprovados pelo laboratório. Trata-se de um desvio no processo laboratorial, em qualquer uma de suas fases, indicando que algo não funciona como o esperado e tem alta probabilidade de reincidência. As NC recorrentes desperdiçam os fundos operacionais limitados do laboratório, em repetidas investigações e resoluções, expõem a organização a riscos indesejáveis, depreciam o valor da marca e podem afetar o relacionamento com os clientes. Acidentes ou erros são eventos não conformes e são consequências de barreiras, que, alinhadas, falharam, estudados como o modelo do queijo suíço de Reason. Os erros são modelados e provocados em uma cadeia de causas, na qual os fatores psicológicos precipitantes costumam ser os últimos e os seus elos menos gerenciáveis. Ha alguns cenários diante da constatação de uma NC: corrigir, impedir a utilização do produto (segregação) ou permitir usar/liberar dentro de determinadas condições (aprovação condicional).

Parte da missão de entender o que aconteceu consiste em aceitar a NC, focando em solucioná-la para tornar o SGQ mais robusto, confiável e portador de maior credibilidade. A negação é um mecanismo de defesa que se refere a um processo pelo qual o colaborador e/ou a liderança do laboratório, de alguma maneira, não querem tomar conhecimento da NC, seja por negligência, ignorância, imprudência, falta de intenção, mecanismo de defesa, acomodação, medo de punição ou mesmo por receio infundado de encarar o assunto e ter que mudar o *status quo*.

Diante de um problema ou NC, o modo mais racional, oportuno e eficaz é aceitar o erro, investigar as suas causas, solucioná-lo e impedir a sua recorrência. Para isso, há necessidade da liderança exemplificar, encorajando os registros dos eventos não conformes, estimulando um comportamento investigativo para essas situações, na busca de resoluções de uma maneira sistematizada. Dentro de uma cultura justa, na qual se identifica e aborda de maneira sistêmica os problemas que levam os indivíduos a se envolver em comportamentos inseguros, mantendo-se a responsabilidade individual e estabelecendo-se tolerância zero para o comportamento imprudente.

O laboratório clínico que enfrenta o desafio de corrigir eventuais erros cometidos, em uma abordagem analítica, usando metodologia científica, de maneira organizada e buscando melhoria continuamente, facilita o registro dessas ocorrências, aprende com o seu histórico e envolve os responsáveis, promovendo a interação entre as partes relacionadas às NC, em uma abordagem sistêmica, com visão processual para a gestão, baseada em fatos. Assim, esse estudo agrega valor aos serviços que o laboratório presta e os envolvidos crescem nesse processo de investigação e solução de problemas.

A direção do serviço laboratorial, que busca o aperfeiçoamento do seu SGQ, analisa a riqueza de informações descobertas a partir das tendências observadas e trabalha na remoção das causas geradoras, por meio de inovações, remodelações e ajustes no processo laboratorial, visando a eliminar de modo eficaz os desvios detectados e evitar a sua repetição.

A sistematização das ações corretivas e preventivas passa pela elaboração de políticas e procedimentos, descrevendo como será feita a gestão da NC, das reclamações de clientes relativas ao processo laboratorial e aos serviços ofertados, além das ações de melhoria e prevenção. Ela deve estabelecer o sistema de notificação de OM, incidentes, *near miss*, eventos adversos, bem como o controle de incidentes com danos graves.

As normatizações internacionais contribuem para o SGQ. A NBR ISO 9001:2018 define o modelo de qualidade para qualquer negócio, baseando-se na gestão por processos. A NBR ISO 15189:2015 define padrões para a gestão da qualidade e operação técnica no ambiente dos laboratórios clínicos. Em um processo de melhoria contínua, deve-se, ainda, identificar oportunidades de reduzir ou eliminar riscos e melhorar a segurança do paciente. Criar registros de eventos não conformes e de ações preventivas é requisito regulatório e de acreditação. O documento do CLSI QMS11 ED2:2015; os padrões do programa de acreditação do College of American Pathologists (CAP) e a norma PALC 2016 requerem documento descrevendo o sistema de registro, análise crítica e avaliação da efetividade das ações corretivas para NC e reclamações de clientes, com evidências que apoiem a investigação da causa-raiz e da subsequente correção. Além das conclusões e da análise da sua efetividade. Do mesmo modo, determinam que o SGQ deva contemplar a identificação de fontes potenciais de NC e utilizá-las como OM de maneira sistematizada e documentada.

Um programa de gerenciamento eficaz desses eventos (NC e OM), inclui: a avaliação da extensão dos eventuais riscos decorrentes do não cumprimento de leis, regras, políticas ou normas; a identificação e observação de cada NC e OM, desde a sua descoberta até o seu fechamento; um criterioso processo de investigação de NC e OM para esquadriñar suas causas, classificando dados e tendências para o estudo da situação; o preparo dos planos de ações correspondentes; a revisão das informações existentes sobre NC e OM; a comunicação fluente sobre NC e OM e sua averiguação; a busca de correções e de melhorias a partir das informações obtidas no estudo das NC e OM; o monitoramento das ações empreendidas; a avaliação de sua eficácia e uma análise consolidada dos eventos ocorridos no decorrer do tempo (mês/ano), com os indicadores e a demonstração do tempo de resposta com base na criticidade das ações. Esse planejamento também deve contemplar o recebimento e como será o *feedback* para as reclamações, as sugestões e os elogios feitos pelos clientes do laboratório.

A gestão de eventos não conformes (GENC) e de OM é um dos pontos essenciais de um SGQ, pois relaciona qualidade, gestão de riscos e segurança do paciente. Do ponto de vista da qualidade, o laboratório estabelece políticas, procedimentos e processos para aplicar requisitos regulatórios, legais ou de acreditação, visando a remover as causas de NC e estimular as melhorias. A GENC e de OM tem potencial para afetar a segurança do paciente, a eficácia e a efetividade das operações laboratoriais porque fornece informações sobre problemas sistêmicos do serviço, que podem representar danos de ordem legal ou financeira quando não tratados adequadamente. Fazem parte desse gerenciamento, os eventos denominados *near miss*, definidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um incidente que, por algum motivo, planejado ou pelo acaso, foi interceptado antes de atingir o paciente e poderia ou não causar danos. A gestão de OM bem-feita propicia o aumento de produtividade, a redução de desperdícios, a satisfação dos clientes e maior cooperação dos colaboradores.

ESTIMULANDO A CULTURA PARA DESCOBRIR E NOTIFICAR NÃO CONFORMIDADES E OPORTUNIDADES DE MELHORIA

Um dos pontos fundamentais do SGQ deve ser a notificação de NC, porque problemas não resolvidos no laboratório clínico costumam recorrer e causar danos ao paciente, assim como o registro de OM, já que problemas potenciais podem converter-se em NC no decorrer do tempo. As organizações, para criarem uma cultura na qual o time reporte os eventos NC e os potenciais problemas, devem promover uma atmosfera de comunicação aberta, não punitiva, educando os seus colaboradores. Nesse contexto, a liderança deve dar apoio, participando desse processo e criando instrumentos facilitadores para os registros dessas notificações (eletronicamente, em papel, com *software* específico), inclusive dos eventos *near miss*, porque eles fornecem uma oportunidade para corrigir um processo antes de haver um desfecho ruim.

Importante esclarecer a todos no laboratório que há várias fontes originadoras de NC. São algumas fontes externas de NC: pesquisa de satisfação de clientes, reclamações de clientes, de provedores de serviço e de fornecedores, não cumprimentos de requisitos regulamentares ou legais, auditorias externas, falhas em ensaios de proficiência, alertas de serviço e *recall* de fornecedores. São exemplos de fontes internas de NC: pesquisa de clima organizacional, reclamações de colaboradores, falhas disciplinares, erros operacionais, revisões efetuadas pela supervisão do setor, auditoria interna, revisão de registros ou de controles, discussão dos indicadores de desempenho, falhas de comunicação ou processuais, erros em qualquer das três fases do ciclo do exame laboratorial.

Entende-se como fontes mais frequentes de OM do SGQ inovações processuais, criação de novas unidades de negócio, auditorias internas ou externas, manifestações de clientes e de fornecedores, sistema efetivo de sugestões dos colaboradores, análise crítica do sistema de indicadores de desempenho, aplicação da ferramenta *benchmarking*, análise de tendências em metodologia estatística e literatura.

Um bom sistema de registro de NC/OM inclui a acessibilidade a todos; o sistema deve possibilitar a classificação dos eventos NC, permitir a identificação e a rastreabilidade de notificações, possibilitar as investigações subsequentes, estabelecendo um plano de ação, definindo prazos para a sua resolução, registrando a evolução das ações implantadas e a avaliação da eficácia.

INVESTIGANDO AS CAUSAS DOS EVENTOS NÃO CONFORMES E DE OPORTUNIDADES DE MELHORIA

Um grupo de trabalho deve ser constituído por colaboradores que tenham experiência no assunto, tenham capacidade de ouvir atentamente, que tenham foco no assunto, sejam flexíveis e comprometidos com o sucesso na realização da ação, capazes de desenvolver e implantar estratégias. Um time de trabalho harmônico agiliza o processo investigativo e de execução dos planos de ações.

Uma pergunta feita da maneira correta pode apontar para a sua própria resposta. Algumas indagações iniciais podem ser direcionadoras para a investigação das NC/OM:

- O que pode dar errado?
- O que pode vir a não funcionar?
- Quais riscos estão ocorrendo?
- Uma ação imediata é necessária?

- Qual a frequência que o evento ocorre?
- Quem tem autoridade para desencadear uma ação corretiva/preventiva?
- Quem precisa saber?

O objetivo da investigação é determinar o que, quem, como e por que as coisas deram ou podem dar errado no processo, de modo a gerar a NC ou uma OM.

CINCO PORQUÊS E COMO?

Na investigação das causas, empregam-se várias ferramentas, uma delas a dos “cinco porquês e como?”, que constitui um processo de questionamento para detalhar o problema em consideração, ou uma solução, e desvendando-se todas as camadas de sintomas, pode-se chegar a um diagnóstico. A metodologia foi originalmente desenvolvida por Sakichi Toyoda, fundador da Toyota, o pai da industrialização no Japão e grande inventor. A sua ideia era obter as causas-raízes, e não os sintomas, para que melhorias, e não apenas correções temporárias, pudessem ser feitas em um sistema. Ao repetir-se o porquê cinco vezes, a natureza do problema, bem como a sua solução, tornar-se-iam mais claras. Os porquês analisam a situação, enquanto as indagações “como?” detalham soluções para o problema. Ambos são projetados para trazerem clareza e refinamento a uma declaração de NC (ou a uma solução em potencial) e chegar à causa-raiz, o que não é fácil. O método não é infalível, mas é um instrumento profundo e útil.

A análise de causa-raiz é uma característica fundamental de sistemas inovadores, porque estimula a criatividade para achar as razões que determinam os fatos de uma maneira ordenada e de consenso, para que sejam implantadas as soluções devidas. Ao cultivar uma postura inquiridora e livre de preconceitos na investigação de NC/OM entre os colaboradores do laboratório clínico, os horizontes ampliam-se, as possibilidades de respostas e as soluções fluirão mais facilmente. No processo de entendimento dos desvios ou de melhorias, há oportunidade de compartilhar com a equipe opiniões, experiências, métodos e alternativas para resolver os problemas. O reforço do trabalho em equipe, o desabrochar de novas lideranças com o seu reconhecimento e a participação efetiva são outros benefícios observados.

Buscar a verdade dos fatos requer o autoconhecimento, essa caminhada possibilita a todos uma elucidação sobre as vulnerabilidades, o nível de confiança que há no negócio, as competências do time e as oportunidades de desenvolvimento.

Outra oportunidade que emerge no processo investigativo é o teste da capacidade de implantação das proposições, pela equipe na prática operacional, repercutindo na produtividade, na segurança do trabalhador, na eficiência, na lucratividade, na satisfação dos clientes e nos relacionamentos das interfaces processuais.

As correções eficazes propiciam o orgulho, o sentimento do dever cumprido e direcionam a equipe para atuar de maneira preventiva dentro das melhores práticas, passando a enxergar as NC como oportunidades de crescimento e aprendizado, ao invés de desprestígio, desvalorização e frustração.

USO DO DIAGRAMA DE ISHIKAWA OU DIAGRAMA DE CAUSA E EFEITO OU DIAGRAMA ESPINHA DE PEIXE

Foi idealizado por Kaoru Ishikawa levando em conta todos os aspectos que podem ter propiciado a ocorrência do problema, para que as chances de que algum detalhe seja esquecido diminuam consideravelmente. É uma ferramenta da qualidade que ajuda a levanta-

tar as causas-raízes de um problema, analisando todos os fatores que envolvem a execução do processo. Na metodologia, todo problema tem causas específicas, as quais devem ser analisadas e testadas, uma a uma, a fim de comprovar qual delas está realmente causando o efeito (problema ou OM) que se quer eliminar.

O diagrama apresenta visualmente as causas potenciais de um problema e seus efeitos que impactam na qualidade do produto. Tem o formato de espinha de peixe: na cabeça é identificado a NC ou OM, e, nas espinhas vão os agrupamentos, causas ligadas a matéria-prima, mão de obra, máquinas, método de trabalho, meio ambiente e medições (Figura 1).

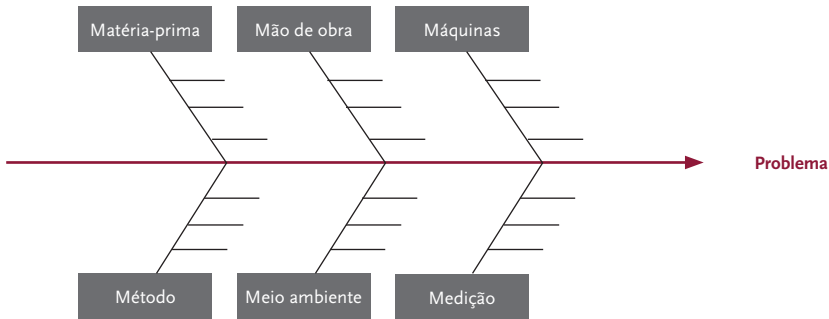


FIGURA 1 Diagrama de Ishikawa.

Fonte: adaptada de Ishikawa, 1993.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS COM AS OITO DISCIPLINAS

A aplicação da resolução de problemas com as oito disciplinas (8D) emprega a análise estatística do processo, ressaltando a importância de determinar as causas-raízes do problema, e enfatiza a sinergia do grupo de trabalho. Indicada para NC graves e complexas, consiste em uma investigação para reunir o máximo de informações possíveis, coletando evidências e dados para que as decisões sejam tomadas com qualidade. Uma de suas finalidades é a correção de problemas de maneira ordenada, racional e disciplinada. Os elementos básicos do método 8D são: identificar o problema e suas consequências; formar e empoderar a equipe; descrição do problema; determinando as causas-raízes; desenvolver ações corretivas, provisórias de curto prazo (incluindo ações imediatas e de contenção), quando permanentes, monitorar a execução e os resultados; verificar a eficácia dessas ações, para evitar recorrências e comemorar o sucesso do projeto. Essa ferramenta relaciona-se com o ciclo do *plan-do-check-act* (PDCA), como explicitado na Tabela 1.

Para ações preventivas, é importante utilizar a ferramenta *poka-yoke*, que são sistemas compostos por técnicas e dispositivos utilizados para prevenir prováveis falhas humanas em um processo produtivo. Fáceis de serem operacionalizados e de baixo custo, esses sistemas são incorporados em um processo para prevenir erros humanos, que eventualmente venham ocorrer. São apresentados de diversas formas e as mais comuns são por meio de sensores/interruptores que acusam os posicionamentos ou atividades que não estão sendo desenvolvidos corretamente, de gabaritos instalados em máquinas, contadores digitais para verificar o número de atividades ou até mesmo por uma simples lista de verificação. Sua eficácia acarreta uma diminuição significativa na taxa de retrabalho, de acidentes de trabalho e na melhoria dos processos produtivos, sempre com foco na eliminação dos erros.

TABELA 1 Correlação entre o PDCA e o método 8D para resolver problemas

PDCA	Metodologia 8D
Planejamento	Identificar o problema e suas consequências
Planejamento	Formar uma equipe
Planejamento	Descrição do problema ou desvio ocorrido, quais foram as variações, que pontos foram afetados, quais parâmetros eram utilizados quando começou a ocorrer o problema
Planejamento	Determinando as causas-raízes: levantadas as informações que levarão as causas básicas de desvio ou erro
<i>Do</i> : execução	Ações imediatas e de contenção: as ações de bloqueio devem ser implementadas uma a uma de maneira ordenada
<i>Do</i> : execução	Ações corretivas: plano de ação e sua implantação
<i>Check</i> : verificação	Monitorar a execução e também os resultados
<i>Act</i> : agir	Verificar a eficácia dessas ações, evitando-se a recorrência e comemorando a conclusão com sucesso

Fonte: adaptada de Zarghami e Benbow, 2017.

EVOLUÇÃO DOS PLANOS DE AÇÕES

O curso do plano de ação em resposta a NC ou a OM depende da gravidade do assunto e do risco que ela causa ao paciente, ao colaborador ou ao negócio. A avaliação dos riscos ajuda a direcionar recursos para onde eles sejam mais efetivos.

O plano de ação é endereçado para o sistema/processo com deficiências com o objetivo de encontrar os modos de reduzir ou eliminar as recorrências da NC ou de evitá-las. A ferramenta 5W2H ajuda na elaboração desses planos. É importante que o grupo de trabalho estabeleça e cumpra um cronograma de atividades, busque os recursos necessários, além de monitorar as ações implantadas, sempre que possível, de maneira objetiva, por meio de indicadores de desempenho. Todas as ações executadas devem ser registradas, comprovadas, apontando-se os responsáveis por elas. Eventuais alterações no plano de ações precisam ser comunicadas e registradas.

AValiação DA EFICÁCIA DO PLANO DE AÇÕES

Uma vez que o plano de ações tenha sido desenvolvido, é necessário fazer a avaliação de sua eficácia. Essa avaliação pode ser feita pelo grupo do escritório da qualidade institucional ou por auditores internos. O grupo de trabalho que resolveu aquela NC ou OM não deve auditar o processo para que haja isenção. Os resultados e suas comprovações serão inspecionados e registrados pelo auditor, que, ao final, elabora um relatório definindo se houve ou não efetividade na resolução da NC ou OM. Se efetiva e demonstrando-se que não houve reincidência, recomenda-se o fechamento da ação corretiva. Caso tendências ou falhas sejam detectadas, então o grupo de trabalho é comunicado e deverá continuar a monitorá-las por um período após essa inspeção, trabalhando até a resolução definitiva

do evento não conforme, com mitigação de riscos, objetivos cumpridos, as principais conquistas obtidas e demonstrando as ações aprendidas.

Desse modo, o grupo pode fechar com o auditor essa ação, considerando-a finalizada de maneira eficaz, e celebrar essa mudança processual bem-sucedida.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

ANDERSEN B, FAGERHAUG T. Root cause analysis: simplified tools and techniques. 2. ed. Milwaukee, WI: ASQ Quality Press; 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 15189:2015. Laboratórios clínicos – requisitos de qualidade e competência. São Paulo: ABNT; 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 9001:2015. Sistemas de gestão da qualidade – requisitos. São Paulo: ABNT; 2015.

CLSI. Nonconforming event management. CLSI guideline QMS 11. 2. ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). CAP accreditation checklist – 2019 edition. Disponível em: <<https://documents.cap.org/documents/2019-CAP-accreditation-checklist-summary.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2020.

ISHIKAWA K. Controle de qualidade total à maneira japonesa. Rio de Janeiro: Campus; 1993.

OHNO T. Sistema Toyota de produção. Além da produção em larga escala. Porto Alegre: Bookman; 1997.

ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO (ONA). Manual brasileiro de acreditação: organizações prestadoras de serviços de saúde. São Paulo: ONA; 2018.

REASON JB. Human error. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1990.

RHAMY J. Error management: an important part of quality control. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (AABB); 1999.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) – versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 10 maio 2020.

ZARGHAMI A, BENBOW D. Introduction to 8D problem solving. The Journal for Quality and Participation (Cincinnati). 2017;40(3):23-8.

5 Como estruturar um sistema eficiente de gestão de equipamentos no laboratório clínico

Maria Elizabete Mendes, Cleber Ribeiro de Jesus,
Lia Marques de Oliveira Lavorato, Vilma Novaes Santana de Souza,
Nairo Massakazu Sumita

INTRODUÇÃO

A relevância dos equipamentos médico-hospitalares na assistência à saúde, na economia e na patologia clínica traduz-se em desafios muito significativos na maneira como a sociedade lida com a introdução, a aquisição e a utilização desses dispositivos.

A medicina laboratorial é uma especialidade complexa, em razão da sua missão de triar patologias, diagnosticar doenças e monitorar tratamentos e auxiliar nos prognósticos e porque demanda o estabelecimento de instalações e equipamentos com gestão específica e ininterrupta. Graves consequências podem ocorrer quando essas condições não são observadas.

Os progressos observados nessas tecnologias médicas promovem o surgimento contínuo de inovações e a criação de novos aparelhos que colocam o funcionamento médico, hospitalar e laboratorial em uma situação de dependência em relação a elas. O impacto na qualidade da assistência médica, a imagem do laboratório e sua participação no mercado são fortemente influenciados pela complexidade dos equipamentos instalados. Esses aspectos, aliados aos custos de aquisição e funcionamento, permitem pensar a gestão de equipamentos com o mesmo grau de relevância da gestão de outros recursos considerados nobres, como as finanças ou as pessoas. O gerenciamento de equipamentos é um processo com múltiplas facetas e atividades que precisa estar integrado aos demais para que o suporte adequado à operação do laboratório ocorra no momento correto e com eficácia.

Promover todas as ações necessárias para que determinado conjunto de máquinas seja conservado ou restaurado é um desafio. A manutenção dos equipamentos da produção é um elemento-chave para a produtividade, a qualidade, a confiabilidade e a eficiência na prestação de serviços laboratoriais.

A contratação de uma equipe de engenharia clínica no quadro funcional dos laboratórios tem se justificado, dada a complexidade do parque tecnológico existente, para que contribua: no planejamento; nos treinamentos de outros profissionais da área, auxiliando na incorporação de novas tecnologias; na aquisição e instalação de equipamentos; e no dimensionamento elétrico e hidráulico do prédio e de áreas físicas dentro do laboratório, avaliando o desempenho de fornecedores críticos alinhado com a política institucional. Esses profissionais devem responder pela gestão dos cuidados ao longo do ciclo de vida da tecnologia, com o envolvimento dos gestores técnicos, devendo estimular e controlar o bom uso dos equipamentos dentro das especificações dos fabricantes e o cumprimento da sua utilização segura, prestando contas à direção do serviço.

Como o laboratório clínico trabalha com medidas precisas, é importante que o serviço de metrologia seja incluído na gestão de equipamentos, visando a planejar, calibrar, monitorar e analisar os equipamentos passíveis de calibração e seu desempenho.

Este capítulo aborda a importância da gestão de equipamentos para o laboratório e como a sua estruturação afeta a efetividade dos serviços, reduzindo riscos e danos. São apresentados alguns conceitos e definições de termos mais empregados. É destacada a relação entre a avaliação de riscos e o planejamento de manutenções e calibrações. O papel do levantamento e do inventário de ativos é discutido como fator de sucesso para a gestão desses bens, ressaltando-se que a melhor postura é ajudar os fornecedores selecionados e qualificados a se desenvolverem continuamente, para que as aquisições ocorram com melhores resultados. Os aspectos metrológicos aplicados ao laboratório são esclarecidos e são feitas algumas recomendações sobre as melhores práticas para calibrações. Completam este capítulo o monitoramento e a análise dos dados com a análise crítica.

CONCEITOS E DEFINIÇÕES

- **Manutenção:** corresponde a um conjunto de medidas necessárias que permitam manter ou restabelecer as condições especificadas dos meios técnicos de um sistema no estado de funcionamento, assegurando a prestação de serviços; ainda, determina e avalia as condições existentes desses meios em dado momento;
- **Avaria:** é compreendida como a perda da capacidade de uma máquina de realizar sua função específica, é sinônimo de falha;
- **Manutenção corretiva:** aquela na qual os consertos e reformas são realizados para restabelecer o funcionamento do equipamento que apresenta falhas decorrentes de desgastes ou deterioração;
- **Manutenção preventiva:** corresponde a um conjunto de métodos preventivos realizados a intervalos predeterminados, de acordo com critérios prescritos, para detectar com antecedência danos ou distúrbios nos equipamentos que estão se desenvolvendo, a fim de reduzir a probabilidade de falha ou deterioração do funcionamento de um item, evitando-se paradas não desejadas;
- **Disponibilidade:** probabilidade que determinado item possa estar disponível para ser utilizado em determinado momento;
- **Tecnologias em saúde:** em 2005, com o estabelecimento da Política Nacional de Gestão de Tecnologias em Saúde (PNGTS), definiu-se que são medicamentos, equipamentos, procedimentos técnicos, sistemas organizacionais, educacionais e de suporte, programas e protocolos assistenciais por meio dos quais a atenção e os cuidados com a saúde são prestados à população;
- **Gestão de equipamentos:** atividades destinadas à gestão do parque tecnológico durante o seu ciclo de vida para uma operação segura, permitindo a continuidade e a qualidade da operação, analisando criticamente o valor agregado ao negócio. Envolve o planejamento, as especificações, a seleção, o recebimento, a etapa de instalação, a capacitação técnica, a validação, a operação, a manutenção e a desativação dos equipamentos de suporte para o cotidiano laboratorial, dentro das especificações dos fabricantes;
- **Gerenciamento de riscos:** aplicação sistemática de políticas, procedimentos e práticas de gerenciamento às tarefas de análise, avaliação, controle e monitoramento de riscos. É um processo que envolve antecipar o que pode dar errado, avaliar a frequência de

ocorrência desses erros, bem como as consequências ou a gravidade dos danos que eles causam e, finalmente, o que pode ser feito para reduzir o risco de possíveis danos a um nível aceitável. O laboratório deve examinar seus processos em busca de pontos fracos ou perigos, nos quais possam ocorrer erros, e tomar medidas para detectá-los e preveni-los antes que afetem os resultados do teste laboratorial;

- Verificação metrológica de equipamentos: fornecimento de evidência objetiva de que um dado item satisfaz aos requisitos especificados;
- Calibração de equipamentos: no sentido metrológico, é a operação que estabelece, sob condições especificadas, em uma primeira etapa, uma relação entre os valores e as incertezas de medição fornecidos por padrões e as indicações correspondentes às incertezas associadas; em uma segunda etapa, utiliza essa informação para estabelecer uma relação visando à obtenção de um resultado de medição a partir de uma indicação;
- Ajuste: conjunto de operações efetuadas em um sistema de medição, de modo a fornecer indicações prescritas correspondentes a determinados valores de uma grandeza a ser medida.

IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DE RISCOS

Os testes laboratoriais desempenham um papel essencial na tomada de decisões médicas e, como tal, devem ser confiáveis e precisos. Infelizmente, nenhum teste ou equipamento de laboratório é infalível e erros podem ocorrer em qualquer etapa. Avaliar possíveis condições que podem ocasionar as falhas e descrever as etapas necessárias para detectá-las e preveni-las antes que elas causem danos ao paciente são, portanto, uma parte importante da missão do laboratório. Decorrem da avaliação a identificação de riscos e a revelação de oportunidades. Uma ferramenta recomendada para esse tipo de avaliação é a *failure mode and effects analysis* (FMEA).

A avaliação de riscos segue uma sequência de atividades: identifica-se, classifica-se e analisa-se o risco, quantifica-se o grau de risco, priorizam-se os riscos, tratam-se os riscos prioritários inicialmente, monitora-se o plano de ações, após o tratamento avalia-se o risco novamente para checar se ele foi reduzido, zerado ou se manteve. Eventos que ocorrem com mais frequência tendem a apresentar maiores riscos, assim como aqueles capazes de causar os maiores danos. A partir de então, são elaborados planos de ações para tratar os riscos considerados prioritários ou que poderão gerar gargalos na produção. Assim, é papel dos gestores tornar os riscos de pontuação elevada para uma situação aceitável (para as partes interessadas, a direção, os colaboradores e os clientes). Também deve ser estimada a capacidade de detectá-los para prevenir erros antes que estes saiam do laboratório e atinjam um paciente/usuário. Nesse contexto, os riscos avaliados e considerados mais relevantes para os equipamentos são a base para o planejamento porque ajudam a identificar as necessidades, as ações de melhoria e a prevenção.

PLANEJAMENTO DE MANUTENÇÕES

O planejamento criterioso da manutenção e sua execução rigorosa permitem o bom funcionamento do laboratório, trazendo as melhores soluções para dinamizar o sistema. Trata-se de uma ferramenta de suporte para a tomada de decisões, porque traz uma redução inteligente de custos para a empresa, aumentando a confiabilidade na produção.

O plano de manutenções estabelece metas e estratégias para controlar o processo produtivo do ponto de vista do parque tecnológico, além da provisão e da utilização dos recursos necessários para essa produção. Planejar os aspectos relacionados a possíveis falhas de rendimento garante que o laboratório esteja sempre em funcionamento pleno, com equipes permanecendo produtivas e focadas nas atividades desempenhadas. O ato de planejar as manutenções permite a implantação de aperfeiçoamentos que aumentam o retorno do investimento, promove a conformidade com requisitos regulatórios, estimula a geração de valor para os acionistas e mais lucratividade, trazendo como efeitos a disponibilidade, a confiabilidade, a integridade, mais segurança para o laboratório e eficiência.

Um dos produtos do planejamento são as programações de manutenções, que garantem mais segurança ao processo. Elas podem ser classificadas em: periódica (que tem como referência a frequência expressa em dias, mês, ano, semestre); acumulativa (manutenções que têm como referência as horas trabalhadas de um equipamento); eventuais (correspondem ao monitoramento de eventualidades apresentadas pelo equipamento, determinando a execução de algum serviço). Assim, geram-se cronogramas específicos por famílias de equipamentos, com a emissão das respectivas ordens de serviço para a sua execução.

Outra consequência do plano de manutenções é o estabelecimento de orçamento para prover os recursos necessários para as manutenções, a introdução das inovações tecnológicas, a troca de equipamentos, cuja vida média foi superada, as reformas e os treinamentos dos envolvidos.

Quando existe uma estrutura de trabalho ligada aos equipamentos de maneira planejada, segura e organizada para os colaboradores, todos os serviços são executados com maior nível de qualidade e dentro do tempo de atendimento total (TAT) combinado.

LEVANTAMENTO E INVENTÁRIO DE EQUIPAMENTOS

Cabe ao time da engenharia clínica, em conjunto com a equipe do laboratório, efetuar a catalogação dos equipamentos por famílias, promovendo-se a sua incorporação ao patrimônio da empresa com uma codificação alfanumérica e identificando essa numeração de maneira evidente no equipamento.

O levantamento de todos os equipamentos, por setor e com a preparação do inventário, requer a elaboração de uma listagem de equipamentos utilizados nos processos de produção laboratorial que estão localizados na empresa. Essa lista deve conter as características principais de cada máquina: nome, tipo, capacidade, marcas, modelos, número de patrimônio, sistemas de segurança, classificação por nível de criticidade, oficina que efetua as manutenções, nome do prestador de serviços metrológicos e outras informações relevantes. É preciso ter um rígido controle sobre os bens da organização para garantir o cumprimento de questões legais e contábeis. O inventário de ativos proporciona à empresa um controle melhor sobre a depreciação e a alocação de materiais, e, do ponto de vista da segurança dos bens, permite a inibição de furtos ou de eventuais roubos.

A partir do inventário de ativos, são elaborados os prontuários de cada equipamento, com toda a sua documentação pertinente, desde a compra até a sua desativação. Neles, estão descritos os tipos de manutenções, sua frequência, a discriminação de tarefas de manutenções a serem efetuadas, as oficinas que realizarão as ordens de serviço e as ações a serem realizadas pelos operadores. Isso propicia o estabelecimento de rastreabilidade

para equipamentos, peças críticas e serviços efetuados. Atualmente, para essas atividades, a equipe do laboratório conta com o auxílio de *softwares* de gestão de equipamentos.

USO DE SOFTWARES DE GESTÃO DE EQUIPAMENTOS

Os *softwares* disponíveis no mercado brasileiro são ferramentas de gestão de manutenção e de ativos porque podem ser integrados aos demais sistemas instalados no laboratório, auxiliando na coleta de dados e no monitoramento.

Possibilitam o acúmulo de todo o histórico de informações sobre o desempenho do parque tecnológico instalado e auxiliam nos levantamentos de custos, com os registros de intervenções e indicadores.

Registram ocorrências e contribuem para a análise de suas causas. Geram gráficos customizáveis para a análise prática e imediata do *status* dos equipamentos, produzindo relatórios detalhados, a partir do acesso direto aos laudos técnicos das medições realizadas. Desse modo, reduzem custos, criando novas rotinas, automatizando as manutenções preventivas, e disponibilizam painéis de controle para visualização da operação em tempo real.

A maioria dos sistemas disponíveis é capaz de auxiliar na gestão dos recursos, dos fornecedores, dos serviços e das garantias de peças, porque também emite relatórios gerenciais.

Alguns *softwares*, quando acoplados a sensores, possibilitam efetuar o controle de temperaturas nas 24 horas, apontando quando irregularidades ocorrerem, com sistema de alarme.

Todas essas tarefas são rastreáveis, com acessos controlados e hierarquizados por senhas individuais.

SELEÇÃO, QUALIFICAÇÃO, AVALIAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE FORNECEDORES DE EQUIPAMENTOS, DE PEÇAS E DE SERVIÇOS

Uma das decisões mais importantes na gestão de equipamentos é a escolha certa de fornecedores, pela quantidade adquirida de peças e equipamentos pelo laboratório clínico, pelos altos custos associados à qualidade insatisfatória de fornecedores, pela elevada interdependência entre os compradores e fornecedores no mercado laboratorial. A comunicação nos dois sentidos da relação com o fornecedor é caracterizada como essencial para haver a interação entre times multiprofissionais do laboratório e dos fornecedores (p. ex., *marketing*, assistência técnica, assessoria científica, engenharia e finanças).

Os critérios de qualificação e desqualificação de fornecedores são estipulados de acordo com as especificações técnicas, os requisitos legais ou regulamentares, os dados cadastrais, as licenças de funcionamento ou específicas, alvarás, autorização de funcionamento, certificações, comprovação de dados bancários e estabilidade financeira, experiência no ramo e tempo de atuação reconhecida pelo mercado, o corpo técnico prestador de serviços (engenheiros, técnicos e assessores), o desempenho na prestação de serviços/produtos e a rede de distribuidores/representantes. Recomenda-se a confecção de um documento contendo essas parametrizações, assim como a definição das responsabilidades e da frequência de avaliações.

Avaliações iniciais de fornecedores requerem consultas de referências ao mercado, se os preços praticados são competitivos, histórico sobre o cumprimento dos prazos de entrega, a observação do histórico do fornecedor, seu relacionamento com outras instituições similares ou em registros oficiais. O processo de qualificação da nova empresa

exige a investigação de sua capacidade de produzir e entregar suprimentos, equipamentos, peças ou serviços com qualidade e dentro do prazo combinado, com pessoal especializado, como requer a complexidade de um laboratório clínico. É uma boa prática que o laboratório tenha uma listagem contendo a totalidade de fornecedores qualificados, com o seu cadastro institucional atualizado, seu enquadramento nos níveis de criticidade ou não, com o reconhecimento da categoria em que se enquadre cada empresa fornecedora.

A gestão desses fornecedores é realizada pelo monitoramento de indicadores predefinidos (através de equipamentos e peças entregues, pelo tipo de serviços recebidos) e pelos registros de não conformidades apontadas (desvios, reclamações, retificações, tempo para a realização de serviços de manutenções, atrasos em manutenções preventivas, falta de peças), associados ao cumprimento ou não de condições contratuais.

Importante que o laboratório invista em um processo de desenvolvimento de fornecedores, para atrair os melhores, fomentando e estabelecendo com eles parcerias de longo prazo, visando a ganhos mútuos em qualidade, tempo de ciclo de pedidos, redução de custos, eliminação de desperdícios e melhora do nível de serviço. Com esse objetivo, um conjunto de metas deve ser combinado e monitorado em parceria. Um relacionamento colaborativo, planejado na confiança mútua e em relação de ganha-ganha é categorizado como uma parceria bem-sucedida, nessas situações o laboratório pode estabelecer contratos de longa duração, com um menor número de fornecedores confiáveis.

Recomenda-se que, para equipamentos, peças e serviços críticos, haja um sistema de contingências para atender a eventuais situações de emergência. Assim, a equipe deve estar sempre atenta e precisa implantar uma estrutura de pesquisa, para identificar novos fornecedores que possam dinamizar a base de fornecedores. O processo de estabelecer e manter uma base de fornecedores de classe mundial deverá ser contínuo, em decorrência da introdução de novas tecnologias, mudanças no comportamento da demanda dos consumidores, alterações nos locais onde estão situados os fornecedores de baixo custo e mudanças nas necessidades do laboratório.

COMO LIDAR COM ASPECTOS METROLÓGICOS NO LABORATÓRIO CLÍNICO

Atendendo aos requisitos técnicos da norma NBR ISO/IEC 17025, os fatores que determinam a correção e a confiabilidade dos ensaios e/ou calibrações realizadas pelo laboratório incluem: fatores humanos, acomodações e condições ambientais, métodos de calibração, rastreabilidade das medições efetuadas, amostragem, manuseio de itens de ensaio e calibração.

A extensão na qual esses fatores contribuem para a incerteza total da medição difere consideravelmente entre os tipos de calibrações.

O laboratório leva em conta esses fatores no desenvolvimento dos métodos e procedimentos de ensaio e calibração, no treinamento e na qualificação do pessoal e na calibração dos equipamentos que utiliza.

A calibração compreende uma operação mais detalhada, na qual se verificam os valores e se identificam erros e incertezas, registrados em um certificado.

A primeira conduta deve ser o levantamento dos equipamentos calibráveis, definindo-se o seu uso no laboratório e as faixas de utilização. Com isso, será possível definir as grandezas que necessitarão ser calibradas (pressão, massa, volume, comprimento, rotação, temperatura, tempo, densidade, comprimento de onda, pH), com as respectivas faixas de

tolerância. Uma atenção especial deve ser dada ao mapeamento das pipetas e micropipetas, vidrarias (p. ex., provetas, buretas, balões volumétricos) utilizadas no laboratório, pois terão faixas de tolerância aceitáveis individualizadas, segundo os diferentes tipos.

Assim, pode ser produzida uma listagem de equipamentos calibráveis, com as suas principais características e respectivas localizações dentro do laboratório. Na Tabela 1 os autores descrevem esse rol que subsidiará o plano de calibrações e de verificações do laboratório, definindo as frequências de calibrações por família de equipamento.

TABELA 1 Rol de calibrações

Família	Grandezas de calibração	Periodicidade de calibrações	Localização
Autoclave	Pressão, temperatura e tempo	Anual	Recuperação de materiais
Balança antropométrica	Massa e comprimento	Anual	Coleta
Balança analítica e semianalítica	Massa	Semestral	Preparação de reativos
Centrífugas refrigeradas	Rotação, tempo e temperatura	Semestral	Triagem
Cronômetros	Tempo	Anual	Coleta
Densímetros	Densidade	Bienal	Parasitologia
Espectrofotômetro	Absorbância	Anual	Bioquímica
Fontes de eletroforese	Tensão e corrente	Anual	Bioquímica
Manômetros	Pressão	Anual	Liquor
Massas	Massa	Anual	Preparação de reativos
Micropipetas fixas e variáveis, repipetadores, multicanais	Volume	Trimestral	Imunologia
<i>Multitimer</i> (RMT)	Tempo	Semestral	Sorologias
pHmetro	pH	Anual	Preparação de reativos
Réguas de aço/escalas de aço	Comprimento	Anual	Microbiologia
Refratômetro	Densidade	Anual	Urinalise
Esfigmomanômetro	Pressão	Anual	Coleta
Termo-higrômetros	Temperatura e umidade	Anual	Almoxarifado
Termômetros	Temperatura	Anual	Geladeiras da soroteca

Fonte: elaborada pelos autores.

A empresa contratada que efetuará e verificará as calibrações precisa ser selecionada e avaliada de acordo com os critérios definidos pela instituição. Recomenda-se que a empresa tenha acreditação segundo a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025, o que a insere no cadastro da Rede Brasileira de Calibração do Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO).

Quando o equipamento é calibrado, deve vir devidamente identificado e com um certificado de calibração. Antes de o equipamento calibrado ser colocado em uso na rotina laboratorial, todos os parâmetros da sua calibração deverão ter sido analisados. Os certificados de calibração, uma vez recebidos da empresa contratada, devem ser submetidos a uma análise crítica, antes da liberação do equipamento para uso. A análise crítica do certificado baseia-se na comprovação dos resultados da calibração para assegurar que os valores medidos permaneçam dentro dos limites de tolerância aceitável. Quando constatado um erro durante a calibração, é necessário identificar as causas, fazer a manutenção do sistema de medição e o ajuste, para que o equipamento mostre o valor exato que está sendo medido. Os equipamentos calibrados são liberados para uso, após aprovação do certificado por meio da análise crítica do certificado. A cada nova calibração efetuada no processo de análise crítica dos certificados, existe a necessidade de confrontar os dados da calibração atual com aqueles da anterior, verificando-se as eventuais variações nos desvios e/ou nas tolerâncias. Por meio desse tipo de análise em relação à série histórica dos serviços de calibração, pode-se definir eventual redução na periodicidade de calibrações para determinadas famílias de equipamentos, evidenciando-se com fatos a tomada de determinadas ações de melhoria.

MONITORAMENTO E CONTROLE DOS EQUIPAMENTOS DA PRODUÇÃO

Os planos de manutenções e de calibrações/verificações de calibrações estabelecem metas que precisam ser controladas e monitoradas, segundo regras e procedimentos previamente estabelecidos, aplicadas para prevenir desvios, estabelecendo padrões para um desempenho desejado. Para serem eficazes, as ações de controle dos equipamentos devem ser consistentes e compreensíveis por aqueles que as efetuam, sendo orientadas para resultados, proporcionando um julgamento individual, que possa ser modificado para adaptar-se às novas circunstâncias e situações, enfatizando o desenvolvimento e a melhoria e estimulando a proatividade das pessoas que lidam com os equipamentos.

Resultam do controle operacional três possibilidades:

1. Conformidade ou aceitação: o resultado ou desempenho está de acordo com o padrão e, portanto, é aceito;
2. Os resultados ou o desempenho apresentam discreto desvio quanto ao padrão, mas dentro de uma tolerância permitida, e, portanto, são aceitos, embora a conformidade não seja a ideal;
3. Rejeição: o resultado ou desempenho apresenta desvio, afastamento ou discrepância em relação ao padrão, além da tolerância permitida, e, portanto, deve ser rejeitado e estará sujeito a uma ação corretiva.

Os mecanismos de controle do desempenho dos equipamentos contribuem para: verificar se há o atendimento pleno das necessidades, com melhoria contínua dos proces-

sos; a detecção de tendências, investigando-as e agindo preventivamente antes que falhas surjam ou, ainda, a observação de defeitos, para investigar suas causas, pensando-se em como solucioná-los. Para isso, demandam-se a constância de propósitos e a busca contínua do defeito zero.

No monitoramento, a intercomunicação de sistemas permite coletar informações em tempo real, para tornar a produção mais eficaz, com o uso de tecnologias integradas por meios digitais que permitam conexão, troca de informações e sua análise. O acompanhamento não deve ser utilizado apenas para o controle de fatores produtivos, mas, também, para garantir a qualidade, assegurando que os meios ideais da produção laboratorial sejam também ecologicamente corretos e socialmente legais. O uso dos sistemas modernos permite um acompanhamento adequado da produção e a possibilidade de transformar dados em inteligência competitiva. O uso de tecnologia das coisas (sensores dentro de equipamentos, sistemas de identificação por radiofrequência – RFID) possibilita controlar e calcular custos automaticamente, além de registrar o fluxo da produção e a rastreabilidade.

Os indicadores de desempenho na gestão de equipamentos são métricas para avaliar se as ações realizadas e as decisões tomadas estão em conformidade com o planejado, avaliando o desempenho, ou seja, funcionam como uma bússola, evitando desvios e esclarecendo os passos seguidos no caminho correto.

Os principais indicadores da gestão de equipamentos são:

- *Time to recovery* (TTR): a falha acarreta a inoperância do item, com a parada inesperada, inicia-se o processo de recuperação do equipamento para que volte à condição adequada de uso pela operação/produção. Esse indicador aponta o tempo decorrido entre o registro da falha até a hora em que o equipamento volta à condição plena de disponibilidade para uso e operação. Presta-se a analisar quanto tempo se gasta, em média, para devolver ao usuário ou operador o equipamento que sofreu uma falha, independentemente do tipo de causa e/ou da ocorrência geradora do problema ou mesmo se a falha foi de natureza elétrica ou mecânica;
- *Mean time between failure* (MTBF): espelha o tempo médio entre as falhas de determinado sistema de medição. O MTBF é o tempo decorrido entre uma falha e a próxima, excluídos tempos de inatividade esperados durante situações, como intervenções programadas (calibração, manutenção, lubrificação), sejam de equipamentos ou sistemas. É usado para rastrear a disponibilidade e a confiabilidade de um equipamento. Quanto maior o tempo que se passa entre as falhas, mais confiável é o sistema;
- *Mean time to repair* (MTTR): indica o tempo necessário para consertar (reparar) um sistema e/ou equipamento e restaurá-lo à funcionalidade completa, ou seja, não inclui o tempo dedicado ao diagnóstico do problema e à preparação para o conserto/reparo em si, mas inclui períodos de teste. Em resumo, mede a capacidade da equipe em consertar a falha;
- Percentual de disponibilidade: é o tempo que a máquina está disponível para funcionar, conforme o programado;
- Percentual de cumprimento dos planos de manutenção preventiva: esse cálculo serve para verificar se o plano de manutenção preventiva está sendo cumprido ou não.

ANÁLISE DO DESEMPENHO NA GESTÃO DE EQUIPAMENTOS

As métricas ajudam a melhorar o desempenho e, conseqüentemente, auxiliam no alcance de vantagem competitiva pelos laboratórios clínicos que as adotam.

Nas análises críticas, são identificadas as atividades que agregam valor ao parque tecnológico, realizando-se comparações de desempenho, para promover o seu alinhamento com as estratégias organizacionais no curto, médio e longo prazo. Desse modo, asseguram-se uma contínua adequação, a constatação ou não da suficiência dos recursos e eficácia das ações planejadas.

Ao fazerem essa análise, os gestores devem se atentar para os resultados, observando: desvios, tendências, sazonalidade, mudanças abruptas ou repetitivas nos padrões regulares de desempenho dos equipamentos. Oportunidades de melhorias podem ser desencadeadas após o processo de análise crítica, acionando-se o ciclo do *plan-do-check-act* (PDCA), com planos de ações específicos. Ações corretivas devem ser executadas quando não conformidades são evidenciadas.

Os relatórios de análise crítica da gestão de equipamentos são instrumentos de transparência que permitem acompanhar o desenvolvimento das atividades planejadas. Eles constituem um esforço para apresentar um documento de conteúdo relacionado às informações, de maneira fidedigna, qualificada e com a transparência necessária, auxiliando no processo de tomada de decisão.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

AMORIM AS, PINTO JUNIOR VL, SHIMIZU HE. O desafio da gestão de equipamentos médico-hospitalares no Sistema Único de Saúde. *Saúde debate*. 2015;39(105):350-62.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 9001:2015. Sistemas de gestão da qualidade – Requisitos. São Paulo: ABNT; 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 15189:2015. Laboratórios clínicos – Requisitos de qualidade e competência. São Paulo: ABNT; 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO/IEC 17025:2017. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. São Paulo: ABNT; 2017.

BAILY P, FARMER D, JESSOP D, JONES D. *Compras: princípios e administração*. São Paulo: Atlas; 2000.

CLSI. *General laboratory equipment performance qualification, use, and maintenance*. 2. ed. CLSI guideline QMS23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). *Laboratory General Checklist CAP Accreditation Program*. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria. Portaria MS n. 2.510, de 19 de dezembro de 2005. Institui Comissão para Elaboração da Política de Gestão Tecnológica (CPGT) no âmbito do Sistema Único de Saúde. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/Pm_2510_2005.pdf>. Acesso em: 4 maio 2020.

HAHN CK, WATTS CA, KIM KY. The supplier development program: a conceptual model. *J Purch Mat Mgmt*. 1990;26(2):2-7.

JURAN JM. *Controle da qualidade*. 5. ed. São Paulo: Makron Books; 1999.

LAKHAL L, PASIN F, LIMAM M. Quality management practices and their impact on performance. *International Journal of Quality & Reliability Management*. 2006;23(6):625-46.

MENDES ME, EBNER PAR, ROMANO P, PACHECO NETO M, SANT'ANNA A, SUMITA NM. Practical aspects of the use of FMEA tool in clinical laboratory risk management. *J Bras Patol Med Lab.* 2013;49(3):174-81.

MENDES ME, SUMITA NM. Gestão de equipamentos. In: Mendes ME, Gartner MT, Sumita NM, Sánchez PB. *Gestão por processos no laboratório clínico uma abordagem prática.* São Paulo: EPR; 2006. p. 185-211.

MODI SB, MABERT VA. Supplier Development: improving supplier performance through knowledge transfer. *J Oper Manag.* 2007;25:42-64.

ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO (ONA). *Manual Brasileiro de Acreditação: organizações prestadoras de serviços de saúde.* São Paulo: ONA; 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) – versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 15 maio 2020.

6 Gestão documental no laboratório clínico

Maria Elizabete Mendes, Neide Yamamoto Abe,
Valéria Aparecida Faria, Nairo Massakazu Sumita

DEFINIÇÕES

- Documento: é a informação e o meio no qual ela está contida. A documentação corresponde a qualquer informação que descreve, especifica, define, relata ou certifica serviços ou atividades, exigências, políticas, procedimentos ou resultados, permitindo a comunicação do propósito e a consistência da ação;
- Registros: são documentos que fornecem evidências objetivas de atividades realizadas ou resultados obtidos;
- Política: conjunto de princípios ou guias que dirigem ou restringem os planos, ações e decisões estabelecidas. Procedimento é o documento que especifica o modo como cumprir uma atividade identificada de determinado processo, instruindo quem a executará em cada etapa;
- Sistema documental: compreende o conjunto de documentos que possibilitam armazenar e disponibilizar as informações, de maneira organizada e eficaz para todos os envolvidos no processo. O sistema de documentos deve ser reflexo da cultura organizacional e de suas necessidades, acrescentando e aprimorando o sistema de informações existente;
- Sistema de informações: constitui um conjunto de elementos que interagem entre si para processar a informação e divulgá-la de maneira adequada, em função dos objetivos da organização; é o meio pelo qual são obtidos dados para as operações de controle e planejamento do laboratório;
- Gestão de documentos: no sistema de gestão da qualidade (SGQ), corresponde a um conjunto de normas, políticas, procedimentos e métodos de trabalho que permitem a tramitação, a produção, a avaliação, o uso e o arquivamento de documentos oficiais para organizar e proteger as informações. Suas principais funções são fornecer evidências, fazer uma condução transparente das atividades e controlar informações. Ela não visa apenas a atender às demandas do gerador do documento, mais que isso, ela garante que os documentos de valor permanente sejam preservados, colaborando decisivamente com a reconstituição do passado, tornando os documentos acessíveis.

INTRODUÇÃO

A compreensão e a operacionalização eficaz do SGQ estão relacionadas com uma documentação adequada, cujo propósito é prover informações necessárias aos colaboradores e às partes interessadas. Seu uso contribui para atingir a conformidade com os requisitos do cliente, melhorar a qualidade, prover treinamento apropriado, assegurar a rastreabili-

dade e a reprodutibilidade das ações, prover as evidências objetivas, avaliar a eficácia e a contínua adequação do SGQ.

Segundo Paladini (1997), a implementação de um sistema de qualidade consiste na transformação de conceitos teóricos em realidades organizacionais. O objetivo principal da documentação desse sistema é apresentar um modelo que esteja voltado para o desenvolvimento, a implementação e a melhoria da eficácia do SGQ, tendo como prioridade aumentar a satisfação do cliente por meio do atendimento de seus requisitos.

DOCUMENTOS CONTAM A HISTÓRIA DO LABORATÓRIO

Os documentos contam a história do laboratório, pois representam tudo o que é feito ao longo do tempo na instituição, demonstrando uma evolução do serviço e transmitindo, para os novos colaboradores que chegam ao laboratório, os acontecimentos, as metodologias, os equipamentos, o modo de agir e pensar em diferentes momentos da vida laboratorial, ou seja, o sistema documental preserva o conhecimento organizacional adquirido com o desenvolvimento do negócio.

A documentação é um veículo de comunicação que deve ser elaborado de maneira clara e objetiva. Nos processos do laboratório clínico, as sequências de atividades devem ser feitas em uma ordem específica e corretamente para transformar determinada entrada em uma saída desejada. Os serviços de medicina laboratorial precisam comunicar a sequência de atividades e também as instruções de como as tarefas devem ser executadas. Ao definir quais são os documentos necessários, incluindo os registros relevantes, que estabelecem, implantam e mantêm o SGQ, eles apoiam uma operação efetiva e eficiente dos processos. Os processos documentados dão informações essenciais para os colaboradores (novos e experientes) de como realizar suas tarefas, incluindo aquelas não diretamente ligadas à realização dos testes laboratoriais.

HIERARQUIA DOCUMENTAL

O conceito de estrutura da documentação típica de um laboratório clínico envolve o manual da qualidade, que descreve as políticas, com os grandes objetivos e intenções da empresa, as diretrizes, o macrofluxo e os responsáveis. Os mapas de processos demonstram a sequência de eventos para produzir o serviço ou o produto, com o fluxo das atividades. Os procedimentos são as instruções passo a passo das atividades, como devem ser feitas. Os registros capturam as informações e os resultados gerados nos processos. Na Figura 1, os autores sugerem a hierarquia da documentação dentro do laboratório clínico.

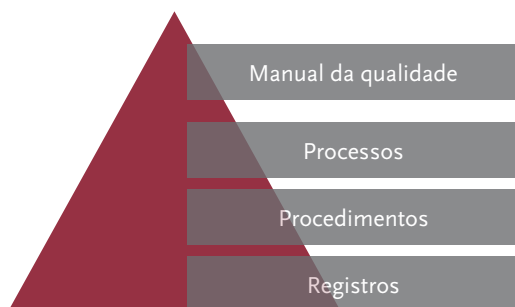


FIGURA 1 Hierarquia documental.

Fonte: elaborada pelos autores.

Os documentos podem ser classificados como:

- Documentos operacionais: detalham como as atividades específicas são realizadas e asseguram que o time de trabalho siga as instruções, de modo padronizado, perfeitamente ajustados às regras. São exemplos: manual de coleta, coleta de sangue arterial, como usar o tubo pneumático, como calibrar determinado equipamento, como utilizar o sistema de informação laboratorial para consultar resultados, como reportar e registrar valores críticos de exame, como e quando controlar a temperatura, como fazer um exame bacterioscópico de líquido cefalorraquidiano;
- Documentos de qualidade: os documentos do SGQ refletem o compromisso do laboratório em trabalhar dentro das melhores práticas para produzir resultados de alta qualidade. Eles ajudam na implantação e na manutenção do SGQ. Exemplos: procedimento de controle de documentos, política de treinamentos e avaliação de competências, como fazer a validação de um método, como fazer a equivalência entre sistemas analíticos, como fazer a gestão de não conformidades, política de indicadores e *benchmarking*, auditoria interna do SGQ.

Manual da qualidade

É um documento que formaliza o SGQ e aponta o seu funcionamento de maneira clara, demonstrando como o laboratório clínico age para garantir a qualidade de seus produtos/serviços. Nele, são descritos todos os fatores relevantes sobre a empresa e a política da qualidade adotada na execução das tarefas. O manual registra a personalidade do laboratório e seus princípios com missão, visão, valores e tradições. Quando bem elaborado, é útil nos processos de auditorias e inspeções do laboratório impulsionando a melhoria contínua; ainda, contém informações importantes do SGQ, ajudando na sua implantação. Pelo fato de ser uma evidência do compromisso da empresa com a qualidade, pode ser utilizado como portfólio do laboratório frente aos clientes.

Descrição de processos

Cada processo deve ter a sua descrição demonstrando: entradas, fluxograma com a descrição das atividades, descrição dos fornecedores, seus clientes, saídas e interfaces. Sempre que houver requisitos legais, devem ser explicitados. Eles podem ser descritos como: mapa de processo, *supplier, input, process, output, customer* (SIPOC), *business process model and notation* (BPMN), fluxograma, cadeia de valor.

Os objetivos para o mapeamento dos processos são: tornar claro quem atua no processo, discriminar os eventos que ocorrem no processo, atentar-se para as regras empregadas, ter ciência dos resultados que estão sendo obtidos, analisar a possibilidade de melhoria do processo, detalhar de maneira precisa o processo e seu fluxo, obter a representação do processo em diversos níveis de entendimento – do gerencial ao operacional. O mapeamento de processos é uma forma de gestão e organização dos processos principais e de apoio, a fim de torná-los sustentáveis, lucrativos e mais eficazes.

Processos bem descritos permitem aos gestores: identificarem os gargalos de produção; delimitarem os responsáveis por cada etapa produtiva, atividade ou processo; estimarem os recursos, mão de obra, insumos e tempo necessários para a produção; padronizarem os procedimentos operacionais e da gestão; criarem listas de verificações da produção; definirem e revisarem funções, responsabilidades e autoridades entre os colaboradores; estabelecerem quais atividades necessitam de registros e formulários-padrão; e eliminarem o

retrabalho, as atividades redundantes e as tarefas de baixo valor agregado. Na Tabela 1, os autores exemplificam um roteiro para mapear processos.

TABELA 1 Roteiro para mapear processos

-
- Quais são os eventos que dão início a cada processo?

 - Qual o objetivo com o fim de cada processo?

 - Quais são as pessoas envolvidas?

 - Quais são as áreas ou departamentos que estão envolvidos com o processo?

 - Quem é o dono do processo (responsável pelo processo)?

 - Existirão exceções administrativas, quais os casos?

 - Quais são as metas dos processos?

 - Quais são os indicadores de desempenho?

 - Que métricas utilizar?

 - Quais são os recursos necessários para a execução dos processos?

 - É necessário anexar algum documento, qual?

 - Quais as principais atividades a serem realizadas?

 - Quem vai executar essas atividades?

 - Quais são as principais interfaces com outros processos?

 - Quais são os sistemas informatizados ou aplicações que dão suporte ao processo?

 - Quais são as regras de negócio?

 - Qual volume/quantidade/frequência de execução do processo?

 - Há restrições?

 - Existem riscos, quais são?

 - Qual o tipo de processo: negócio ou suporte?
-

Fonte: elaborada pelos autores.

Trata-se de uma atividade empírica, ou seja, realizada pelo diálogo e baseada no conhecimento dos analistas. Por isso, é importante que o colaborador tenha total domínio sobre o negócio e as tarefas que desempenha. Assim, o gestor do laboratório consegue ter uma visão ampla, realista e atualizada das potencialidades e fraquezas da empresa. Com todos esses dados coletados, é possível elaborar planos de ações assertivos para a melhoria da produção laboratorial.

Procedimentos operacionais-padrão (POP)

Os procedimentos operacionais-padrão (POP) devem envolver todas as etapas do ciclo do exame laboratorial, como as instruções de preparo dos pacientes para a coleta; os POP

específicos para coleta de material biológico, acondicionamento e o seu transporte; para a realização e liberação dos exames; da operação de equipamentos; do armazenamento e descarte de materiais biológicos; instruções de biossegurança e saúde ocupacional.

Os organismos acreditadores College of American Pathologists (CAP), Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial – Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (SBPC/ML-PALC), Organização Nacional de Acreditação (ONA), Joint Commision International (JCI) e normas internacionais (NBR ISO 15189:2015) requerem um conteúdo mínimo para os POP: nome do exame, data de aprovação, data de início, *status* do documento, controle de revisões do documento, nomes do elaborador e do aprovador, finalidade do sistema analítico, princípio do método, preparo do paciente, condições de preservação da amostra, especificações de desempenho analítico, calibração, linearidade, sensibilidade, limite de detecção, imprecisão, reagentes e equipamentos necessários, passo a passo operacional, interferentes, procedimentos de controle interno da qualidade (frequência, número de controles aplicados, níveis de controle), procedimentos para ensaios de proficiência (EP), cálculos, valores de referência, intervalo reportável, valores críticos, diluições/concentrações de amostras, interpretação clínica dos resultados, precauções de segurança e ambientais, e referências bibliográficas.

Registros da qualidade

Os registros técnicos envolvem as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica do exame laboratorial. Eles requerem um procedimento documentado definindo a sua identificação, coleta, indexação, acesso, armazenamento, correção e descarte, respeitando-se as disposições legais para a sua guarda (mínimo de 5 anos ou prazo maior). Eles podem ser efetuados física ou eletronicamente. São exemplos de registros: ficha cadastral do paciente, registros de coleta, rejeição ou aceitação condicional de amostras, registros de temperatura, registros de CQI e de EP, dados brutos que geram laudos, laudos, registros de auditoras (internas e externas), registros de manutenções (preventivas, corretivas) e de calibrações, amostras e derivados (lâminas, blocos de parafina – definindo-se a temporalidade de guarda), formulários de validação de lotes, registros de treinamento e de avaliação de competências, registros de indicadores, ações de melhoria, ações corretivas, incidentes, rastreabilidade de reagentes (lotes, data de validade, data de início de uso, instruções de uso, certificados), atas de reuniões e análises críticas do SGQ.

A gestão de registros visa a controlá-los, garantindo o armazenamento para impedir acessos indevidos e não autorizados, perda ou deterioração, assegurando a sua legalidade e acessibilidade.

GESTÃO ELETRÔNICA DA DOCUMENTAÇÃO

O laboratório clínico de excelência disponibiliza de maneira clara e objetiva a documentação do SGQ aos colaboradores. O gestor do laboratório identifica qual é o método mais eficiente para a elaboração, aprovação, revisão e distribuição dos documentos. A documentação poderá ser expressa física ou eletronicamente. Existem disponíveis no mercado vários *softwares* para essa finalidade.

O gerenciamento eletrônico de documentos é parte da administração e envolve princípios de economia, eficiência da produção e usos dos documentos. O princípio é que a documentação deve ser disponibilizada no local correto, para as pessoas certas, no me-

nor custo possível e dentro do prazo necessário. Essa gestão visa a garantir o acesso aos documentos e às informações para a tomada de decisões diariamente. Essa tecnologia dá suporte e facilita o controle, o armazenamento, o compartilhamento, a busca e a recuperação de documentos em meio eletrônico (digital), trazendo como benefícios a padronização, o gerenciamento documental e o aprimoramento do sistema de informações.

Como o sistema documental é vivo e dinâmico, requer um controle sobre as atualizações, as revisões e a distribuição dos documentos da qualidade, visto que a documentação relacionada a cada operação deve ficar disponível e atualizada.

Autorizações de acesso, para criação, revisão, aprovação ou cancelamento de documentos/registros, na gestão eletrônica, podem ser feitas mediante senhas de acesso individualizadas e com graus diferentes de autoridade.

Quando o controle for feito em papel, deve existir um rol de responsáveis pela elaboração, revisão e/ou aprovação de documentos/registros que ficam sob a guarda do gestor.

A aprovação de documentos (novos ou revisados) por responsáveis (supervisores, diretores) obedece a uma hierarquia e deve ser efetuada antes da sua colocação em prática. A seguir, são dados exemplos do tipo de documento e das funções responsáveis. As eventuais alterações devem explicitar o conteúdo que foi alterado nas diferentes versões. Devem ser estabelecidos controles necessários para os documentos e registros do SGQ, a fim de evitar o uso de documentos obsoletos, assegurando que os registros estejam legíveis e identificados.

São recomendações para elaboradores/aprovadores de documentos/registros:

- Manual da qualidade e política da qualidade: responsável técnico do laboratório (diretor);
- Políticas: gestor setorial, diretor médico, diretor administrativo, coordenador da qualidade;
- Mapas de processos: gestor setorial, diretores, coordenador da qualidade;
- Procedimentos: diretor médico, gestor setorial, biólogos;
- Procedimentos de saúde e segurança ocupacional: diretor médico, diretor administrativo, equipe de segurança do trabalho;
- Registros: podem ser feitos por toda a equipe.

Havendo a gestão eletrônica de documentos, é importante que se elabore um plano de contingências, com o armazenamento do arquivo eletrônico em outro local ou na nuvem, tomando-se medidas de segurança da informação (como *backup*, uso de *hard disk* externo, armazenamento em um servidor ou em vários) e de segurança elétrica (com uso de geradores e *no-breaks*, testes de carga periodicamente).

REVISÃO DE DOCUMENTOS

Os organismos de acreditação preconizam que os documentos devam ser revisados pelo menos uma vez ao ano, evidenciando-se que a revisão foi efetuada. O documento do CLSI QMS 02-A6 de 2013 recomenda que os documentos sejam revisados semestralmente.

As revisões podem ser realizadas em razão de erros, descuidos, mudanças nas práticas operacionais ou processuais, alterações legais, de acreditação, regulamentares ou porque o processo/produto foi descontinuado. Existem outras razões para revisar documentos fora do prazo estabelecido, como resultado da investigação de um evento não conforme,

por consequência de auditorias (internas ou externas), depois de projetos de melhorias para compatibilizar com mudanças em processos.

Quando se realiza uma revisão de documento, as boas práticas recomendam: descrever a mudança de modo que fique destacada no corpo do documento; alterar a versão do documento, evidenciando que houve identificação correta da versão atual, possibilitando o monitoramento de quem a executou, o que mudou, por que foi feita com referências à causa da mudança; e verificar se a mudança em questão afeta ou traz consequências e impactos para outros documentos. Quaisquer mudanças nos documentos devem ser aprovadas antes de serem colocadas em prática.

CONTROLE DE DOCUMENTOS

Os documentos podem ser controlados com o auxílio de listas-mestras de documentos (de origem interna e externa), sejam elas em papel ou eletrônicas.

A indexação dos documentos poderá se dar por famílias de documentos: manuais de equipamentos, manual de biossegurança, POP da automação, POP da microbiologia, POP de recursos humanos e POP de coleta. Agrupamentos podem ocorrer de acordo com as características do laboratório: por data de aprovação, por ordem alfabética, por setor ou por assunto.

As senhas de acesso possibilitam ao gestor averiguar, monitorar e criar indicadores de desempenho do sistema: quem está consultando o sistema e o que foi consultado, quem copiou e o que foi copiado, quem imprimiu e o que foi impresso, e quem aprovou os documentos.

Ensslin e colaboradores (2007) afirmam que as pessoas nas organizações bem-sucedidas provavelmente tomam decisões diariamente e reconhecem que não é fácil ter um bom processo para avaliar o desempenho. Os indicadores devem estar focados em como a tarefa é realizada, medindo seu desempenho e se estão conseguindo atingir os objetivos determinados. Os indicadores da gestão documental (p. ex., número de documentos novos gerados por mês, número de documentos cancelados por mês, número de documentos obsoletos por mês) monitoram as ações e o desempenho do planejamento do conjunto de documentos dentro do laboratório, na busca por uma gestão mais eficiente e efetiva. Os indicadores mais corriqueiros são: número de documentos revisados por unidade de tempo, número de documentos novos gerados por unidade de tempo, número de documentos excluídos por unidade de tempo, número de documentos em elaboração por unidade de tempo.

A gestão de documentos auxilia o laboratório clínico a cumprir requisitos legais e regulamentares, mas só se torna efetiva quando os colaboradores são treinados, compreendem o conteúdo e as aplicações da documentação e utilizam os documentos como apoio para obterem informações para a sua rotina laboratorial.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 9000. Sistema de gestão da qualidade – fundamentos e vocabulário. São Paulo: ABNT; 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 15189:2015. Laboratórios clínicos – requisitos de qualidade e competência. São Paulo: ABNT; 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Quality management system: development and management of laboratory documents; approved guideline. CLSI document QMS02-A6. Wayne, PA: CLSI; 2013.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). Laboratory general checklist CAP accreditation program. Washington, DC: CAP; 2019.

ENSSLIN L, ENSSLIN SR, DUTRA A, PETRI SM. Avaliação de desempenho: objetivos e dimensões. [apostila do Programa de Pós-Graduação em Engenharia da Produção e do Programa de Pós-Graduação em Contabilidade – 1º semestre]. Santa Catarina: UFSC; 2007.

MENDES ME, SUMITA NM, GARTNER MT, SANCHEZ PB. Gestão por processos no laboratório clínico: uma abordagem prática. Guarulhos: EPR; 2007.

OLIVEIRA MAL. Documentação para a ISO 9000. Rio de Janeiro: Qualitymark; 1994.

ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO (ONA). Manual Brasileiro de Acreditação: organizações prestadoras de serviços de saúde. São Paulo: ONA; 2018.

PALADINI EP. Qualidade total na prática: implementação e avaliação de sistemas de qualidade total. 2. ed. São Paulo: Atlas; 1997.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) – versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 10 maio 2020.

7 Práticas seguras no laboratório clínico

Maria Elizabete Mendes, Luana de Oliveira Turibio,
Maria Leide de Sena Badaró, Ricardo Gross Hojda,
Robson Cupertino de Lima, Nairo Massakazu Sumita

INTRODUÇÃO

Os laboratórios são ambientes de trabalho que podem representar riscos de exposição a doenças infecciosas ou toxinas, assim como substâncias químicas nocivas à saúde das pessoas que trabalham ou entram neles.

A segurança do trabalho, dentro do laboratório clínico, representa um conjunto de medidas, preventivas e corretivas, de ordem técnica, educacional, médica e psicológica, aliadas a um comportamento adequado do quadro de colaboradores para garantir um ambiente de trabalho seguro, saudável e de bom nível de qualidade. O programa de segurança visa a manter a saúde de todos, evitando-se acidentes no laboratório e a redução de danos. Embora a exposição aos riscos no laboratório clínico nem sempre possa ser evitada, todas as precauções devem ser tomadas para proporcionar um ambiente de trabalho seguro, com equipe treinada e habilitada. Uma cultura de prevenção deve ser o objeto das políticas e estratégias de saúde e segurança ocupacionais (SSO) no laboratório clínico para eliminar os atos e as condições inseguras no ambiente de trabalho, evitando-se, a todo custo, o acidente e suas consequências.

Práticas seguras são instrumentos para a redução de acidentes e doenças ocupacionais, propiciando ambientes de trabalho com riscos controlados e monitorados por condutas proativas e mudanças comportamentais.

Este capítulo descreve como uma gestão de saúde e segurança ocupacional embasada em práticas seguras melhora o nível de segurança dos laboratórios clínicos brasileiros e institui uma nova mentalidade nas equipes que neles atuam.

CONCEITOS

- **Gestão de segurança:** no laboratório clínico, corresponde a um conjunto de atividades técnicas e administrativas adotadas pela direção do laboratório, destinadas a preservar a integridade dos pacientes ou usuários, colaboradores e do meio ambiente. As responsabilidades legais sobre a gestão de segurança recaem sobre o responsável técnico ou diretor do laboratório;
- **Níveis de segurança:** são definidos de acordo com as práticas especiais, os equipamentos de contenção e as instalações laboratoriais exigidas. No laboratório, há quatro níveis:
 - » **Nível 1:** nível de contenção laboratorial que se aplica aos laboratórios de ensino que manipulam os microrganismos da classe 1 (baixo risco individual e para a coletividade). Não requer desenho especial, mas demanda aplicação e boas práticas em laboratório clínico (BPLC);

- » Nível 2: nível de contenção laboratorial que se aplica aos laboratórios que manipulam os microrganismos da classe 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade). Os laboratórios clínicos enquadram-se nessa categoria, requerem adoção de BPLC, uso de barreiras físicas primárias (cabine de segurança biológica e equipamentos de proteção individual – EPI) e secundárias (desenho e organização do laboratório);
 - » Nível 3: manipulam os mesmos materiais que os laboratórios de nível 2, no entanto o fazem em grandes quantidades e em altas concentrações de germes (vírus, bactérias, fungos). Eles têm a capacidade de transmissão por via respiratória, que causam patologias humanas ou animais, potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas de tratamento e/ou de prevenção. Eles requerem BPLC, uso de barreiras físicas primárias (cabine de segurança biológica e EPI) e secundárias (desenho e organização do laboratório), com desenho e construção especiais. Deve haver controle rígido quanto à operação, inspeção, manutenção das instalações e dos equipamentos, e o pessoal técnico deve receber treinamento especial em segurança para a manipulação desses microrganismos;
 - » Nível 4 ou laboratório de contenção máxima: destinado à manipulação de microrganismos da classe de risco 4, no qual há o maior nível de contenção, com localização e funcionamento independente de outras áreas. Requerem requisitos físicos e operacionais dos níveis de contenção 1, 2 e 3, barreiras de contenção (instalações, desenho e EPI) e procedimentos especiais de segurança. Nesses laboratórios, são manipulados os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida, para os quais ainda não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente.
- Práticas de biossegurança: são usadas no manuseio adequado de organismos de risco biológico. Os materiais biológicos humanos podem abrigar organismos ou agentes de risco biológico e devem ser manuseados de acordo com a segurança necessária. Organismos de risco biológico são microrganismos com potencial infeccioso para o homem, os animais e as plantas no meio ambiente. Esses microrganismos incluem micróbios procarióticos e eucarióticos, vírus, agentes infecciosos subvirais e organismos recombinantes com potencial de sobrevivência no ambiente ou em materiais vivos e podem causar riscos à saúde. Os agentes de risco biológico também incluem vetores recombinantes não replicantes que são capazes de fornecer e expressar produtos de genes recombinantes que podem causar riscos à saúde;
 - Identificação de perigo: é o processo de reconhecimento, definição e caracterização da existência de um perigo. Entendendo-se perigo uma fonte, situação ou ato que pode provocar lesão ou doença às pessoas;
 - Risco: no âmbito da segurança, é a combinação na probabilidade de lesão ou doença com a ocorrência de um perigo.

AValiação DOS RISCOS DENTRO DO LABORATÓRIO CLÍNICO

É importante estudar o ambiente de trabalho por meio da descrição dos processos e das operações, a fim de identificar as atividades e os locais com potenciais de exposição crí-

ticos, reunindo as informações necessárias para estabelecer o diagnóstico da situação de segurança e saúde no trabalho laboratorial. Desse modo, a equipe de engenheiros e técnicos de segurança do trabalho pode produzir o mapa de riscos, que é uma representação gráfica do conjunto de fatores presentes nos locais de trabalho capazes de acarretar prejuízos à saúde dos trabalhadores, como os acidentes e as doenças de trabalho.

Os riscos nos laboratórios são:

- **Biológicos:** bactérias, fungos, protozoários, vírus, parasitas;
- **Químicos:** substâncias, compostos ou produtos que possam penetrar no organismo pela via respiratória, nas formas de poeira, fumos, névoas, neblinas, gases ou vapores. Ou, ainda, que, pela natureza da atividade de exposição, possam ter contato ou ser absorvidos pelo organismo através da pele ou por ingestão;
- **Físicos:** ruído, vibrações, pressões anormais, temperaturas extremas, radiações ionizantes, radiações não ionizantes, nível de iluminamento e umidade;
- **Ergonômico:** todo fator que possa interferir nas características psicofisiológicas do trabalhador, causando desconforto ou afetando sua saúde. Exemplos: o levantamento de peso, o ritmo excessivo de trabalho, a monotonia, a repetitividade, trabalho físico pesado; posturas incorretas; posições incômodas; trabalho em turnos e trabalho noturno, jornada de trabalho;
- **De acidente:** qualquer fator que coloque o trabalhador em situação vulnerável e possa afetar a sua integridade e seu bem-estar físico e psíquico. Exemplos: acidentes sem equipamentos de proteção, probabilidade de incêndio e explosões, arranjo físico inadequado, armazenamento indevido de produtos.

Programa de Prevenção dos Riscos Ambientais

O Programa de Prevenção dos Riscos Ambientais (PPRA) é uma das obrigações de todo empregador no que concerne às medidas de segurança e saúde do trabalhador. Sua implementação é legislada pela Norma Regulamentadora (NR) 09 do Ministério do Trabalho e Emprego para que sejam evitados riscos físicos, químicos e biológicos presentes no ambiente de trabalho. Trata-se de um programa de ações que deve ser planejado, monitorado e avaliado periodicamente para que seja eficaz. Segundo a NR-09, a estrutura mínima do documento consiste em: planejamento anual (metas, prioridades e cronograma de atividades), metodologia de ação descrita e as estratégias a serem utilizadas, com registros de divulgação dos dados monitorados, manutenção e forma de avaliação.

O PPRA deve ser elaborado uma vez ao ano e revisado sempre que houver alteração nos riscos a que o trabalhador estiver exposto no processo de produção laboratorial, na disposição de equipamentos ou no trânsito de colaboradores. A confecção deve ser realizada pelo do Serviço Especializado em Engenharia de Segurança em Medicina do Trabalho (SESMT) ou empresa terceirizada especializada.

As principais etapas de sua aplicação estão descritas a seguir.

1. Reconhecimento dos riscos:

- » **Identificação:** o levantamento visa aos agentes ambientais inerentes ao processo produtivo, seu potencial de dano e efeitos à saúde; as exposições ocupacionais (quais são os trabalhadores expostos e as atividades por eles realizadas nas áreas de trabalho) e os meios técnicos de controle dessas exposições; a determinação e a localização das possíveis fontes geradoras e vias de exposição;

- » Separação dos grupos homogêneos de exposição: através do levantamento de funções, caracterização das atividades, tempo de exposição, exposições ocupacionais e quantidade de trabalhadores expostos. Os trabalhadores são agrupados por critérios de exposição idêntica ou similar, conforme o julgamento técnico aplicável na higiene do trabalho.
2. Análise preliminar de risco: cuja finalidade é determinar as exposições e avaliar a existência de condições e graduação do risco como estratégia de estabelecimento de prioridades do programa:

$$\text{Risco} = \text{grau de exposição} \times \text{potencial de dano à saúde}$$

$$\text{Grau de exposição} = \text{tempo de exposição} \times \text{quantidade/intensidade}$$

3. Classificação dos tipos de riscos:
- » Classificação dos tempos de exposição;
 - » Classificação da quantidade/intensidade da exposição;
 - » Classificação da exposição resultante.
4. Avaliação dos riscos: o processo de avaliação de riscos, causados por perigos, considera a adequação de qualquer tipo de controle existente para decidir se os riscos identificados são ou não aceitáveis. A rotina para a identificação de perigos e avaliação de riscos deve levar em conta:
- » Atividades rotineiras, não rotineiras e de emergência;
 - » Atividades de todas as pessoas que têm acesso ao local de trabalho (incluindo contratados e visitantes);
 - » Comportamento humano, competência e outros fatores humanos;
 - » Identificação de perigos originados fora do local de trabalho, capazes de afetar a saúde e a segurança das pessoas sob o controle da organização;
 - » Perigos originados na vizinhança do local de trabalho, por atividades relacionadas ao trabalho, que estejam sob o controle da organização;
 - » Infraestrutura, equipamentos e materiais no local de trabalho, fornecidos pela organização ou por outros;
 - » Qualquer obrigação legal aplicável relacionada à avaliação de risco;
 - » *Layout* do local de trabalho, processos, instalações, maquinários/equipamentos, procedimentos operacionais e organização do trabalho.
- O risco é calculado por meio da multiplicação das notas de cada um dos seguintes critérios:

$$\text{Risco} = (\text{gravidade do dano}) \times (\text{ocorrência da atividade}) \times (\text{probabilidade de o dano vir a ocorrer}) \times (\text{comportamento humano}) \times (\text{interesse estratégico})$$

Deve-se considerar:

- » Risco não aceitável: é aquele cujo valor for maior ou igual ao limite definido. Neste caso, o responsável deve interditar a atividade, abrir um plano de ação corretiva, visando à redução dos riscos para níveis “aceitáveis com atenção (antes do retorno ao trabalho);
- » Risco aceitável com atenção: são os riscos cujos valores ficam na faixa intermediária de aceitação. Eles podem ser reduzidos através de medidas de controle

que estão estabelecidas. Para este nível de pontuação, é mandatório abrir uma ação preventiva;

- » Riscos aceitáveis: são aqueles cujo valor é inferior ao limite definido. Não requerem controles sobre a atividade para que esta seja realizada.
5. Medidas de controle: uma vez que na avaliação de riscos o limite de aceitação seja superado, após a classificação destes riscos, ou quando houver o estabelecimento de umnexo causal por avaliação medica, devem ser estabelecidas medidas de controle. Levando-se em consideração para a redução de risco:

- » Consciência dos riscos: medida na qual as avaliações de risco são realizadas e comunicadas, os materiais e procedimentos são revisados, as recomendações de medidas de contenção são implantadas, os procedimentos operacionais-padrão (POP) são desenvolvidos e comunicados;
- » Controle de materiais: inspeções para verificar se os requisitos de contenção por avaliação de risco são seguidos; se os materiais são rotulados e armazenados com segurança pela avaliação de risco; se o inventário de risco biológico está documentado, mantido e controlado; se a contenção secundária é usada para armazenamento e transporte de riscos biológicos;
- » Boas práticas e nível de ação: padronização e confiabilidade de processos, usar e manter equipamentos de proteção individual (EPI) e coletiva (EPC), de acordo com a avaliação de riscos e as recomendações dos fabricantes; instalação da sinalização de riscos; segregação e descarte de resíduos de risco biológico; a descontaminação deve ser rotineira e eficaz, com base na avaliação de riscos e práticas prudentes; comunicar e seguir os procedimentos de resposta a emergências (derramamentos, exposições pessoais, ferimentos);
- » Treinamento e habilitação dos colaboradores: por meio da educação, da conscientização e da motivação das pessoas para que os protocolos, a mentalidade de segurança seja instalada e as ações de todos sejam direcionadas para seguir os princípios prescritos de higiene pessoal e de SSO no laboratório.

A seguir, prepara-se um roteiro para a adoção das medidas de controle a fim de mitigar os riscos de SSO. As medidas de controle podem ser classificadas em:

- Medidas de eliminação (para eliminar a condição perigosa), de substituição/minimização (trocar um substancia perigosa por outra menos agressiva ou tentar reduzir a energia do processo, como voltagem, corrente elétrica, pressão, temperatura), mudança estrutural no ambiente de trabalho (engenharia), separação ou segregação, medidas de caráter administrativo e uso de EPI/EPC. Na hierarquia destas medidas, encontra-se no topo a eliminação como a forma mais robusta;
 - Outra classificação divide os controles em: controle de prevenção (aqueles que previnem as ocorrências de um evento indesejado) ou controle de recuperação (aqueles que atuam nas consequências do evento indesejado, na lesão ou doença).
6. Monitoramento e registro de dados: uma das principais práticas utilizadas para planejar, promover a melhoria contínua e tomar decisões no sistema de saúde e quanto à segurança do trabalho é o monitoramento das ações e medição do desempenho. O acompanhamento da implantação do PPRA visa a identificar como está o desempenho, com as medidas e verificação da conformidade de cada ação, seguida pela análise das informa-

ções, de acordo com as especificações contidas no documento. Se eventos não conformes ocorrerem, devem ser buscadas soluções para que, no decorrer do ano, as atividades programadas sejam cumpridas.

É importante dar atenção à confiabilidade da fonte de dados e definir claramente o tipo de indicador que está sendo medido. É preciso conceber medidas específicas, que possam ser rastreadas ao longo do tempo e que demonstrem claramente se as atividades estão se tornando mais seguras. A sensibilidade às operações permite que as pessoas identifiquem problemas precocemente, permitindo-lhes adotar medidas antes que estes ameacem a segurança. Diferentes serviços de medicina laboratorial utilizam variadas abordagens ao monitorar a segurança, sendo importante ajustar a organização à métrica. Para haver agilidade nas respostas às informações, é preciso repensar algumas das estruturas e processos que são aceitos como a base de uma organização segura.

A capacidade de antecipar e de responder é um elemento essencial das práticas seguras. A segurança requer a antecipação, a preparação e a capacidade de intervir para reduzir os riscos. Exige que os profissionais sejam encorajados a fazer questionamentos, mesmo quando tudo corre bem, e que lhes sejam dadas oportunidades de pensar nos possíveis problemas e riscos.

Periodicamente, devem ser avaliados os componentes da cultura de segurança porque está associada a taxas de acidentes e a diversos índices de segurança.

Um dos desafios em segurança é compreender a melhor maneira de integrar e ponderar as diversas fontes de dados que poderão lançar luz sobre as questões de segurança, a fim de priorizá-las de maneira efetiva. O processo final consiste em integrar as informações, analisá-las de forma significativa, extrair lições e, quando necessário, iniciar programas de melhoria.

7. Definição de responsabilidades: é importante haver uma política documentada, descrevendo responsabilidades, autoridade e inter-relação do pessoal que administra, desempenha e verifica as atividades que influem na SSO.

O responsável técnico responde pelo funcionamento do sistema de segurança do laboratório, cabendo a ele designar um colaborador para assumir a responsabilidade de coordenar, supervisionar a implantação do sistema de gestão de saúde e segurança do laboratório, bem como assessorar a direção nesses assuntos e criar grupo de multiplicadores em SSO.

O empoderamento e a delegação de responsabilidades são fundamentais para o desenvolvimento do comportamento seguro e do monitoramento de segurança. O pessoal do laboratório clínico deve zelar pela sua segurança, dos visitantes, dos clientes/pacientes/usuários e do meio ambiente. A equipe do laboratório deve ser treinada, compreender e ser alertada sobre os riscos potenciais associados ao trabalho, assim como para a imunização preventiva, de acordo com o programa de imunização preconizado pelas autoridades sanitárias. Ela deve identificar e registrar qualquer problema relativo à saúde e segurança no laboratório, sendo sua atribuição desencadear e participar efetivamente das ações corretivas e/ou preventivas para eventuais situações de risco identificadas.

A vigilância e o monitoramento das práticas de biossegurança são essenciais em qualquer programa de SSO dentro do laboratório clínico.

Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional

A NF-07 do Ministério do Trabalho e Emprego estabelece a obrigatoriedade de elaboração e implantação, por parte de todos os empregadores, do Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO), com o objetivo de promover e preservar a saúde do

conjunto dos seus trabalhadores. Esse programa deve contemplar: o reconhecimento e a avaliação dos riscos biológicos; a localização das áreas de risco; a relação contendo a identificação nominal dos trabalhadores, sua função, o local em que desempenham suas atividades e o risco a que estão expostos; a vigilância médica dos trabalhadores potencialmente expostos e o programa de vacinação.

Fazem parte do programa conjugar exames complementares (laboratoriais e de imagem, quando aplicável) com as avaliações médicas pré-admissionais, periódicas de promoção à saúde, de retorno ao trabalho (realizada obrigatoriamente no primeiro dia da volta ao trabalho de trabalhador ausente por período igual ou superior a 30 dias por motivo de doença ou acidente, de natureza ocupacional ou não, ou parto), de mudança de função (realizada antes da data da mudança) e avaliações no ato da demissão. O PCMSO tem caráter de prevenção, rastreamento e diagnóstico precoce dos agravos à saúde relacionados com o trabalho, inclusive de natureza subclínica, além da constatação da existência de casos de doenças profissionais ou danos irreversíveis à saúde dos trabalhadores.

Cabe ao empregado comunicar ao médico coordenador do PCMSO transferências permanentes ou temporárias de postos de trabalho, que tenham implicações de mudança de riscos dos trabalhadores; relatar os acidentes com material biológico para emissão de Comunicado de Acidente do Trabalho (CAT); não faltar às consultas periódicas; e guardar cópia do Atestado de Saúde Ocupacional (ASO) emitido.

O programa de imunização recomendado envolve vacinas protegendo contra: difteria, tétano, hepatites B e A, sarampo, caxumba, rubéola, varicela, influenza, tuberculose (BCG) e poliomielite.

MANUAL DE SEGURANÇA

É constituído pelo conjunto de POP de segurança para avaliar, prevenir e tratar os riscos existentes no laboratório. Envolve a identificação e o monitoramento dos riscos, descrevendo as melhores práticas no manuseio de substâncias químicas; como utilizar as fichas de segurança em produtos químicos; programa de higiene química; manuseio correto de materiais biológicos; descarte de materiais biológicos e produtos químicos; desinfecção, limpeza e descontaminação de equipamentos e superfícies; condutas em acidentes e/ou derramamentos de material biológico e produtos químicos; investigação de acidentes e doenças ocupacionais; programa de treinamentos.

Nas áreas de preparação, armazenamento, uso e transporte de produtos químicos, deve haver um *kit* de derramamento identificado e disponível, que contenha no mínimo: luvas de procedimento, avental impermeável, compressas absorventes, proteção respiratória, proteção ocular, sabão, recipiente identificado para recolhimento de resíduos e descrição do procedimento.

Importância da Norma Regulamentadora 32

No âmbito do Ministério do Trabalho e Emprego, foi lançada a NR-32, que tem a finalidade de estabelecer as diretrizes básicas para a implantação de medidas de proteção à segurança e à saúde dos trabalhadores dos serviços de saúde, bem como daqueles que exercem atividades de promoção e assistência à saúde em geral. Ela abrange as situações de exposição aos riscos para a saúde do profissional, a saber: dos riscos biológicos, dos riscos químicos e da radiação ionizante. Os eixos básicos da norma envolvem as obrigações do empregador, como capacitação contínua de colaboradores, exigência de imunização

e ações para a prevenção de acidentes com material biológico, risco químico e radiação. Outros aspectos também tratados são a questão dos resíduos, a alimentação em refeitório e a utilização de adornos.

No cenário brasileiro, é considerada de extrema importância como legislação federal específica que trata das questões de segurança e saúde no trabalho no setor da saúde. Elaborada especificamente para tal finalidade, as mudanças propostas pelos procedimentos e medidas protetoras são extremamente benéficas, devendo ser consideradas com vistas a promover a segurança no trabalho e a prevenção de acidentes e doenças ocupacionais. Trouxe como principais contribuições: o desenvolvimento da consciência sobre as diretrizes de proteção à saúde; promoveu a padronização em termos de EPI e EPC; introduziu o uso de materiais perfurocortantes com dispositivos de segurança; padronizou o descarte de materiais perfurocortantes sem reencapá-los; estimulou o uso de recipientes exclusivos, apoiados em suporte exclusivo e devidamente posicionado; trouxe uma redução do número de acidentes e de gastos com benefícios previdenciários concedidos nesses casos; promoveu a redução das alíquotas pagas pelas empresas de saúde do seguro contra acidentes do trabalho (SAT); diminuiu o risco de autuações trabalhistas aos laboratórios por infrações; estimulou os registros de acidentes do trabalho (CAT); aumentou a interlocução entre os hospitais; estimulou a fabricação no país de dispositivos e equipamentos de segurança; promoveu discussões e treinamentos sobre o assunto.

COMPORTAMENTO E CULTURA DA SEGURANÇA

A expressão “cultura da segurança” foi inicialmente introduzida pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) como resultado da primeira análise do acidente da usina nuclear de Chernobyl. Desde essa época, foram apresentadas diversas definições para ela, mas, segundo Gadd e Collins (2002), a mais abrangente foi a estabelecida pelo Advisory Committee on the Safety of Nuclear Installations (ACSNI):

A cultura de segurança de uma organização é o produto dos valores individuais e do grupo, atitudes, percepções, competências e padrões de comportamento que determinam o comprometimento, o estilo e a competência da gestão da saúde e de segurança de uma organização. Organizações com uma cultura de segurança positiva são caracterizadas por comunicações baseadas na confiança mútua, por percepções compartilhadas sobre a importância da segurança e pela confiança na eficácia nas medidas preventivas.

Segundo Simard (1998), o conceito da cultura da segurança compreende: valores, crenças e princípios que representam a base do sistema de gestão de segurança e uma série de comportamentos e práticas que ilustram e reforçam esses princípios básicos.

Papel das lideranças no processo de formação e manutenção da cultura de segurança e o impacto positivo no colaborador

Para Simard (1998), existe uma clara relação entre a evolução da cultura da segurança e o desempenho de segurança das organizações. Estudos comparativos de instituições que gozam de baixas taxas de acidentes e outras com frequência de acidentes superior à média demonstram que o compromisso pessoal da alta direção e das lideranças com segurança

traz a redução de acidentes. O envolvimento ativo da direção contribui para motivar tanto os diversos níveis da liderança quanto os funcionários ao mostrar a preocupação da direção com seu bem-estar. Simard (1998) afirma que:

Os resultados de numerosos estudos realizados mostram que um dos meios mais eficazes de difundir os valores humanos e a filosofia da Direção consiste em participar de atividades mais visíveis, como as inspeções de segurança e comitês com a participação dos funcionários.

Seguem alguns resultados obtidos em instituições que possuem o engajamento das lideranças no processo de implementação da cultura da segurança:

- O líder sente-se responsável pela integridade da sua equipe;
- Há valorização e reconhecimento público das equipes e dos funcionários que trabalham com segurança;
- A liderança fornece *feedback* aos funcionários sobre a segurança nas atividades realizadas;
- A liderança tem sua percepção de perigos desenvolvida e dá exemplos em prol da segurança, bloqueando a realização de atividades com riscos elevados;
- A liderança gerencia as ações de melhoria de segurança, garantindo a sua implementação e comunicando o andamento das ações aos funcionários;
- A liderança confia e valoriza as opiniões dos funcionários;
- A liderança reconhece colaboradores mais resistentes com relação à segurança e realiza trabalhos individualizados visando ao desenvolvimento da cultura da segurança.

A cultura da segurança fomenta entre os funcionários:

- O conceito de proteção mútua e sua difusão;
- O assunto segurança é considerado um tema comum entre as pessoas da equipe. Há trocas de informações sobre riscos elevados em processos, ações de controle para redução de riscos etc.;
- A análise periódica dos processos visando à identificação e ao controle de riscos elevados;
- A avaliação da condição do funcionário (psicológica, física) antes da realização dos serviços com riscos elevados.

OBSERVAÇÕES COMPORTAMENTAIS NO LABORATÓRIO CLÍNICO

A observação comportamental é uma ferramenta projetada para ajudar a incentivar práticas seguras de trabalho e desestimular atitudes de risco. Neste capítulo, a metodologia apresentada é a da observação comportamental com foco na segurança do funcionário. Tem como objetivos: transmissão do valor “segurança” aos funcionários pela liderança, gerando mudanças de comportamento; participação da liderança na coleta de dados e na análise dos resultados; identificação e tratamento de desvios de comportamento de segurança dos trabalhadores. Essa abordagem traz como resultados:

- O aumento do comprometimento das lideranças com a segurança e a melhoria da sua percepção dos riscos do laboratório;
- A valorização do tema segurança pelos funcionários;
- O monitoramento do comportamento dos funcionários do laboratório;
- Adequação do comportamento do funcionário às instruções de trabalho;
- Revisão dos processos e redução dos riscos ao funcionário.

Conceito – modelo ABC

Nesse modelo, entende-se que o comportamento é qualquer ato do funcionário que pode ser observado no laboratório. Ele é precedido e desencadeado pelos chamados “ativadores” que são fatos ou eventos que provocam ou determinam o comportamento de uma pessoa. A Figura 1 apresenta o modelo ABC de antecedentes/ativadores.

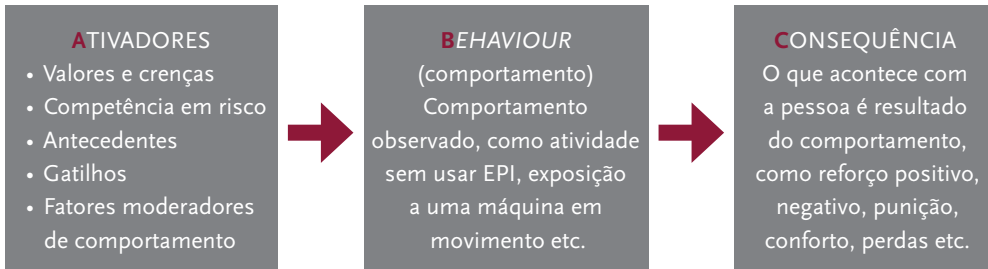


FIGURA 1 Modelo ABC: apresentado na mudança cultural orientada para o comportamento.

Fonte: adaptada de Human Engineering, 2005.

São exemplos de ativadores do laboratório clínico:

- Crença de que o funcionário não vai se ferir realizando uma coleta, pois isso nunca aconteceu;
- Uma placa de segurança que alerta sobre a necessidade do uso de EPI;
- Pressão para realização de uma análise de forma rápida, em função da necessidade do médico solicitante;
- Instabilidade emocional e cansaço.

Para que o funcionário do laboratório não sofra uma lesão (consequência), recomenda-se atuar nos ativadores, melhorando a percepção do perigo e reforçar os valores e as crenças, evitando-se a ocorrência de gatilhos que possam gerar comportamentos indesejados. Isso associado à observação dos comportamentos dos colaboradores, valorizando atitudes positivas e ajudando o desenvolvimento da sua percepção para a eliminação de comportamentos negativos.

Passos da observação comportamental

A observação comportamental no laboratório é realizada pelo “observador”, conforme um plano previamente definido (inclui coleta, áreas técnicas, atividades de apoio). Geralmente, ele é um líder ou pessoal do time de trabalho, devidamente qualificado na metodologia. Recomenda-se definir um número mínimo de observações comportamentais para cada observador por mês. Essa observação é realizada individualmente, enquanto o colaborador está trabalhando na rotina laboratorial. A observação comportamental é realizada nas etapas mostradas a seguir.

Abordagem

É o primeiro contato do observador com o observado. É fundamental que o funcionário tenha conhecimento de que o observador está realizando sua avaliação. O observador

apresenta os objetivos dessa rotina e explica o processo ao colaborador, demonstrando credibilidade, clareza e garantindo uma relação de confiança.

Observação

É a avaliação do comportamento do funcionário, com a análise do seu comportamento durante a realização das atividades no laboratório clínico. As observações são focadas e rigorosas, seguidas de *feedback* individual ou grupal. O observador registra evidências de acordo com a realidade do laboratório (papel ou eletrônico). O registro lista comportamentos críticos a serem observados. A Tabela 1 apresenta alguns exemplos.

TABELA 1 Exemplos de comportamentos críticos a serem observados na observação comportamental

Protocolo da clínica

- Conhecimento e atendimento ao protocolo

Higiene pessoal

- Uso de uniforme em boas condições e limpo

Equipamento de proteção individual (EPI)

- Proteção respiratória
- Proteção dos olhos

Movimentação e transporte

- Levantar/abaixar
 - Empurrar/puxar
-

Fonte: adaptada de Human Engineering, 2005.

Coleta de dados

Os dados são obtidos por meio dos diversos processos de observação, e os fatos são registrados. Comportamentos de risco e barreiras são identificados, registrados, analisados e, quando possível, resolvidos no momento, com a apresentação do problema e a concordância do colaborador e de seu supervisor.

Feedback

O observador tem a oportunidade de se conectar emocionalmente com o funcionário, fazendo perguntas e descobrindo crenças e valores relacionados com as dificuldades e resistências observadas. Essa fase permite:

- Comunicação ao funcionário do desempenho esperado, informando o padrão de segurança desejado pelo laboratório na execução da atividade;
- Modificação da percepção de risco através do auxílio da autoavaliação pelo funcionário;
- Identificação de barreiras e conflitos;
- Percepção do problema pelo funcionário, com a identificação de seus antecedentes e revisão da forma de atuação.

O sucesso do *feedback* está relacionado com as habilidades e técnicas de comunicação assertiva do observador. Uma conversa franca, transparente e confiável é a maneira

mais segura para gerar conhecimento, aprendizagem, conscientização e transformação de comportamentos de risco em comportamentos seguros.

Resultados

A partir do *feedback*, o observador obtém o comprometimento da mudança de comportamento pelo funcionário e registra a ação combinada no formulário. Os problemas identificados no processo que não puderam ser corrigidos, naquele momento, são registrados pelo observador e comunicados ao líder da área, para serem tratados de maneira gerencial, e aos profissionais da segurança do trabalho, para que as ações corretivas sejam monitoradas.

Os resultados das observações comportamentais são transformados em indicadores gerenciais, com metas preestabelecidas. No laboratório clínico, pode-se adotar os seguintes indicadores:

- Número de observações comportamentais realizadas/planejadas;
- Número de desvios registrados;
- Número de ações corretivas pendentes por área.

Os indicadores são calculados e apresentados mensalmente às lideranças para análise crítica e tomada de ação, quando necessário.

CONCLUSÕES

Cultura de segurança, no contexto de um laboratório clínico, refere-se ao engajamento proativo da equipe com os sistemas seguros, o gerenciamento de comportamento e o compromisso percebido da organização com a segurança, conforme expresso pelas percepções, habilidades e atitudes de seu pessoal.

Os dirigentes dos serviços de medicina laboratorial estão se tornando cada vez mais conscientes da importância de transformar e melhorar a cultura de segurança, mas para isso é necessário primeiro entendê-la. O seu desenvolvimento é um elemento central de muitos esforços para atingir práticas seguras nos laboratórios, utilizando-se abordagens integradas de promoção da saúde, com segurança e saúde ocupacional. Liderar é um desafio e um processo de delegação de poder, no qual empresas e trabalhadores aumentam tanto a vontade de colaborar, com um espírito participativo, quanto a capacidade de ouvir e se expressar, analisar problemas e criar consenso. Isso deve resultar em uma consciência de comunidade e eficácia pessoal. O comportamento seguro só se consolida no laboratório clínico mediante uma liderança comprometida, com comunicação bidirecional e fluente, por meio do envolvimento dos colaboradores, consolidando-se uma cultura de aprendizado e atitude em relação à culpa.

As práticas seguras na medicina laboratorial requerem avaliação dos riscos, planejamento, infraestrutura adequada, cumprimento de legislações aplicáveis, investimentos em treinamento e capacitação de colaboradores, provisão de recursos, padronização de condutas, supervisão e monitoramento adequados. Enfim, uma gestão responsável e cuidadosa é necessária para que maiores níveis de segurança sejam alcançados.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

ALVES JLL, MIRANDA JUNIOR LC. Mudança cultural orientada por comportamento. Rio de Janeiro: Qualitymark; 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR 14785:2001. Versão corrigida: 2002. Laboratório clínico – Requisitos de segurança. São Paulo: ABNT; 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO 15189:2015. Laboratórios clínicos – Requisitos de qualidade e competência. São Paulo: ABNT; 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT ISO 45001:2018. Sistemas de gestão de segurança e saúde ocupacional – Requisitos com orientação para uso. São Paulo: ABNT; 2018.

BAHIA. Secretaria da Saúde. Superintendência de Vigilância e Proteção da Saúde. Diretoria de Vigilância e Controle Sanitário. Manual de Biossegurança. Salvador: Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde; 2001.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Segurança e Medicina do Trabalho. Coleção Manuais da Legislação. 52. ed. São Paulo: Atlas; 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Biossegurança em saúde: prioridades e estratégias de ação/Ministério da Saúde, Organização Panamericana da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Classificação de risco dos agentes biológicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.

BRASIL. Norma Regulamentadora NR 07 – Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. Portaria MTb n. 3.214, de 08 de junho de 1978 (DOU 06/07/78).

BRASIL. Norma Regulamentadora NR 32 – Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde. Portaria MTE n. 485, de 11 de novembro de 2005 (DOU de 16/11/05 – Seção 1).

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 4. ed. Atlanta, US: Department of Health and Human Services; 1999.

EZZELE J, RODRIGUEZ-CHAVEZ IR, DARDEN JM, ET AL. Guidelines on good laboratory practice: bridging operations between research and clinical research laboratories. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;46(1):18-29.

GADD S, COLLINS AM. Safety culture: A review of the literature HSL/2002/25. Disponível em: <https://www.hse.gov.uk/research/hsl_pdf/2002/hsl02-25.pdf>. Acesso em: 18 maio 2020.

GULDENMUND F. The nature of safety culture: a review of theory and research. *Saf Sci.* 2000;34:215-57.

HUMAN ENGINEERING. A review of safety culture and safety climate literature for the development of the safety culture inspection toolkit. Bristol: HSE; 2005. Disponível em: <<https://www.hse.gov.uk/research/rrpdf/rr367.pdf>>. Acesso em: 18 maio 2020.

MARQUES MA, COSTA MA, SULDOSKI MT, COSTA GF. Biossegurança em laboratório clínico. Uma avaliação do conhecimento dos profissionais a respeito das normas de precauções universais. *Rev Bras Anal Clin.* 2010;42(4):283-6.

SILVA WL, RESENDE FA, CAMPOS LC. Biossegurança no laboratório de análises clínicas. *Revista Brasileira de Ciências da Vida.* 2017;5(1):1-20.

SIMARD M. Cultura y gestión de la seguridad. In: Saari J. *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo.* Madrid: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, subdirección general de publicaciones; 1998.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) – versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf> Acesso em: 15 maio 2020.

TEIXEIRA P, VALLE S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1996.

VINCENT C, BURNETT S, CARTHEY J. The measurement and monitoring of safety. 2013. Disponível em: <https://www.health.org.uk/sites/default/files/TheMeasurementAndMonitoringOfSafety_fullversion.pdf>. Acesso em: 18 maio 2020.

8 Princípios para organização do fluxo da automação no laboratório clínico

Luís Fernando Brüzzi Porto

The greatest enemy of knowledge is the illusion of knowledge.
(Stephen Hawking)

CENÁRIO

Ao longo das últimas décadas, uma única tendência tem perseverado na indústria de *healthcare*, há uma forte pressão para a redução dos custos que, aliada a diversos fatores, tem contribuído de maneira expressiva para a escassez de recursos no sistema de saúde. A perpetuação desse quadro produziu mudanças em todo o segmento, gerando um ambiente empresarial agressivo, no qual as empresas prestadoras de serviço são submetidas a uma pressão econômica sem precedentes.

Desse modo, as modificações experimentadas pelos laboratórios poderiam ser definidas como drásticas pelo caráter e pela amplitude das transformações em sua filosofia, tamanho, estrutura, bem como nas formas e nos mecanismos de remuneração. Os desafios experimentados na área apresentam-se de maneira constante, uma vez que não se limitam à conjuntura econômica e de mercado. Outras condicionantes também compõem a estrutura atual, como imposições regulatórias, dependência extrema de capacitação contínua, atualização do parque tecnológico embarcado e o fato de os insumos serem, em sua grande maioria, importados.

Além dos desafios citados anteriormente, o envelhecimento da população, as doenças crônicas, o uso indevido do sistema de saúde e a falta de cuidado coordenado entre as suas diferentes esferas compõem as novas dificuldades esperadas para o futuro. Dessa maneira, enquanto os obstáculos apresentados não forem superados, os sistemas de saúde continuarão a ser cobrados no atendimento a seus usuários. Por isso, a necessidade do desenvolvimento de um modelo inovador que reúna qualidade, sustentabilidade e ampliação do acesso.

Por fim, nas relações entre as empresas, os laboratórios são constantemente surpreendidos por uma cadeia de valor assimétrica e de alta competitividade. Por um lado, ela apresenta fornecedores fortes e consolidados, por outro, fontes pagadoras ávidas por obterem descontos em suas faturas e que dispõem de uma oferta desigual de prestadores de serviços, que possuem como objetivo máximo, o aumento de volume em suas rotinas.

Erros nos convidam a seguir por caminhos diferentes, desconhecidos, que talvez ninguém tenha percorrido antes.

(Carlos Domingos)

INTRODUÇÃO

A partir desse cenário, é possível observar que as transformações no modelo de negócios têm forçado grandes mudanças na estrutura organizacional e hierárquica das empresas do setor de medicina diagnóstica. Elas são obrigadas a promover renovações sistêmicas, compostas por melhores processos, maior gerenciamento e intenso envolvimento nas operações do dia a dia.

O período atual de transição para uma nova era, caracterizada por mudanças cada vez mais rápidas, exige a incorporação de uma tecnologia que deve estar aliada a abordagem, com base na organização dos mais diversos e amplos fluxos em automação laboratorial, explorando sua máxima capacidade de produção e *performance*. Dessa maneira, os impactos efetivos e eficientes gerados por uma nova mentalidade empresarial possibilitarão um ambiente de produção de baixo custo e de escala massiva, além de auxiliar as empresas na superação de novos obstáculos e aproveitamento de todas as oportunidades disfarçadas. Logo, eventuais erros e problemas poderão ser geridos e incorporados no momento em que inovações forem promovidas nesse ambiente desafiador da saúde, engendrado e complexo.

ESPECTRO DA AUTOMAÇÃO LABORATORIAL

Para Caragher (2017), a automação pode ser descrita como o processo no qual um instrumento realiza, de forma automática, tarefas antes realizadas manualmente pela equipe técnica.

Lato sensu, a automação pode também ser aplicada a um sem número de processos de negócio. Assim, por definição, o conceito de fluxos de trabalho ou *workflow* se aplica à sequência de passos ou etapas necessárias para automatizar processos de negócio de forma parcial ou total, nas quais as atividades sejam passadas de colaborador a colaborador, permitindo que sejam tomadas ações de acordo com regras definidas pela instituição.

A automação dos processos de negócio identifica as diversas atividades do macroprocesso, suas regras e procedimentos desdobrados, assim como os controles de dados e informações para seu gerenciamento. Em paralelo à evolução da automação, tem ocorrido o desenvolvimento de um número amplo de funcionalidades, todas com grandes impactos diretos nos fluxos de trabalho, auxiliando na sistematização das atividades e também produzindo a eliminação de gargalos, com consequentes melhorias na eficiência, permitindo assumir um caráter industrial de produção em massa.

ENTENDENDO OS PROCESSOS LABORATORIAIS

Os laboratórios têm incorporado as metodologias enxutas como forma de promover novas maneiras de trabalhar as dimensões que são reconhecidas como fundamentais: processos técnicos, processos de gerenciamento e processos envolvendo pessoas. Além disso, uma nova dimensão relacionada à coleta de dados, tecnologia de informação (TI) e conectividade surgirá como outro fator essencial de valor, e, em paralelo à utilização de novas tecnologias, permitirá análises mais avançadas e dará uma nova vantagem aos métodos estabelecidos, em termos de quantificação do alcance e impacto das mudanças.

Os processos de negócios englobam um conjunto de atividades interdependentes e que coletivamente atingem determinado objetivo. Atualmente, os ambientes empresariais se caracterizam por um conjunto de processos de negócios que precisam ser acompanhados para atingir as metas estabelecidas, o que se aplica aos laboratórios, cujos projetos de

operação são extremamente complexos, pois envolvem inúmeras atividades estruturadas que descrevem processos de informação sofisticados, além do caráter fabril que cada vez mais assumem.

Para serem sustentáveis, esses projetos dependem de bons atributos e precisam ser muito bem desenhados; portanto, é fundamental ter ferramentas e tecnologias que auxiliem na construção de projetos que atendam às necessidades de definição de atividades, coordenação da força de trabalho e dos processos fundamentais para qualquer estratégia que vise à otimização, contribuindo para um novo horizonte de ganhos de produtividade.

Thom (*apud* Mesquita, 2008) reforça a importância da integração efetiva das três fases que envolvem a operação de um laboratório para a realização de exames: pré-analítica, analítica e pós-analítica. Qualquer análise ampla e detalhada de todas as tarefas executadas deve ser orientada à identificação de atividades que não agreguem valor e gargalos potenciais e assinalar as respectivas propostas de melhorias necessárias.

Technology is a mean to an end, not an end by itself.
(Mark S. Lifshitz)

TECNOLOGIA

Embarcar em tecnologia pretendendo obter melhoria no desempenho e nos fluxos de trabalho pode ser uma armadilha, sendo importante considerar que a tecnologia é apenas uma ferramenta para auxiliar o alcance das metas; portanto, o sucesso de sua implantação dependerá da maneira como é conduzida.

Um processo de teste eficaz requer a integração de etapas pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas; assim, o entendimento dos ciclos e fluxos de um laboratório deve ser um pré-requisito fundamental para qualquer estratégia de otimização de desempenho. Entretanto, para sua implantação, há necessidade de investimentos em tecnologia, sendo uma tendência que desponta no ambiente das empresas, em que se agrega também ao aporte em tecnologia às práticas de gerenciamento de processos de negócios ou *business process management* (BPM).

A gestão dos processos, incluindo os processos de qualidade, envolve obrigatoriamente a presença da estratégia na ponta. Cada profissional deve conhecer e praticar em seu dia a dia os princípios que norteiam a estratégia: planejamento, análise, monitoramento e interação com indicadores, garantindo eficácia e efetividade operacional. Essa mudança no modelo mental se traduzirá na incorporação de um conjunto de conhecimentos gerenciais, habilidades e atitudes.

FERRAMENTAS E SOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Com o advento observado a partir da melhoria de programas de qualidade contínua e práticas em laboratórios clínicos, possibilitou-se a utilização de muitas informações e, com isso, o entendimento dos diversos processos existentes no laboratório. Essas informações, obtidas com técnicas como grupos de *brainstorming*, nos quais os membros contribuem de maneira sequencial com suas ideias de forma rápida e fluida (e sem críticas), são técnicas valiosas para determinar de forma sequencial como serão planejados e gerenciados os novos processos para se obter a maximização dos resultados.

Para desenhar uma estrutura organizacional com base em processos, é fundamental ter uma visão nítida e detalhada da realidade atual de forma fidedigna, por meio da coleta de dados e do mapeamento das atividades, das regras e dos relacionamentos que constituem tais processos.

Nessa linha, em meio a uma pletera de metodologias e ferramentas de qualidade, há os diagramas de Pareto, para a identificação da real significância dos dados coletados, o que realçaria os fatores responsáveis pelo maior número de defeitos em um processo, resultando dessa metodologia a clássica regra 80/20, ou seja, 80% das observações são atribuídas a apenas 20% das categorias observadas.

Metodologias como o diagrama de Ishikawa, bem como os gráficos de dispersão e cartas de controle, os quais também têm aplicabilidade e relevância em todas as etapas do ciclo analítico, são ferramentas básicas em termos de construção de conhecimento em qualquer instituição. Ressalte-se, particularmente, a importância dos conceitos divulgados por Deming (*apud* Mesquita, 2008), que desenvolveu alguns instrumentos para garantir os processos de trabalho e os produtos em organizações de setores primários da economia, relacionados ao ciclo *plan-do-check-act* (PDCA), poderosa metodologia utilizada como modelo de melhorias e cujo objetivo é testar mudanças no ambiente real de trabalho, possibilitando o planejamento, experimentando e observando os resultados, e atuando sobre o que é aprendido.

Contextualizando

Snyder (1998) definiu o modelo de estrutura para melhor entender e trabalhar as metodologias definidas pelo laboratório que visem a melhorias de fluxo, com base na construção de uma rede que englobe: criação de equipe correta; geração e registro das tarefas necessárias para completar o projeto; sequenciamento de todas as atividades que se baseiem em lógica de fluxo sequencial ou fluxos simultâneos; definição de prazos adequados para a finalização de cada passo ou tarefa propostos; agenda com etapas factíveis para a execução usando metodologia para definição do caminho crítico a ser percorrido; início e fim dos projetos com tempos mínimos e máximos para a conclusão; identificação dos tempos de folga das tarefas, bem como estimativa dos períodos totais; e, finalmente, a revisão sob a forma de diagramas e planilhas de toda a rede proposta nesse modelo.

Apropriando-se de outras experiências

O maior desafio de qualquer organização será sempre o de integrar pessoas, processos e tecnologia – a Toyota Motors se tornou uma referência não apenas por ter conseguido entender e vencer esse desafio, mas pelo fato de empregar os conceitos de produção enxuta, ou *lean*, que visam a aperfeiçoar os processos de produção para reduzir custos, aumentar a qualidade e o atendimento aos clientes.

Em sua experiência, a Toyota foi extremamente bem-sucedida na aplicação dessa metodologia à produção de veículos desde a década de 1950 e, a partir de então, seus conceitos têm sido usados em diversas áreas e negócios, sempre se baseando na melhor utilização e reconfiguração dos recursos e ativos materiais, e da força de trabalho com o intuito de melhorar o sistema operacional como um todo e reduzir os custos, ressaltando o envolvimento dos colaboradores, que, ao se alinharem aos valores e às metas da empresa, focam na criação e na entrega de valor aos olhos do cliente.

Colocando-se em perspectiva, a aplicação dos princípios de produção enxuta (*lean*) combinada à automação extensiva, mudou-se totalmente o ambiente de produção das empresas do setor.

Tendências como a Indústria 4.0 podem ser entendidas como uma abordagem *lean digital*, na qual há melhora da orientação do processo, com mais tecnologia, sensores, dados e análises avançadas, o que pode aumentar a capacidade de resolução de problemas e identificação de melhorias, resultando em soluções mais inteligentes com novos patamares de ganhos de produtividade. Esses avanços podem ser complementados com transparência ativada digitalmente em relação ao desempenho, e, nesse ambiente digital, os desvios de desempenho podem ser monitorados em tempo real e resolvidos imediatamente via *command center*, com auditorias, análises e simulação de dados.

Na prática, os fluxos de trabalho de um laboratório são constituídos por múltiplas variáveis inter-relacionadas, o que dificulta avaliar se cada uma das mudanças *per se* poderiam afetar outras. Avaliações detalhadas com os aplicativos utilizados para simulação deveriam idealmente também levar em consideração essas e outras variáveis, por exemplo: configurações dos equipamentos, *throughput*, plantas da instalação, turnos de trabalho, rotinas de manutenção, tempos de parada, distribuição e carga, incluindo as demandas de pico e vale, tipos de armazenamento, políticas de revisão e de repetições de testes.

A partir da coleta de dados de amostras e de um perfil de exames realista e consistente, com o objetivo de identificar rotinas e padrões, principalmente o comportamento em termos de volumetria e distribuição das amostras ao longo do dia, da semana e do mês, a análise de todos os tipos eventuais de gargalos será importante para a nova modelagem, também levando em consideração o diagnóstico dos padrões de funcionamento e os novos objetivos a serem alcançados com a incorporação de novas plataformas de automação.

Atualmente, existe a possibilidade de utilizar diversos sistemas de análise e de simulação de desempenho das plataformas de automação, como os oferecidos pelos principais fabricantes de mercado que auditam e analisam os padrões de distribuição das amostras retratados nos levantamentos anteriormente descritos, propondo soluções de automação e operação por meio do uso de seus produtos; apesar de serem muito úteis para auxílio também na tomada de decisão, já que se baseiam na análise das ferramentas de simulação, as quais permitem a avaliação da dinâmica global, desde a distribuição das amostras (recipientes) e testes, passando pelo *status* das rotinas de processamento do laboratório e custo-efetividade dos ensaios, pode-se destacar como única limitação o fato de avaliarem apenas seus próprios equipamentos.

Essas análises são importantes, independentemente de a decisão final ser favorável ou não a um fornecedor, e relacionadas de forma crítica ao fato de as informações que servirem como fonte (*log*) serem consistentes e robustas com as requeridas pelo fabricante, principalmente pela carga ou pelo volume de amostras e variedade de testes, incluindo todas as entradas ao longo dos períodos determinados para análises ao longo dos dias e horários, além de suas flutuações e momentos de estresse. A expectativa em termos de retorno de análises seria a produção de estudos de capacidade, com os mapeamentos e relatórios obtidos, permitindo, então, desenhar os melhores cenários e oportunidades de operação através da identificação de eventuais deficiências e atrasos existentes, buscando a melhor relação possível entre a demanda de movimento e a capacidade produtiva de cada plataforma.

Desse modo, em função da contribuição e do peso atribuídos a cada uma das variáveis, posteriormente a essas análises obtidas, a estruturação se fará em conjunto com as equipes envolvidas do laboratório para um melhor entendimento das vantagens de cada sistema quanto aos objetivos de redesenho proposto das rotinas e reorganização, com base em modelos alternativos de fluxos que sejam mais fluidos, quando comparados ao modelo da operação em vigor, além dos impactos nos custos decorrentes das mudanças nas equipes de trabalho e no *turnaround time* (TAT).

Integrando conceitos para intervenções

Segundo Lifshitz (2017), a melhoria da eficácia no desempenho se refere ao processo no qual os fluxos de trabalho, incluindo a arquitetura local, são integrados à tecnologia para produzir uma operação que atenda e dê suporte aos objetivos do laboratório, incluindo os financeiros, ou seja, existe uma relação bidirecional entre as tecnologias relacionadas e os processos de negócio mediados pelos fluxos de trabalho, os quais permeiam todas as pessoas da organização, conectando também, por meio de sua tecnologia, a sua cultura, bem como as áreas de produção, às áreas administrativas.

Com o emprego da tecnologia, as tarefas podem ser executadas por um ou vários aplicativos, por um ou mais colaboradores ou por uma combinação deles. Nesse ambiente de crescimento da utilização de programas de informática e digitalização, tendo como vocação o gerenciamento de fluxos de trabalho, garantindo que todos os passos de automatização de processos sejam executados da forma sequencial correta, há sinergia para atingir os patamares de aperfeiçoamento desenhados, que são os de simplificar, abreviar e conferir segurança às comunicações, além de melhorar a divisão das tarefas, contribuindo para a sua melhoria, entre outras.

Ao garantir a aderência aos fluxos corretores, há maior probabilidade de atingir os objetivos, sempre tendo como foco “fazer melhor por menos, ao menor custo possível”, levando-se em consideração o fato de que a otimização é um processo de caráter contínuo, que demanda acompanhamento sistemático, seja por meio de monitoramento de métricas adequadas propostas para esse fim, seja por meio de revisões e reavaliações programadas regularmente.

Abordagem dentro da óptica transdisciplinar

A transdisciplinaridade corresponde a uma abordagem científica que visa à fusão ou à unidade de conhecimentos de diferentes áreas, criando pontes e articulando elementos que permeiam e ultrapassam as disciplinas de maneira aberta e sem fronteiras. Um dos conceitos oriundos da engenharia, denominado engenharia de plataforma, corresponde à produção de grande variedade de produtos em poucas plataformas de produção, e tem sido muito bem apropriado também pelos ambientes laboratoriais. Desse modo, com a evolução e o desenvolvimento das soluções de automação – aliados a abordagens baseadas em processos de consolidação, integração e sistematização de todas as políticas –, procedimentos operacionais, métodos e equipamentos têm potencial de criar sinergias no seu emprego conceitual, aumentando a competitividade dos projetos que integram esses conceitos na área técnica de laboratórios.

A aplicação das diretrizes e dos conceitos de melhoria dos fluxos de trabalho na fase pré-analítica é capaz de gerar inúmeras possibilidades de renovação e melhorias de pro-

cessos, principalmente pela realização sistematizada e cadenciada de tarefas repetitivas e monótonas, pelo uso de plataformas de automação orientadas a tarefas ou *task targeted automation* (TTA), sendo possível, por exemplo, conseguir realizar a inspeção de 100% das amostras de soro – que representam o maior volume de qualquer laboratório –, segregando as amostras não conformes pela pesquisa da presença de níveis inadequados de hemólise, icterícia e turvação. Trazendo, assim, para a fase inicial, o processo de inspeção e evitando que haja esforço desnecessário na fase final do ciclo analítico para detectar problemas após a realização dos exames.

Esse tipo de desenho também reduz erros provenientes da necessidade de alíquotas e manipulação de amostras em função do uso de tubo único de coleta com volume reduzido por paciente, como economia de materiais de coleta e menor volume de sangue retirado dos pacientes, além de menor geração de resíduos.

Outra intervenção com base nos conceitos de otimização de fluxos de trabalho tem como exemplo a consolidação em área de soro, que é capaz de consolidar cerca de 70% dos exames de um laboratório de rotina convencional, permitindo que um grande número de testes passíveis de serem coletados em recipiente único de volume reduzido seja processado em um número menor de instrumentos analíticos automatizados. Além das vantagens de contar com menor quantitativo de plataformas de produção, capazes de processar maiores lotes com maior variedade de testes, existem outras, como menor impacto nos custos decorrentes, além de conseguir promover entregas com envolvimento mínimo de menor número de analistas, menor geração de resíduos, entre outras.

Esse pacote de operação, inicialmente utilizado em nossa experiência com a integração em área de soro, baseada em automação modular, vem sendo aperfeiçoado ao longo dos últimos anos com diversas configurações sendo adicionadas, e, dependendo do porte do laboratório, essa evolução da produção técnica poderá contar não apenas com a automação estruturada em plataformas baseadas nesse conceito de arquitetura modular, mas também com sua incorporação às plataformas orientadas a tarefas por meio de esteiras para a distribuição de amostras, nesse caso definida como automação total. Esses modelos facilitaram a integração não apenas de rotinas de diversos setores preexistentes, como bioquímica clínica, imunologia, hormônios, entre outros, sendo realizada sob uma lógica baseada em fuga do conceito de disciplinas, mas também associada ao processo de coordenação, compartilhamento de serviços em um só local, que, aliada ao processo de sistematização, favorece não somente a operação, mas também o treinamento cruzado das equipes como foco multitarefa, contribuindo com a redução primária de mão de obra.

You really can't design something without being fully immersed in the users' reality and experiences.
(Thomas Nilson)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A principal tarefa do gestor de saúde é a construção de uma equipe orgânica, que possa interagir e responder a ameaças e oportunidades do meio, comprometida com a forma científica de gestão e com um modelo mental que permita apoiar transformações organizacionais necessárias, incluindo novas abordagens de gerenciamento de *performance*, novas maneiras de trabalhar e novos recursos. Entretanto, além de questões como emprego de ferramentas e técnicas diversas anteriormente mencionadas para a melhoria dos fluxos

de trabalho, há também o desafio do uso da tecnologia e a sua utilização da forma mais adequada nos pontos onde for mais necessária.

Lifshitz (2017) destaca como pontos cruciais a importância da integração eficiente das fases pré-analítica, analítica e pós-analítica para que o processo de realização de exames seja eficiente, ressaltando a necessidade de uma melhor compreensão e entendimento da importância fundamental, por parte da organização, da adoção dos melhores fluxos de trabalho como condição obrigatória em qualquer estratégia da instituição que deseje se reinventar pela oportunidade (mesmo que de maneira revolucionária).

Portanto, nesse contexto globalizado de complexidade de mercado e seus respectivos atores, é de extrema importância que todos os recursos utilizados em um laboratório, como insumos e mão de obra, sejam aproveitados de modo racional, evitando desperdícios e mantendo sua capacidade competitiva. Outros fatores no campo técnico devem ser considerados, como volume e perfil de testes, possibilidade de mudança de tecnologias e plataformas de diferentes fornecedores, potencial de crescimento e escala.

Concluindo, para o sucesso de qualquer processo de tomada de decisão sobre compra, aluguel ou comodato de equipamentos de automação, não se impõem apenas avaliações de custo, mas, acima de tudo, busca-se o alinhamento à estratégia institucional, idealmente conceituada em um modelo de organização por fluxos e processos de trabalho otimizados, para em última análise, conseguir permanecer lucrativa e competitiva no atual ambiente de negócios global, que exige *driver* de melhoria contínua nos níveis de produtividade, qualidade, agilidade e de prestação de serviço.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BOYD JC, HAWKER CD. Automation in the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz text-book of clinical chemistry and molecular diagnosis. 5. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2012. p. 469-85.

CARAGHER TE, LIFSHITZ MS, DECRESCE R. Analysis: clinical laboratory automation. In: Bluth MH. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 23. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2017. p. 60-5.

DOMINGOS CA. Oportunidades disfarçadas na concorrência acirrada. In: Oportunidades disfarçadas 2. Rio de Janeiro: Sextante; 2019. p. 65-85.

LIFSHITZ MS, DECRESCE R. Optimizing laboratory flow and performance. In: Bluth MH. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 23. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2017. p. 11-9.

MESQUITA ET, RIBEIRO A, FERREIRA FE. Gestão médico-assistencial do corpo clínico. In: Silva HMS, Kaemmerer A, Schout D. Gestão do corpo clínico – experiência dos hospitais da ANAHP. Rio de Janeiro: ANAHP/Medbook; 2008. p. 205-9.

SNYDER JR, WILKINSON DS. Management in laboratory medicine. 3. ed. Philadelphia, New York: Lippincott; 1998. p. 35-59.

9 Medicina laboratorial inclusiva: cuidando de pacientes transgênero

Luisane Maria Falci Vieira

Eu sonho com um futuro ficcional no qual as mudanças de expressão de gênero não necessitarão de cirurgias, hormônios e nem causarão repulsa social – uma sociedade na qual todos poderão escolher sua forma de expressão como e quando quiserem...
(Solomon, 2013)

INTRODUÇÃO

As pessoas transgênero formam um conjunto que tem necessidades de cuidados com sua saúde bastante específicos. Uma das questões mais relatadas, como pacientes, é a do acolhimento. Por estarem sujeitas a atitudes discriminatórias, muitas vezes deixam de procurar assistência médica. Embora não haja estudos epidemiológicos sobre a prevalência dessa população no Brasil, a prevalência global de transexualidade com disforia de gênero tem sido estimada em 4,6 em cada 100 mil pessoas, sendo maior para as mulheres trans (6,8:100 mil) do que para os homens trans (2,6:100 mil).

No ano de 2019, após assistirmos a uma brilhante palestra da endocrinologista doutora Elaine Maria Frade Costa, fui desafiada pelo atual Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), Doutor Carlos Eduardo dos Santos Ferreira, a elaborarmos juntas um documento voltado para os laboratórios clínicos. Na época, sentíamos que essa população já era, há tempos, representada entre os clientes dos laboratórios clínicos, mas que não tínhamos reunido formalmente o conhecimento para abordá-la adequadamente, com raras exceções. Logo, o desafio se tornou uma tarefa maior, com a participação de outras sociedades médicas e de outros colegas médicos.

O documento “Posicionamento Conjunto – Medicina Diagnóstica inclusiva: cuidando de pacientes transgênero” foi finalmente lançado durante o Congresso da SBPC/ML, em setembro de 2019, sob os auspícios conjuntos da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) e do Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem (CBR). Este capítulo reúne os aspectos mais relevantes para os laboratórios clínicos. Os leitores ficam convidados a consultarem a íntegra do documento na Biblioteca Digital da SBPC/ML.

Observa-se, na prática, que tem havido um aumento na prevalência da transexualidade com disforia de gênero ao longo do tempo, e cada vez mais pessoas procuram auxílio clínico, seja para o tratamento hormonal, seja para solicitarem a cirurgia de adequação sexual, ou ambos. Idealmente, o acompanhamento de pessoas com incongruência de gênero ou pessoas transexuais e travestis deve ser feito no contexto de um

serviço especializado, multiprofissional e multidisciplinar. Contudo, todas as abordagens, clínicas ou cirúrgicas, voltadas para essa população necessitam do apoio da medicina laboratorial, foco deste capítulo, retirado em sua maior parte do posicionamento das sociedades médicas.

CONCEITOS E DEFINIÇÕES

Os indivíduos transgênero não se identificam com o sexo biológico, designado ao nascimento, e alguns deles buscam assistência médica para intervenções que visam a afirmar fenotipicamente o gênero de identidade. Essas intervenções incluem desde tratamentos estéticos e hormonais até cirurgias de adequação de gênero. É importante destacar que a terminologia “transgênero” abrange a transexualidade, a travestilidade e outras expressões identitárias e o eventual diagnóstico clínico não está diretamente relacionado aos recursos hormonais ou cirúrgicos utilizados para adequação ao fenótipo desejado. Recursos esses utilizados eventualmente para a promoção da saúde de pessoas transgênero que necessitam de tais mudanças corporais.

A nomenclatura para o espectro de identidades de gênero vem sofrendo mudanças ao longo dos anos. Vem ocorrendo uma evolução, no sentido de reduzir a estigmatização dessa condição clínica. No Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V), passou-se a utilizar o termo “disforia de gênero”.

No Código Internacional de Doenças (CID), na 11ª edição foi adotado o termo “incongruência de gênero”, incluído no capítulo 17, que se refere a condições relacionadas com a saúde sexual. Adicionalmente, caracterizou-se a incongruência de gênero em três diferentes CID, a saber:

- HA60: incongruência de gênero da adolescência ou do adulto;
- HA61: incongruência de gênero da infância; e
- HA6Z: incongruência de gênero inespecífica.

Apesar de haver questionamentos quanto à presença da incongruência de gênero como diagnóstico em um guia voltado para doenças, a existência desses códigos é considerada importante para permitir a sua abordagem epidemiológica e médica. As principais definições necessárias à abordagem da incongruência de gênero são:

- Afirmação do gênero: conjunto de medidas e tratamentos (em geral, incluindo hormonioterapia), que contribuem para o alinhamento físico das características atribuídas culturalmente à identidade de gênero;
- Bloqueio puberal: interrupção da produção de hormônios sexuais, impedindo o desenvolvimento de caracteres sexuais secundários do sexo biológico pelo uso de análogos de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH);
- Disforia de gênero: condição caracterizada por identificação forte e persistente com o gênero oposto; tais pessoas frequentemente acreditam que são vítimas de um acidente biológico e estão aprisionadas em um corpo incompatível com sua identidade de gênero subjetiva. A disforia infantil pode se manifestar a partir de 2 a 3 anos de idade;
- Expressão do gênero: maneira pela qual o indivíduo manifesta publicamente a sua identidade de gênero, por meio do nome, da vestimenta, do corte de cabelo, dos comportamentos, da voz e de características corporais e por meio da forma como interage com as demais pessoas;

- Gênero designado: ao nascer, cada pessoa recebe um gênero designado (masculino ou feminino) em função do fenótipo sexual. Sexo refere-se aos aspectos anatômicos, morfológicos e fisiológicos (genitália, cromossomos sexuais, hormônios) da espécie humana, ou seja, a categoria sexo é definida por aspectos biológicos: quando falamos em sexo, estamos nos referindo a sexo feminino e sexo masculino, ou a fêmeas e machos;
- Homem transgênero (trans): é alguém cujo sexo biológico designado ao nascimento era feminino, mas que se identifica e vive como alguém do gênero masculino em sua cultura;
- Hormonioterapia cruzada: forma de reposição hormonal, na qual os hormônios sexuais e outras medicações hormonais são administrados ao transgênero para feminização ou masculinização, de acordo com sua identidade de gênero;
- Identidade de gênero: refere-se à experiência de uma pessoa com o gênero com o qual se identifica. Pessoas transgênero têm uma identidade de gênero diferente do sexo designado no momento de seu nascimento. Uma pessoa transgênero ou trans pode identificar-se como homem, mulher, homem trans, mulher trans, como pessoa não binária, como gênero fluido ou inúmeros outros conceitos não binários;
- Incongruência de gênero: incongruência acentuada e persistente entre o gênero experimentado pelo indivíduo e aquele atribuído em seu nascimento. Mero comportamento variante e preferências pessoais não são uma base para o diagnóstico (OMS, CID-11);
- Indivíduo transgênero (trans): não se identifica com o sexo biológico com o qual nasceu, a chamada “incongruência de gênero”. Pode também apresentar disforia de gênero, desejando efetivar alterações corporais para aproximar o próprio corpo ao do gênero com o qual se identifica;
- Intersexualidade: em seres humanos, é qualquer variação de caracteres sexuais incluindo cromossomos, gônadas ou órgãos genitais que dificultam a identificação de um indivíduo como totalmente feminino ou masculino. Essa variação pode envolver ambiguidade genital, combinações de fatores genéticos e aparência e variações cromossômicas sexuais diferentes de XX para mulher e XY para homem. Pode incluir outras características de dimorfismo sexual, como aspecto da face, voz, membros, pelos e formato de partes do corpo;
- Mulher transgênero (trans): alguém cujo sexo biológico, designado ao nascimento, era masculino, mas que se identifica e vive como alguém do gênero feminino em sua cultura;
- Nome social (ou nome de preferência): nome escolhido pelo indivíduo para representar sua identidade e seu gênero. Os profissionais da saúde devem referir-se às pessoas usando os seus termos, pronomes, gêneros e nomes de preferência;
- Papel do gênero: expressão pública e objetiva da identidade de gênero e inclui tudo o que as pessoas dizem e fazem para indicar para si mesmas e para outros com qual gênero elas mais se identificam. Comportamentos que envolvem o papel do gênero pertencem a um espectro entre masculinidade e feminilidade tradicionais, com reconhecimento cultural crescente de que algumas pessoas não se encaixam – nem necessariamente querem ou precisam se encaixar – na dicotomia homem-mulher tradicional (binarismo de gênero);
- Redesignação do gênero: algumas pessoas transgênero desejam ter seu nome social e seu gênero de identificação legalmente reconhecidos e registrados nos documentos de

identidade oficiais. Muitas delas também alteram sua aparência física, incluindo a maneira de se vestir, de modo a afirmar ou expressar sua identidade de gênero. Algumas pessoas trans – embora não todas – se submetem a terapia hormonal e a cirurgias de redesignação do gênero;

- Redesignação sexual: a cirurgia de redesignação sexual (CRS) é o procedimento cirúrgico pelo qual as características sexuais/genitais de nascimento de um indivíduo são alteradas para aquelas associadas ao gênero com o qual ele se identifica. Pode ou não fazer parte da transição física de transexuais e transgêneros. Outros termos para CRS incluem: cirurgia de redesignação do gênero, cirurgia de confirmação do gênero e, mais recentemente, cirurgia de afirmação do sexo. Os termos “genitoplastia de feminilização” e “genitoplastia de masculinização” são mais usados na literatura médica em alguns países;
- Sexo: refere-se ao *status* biológico fenotípico e genético de uma pessoa: masculino (XY), feminino (XX) ou intersexo (portadores de ambiguidade genital ou hermafroditismo). Existem, ainda, condições genéticas que cursam com números anormais de cromossomos sexuais (p. ex., síndrome de Turner – cromossomo X parcial ou totalmente ausente – e síndrome de Klinefelter – 47, XXY);
- Transexualidade: pessoas com disforia de gênero podem ser “transexuais”, apresentando sintomas graves, perturbadores e de longa duração com forte desejo de mudar o corpo por meio médico ou cirúrgico para que seus corpos se alinhem mais estreitamente à sua identidade de gênero. Transexualidade parece ocorrer em cerca de 1 em 11.900 nascimentos do sexo masculino e 1 de 30.000 nascimentos do sexo feminino. Termo médico patologizante que consta do CID-10, em processo de obsolescência;
- Travesti: pessoa que expressa a travestilidade, que se manifesta em pessoas de gênero masculino designado ao nascimento, mas que objetivam a construção do feminino por meio de sua aparência, podendo ou não utilizar procedimentos estéticos e cirúrgicos. Em geral, aceitam a genitália de nascimento. A denominação travesti é anterior a transgênero e é bastante utilizada no Brasil. Algumas travestis não se reconhecem nem como homens nem como mulheres, mas como membros de um terceiro gênero ou de um não gênero.

REGULAMENTAÇÃO ATUAL DO CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA

As cirurgias de transgenitalização foram regularizadas no Brasil a partir de 1997, por meio da Resolução n. 1.482 do Conselho Federal de Medicina (CFM). Com o aprimoramento das técnicas cirúrgicas e a evolução dos protocolos terapêuticos, o CFM atualizou suas resoluções até a mais atual, n. 2.265/2019.

Em 2008, o Ministério da Saúde (MS) incorporou os procedimentos transgenitalizadores às mulheres transexuais ao Sistema Único de Saúde (SUS), por meio da Portaria n. 1.707/2008. Em 2013, o MS ampliou o Processo Transsexualizador do SUS através da Portaria n. 2.803, passando a contemplar as pessoas travestis e os homens transexuais nos serviços de saúde oferecidos.

No momento da publicação do documento sobre o posicionamento das sociedades médicas, vigia a Resolução CFM n. 1.955/2010. Em 9 de janeiro de 2020, foi publicada a Resolução CFM n. 2.265/2019, a qual prevê a ampliação do acesso ao atendimento a essa

população na rede pública e estabelece critérios para maior segurança na realização de procedimentos com hormonioterapia e cirurgias de adequação sexual. O texto resultou de um longo processo de discussão e análise, concluído após mais de 2 anos.

A Resolução n. 2.265/2019 reconhece a necessidade de atenção integral à saúde do transgênero, a qual deve garantir seu acesso, sem qualquer tipo de discriminação, aos serviços nos níveis das atenções básica, especializada e de urgência e emergência. O texto estabelece também que a assistência médica ao transgênero deve promover atenção integral e especializada nas fases de acolhimento, acompanhamento ambulatorial, hormonioterapia e procedimentos clínicos, cirúrgicos e pós-cirúrgicos.

Além de levar em consideração aspectos já previstos pela Política Nacional de Saúde Integral de Lésbicas, Gays, Bissexuais, Travestis e Transexuais (Portaria GM/MS n. 2.836/11) e pelos critérios para realização do Processo Transexualizador no SUS (Portaria GM/MS n. 2.803/13), ambos elaborados no âmbito do MS, espera-se que a Resolução do CFM contribua ainda mais para a qualificação do atendimento às pessoas com incongruência de gênero. Segundo o CFM, a afirmação de gênero é o procedimento terapêutico multidisciplinar que, por meio de hormonioterapia ou cirurgias, permite à pessoa adequar seu corpo à sua identidade de gênero. Pelo texto publicado no *Diário Oficial da União* (DOU), a pessoa com incongruência de gênero deve ser incorporada em um fluxo assistencial, resultando na aplicação da melhor abordagem e na indicação dos procedimentos necessários para cada caso.

Devem fazer parte dessa equipe psiquiatra, endocrinologista, ginecologista, urologista e cirurgião plástico, sem prejuízo de outras especialidades médicas que atendam às necessidades de cada caso, além de outros profissionais da saúde necessários às demandas do indivíduo. Em situações nas quais o paciente tiver menos de 18 anos, é exigida a presença do pediatra na equipe. O atendimento médico deve contar com anamnese, exame físico e psíquico completos, assim como com a identificação do paciente pelo seu nome social e de registro, incluindo sua identidade de gênero e sexo ao nascer. A depender da idade, as ações sugeridas devem envolver pais ou responsáveis legais de crianças ou adolescentes. Para este grupo, a assistência deve estar articulada com escolas e também com instituições de acolhimento. Entre os cuidados definidos, a Resolução proíbe a realização de procedimentos hormonais ou cirúrgicos em pessoas diagnosticadas como portadoras de transtornos mentais graves. Também se exige o conhecimento pelos pacientes de benefícios e riscos envolvidos no processo, como a possibilidade de esterilidade. Nesse sentido, qualquer procedimento deve ser iniciado apenas após assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido. No caso de menores de 18 anos, é necessária, ainda, a apresentação de um termo de assentimento.

Uma diferença importante entre a nova resolução (n. 2.265) e a anterior (n. 1.955) é que o texto atualizado contempla questões como a realização de bloqueio puberal, que é considerado ainda experimental [sujeito às regras de protocolos de pesquisa aprovados pelo sistema Comitê de Ética em Pesquisa/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CEP/Conep)], e de hormonioterapia cruzada, que antes não era prevista.

A Resolução CFM n. 2.265/2019 ressalta que o tratamento hormonal cruzado só pode ser iniciado a partir dos 16 anos. Cada paciente deve ser avaliado pela equipe multiprofissional envolvida no atendimento, pois o desenvolvimento se manifesta de modo diferente em cada criança ou adolescente. A partir dos 18 anos, a Resolução do CFM reitera que a

hormonioterapia cruzada deve ser prescrita por médico endocrinologista, ginecologista ou urologista, todos com conhecimento científico específico, com a finalidade de induzir características sexuais compatíveis com a identidade de gênero.

As doses dos hormônios sexuais a serem adotadas devem seguir os princípios da terapia de reposição hormonal para indivíduos hipogonádicos (com deficiência funcional das gônadas, que pode acarretar retardamento do crescimento e do desenvolvimento sexual), de acordo com o estágio puberal. Os hormônios utilizados são testosterona (para induzir o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários masculinos nos homens transexuais), estrogênio (para induzir o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários femininos nas mulheres transexuais e travestis) e antiandrogênio, que pode ser utilizado para atenuar o crescimento dos pelos corporais e as ereções espontâneas. O uso de estrógenos ou testosterona deve ser mantido ao longo da vida do indivíduo, monitorando-se os fatores de risco. Mais detalhes sobre o tratamento hormonal podem ser encontrados no Posicionamento das Sociedades Médicas.¹

Com relação aos procedimentos cirúrgicos de adequação para atender pessoas com incongruência de gênero, a Resolução n. 2.265/2019 estabelece que podem ser realizados apenas depois dos 18 anos de idade, sendo exigido que o candidato tenha sido submetido anteriormente a, no mínimo, 1 ano de acompanhamento por uma equipe multiprofissional e interdisciplinar.

MONITORAMENTO CLÍNICO-LABORATORIAL

O acompanhamento clínico e laboratorial dos pacientes em hormonioterapia deve ser realizado periodicamente, e o intervalo de tempo entre as avaliações ajustado às necessidades individuais de cada paciente, com o objetivo de acompanhar o desenvolvimento das características sexuais e identificar efeitos adversos, potencialmente relacionados ao uso hormonal, além da necessidade de modificações na terapêutica. Esse acompanhamento deve ser complementado com avaliações específicas para os indivíduos com outras morbidades. O protocolo de avaliação e monitoramento laboratorial dos pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Disforia de Gênero do HCFMUSP é descrito a seguir.

Mulheres trans

Para as mulheres trans, a avaliação laboratorial inicial consta de hemograma, função renal, eletrólitos, função hepática, glicemia de jejum, insulina, hemoglobina glicada (diabéticos ou pré-diabéticos), perfil lipídico, HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HCV, anti-HIV, VDRL, FTA-Abs, hormônio folículo-estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH), estradiol, testosterona total e prolactina. O seguimento semestral é realizado por meio das determinações de hemograma, função renal, eletrólitos, função hepática, glicemia de jejum, insulina, hemoglobina glicada (diabéticos ou pré-diabéticos), perfil lipídico, FSH, LH, estradiol, testosterona total e prolactina.

O rastreamento oncológico deve ser realizado por meio da avaliação urológica e dosagem de PSA (que deve ser anual depois dos 50 anos de idade, uma vez que a próstata é mantida mesmo após a cirurgia de adequação genital); mamografia/ultrassonografia das mamas, anualmente; e densitometria óssea bianual (realizar anualmente se presentes fatores de risco adicionais para osteoporose).

Homens trans

Para homens trans, a avaliação laboratorial inicial consta de hemograma, função renal, eletrólitos, função hepática, glicemia de jejum, insulina, hemoglobina glicada (diabéticos ou pré-diabéticos), perfil lipídico, HbsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HCV, anti-HIV, VDRL, FTA-Abs, LH, FSH, estradiol e testosterona total. O seguimento semestral é realizado por meio das determinações de hemograma (ou hematócrito), função renal, eletrólitos, função hepática, glicemia de jejum, insulina, hemoglobina glicada (diabéticos ou pré-diabéticos), perfil lipídico, FSH, LH, estradiol e testosterona total.

O rastreamento oncológico deve ser realizado em pacientes que apresentam comportamento de risco, por exemplo, relações sexuais com penetração, compartilhamento de acessórios etc. Pode ser indicada a ultrassonografia pélvica (que deve ser realizada bianualmente até a realização de histerectomia), colpocitologia oncótica (anualmente até a realização da histerectomia), mamografia/ultrassonografia de mamas (anualmente até a realização de mastectomia) e densitometria óssea bianualmente (realizar anualmente se houver fator de risco adicional para osteoporose).

ATENDIMENTO LABORATORIAL AOS PACIENTES TRANSGÊNERO

Fase pré-analítica: o atendimento ao paciente transgênero na recepção do laboratório

Considerando que o nome de registro civil de acordo com o sexo biológico (documento de identidade) pode ser discordante da identidade de gênero do paciente e que a pessoa transexual ou travesti tem o direito de requerer o uso do nome social a qualquer tempo, conforme o Decreto n. 8727, de 28 de abril de 2016, é imprescindível a adequação antecipada do laboratório clínico por meio da criação de um protocolo único de atendimento que contemple as necessidades e demandas do atendimento às pessoas trans. Todos os colaboradores de todos os setores do laboratório devem ser treinados adequadamente para que nenhum tipo de discriminação ou isolamento do indivíduo ocorra nas dependências do laboratório.

É imprescindível que o Sistema de Informações Laboratoriais (SIL) permita a opção de inserção do nome social (nome de preferência do paciente) sem, no entanto, excluir o nome de registro civil do cadastro, pois o paciente pode ter realizado exames laboratoriais anteriormente, e um novo cadastro dificulta a avaliação histórica. Embora ambos os nomes, social e de registro civil, devam constar do cadastro, para a finalidade de conferência da identidade e da filiação a um plano de saúde e para a identificação e rastreabilidade antes e depois da coleta de amostras, a utilização do nome social é mandatória em qualquer situação na qual haja interação com o paciente, e toda a equipe deve ser adequadamente treinada para adotar os vocativos e nomes de preferência dos pacientes.

Com relação à mudança da identidade civil, pessoas trans que desejam alterar o nome e gênero de registro em sua documentação de nascimento pelo nome e pela identidade de gênero autopercebidos podem procurar diretamente, sem a presença de advogado ou defensor público, qualquer cartório de Registro Civil de Pessoas Naturais (RCPN) do Brasil para fazer a mudança. De posse da nova identidade civil, o laboratório pode encerrar o cadastro anterior e abrir um novo compatível com as alterações realizadas, mantendo o CPF, por exemplo. É recomendável que o paciente realize previamente a mesma alteração junto ao seu plano de saúde, de modo a possibilitar compatibilidade quanto à autorização dos procedimentos.

Uma questão relevante para essa população é a possibilidade de escolher o ambiente sanitário adequado ao seu gênero de identificação. Vem sendo observada uma tendência global para a adoção de toaletes de gênero neutro e inclusivos com sinalização apropriada. Contudo, a legislação brasileira atualmente impõe aos laboratórios a adoção de sanitários separados para o público feminino e masculino, devidamente sinalizados nos postos de coleta. Uma sugestão possível é a adoção de uma placa com os dizeres “Use a toaleta de sua preferência” associada ao símbolo internacional em justaposição à sinalização tradicional (Figura 1).



FIGURA 1 Símbolo de neutralidade de gênero.

Fonte: <<https://thenounproject.com/icon/13777>>.

Fase analítica – monitoramento do tratamento hormonal

Os tratamentos voltados para a afirmação do gênero visam a alinhar as características físicas à identidade de gênero, para o qual são utilizados hormônios sexuais exógenos e antiandrógenos em hormonioterapia cruzada. Nesse caso, o apoio do laboratório clínico é fundamental para o acompanhamento da segurança e da efetividade da terapia hormonal.

No caso dos homens transgênero (homens trans), realizam-se principalmente as dosagens séricas da testosterona total, do LH e do FSH, e, no caso das mulheres transgênero (mulheres trans), as dosagens séricas de testosterona total, do estradiol total, prolactina, do LH e do FSH, todas elas regularmente, durante o tratamento hormonal, que se estende por toda a vida. Quanto às metodologias, existe espaço para a utilização dos imunoenaios quantitativos rotineiros em primeira linha, mas as dosagens por meio de métodos mais precisos e específicos, baseados em espectrometria de massa em *tandem*, vêm ganhando terreno, principalmente quando se esperam baixas concentrações dos hormônios, que são artificialmente suprimidos. Em adição, os pacientes podem necessitar de avaliações laboratoriais para alterações secundárias, como desequilíbrios metabólicos e eletrolíticos. E não deve ser esquecida a necessidade de monitoramento de outros riscos, comuns a todos, como os riscos de câncer e os cardiovasculares (Tabela 1).

TABELA 1 Testes laboratoriais

Analito/metodologia	Indicação
Dosagem de testosterona total – homens (cis ou trans)	
Imunoensaio quantitativo: metodologia quimioluminescente ou equivalente	Metodologia recomendada quando são esperados níveis elevados de testosterona, independentemente do sexo biológico designado ao nascimento Não apresenta bom desempenho para a dosagem em mulheres (cis ou trans) e em crianças
Dosagem de testosterona total de alta sensibilidade analítica: <ul style="list-style-type: none">• Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) quantitativa ou cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa em <i>tandem</i>	Indicada para nível baixo ou suprimido (crianças e mulheres, cis ou trans) Permite a determinação adequada de uma ampla gama de concentrações de testosterona e é especialmente útil quando se esperam níveis suprimidos ou muito baixos
Nota: as metodologias para dosagens hormonais de alta sensibilidade analítica ainda não estão amplamente difundidas e disponíveis no Brasil.	
Determinação de testosterona biodisponível	
Metodologia por cálculo Neste caso, há necessidade de dosagem de: <ul style="list-style-type: none">• Globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG) por imunoensaio eletroquimioluminescente quantitativo ou equivalente e• Albumina sérica (ou plasmática) por espectrofotometria quantitativa	Os níveis de testosterona biodisponível podem indicar melhor os efeitos da testosterona em pacientes com níveis baixos ou altos de proteínas, sendo especialmente indicados para a avaliação de pacientes com resposta ao tratamento com testosterona diferente do esperado
Dosagem de estradiol total	
Imunoensaio quantitativo: metodologia quimioluminescente ou equivalente	Possibilita a dosagem adequada de uma ampla gama de concentrações de estradiol total, especialmente em níveis fisiológicos
Dosagem de alta sensibilidade analítica: HPLC quantitativa acoplada ou cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa em <i>tandem</i>	Permite a dosagem adequada de uma ampla gama de concentrações de estradiol total, com detecção a partir de 2 pg/mL, sendo especialmente útil quando se esperam níveis baixos (ou suprimidos): crianças, homens (cis ou trans) e em mulheres pós-menopausa
Nota: as metodologias para dosagens hormonais de alta sensibilidade analítica ainda não estão amplamente difundidas e disponíveis no Brasil.	

(continua)

TABELA 1 Testes laboratoriais (*Continuação*)

Analito/metodologia	Indicação
Monitoramento dos efeitos da hormonioterapia	
<ul style="list-style-type: none">• Hematócrito e hemoglobina (hemograma automatizado ou equivalente)• Prolactina (imunoensaio quimioluminescente quantitativo ou equivalente)• Eletrólitos• Perfil lipídico• Hepatograma	<ul style="list-style-type: none">• Monitoramento dos efeitos hormonais na hematopoese• A prolactina deve ser monitorada periodicamente em mulheres trans em uso de estrógenos• Uso de diuréticos• Avaliação de risco cardiovascular

Fonte: SBPC/ML, 2019.

Homens trans adultos

A testosterona total (soro) deve ser dosada a cada 3 a 4 meses, e os seus níveis devem permanecer dentro do intervalo de referência para homens cisgênero (faixa fisiológica). O planejamento das dosagens depende do tipo de tratamento. No caso das dosagens de testosterona, é importante haver padronização consoante dos médicos solicitantes, mas a seguir são apresentadas orientações gerais.

Para as preparações de ésteres de testosterona injetáveis de longa ação, os valores-alvo vão de 400 a 700 ng/dL e a amostragem deve acontecer no intervalo médio entre as injeções; no nadir ou vale no caso daqueles de curta duração, 1 dia antes da próxima aplicação. Os intervalos de aplicação devem ser alargados sempre que os níveis de testosterona estiverem superiores a 400 ng/dL. Para as preparações transdérmicas de testosterona, as amostragens devem ser realizadas depois de mais de 7 dias de aplicação diária e contínua e pelo menos 2 horas depois da aplicação.

Mulheres trans adultas

A testosterona total (soro) e o estradiol (soro) devem ser dosados a cada 3 ou 4 meses. Os níveis de testosterona total devem permanecer dentro da faixa de normalidade para mulheres cis (inferiores a 50 ng/mL) e os níveis de estradiol total devem permanecer dentro da faixa de normalidade para a fase folicular do ciclo de mulheres cis (100 a 200 pg/mL). O método de dosagem por espectrometria de massa em *tandem* é preferível quando baixas concentrações são esperadas.

Os seguintes testes podem estar indicados, adicionalmente:

- Monitoramento dos eletrólitos séricos (particularmente, potássio) a cada 3 meses e, depois, anualmente, em indivíduos em uso de espironolactona (diurético);
- Determinações de hematócrito e de hemoglobina, níveis basais a cada 3 meses no primeiro ano, e, depois, anualmente;
- Acompanhamento regular do perfil lipídico e hepatograma;
- A prolactina deve ser acompanhada periodicamente em mulheres transgênero em uso de esteroides.

Fase pós-analítica: intervalos de referência e liberação de resultados

As metas do tratamento hormonal para afirmação do gênero visam a suprimir os esteroides sexuais endógenos e manter os esteroides sexuais terapêuticos em níveis fisiológicos para o gênero de identidade. Intervalos de referência específicos para pacientes transgênero ainda não estão estabelecidos, e nesse caso os intervalos de referência do sexo oposto/gênero de identidade devem ser usados como alvo inicial. Em qualquer caso, os resultados devem ser interpretados pelo médico-assistente, com cautela e tendo em vista o contexto de cada paciente.

Atualmente, a maioria dos laboratórios realiza o cadastramento do sexo biológico dos pacientes, de maneira geral, em sua forma binária: masculino ou feminino. Consideramos não ser conveniente perguntar a todos os homens e mulheres em nossas recepções se são “trans”, uma vez que esta pode ser uma informação que o paciente não deseja compartilhar publicamente. E, mais importante, em muitas situações e locais nos quais realizamos o cadastro dos pacientes a confidencialidade não é absoluta, pois o atendimento ocorre em áreas ou salas abertas. Cabe ao laboratório não revelar que uma pessoa é trans nem se referir a esse fato sem o seu consentimento expresso ou informado.

Idealmente, o formulário de cadastro deve conter a opção “nome social”, que pode ser preenchido por solicitação do paciente em resposta à pergunta “*Como prefere ser chamado(a)?*”. É importante reforçarmos que o nome social não substitui o nome civil do ponto de vista legal e para rastreabilidade das amostras e dos dados brutos.

De acordo com a demanda observada em serviços de referência para essa população, deveriam constar também no cadastro opções referente à identidade de gênero com a qual a pessoa se identifica: masculino, feminino, nenhum, ambos e “não deseja responder”. Para os laboratórios clínicos que atendem uma população geral, a questão das especificidades de gênero não é tão relevante e pode ser respeitada mediante o uso do nome social nas interações com o paciente e com a liberação de intervalos de referência adequados à avaliação da hormonioterapia. Com relação ao sexo biológico, é interessante mantermos o binarismo (masculino e feminino) em função dos diversos parâmetros biológicos que serão medidos e para os quais não temos até o momento intervalos de referência específicos para pessoas trans. Caso o laboratório adote outras opções não binárias para sexo ou gênero, deve definir a sua política para liberação de intervalos de referência desse grupo.

Para a finalidade de interpretação das dosagens hormonais, sugerimos que os laboratórios clínicos adotem laudos para testosterona total e estradiol total adequados a pacientes adultos de ambos os sexos, e o médico os interpretará de acordo com o gênero do paciente (cis ou trans). Devem constar no laudo a metodologia usada para a dosagem e, preferencialmente, informações sobre a sua sensibilidade analítica.

Exemplo 1

TESTOSTERONA TOTAL _____ XXXX,XX ng/dL

Método: Imunoensaio quantitativo por quimioluminescência

Intervalo de medição: 7,00 a 1.500,00 ng/dL

Homens adultos	Intervalos de referência	Unidades
< 50 anos	164,94-753,38	ng/dL
≥ 50 anos	86,49-788,22	

Observação: homens trans podem ter o valor-alvo para testosterona total estabelecido em coerência com a idade biológica dos homens cis ou definido pelo médico-assistente.

Mulheres adultas	Intervalos de referência	Unidades
Pré-menopausa	12,09-59,46	ng/dL
Pós-menopausa	< 7,00-48,93	

Observações:

- Mulheres trans podem ter o valor-alvo para testosterona total estabelecido em coerência com os níveis fisiológicos das mulheres cis ou definido pelo médico-assistente.
- Para melhor avaliação de níveis suprimidos da testosterona, pode ser indicada a realização de sua dosagem pela metodologia de espectrometria de massas.

Nota: as metodologias para dosagens hormonais de alta sensibilidade analítica ainda não estão amplamente difundidas e disponíveis no Brasil.

Exemplo 2

ESTRADIOL TOTAL _____ XXXX,XX ng/dL

Método: Imunoensaio quantitativo por quimioluminescência

Intervalo de medição: 7,00 a 1.500,00 ng/dL

Intervalos de referência	Unidades
Homens adultos	ND* – 39,8 pg/mL

Observações:

- Homens trans podem ter o valor-alvo para estradiol total estabelecido em coerência com os níveis fisiológicos dos homens cis ou definido pelo médico-assistente.
- Para melhor avaliação de níveis suprimidos de estradiol, pode ser indicada a realização de sua dosagem pela metodologia de espectrometria de massas.

* ND: não detectável por imunoensaio, podendo ser detectável por espectrometria de massas.

Nota: as metodologias para dosagens hormonais de alta sensibilidade analítica ainda não estão amplamente difundidas e disponíveis no Brasil.

(continua)

Exemplo 2 (Continuação)

Intervalos de referência		Unidades
Mulheres adultas pré-menopausa		
- Fase folicular (-12 a -4 dias)	19,5-144,2	
- Meio do ciclo	63,9-356,7	
- Fase lútea	55,8-214,2	pg/mL
Mulheres pós-menopausa (não tratadas) ND*-32,2		
Observações:		
- Mulheres trans podem ter o valor-alvo para estradiol total estabelecido em coerência com os níveis de mulheres cis ou definido pelo médico-assistente.		
* ND: não detectável por imunoensaio, podendo ser detectável por espectrometria de massas.		
Nota: as metodologias para dosagens hormonais de alta sensibilidade analítica ainda não estão amplamente difundidas e disponíveis no Brasil.		

No caso de pacientes pediátricos, os intervalos de referência habituais para o método podem ser informados sem nenhuma observação adicional, em razão da absoluta contraindicação de início de tratamento hormonal para afirmação de gênero nessa faixa etária.

MEDICAMENTOS

A Tabela 2 apresenta os princípios ativos e nomes comerciais dos principais medicamentos utilizados para o tratamento de pacientes transgênero. As informações nela constantes visam exclusivamente à sua utilização pelos laboratórios clínicos, mediante a informação dos medicamentos em uso pelo paciente, para a finalidade de correlação clínico-laboratorial.

TABELA 2 Principais medicamentos utilizados em pacientes transgênero

Medicamentos	Alguns nomes comerciais
Estrogênio oral	
Estradiol micronizado	Natifa® 1 mg Estrell® 1 mg
Valerato de estradiol	Primogyna® 1 e 2 mg Climene® – Valerato de estradiol 2 mg + acetato de ciproterona 2 mg
Estrogênio equino conjugado	Menoprin® 0,625 mg

(continua)

TABELA 2 Principais medicamentos utilizados em pacientes transgênero (*Continuação*)

Medicamentos	Alguns nomes comerciais
Estrogênio transdérmico (17-betaestradiol)	
Adesivo	Estradot® 25, 50 e 100 mcg
Gel	Oestrogel® Pump 0,6 mg Estrell® Sandrena® 0,5 e 1 mg
Intramuscular – cipionato de estradiol	Não disponível no Brasil
Antiandrogênicos	
Espironolactona	Aldactone® Diacqua® 25, 50 e 100 mg
Acetato de ciproterona	Androcur® 50 mg
Agonista do GnRH	Lupron® 3,75 mg SC/mês ou 11,25 mg SC a cada 3 meses
Finasterida	Proscar® 1 e 5 mg
Dutasterida	Avodart® 0,5 mg
Testosterona intramuscular	
Enantato ou cipionato de testosterona	Deposteron® 100 mg/mL – ampola de 200 mL
Ésteres mistos de testosterona	Durateston® 250 mg/mL
Undecilato de testosterona	Nebido®/Hormus® 250 mg/mL – ampola de 4 mL
Testosterona transdérmica	
Testosterona gel 1%	Androgel®

Fonte: SBPC/ML, 2019.

CONCLUSÃO

Em todas as partes do mundo, pessoas trans estão sob maior risco de sofrer violência, assédio e discriminação. Violações de direitos humanos vão de *bullying* e abuso verbal, negação de assistência médica, educação, trabalho e moradia até criminalização, prisão e detenção arbitrária e à violência, lesão corporal, tortura, estupro e assassinato. As palavras de abertura da *Declaração Universal dos Direitos Humanos* são inequívocas: “todos os seres humanos nascem livres e iguais em dignidade e direitos”.

A medicina desempenha um papel importante e humanista na promoção da saúde das pessoas que não se reconhecem no gênero designado ao nascimento. Alguns indivíduos trans buscam procedimentos de adequação ao gênero com o qual se identificam, incluindo intervenções cirúrgicas e tratamentos hormonais. Nem todos, porém, buscam tais me-

didadas e elas nunca devem ser um requisito para o reconhecimento da sua identidade de gênero. A medicina laboratorial, apesar de não ser protagonista no atendimento a pessoas com incongruência de gênero, viabiliza o acompanhamento da hormonioterapia e das condições de saúde das pessoas trans.

Agradeço aos colaboradores do “Posicionamento conjunto – Medicina Laboratorial inclusiva: cuidando de pacientes transgênero” por doarem seu conhecimento com extremos desprendimento e generosidade, os quais serviram de base para este capítulo.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

SBPC/ML, SBEM, CBR. Posicionamento conjunto – Medicina Laboratorial inclusiva: cuidando de pacientes transgênero. 2019. Disponível em: <<http://www.bibliotecasbpc.org.br/index.php?P=4&C=0.2>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

BRASIL. Decreto n. 8.727, de 28 de abril de 2016. Dispõe sobre o uso do nome social e o reconhecimento da identidade de gênero de pessoas travestis e transexuais no âmbito da administração pública federal direta, autárquica e fundacional. Brasília: Presidência da República, Secretaria-Geral, Subchefia para Assuntos Jurídicos; 2016.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA. Resolução CFM n. 2.265/2019, de 09 de janeiro de 2020. Dispõe sobre o cuidado específico à pessoa com incongruência de gênero ou transgênero e revoga a Resolução CFM n. 1.955/2010. Brasília: DOU; 2020.

ROCON PC, SODRE F, RODRIGUES A. Regulamentação da vida no processo transexualizador brasileiro: uma análise sobre a política pública. *Rev Katálysis*. 2016;19(2):260-9. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-49802016000200260&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 3 maio 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria n. 2.836, de 1º de dezembro de 2011. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), a Política Nacional de Saúde Integral de Lésbicas, Gays, Bissexuais, Travestis e Transexuais (Política Nacional de Saúde Integral LGBT). Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2836_01_12_2011.html>. Acesso em: 3 maio 2020.

ARUP LAB. Adult Transgender Laboratory Testing. Disponível em: <<https://arupconsult.com/content/adult-transgender-laboratory-testing>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

NAÇÕES UNIDAS, CONSELHO DE DIREITOS HUMANOS. Nascidos Livres e Iguais. Orientação Sexual e Identidade de Gênero no Regime Internacional de Direitos Humanos. 2013. Disponível em: <<https://www.unfe.org/pt-pt/>>. Acesso em: 3 maio 2020.

SOLOMON A. Longe da árvore: Pais, filhos e a busca da identidade. São Paulo: Companhia das Letras; 2013.

10 Farmacoeconomia: incorporação de novas tecnologias em saúde

Alvaro Pulchinelli Junior

POR QUE AVALIAR ECONOMICAMENTE?

Atualmente, vê-se um incremento acelerado nos custos relativos aos cuidados com a saúde. A “inflação médica”, termo cunhado para descrever esse aumento nos valores dos serviços e insumos ligados ao diagnóstico e tratamento das doenças, em muito supera a inflação de economia geral. Reflete a pressão que os sistemas de saúde sofrem em cobrir esses valores e seria mais bem descrito como “inflação da saúde”.

Contudo, limitações orçamentárias estão presentes, qualquer que seja a fonte financiadora. Isso resulta em um estado de constante tensão entre as partes envolvidas (financiadores, prestadores e beneficiários).

Desse cenário surge a necessidade de “provar valor” de um novo exame ou tratamento, pois, em um cenário de recurso escasso e limitado, uma nova proposta deve ser cientificamente de valor e, preferencialmente, economicamente de valor.

QUAL O OBJETIVO NA AVALIAÇÃO DE UMA NOVA TECNOLOGIA?

O objetivo deve ser bem claro: qual o melhor resultado que se pode obter com a nova tecnologia, ou seja, qual a melhor detecção do problema pode ser obtida levando-se em conta o tripé clínico, operacional e econômico.

AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação clínica começa quando se tenta responder a uma demanda específica de algum problema de saúde que pode ser avaliado, no escopo deste capítulo, por alguma prova laboratorial. Pode-se, então, pensar em como responder à pergunta: como um novo exame pode ajudar a diagnosticar ou tratar uma condição de saúde? Dando um exemplo, imagine a proposição de um novo exame – hemoglobina glicada – feito por *point-of-care test* (POCT). Pensa-se, então, em vários pontos que podem ser abordados: quais os pacientes que melhor se beneficiariam? Em qual cenário (ambulatório, domicílio, hospital)? Em qual estágio da doença? Tudo isso pode ser resumido em uma questão fundamental: qual o desfecho clínico esperado com o uso do teste? Essa pergunta deve ser o início de tudo, pois, quando bem elaborada, norteia todo o levantamento de literatura subsequente e firma o propósito para o qual o teste terá seu melhor desempenho clínico. Retomando o exemplo: suponha que o teste de hemoglobina glicada por POCT terá seu uso desenhado

para pacientes diabéticos em atenção primária, e o desfecho esperado será apresentarem menores comorbidades, como nefropatia ou internações. Esse desfecho clínico deve ser validado na literatura ou em estudo conduzido por pesquisa clínica. Os resultados serão medidos, então, pelos ganhos clínicos e econômicos, como tratado a seguir. Especial atenção nessa fase está no financiamento da condução do estudo (com seus aspectos éticos e legais) e na segurança do paciente.

Ao optar pela revisão de literatura, deve-se, após estabelecer a pergunta e os desfechos a serem analisados, realizar a seleção dos trabalhos. Nessa fase, é muito importante a presença na equipe de pessoas habituadas a fazer levantamento de dados de literatura. Os trabalhos selecionados devem ter boa acurácia e com o desfecho semelhante ao pretendido no estudo. Os trabalhos que têm maior relevância são os ensaios clínicos randomizados. Esses estudos têm seus objetivos focados em desfechos clínicos, de tal modo que trabalhos dedicados a exames diagnósticos ainda são poucos. Outra fonte de dados de alta relevância são as metanálises. O ideal é que os levantamentos dos trabalhos científicos possam suportar a realização de uma metanálise. Importante ressaltar que a metanálise, além de avaliar a decisão clínica, também dará subsídios para a elaboração de um modelo econômico que dará (ou não) aval de viabilidade financeira ao exame.

ASPECTOS OPERACIONAIS

Nessa fase, que ocorre de maneira ligada e subseqüente à avaliação dos aspectos clínicos, deve-se levar em consideração tudo que envolve o exame do ponto de vista técnico. Desde a avaliação de desempenho em si (sensibilidade, especificidade, VPP, VPN etc.), em relação ao padrão de referência diagnóstico, até aspectos de dificuldade de execução dos testes, estabilidade dos testes, robustez do equipamento, logística de fornecimento, disponibilidade de insumos e equipamentos etc.

Esses dois aspectos, clínico e operacional, são comumente fundidos em um único estudo ou parecer, de cunho técnico-científico.

CUSTO VERSUS CONSEQUÊNCIA

Após a realização do parecer técnico-científico, o exame deve ser avaliado pelo seu aspecto econômico, pois de pouco adianta um teste ter um ótimo desempenho clínico e extraordinária capacidade operacional se o sistema de saúde não consegue arcar com seus custos.

Nessa etapa, a primeira pergunta que deve ser feita é: quem paga pelo teste? No Brasil, há três fontes de financiamento possíveis e, dependendo da fonte principal, a análise financeira deve levar isso em consideração; são elas o setor público (SUS), o setor privado (planos de saúde) e, eventualmente, o próprio usuário. Cada um tem capacidade e fôlego de financiamento diferentes.

A segunda pergunta a ser feita é: quem se beneficia do exame? Indo além do óbvio da resposta – que é o paciente –, as fontes pagadoras (SUS e sistema privado) podem se beneficiar de uma nova tecnologia implantada em seu sistema. Voltando ao exemplo da hemoglobina glicada, sua implantação no ambulatório de atenção primária poderia reduzir o número de internações e comorbidades, o que, além de beneficiar o próprio paciente, também economizaria recursos do sistema como um todo. O racional de decisão está resumido na Tabela 1.

TABELA 1 Decisão de uso do teste

	Maior benefício	Menor benefício
Mais caro	Possível	Não
Mais barato	Sim	Possível

Fonte: elaborada pelo autor.

Depois de essa fase ser cumprida, o estudo então é desenhado conforme as duas perspectivas anteriores: estudo clínico para provar que um exame é melhor que outro, do ponto de vista clínico e econômico, comparando-se do ponto de vista financeiro. Quando não é possível fazer um estudo clínico, pode-se utilizar mecanismos de modelagem.

A modelagem consiste na extração de dados de fontes primárias (p. ex., prontuários) ou secundárias (p. ex., trabalhos científicos) e na construção de árvores de decisão, nas quais esses dados são ponderados e comparados entre si. A Figura 1 mostra de maneira resumida o exemplo do uso do POCT para hemoglobina glicada.

Portanto, a árvore de decisão permite ponderar e comparar benefícios (X *versus* Y) ou custos (A *versus* B).

Há quatro modelos de avaliação de custos que permitem avaliar as diversas intervenções:

1. Minimização de custos: no qual se calcula a redução direta de custos de uma intervenção *versus* a outra. Na árvore de decisão, seria a diferença entre A e B (A-B);
2. Custo-efetividade: no qual o cálculo, além dos aspectos monetários, os aspectos de resultados também são levados em conta. Na árvore de decisão, seria (A-B)/(X-Y);
3. Custo-benefício: nesse cálculo, o conceito leva em consideração a diferença líquida entre os benefícios comparados, descontados os custos. A fórmula seria: (A-B) – X – Y;
4. Custo-utilidade: nesse raciocínio, entram também os ganhos indiretos dos usuários. No caso do exemplo utilizado, ao usar o POCT, o paciente vai menos ao consultório e obtém seu resultado mais rápido. E, embora a monetização disso nem sempre seja fácil, a seguinte fórmula poderia ser utilizada: (A-B) – utilidade X – utilidade Y.

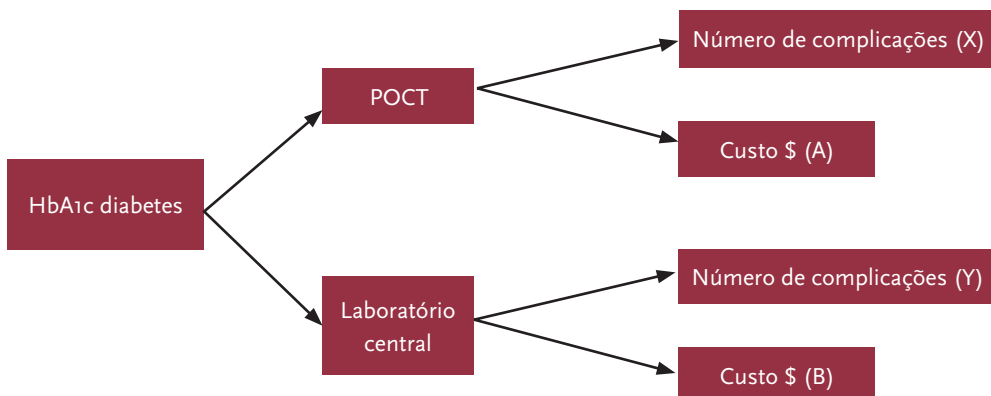


FIGURA 1 Uso de POCT para hemoglobina glicada (HbA1c).

Fonte: elaborada pelo autor.

ELABORAÇÃO DE PARECER FINAL

O parecer final tem por objetivo sugerir diretrizes clínicas de utilização da nova tecnologia. Essas diretrizes são então baseadas nas premissas discutidas neste capítulo, ou seja, apoiadas nas melhores evidências científicas obtidas na literatura ou comprovadas por estudos realizados nos cenários de uso propostos e nas condições de vida real, tendo desempenho operacional dentro dos padrões de qualidade e boas práticas de laboratório clínico e, por fim, com resultados econômicos que permitam a sustentabilidade financeira do sistema no qual a nova tecnologia será inserida.

Esse parecer final é, então, uma construção conjunta que sofreu a intervenção e sugestão de vários atores envolvidos no processo:

- Os laboratórios que realizarão os exames e comprovaram ser viável sua incorporação à rotina;
- Os clínicos que serão os prescritores do exame e usarão como suporte para a decisão os resultados obtidos;
- Os epidemiologistas que serviram de filtro orientador na condução da informação científica;
- Os pacientes que serão os beneficiados pelos ganhos do processo;
- Os pagadores que farão uma administração voltada ao desempenho e à perenidade do serviço.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

ACKERMAN SJ, SMITH MD, EHRETH J, ET AL. Investigação de desfechos de dispositivos diagnósticos e terapêuticos. São Paulo: International Society for Pharmacoeconomics e Outcomes Research (ISPOR); 2014.

BURNES EW, KAHN SE, YOUNG DSB. Introdução aos princípios de análise e segurança laboratorial. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz fundamentos de química clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

RODGERS SE, BAILEY R, JOHNSON R, ET AL. Health impact, and economic value, of meeting housing quality standards: a retrospective longitudinal data linkage study. Southampton, UK: NIHR Journals Library; 2018.

THOMPSON CW, OLIVEIRA ES, TILLEY S, ET AL. Impacts of environmental and social interventions designed to increase deprived communities' access to urban woodlands: a mixed-methods study. Southampton, UK: NIHR Journals Library; 2019.

INTRODUÇÃO

A disciplina de *marketing* vem ganhando cada vez mais visibilidade e importância na área da saúde, principalmente por ter afinidade e experiência em traduzir aquilo de que o mercado precisa, o que os clientes almejam e o que poderia ser ofertado pelas empresas. A principal função do *marketing* é lidar com os clientes. Entre seus objetivos centrais, estão a atração de novos clientes, cuja promessa é de valor superior ao da concorrência e a manutenção e cuidado dos clientes atuais por meio de sua satisfação. O *marketing* é essencial para todas as empresas, sejam elas com fins lucrativos ou não (p. ex., as igrejas que souberam explorar muito bem as frentes do *marketing* desde muitos anos atrás). Sob o ponto de vista de processos, o *marketing* contribui diretamente para a criação de valor aos clientes e a construção de fortes relacionamentos. A Figura 1 apresenta um modelo simplificado do processo de *marketing*.

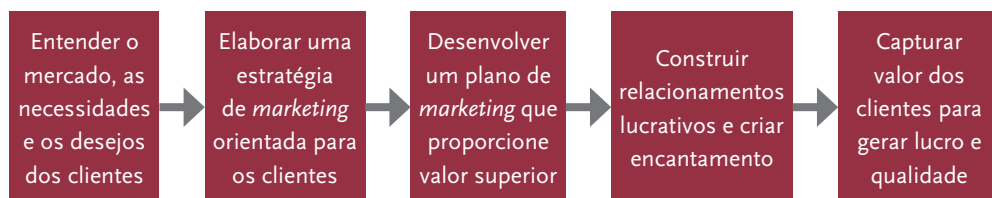


FIGURA 1 Modelo simplificado do processo de *marketing*.

Fonte: adaptada de Kotler e Armstrong, 2014.

Sob o ponto de vista estratégico, a partir do momento em que a empresa passa a entregar mais valor aos seus clientes, ela automaticamente gera maximização de valor também para os sócios.

O papel do *marketing* não é prever o futuro da empresa, mas sim preparar a empresa para prosperar em um futuro incerto. Como o próprio nome diz, *market* significa mercado e *ing* indica movimento, ou seja, o *marketing* representa o mercado em movimento.

Por essa razão, muitas empresas perceberam que manter essa área diretamente ligada à alta direção traz consistência ao planejamento estratégico adotado, ou seja, um bom planejamento se inicia com as diretrizes organizacionais (missão, visão, valores), e o propósito de existência da empresa em si passa pelo estabelecimento de objetivos e metas e

o desenvolvimento do portfólio de produtos e serviços ou diferentes negócios de atuação. No decorrer da implantação do planejamento estratégico, é fundamental que o *marketing* atue nos ajustes necessários, pois, quando algo mudar no mercado externo, será mais fácil e rápido adequar produtos e serviços. O *marketing* acaba sendo um guia para toda a empresa. Alguns autores chegam a dizer que o *marketing* é importante demais para ser delegado apenas aos profissionais de *marketing*.

Vale ressaltar que um dos aspectos que vem tornando essa disciplina mais presente no dia a dia das organizações da saúde está relacionado com o aumento da concorrência e com a necessidade de melhor tangibilizar o valor das ofertas disponíveis. Quanto mais competitivo for o ambiente externo, mais estruturação será exigida, também na área de *marketing*. O planejamento de *marketing* representa um grande avanço em termos de boas práticas e sustentabilidade, e seu escopo está descrito na Figura 2.

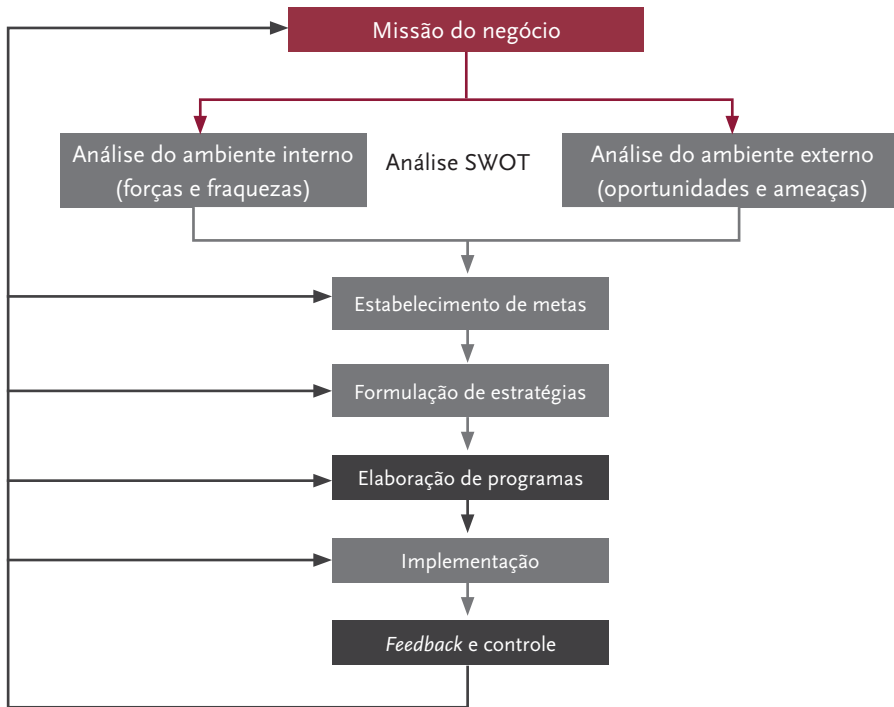


FIGURA 2 Escopo do planejamento de *marketing*.

Fonte: adaptada de Keller e Kotler, 2012.

O estabelecimento de um plano estratégico de *marketing* e vendas passa por diversas análises internas e externas, resultando em premissas mais seguras sobre como e quanto a empresa pode crescer. Um bom planejamento ajuda a empresa a responder a importantes perguntas, como:

- Qual será o potencial da nova receita?
- Quanto devemos direcionar para ações de *marketing* para atingir os objetivos determinados pela governança?

- Quais são as ações imediatas?
- Que indicadores de resultados podem ser aplicados?
- Como estabelecer o balanço ideal entre a captação e a fidelização de clientes?
- Como garantir que a essência da marca seja preservada?

Uma vez implantados os planejamentos, estratégico e de *marketing*, outras frentes de atuação e apoio podem ser requeridas ao setor de *marketing*, como descrito nos tópicos a seguir.

Determinar e recomendar em quais mercados a empresa pode permanecer ou entrar

Por ser uma área com visão externa, costuma agir como conselheira para que a alta direção possa tomar uma melhor decisão sempre pautada em pesquisas, coleta e análise de dados.

Identificar e selecionar os segmentos de mercado de atuação

É muito importante que a expansão da área de atuação da empresa ou o desenvolvimento de novos produtos e serviços levem em consideração o mercado-alvo composto por diferentes segmentos que a empresa pretende atender, os quais têm necessidades semelhantes, almejam benefícios similares e têm níveis de exigência parecidos. A segmentação pode ser feita da seguinte maneira:

- Segmentação geográfica: propõe dividir o mercado em unidades geográficas diferentes. A empresa pode operar em uma, algumas ou todas as regiões, mas sempre observando as diferenças de cada uma delas. Esse tipo favorece a entrega de serviços cada vez mais primorosos, uma vez que leva em consideração os aspectos ambientais de determinada região;
- Segmentação psicográfica: quando os compradores são divididos em diferentes grupos, com base no estilo de vida, na personalidade e na classe social, por exemplo;
- Segmentação demográfica: divide o mercado a partir dos dados demográficos, como idade, sexo, tamanho da família, ciclo de vida da família, renda, ocupação, formação educacional, religião, etnia e nacionalidade. Representa a segmentação mais comumente adotada em razão de as preferências e taxas de uso de um produto estarem associadas às variáveis demográficas;
- Segmentação comportamental: quando os consumidores são divididos em grupos, tomando-se por base seu conhecimento, atitude, uso ou resposta em relação a um produto ou serviço. Além disso, é possível subdividir essa modalidade em:
 - » Ocasião: quando os consumidores podem ser diferenciados de acordo com as ocasiões em que sentem uma necessidade, compram ou usam um produto (p. ex., viagens de férias/negócios/*checkup*);
 - » Benefícios: quando se classificam os compradores de acordo com os diferentes benefícios que buscam em um produto ou serviço (pasta de dente branqueadora, serviços de *concierge*, *drive-thru* e coleta);
 - » *Status* do usuário: quando o mercado é definido a partir dos usuários (p. ex., fiéis, experimentadores, perdidos etc.);
 - » Taxa de uso: quando o mercado é definido em função de grupos de pequenos, médios e grandes usuários;
 - » *Status* de lealdade: quando o padrão é a lealdade ao produto ou serviço e à empresa;
 - » Atitude: são citados, por exemplo, grupos de clientes entusiastas, otimistas, indiferentes, pessimistas e hostis.

DEFINIR O POSICIONAMENTO

Determinar qual o posicionamento a ser adotado em cada um dos segmentos de atuação ajuda a direcionar os colaboradores e os próprios clientes, deixando claro como a empresa gostaria que os clientes a enxergassem. Sua manutenção depende do correto entendimento sobre a concorrência e a manutenção quanto à proposta de valor, ou seja, quais os aspectos que a diferenciam.

Segmentação + diferenciação = posicionamento

Uma empresa pode se posicionar levando em consideração:

- Atributo: quando se quer evidenciar um benefício específico do produto ou serviço. Por exemplo, preço (o menor), qualidade (a maior), tecnologia (a mais avançada);
- Ocasão: quer indicar que o produto ou serviço é o melhor para determinado uso ou fim, podendo ser usado para tratar situações específicas, como “hospital exclusivo para maternidade” ou “laboratório exclusivo para testes genéticos” etc.;
- Preço: quando o nível de preço é o mote central, ou muito acima ou muito abaixo. Por exemplo: planos de saúde apenas para executivos, clínicas populares etc.;
- Usuário: grupo-alvo de usuários. Hoje existem planos de saúde exclusivos para pessoas acima de 60 anos;
- Categoria: geralmente utilizada quando uma empresa não é líder ou vice-líder de mercado e quer se sobressair em uma categoria específica na qual ela realmente detém a liderança. Na área de medicamentos, por exemplo, muitas indústrias acabam detendo grande parte do mercado em determinada linha de atuação, como em medicamentos para diabetes, por exemplo;
- Concorrente: quando se quer evidenciar que o produto ou serviço é melhor ou muito diferente que o do concorrente.

CRIAR E IMPLANTAR OFERTAS NO MERCADO

Os produtos ou serviços são criados e implantados no mercado a partir do estabelecimento correto do *mix* de *marketing*, ou seja:

- Produto/serviço: qual o produto em si e seus benefícios;
- Promoção: quais serão as diferentes formas de comunicar, persuadir e, na área da saúde, educar para um melhor entendimento e utilização;
- Distribuição: como os clientes terão acesso aos produtos/serviços, tanto em sua forma física ou até mesmo digital;
- Preço: qual será o preço atribuído para o cliente adquirir o produto/serviço.

Para o segmento de saúde, no qual prevalece a visão de prestação de serviço, o *mix* considerado acaba sendo mais amplo e leva em conta outros itens além dos citados anteriormente:

- Processo;
- Produtividade;
- Qualidade;
- Pessoas.

Com isso, o *marketing* ajuda a desmistificar como as pessoas tomam decisões e a criar uma experiência diferenciada mais assertiva.

GARANTIR APOIO ÀS OUTRAS ÁREAS DA EMPRESA

Além da diretoria, outros departamentos podem se beneficiar com um setor de *marketing* atuante, como mostrado na Tabela 1, que exemplifica essa contribuição em cada departamento.

TABELA 1 Contribuição do *marketing* por departamento

Departamento	Contribuição
Financeiro	Apoiar nas aquisições ou frear investimentos
Pesquisa e desenvolvimento	Propor alianças estratégicas
Comercial	Automatizar processos e tangibilizar ofertas
Qualidade	Traduzir o que é qualidade para o cliente
Técnico	Fomentar a incorporação de produtos e serviços
Tecnologia	Desenvolver relatórios e soluções específicas de acordo com a necessidade do cliente

Fonte: elaborada pela autora.

MONITORAR E CONTROLAR A EXECUÇÃO E O DESEMPENHO

Muitos dos objetivos estabelecidos pelo plano de *marketing* contemplam métricas de desempenho capazes de tornar mais tangível o resultado das campanhas propostas e automaticamente trazer insumos para ajustes necessários.

DOMINAR TECNOLOGIAS DE MARKETING

Em função da grande oferta de novas tecnologias digitais, que facilitam o alcance e o engajamento de clientes em qualquer hora e lugar, o *marketing* passou a desempenhar um papel extremamente participativo quando o assunto exige um melhor entendimento sobre as soluções disponíveis. Desse modo, o *marketing* se conecta com a tecnologia e as equipes de gestão para entregar campanhas mais competitivas e de alta experiência aos clientes. A tecnologia está acelerando a implantação e o gerenciamento do *marketing*, oferecendo a oportunidade ao *marketing* para criar produtos e serviços que as pessoas gostem, queiram compartilhar e possam acessar. Já a visão de processos sintetiza tudo isso, oferecendo elementos que se transformam em mais do que a soma das suas partes. E é justamente essa união que minimizará as barreiras entre a empresa e o consumidor, colocando-o no lugar certo – no centro de tudo (Figura 3).

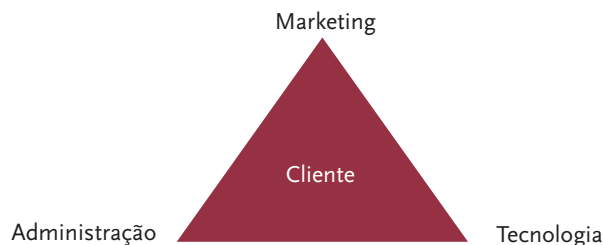


FIGURA 3 Configuração dos novos papéis assumidos pelo *marketing*.

Fonte: elaborada pela autora.

GARANTIR ÉTICA E RESPONSABILIDADE SOCIAL

Mais do que nunca, as empresas estão sendo pressionadas a revisitar sua atuação junto aos clientes, aos colaboradores e ao planeta em relação aos valores impostos e à responsabilidade perante a sociedade. Os consumidores estão cada vez mais céticos em gastar dinheiro naquilo que não acreditam, que pode ser traduzido em *commodities*.

Faz parte da atuação do *marketing* contribuir para que a empresa estabeleça ações socialmente responsáveis. Cabe às empresas e ao profissional de *marketing* estabelecer uma filosofia de comportamento socialmente responsável e ético. É preciso ultrapassar as barreiras do que é legal e permitido e desenvolver boas práticas atreladas à integridade pessoal, à consciência corporativa e ao bem-estar do consumidor em longo prazo.

Aqui, a ideia é reforçar o lado verdadeiro e humano do *marketing*, que não espera apenas resultados de curto prazo. Trata-se de ter alguém na empresa ajudando todos a criar confiança e conexão, ou seja, facilitando uma ponte emocional entre a empresa e o cliente. É ir além do B2B (empresa para empresa) e do B2C (empresa para cliente) e ser H2H (humano a humano).

RISCOS ASSOCIADOS À ÁREA DE MARKETING

Tendo em vista todas essas frentes de atuação, muitos profissionais de *marketing* acabam se frustrando com o espaço auferido para o desempenho de suas atividades, o que pode representar grandes riscos, tanto para o profissional, que precisa acompanhar a velocidade das mudanças e se manter atualizado, quanto a empresa, que necessita de informações seguras para tomar as decisões. Como o conhecimento não é cumulativo e a cada ano que passa os profissionais ficam com menos conhecimento acumulado, eles começam a ter dificuldade com a dinâmica acelerada e intensa das mudanças. Além disso, a barreira de entrada para trabalhar em *marketing* é praticamente inexistente, visto que qualquer profissional insatisfeito com a sua área pode migrar para *marketing* sem a necessidade de certificação, diferentemente de um advogado, engenheiro, psicólogo ou químico, por exemplo.

COMPETÊNCIAS ESSENCIAIS DE UM PROFISSIONAL DE MARKETING

Algumas empresas, por perceberem que a área de *marketing* é estratégica, têm adotado uma nova configuração no organograma. A Coca-Cola, nos Estados Unidos, por exemplo, substituiu o seu diretor de *marketing*, cuja função existia há mais de 30 anos, por um diretor de tecnologia da informação, que fica responsável por toda a informática, e um diretor de crescimento. Isso reforça a ideia de que um ambiente altamente complexo exige líderes que precisam ter uma compreensão ainda mais ampla sobre como engajar os clientes a partir da tecnologia e da inovação e, acima de tudo, saber medir os resultados desses investimentos. De qualquer maneira, independentemente do cargo, o papel do *marketing* passa a ser mais importante do que nunca.

CONCLUSÃO

Um bom *marketing* depende de pessoas, conhecimento atual e alinhamento com os objetivos e estratégias da empresa. Exige permissão, ou seja, é muito importante que os relacionamentos sejam pautados pelo que se chama de *opt in*, ou seja, as marcas precisam

solicitar a permissão para iniciar qualquer nova interação. E, muito antes de pensar em conquistar novos clientes, é fundamental criar e manter uma cultura que impulse o desempenho, aumente o entusiasmo para acelerar os níveis de engajamento e colabore com a melhoria da vida das pessoas. O *marketing* tem a capacidade de transformar o *status quo*, influenciar os mercados e engajar as tribos.

Para facilitar o engajamento do *marketing* com as outras áreas da empresa, vale a pena começar com as respostas às seguintes perguntas:

- Como o *marketing* ajudará a empresa a cumprir a sua estratégia de negócios?
- A empresa está corretamente alinhada e é capaz de ter sucesso no mercado de atuação escolhido?
- Quem são os clientes e quais são as suas necessidades e expectativas?
- Por que alguém deveria se importar? Qual valor único a empresa oferece?
- Como o mercado se divide em segmentos e em quais a empresa pode investir?
- Como comunicaremos o produto/serviço e como os diferenciaremos por tipo de cliente ou segmento individualmente?
- Qual é a jornada do cliente? Como será entendida e melhorada?
- Como os produtos/serviços da empresa serão encontrados nos lugares onde os clientes estão (*on-line* e *off-line*)?
- Como a empresa ativamente transmitirá a sua mensagem para as pessoas certas?
- Quais dados do *business intelligence* (BI) serão necessários para apoiar o *marketing* da empresa?
- Como será medida e melhorada a *performance* das ações de *marketing* implementadas?

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

CAMARINHA D. Dinâmica da cocriação de valor entre stakeholders: estudo de caso múltiplo na saúde. [dissertação de mestrado em Administração]. São Paulo: Universidade Nove de Julho (Uninove); 2010.

CAMARINHA D. Ferramentas de mídia no marketing laboratorial. In: SBPC/ML. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): inovação no laboratório clínico. São Paulo: Manole; 2019. p. 65-78.

BRINKER S. A grand view of marketing technology – a martech manifesto. Disponível em: <https://r5t-9g8c3.rocketcdn.me/wp-content/uploads/2018/11/Martech_Manifesto-Final_SinglesDigital_reduced.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2020.

CAPON N, SANTOS CFR. Gestão de marketing para executivos brasileiros. São Paulo: Saint Paul; 2018.

GATENBY N. Superengaged: How to transforme business performance by putting people and purpose first. Independently published; 2018.

GODIN S. This is marketing: you can't be seen until learn to see. New York: Portfolio; 2018.

HAMPER JR, BAUGH LS. Strategic market planning. Lincolnwood: NTC Business Book; 1996.

KELLER L, KOTLER P. Administração de marketing. São Paulo: Pearson; 2012.

KOTLER P, ARMSTRONG G. Princípios de marketing. São Paulo: Pearson; 2014.

LOVELOCK C, WIRTZ J, HEMZO MA. Marketing de serviços: processos, tecnologia e estratégia. São Paulo: Pearson; 2011.

12 Aplicação da estratégia *Team-Based Learning* no treinamento de equipes no laboratório

Ismar Venâncio Barbosa

INTRODUÇÃO

A Norma do Programa de Acreditação de Laboratório Clínicos (PALC), na versão de 2016, estabelece no capítulo 13 – “Gestão de pessoas”:

A Direção do laboratório ou seu responsável técnico tem a responsabilidade de: item c) oferecer programas de educação continuada para a equipe técnica e administrativa do laboratório e participar de programas educacionais da instituição a qual pertence, quando aplicável, e avaliar a eficácia do programa. Reavaliar periodicamente e realizar treinamento, quando necessário.

Atualmente, reter a atenção dos profissionais do laboratório nesse local exige inovação na didática de ensino. Assim, expor metodologias que reforcem o aprendizado é de extrema importância, e a metodologia ativa ou metodologias inovadoras enriquecem o trabalho do facilitador e a capacidade reflexiva do participante. As metodologias ativas são técnicas de aprendizagem que envolvem os profissionais como coautores de seu conhecimento.

Este capítulo é resultado da experiência de treinamento realizado com a equipe de hematologia de um laboratório de grande porte na cidade do Rio de Janeiro entre os meses de dezembro de 2018 e abril de 2019.

MATERIAL E MÉTODO

Uma das ferramentas utilizada foi a estratégia baseada em equipes, conhecida como *Team-Based Learning* (TBL), associada à ferramenta Socrative (<socrative.com>), para avaliação dos resultados dos treinamentos sugeridos, uma vez que, ao abrir uma sala no Socrative, os treinamentos, com perguntas sob diversas formas, como múltipla escolha, assertivas com possibilidades das escolhas “certo ou errado” ou perguntas fechadas, para serem respondidas pelos participantes, podem ser inseridos nessa plataforma. A plataforma permite salvar os treinamentos, que podem ser acessados quando necessário. Além disso, o treinamento se torna interativo, uma vez que os profissionais estarão na sua sala do Socrative acompanhando com o facilitador toda a dinâmica do treinamento.

A TBL foi criada no final dos anos 1970 por Larry Michaelsen com o objetivo de melhorar a aprendizagem e desenvolver habilidades de trabalho colaborativo por meio de estratégias, como o gerenciamento de equipes de aprendizagem, tarefas de preparação e aplicação de conceitos, *feedback* constante e avaliação entre os pares. O método apresenta três etapas

(Figura 1) e proporciona um ambiente motivador e cooperativo, contribuindo para minimizar o desinteresse dos estudantes pelo tema da aula, objetivando que se sintam responsáveis pela própria aprendizagem e pela dos colegas, por meio da interatividade.

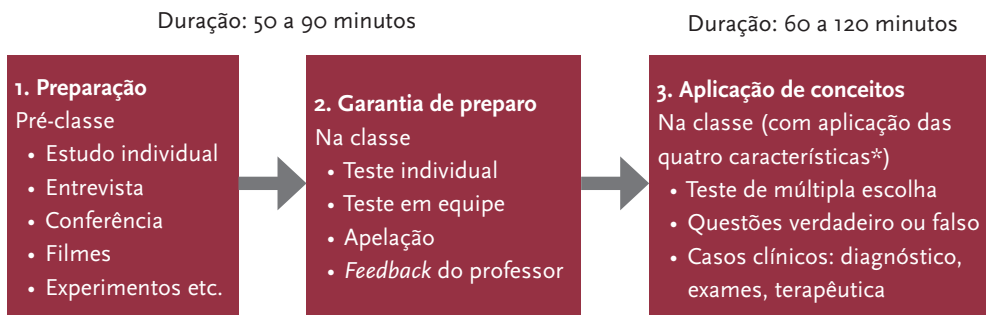


FIGURA 1 Etapas da *Team-Based Learning*.

* Problema significativo, mesmo problema, escolha específica, relatos simultâneos.

Fonte: adaptada de Bollela et al., 2014.

Durante os meses de dezembro de 2018 e janeiro a abril de 2019, foram propostos quatro temas para estudo: 1) “Indicadores e ferramentas da qualidade”; 2) “Especificação da qualidade analítica”; 3) “Uso do Six Sigma na avaliação de desempenho do controle interno da qualidade”; e 4) “Rotina inteligente (liberação automática de resultados)”. Primeiro, os participantes recebiam, via e-mail, um pequeno teste com 3 a 6 questões sobre o tema a ser abordado (*Readiness Assurance Test – RAT*), com a finalidade de avaliar conhecimentos prévios da equipe sobre os assuntos, mas realizado de maneira individual. Os testes eram respondidos e enviados para serem arquivados. Nova data era marcada para reunião com toda a equipe. O assessor médico atuou apenas como um facilitador para a aprendizagem, pontuando questões importantes e acrescentando informações relevantes ao que estava sendo discutido. Ao final da discussão de cada tema, os participantes ativavam seus celulares e acompanhavam as questões formuladas pelo facilitador com o uso da ferramenta Socrative. Os relatórios dessa ferramenta foram arquivados como evidência dos resultados obtidos pela equipe.

Foi realizada uma sessão de TBL para cada um dos quatro conteúdos propostos. Em média, cada sessão teve duração de 1 hora e meia, e, por se tratar de uma experiência ainda em implantação, o facilitador optou pelo preparo em conjunto dos conteúdos a serem trabalhados. Ainda no planejamento entre a equipe e o facilitador, optou-se por organizar a oferta de conteúdos por meio da metodologia escolhida e decidiu-se por consenso pela necessidade de orientar os estudantes sobre a utilização do método, o que inclusive é recomendado na literatura. Dessa maneira, inicialmente, foram ofertadas aos estudantes informações sobre a TBL, mostrando seus conceitos e características básicas, como suas fases e etapas e o sistema de avaliação, para oferecer uma visão geral dos recursos e benefícios dessa metodologia de ensino para os discentes envolvidos. Nessa aula inicial, também foi realizada uma importante etapa para a implantação da TBL, que consistiu na formação das equipes. Respeitando os preceitos do método, os estudantes foram dividi-

dos em grupos, de forma aleatória e equilibrada, procurando valorizar e incluir a diversidade na composição dos grupos, evitando-se, assim, o reforço de vínculos afetivos entre os membros (irmãos, namorados, amigos muito próximos), que são reconhecidamente capazes de dificultar o processo, além de promover a competição – que não é a proposta da atividade do TBL.

RESULTADOS

O aproveitamento nos testes prévios oscilou entre 60 e 100%. Nas reuniões para apresentação dos temas pela equipe de colaboradores, utilizando a ferramenta Socrative, com respostas inseridas nos celulares dos profissionais, após aberto o programa, o aproveitamento oscilou entre 80 e 100% (Figura 2). O último teste do grupo, realizado por meio de questões impressas de múltiplas escolhas, apresentou um aproveitamento entre 60 e 90%. Ao final da atividade, é possível salvar um relatório de aproveitamento por aluno no aplicativo Socrative.

É possível, ao final da discussão de vários temas usando a TBL, promover um painel integrado, em que se propõe a leitura integrada de um artigo ou caso clínico correlacionado aos temas discutidos com o intuito de fechar os assuntos e que pode ser feito, por exemplo, por meio da discussão de um caso clínico em que o nível dessa interação será realizado de acordo com a qualificação dos participantes (médicos, enfermeiros, biólogos etc.). Nessa atividade, o facilitador tem um papel mais efetivo nas críticas, comentários e perguntas para esclarecimentos de pontos importantes da discussão do caso proposto.

Name	Score (%)	1	2	3	4	5	6	7	8
Aline	100%	C	D	D	C	A	True	B	D
Edmilson souza	100%	C	D	D	C	A	True	B	D
Juliana	88%	D	D	D	C	A	True	B	D
Karine	100%	C	D	D	C	A	True	B	D
Monique	88%	C	B	D	C	A	True	B	D
Rogério Alves	88%	D	D	D	C	A	True	B	D
Class Total		67%	83%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

FIGURA 2 Imagem gerada pelo aplicativo Socrative.

Fonte: <<https://b.socrative.com/login/teacher/>>.

CONCLUSÃO

Assim, essa experiência e os resultados obtidos reforçaram a ideia de que as metodologias dos treinamentos usando a TBL como metodologia ativa contribuem para a inovação no método de aprendizagem no ensino superior.

Por meio desta pesquisa, conclui-se que é fundamental buscar novos métodos de abordagem no ensino tradicional e entender que a inovação pedagógica não está somente nas tecnologias, mas também na capacidade do facilitador em desenvolver novas habilidades de aprendizagem, uma vez que, abrindo a sala durante o treinamento, os participantes respondem às questões através do próprio celular. Isso é muito prático e o facilitador interage com os participantes durante o treinamento, cuja discussão do tema proposto é

realizada pelos participantes e o facilitador tem apenas a função de interagir com a equipe, acrescentando ou corrigindo informações.

Portanto, a TBL constitui-se em excelente ferramenta para o desenvolvimento e a aplicação de treinamento para as equipes de laboratório, uma vez que, além do trabalho individual, contribui para a troca de conhecimentos e estimula o estreitamento do relacionamento interpessoal, uma vez que os resultados são alcançados por toda equipe.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BOLLELA VR, SENGER MH, TOURINHO FSV, AMARAL E. Aprendizagem baseada em equipes: da teoria à prática. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2014;47(3):293-300.

KRUG RR, VIEIRA MSM, MACIEL MVA, ET AL. O “Bê-Á-Bá” da aprendizagem baseada em equipe. *Rev Bras Educ Med*. 2016;40(4):602-20.

BORGES TS, ALENCAR G. Metodologias ativas na promoção da formação crítica do estudante: o uso das metodologias ativas como recurso didático na formação crítica do estudante do ensino superior. *Revista Cairu*. 2014;3(4):119-43.

SOCRATIVE. Disponível em: <<https://b.socrative.com/login/teacher/>>. Acesso em: 18 abr. 2020.

ÁVILA R. Confira 10 exemplos de dashboards. Disponível em: <<https://blog.luz.vc/excel/confira-10-exemplos-de-dashboards/>>. Acesso em: 18 abr. 2020.

Aplicando conceitos *Lean* para melhorar o fluxo de trabalho do laboratório clínico

Fernando de Almeida Berlitz, Helida Patricia de Oliveira Silva, Claudio Ivan Suárez Sanchez, Justine Beirith Montalvão

LEAN: ORIGEM E DIFERENCIAIS

Você já se perguntou como a metodologia da Toyota, da década de 1940, que visa a otimizar operações,¹ poderia ser aplicada a um laboratório clínico dos dias atuais? Comparando uma planta automotiva a um laboratório de diagnóstico, ambos se esforçam para alinhar pessoas, processos, materiais e equipamentos em um fluxo de trabalho eficiente e eficaz. O *Lean* ajudou a indústria automobilística a otimizar seus processos, aumentando a velocidade, a produtividade, a eficiência e a qualidade, reduzindo custos e erros, por meio de um plano abrangente de transformação “enxuta”, um resultado que pode ser reproduzido nos laboratórios clínicos atuais.

A abordagem *Lean* poderia ser conceitualmente definida como uma abordagem estruturada e sistemática para medir e analisar operações, padronizar e melhorar continuamente os processos, eliminando a ineficiência e o desperdício para produzir o que o cliente deseja. Essa abordagem se caracteriza por:

- Maximização da velocidade dos processos;
- Disponibilização de ferramentas para análise do fluxo dos processos;
- Estratificação de atividades de acordo com sua capacidade de gerar valor, utilizando ferramentas para eliminar a causa-raiz das atividades sem agregação de valor;
- Quantificação e busca por eliminar o custo da complexidade nos processos.

PRINCÍPIOS DO PENSAMENTO LEAN

- Definir precisamente o valor de cada produto ou serviço na perspectiva do cliente, entregando produtos e serviços conforme requisitados por ele;
- Identificar o fluxo de valor para cada produto ou serviço, reduzindo ou eliminando as atividades sem agregação de valor;
- Permitir que o fluxo de geração de valor possa fluir sem interrupções;
- Permitir que o cliente possa puxar valor de quem o produz, viabilizando o alinhamento da operação da empresa com a demanda do cliente;
- Perseguir a perfeição. Perfeição é o desfecho idealizado pela abordagem *Lean*. Perfeição não significa somente qualidade, mas, sim, produzir exatamente o que o cliente deseja, exatamente quando ele necessita, a preço justo e com o menor desperdício possível.

LEAN: CONCEITOS FUNDAMENTAIS

- Valor: é o que o cliente deseja e solicita da organização, que deve ser percebido por ele no produto ou serviço recebido; tendo essa percepção de valor agregado, o cliente estará disposto a pagar pelo que recebeu e repetir a experiência. No escopo da medicina laboratorial, resultados corretos e fornecidos no momento certo geram percepção de valor na visão de médicos e pacientes;
- Atividades *versus* valor agregado: atividades do processo agregam valor quando podem ser diretamente relacionadas com o valor percebido pelos clientes nos produtos/serviços disponibilizados. No laboratório, por exemplo, a atividade de processamento da amostra no sistema analítico agrega valor quando realizada no momento e procedimento adequados, pois “transforma” a amostra biológica em resultados laboratoriais úteis para a tomada de decisão médica. Por sua vez, a mesma atividade de processamento analítico no equipamento, caso exista a necessidade de repetição por falhas no processo ou analisador, passa a não mais agregar valor, visto que é um retrabalho, entendido como desperdício na visão *Lean*; atividades sem agregação de valor devem ser minimizadas ou eliminadas dos processos, pois geram atrasos, custos desnecessários e não atendem às necessidades dos clientes;
- *Kaizen*: termo japonês que significa “fazer melhor”;² no ambiente empresarial, é utilizado para designar o processo de melhoria contínua nos processos. *Kaizen* é a base conceitual para a implementação dos princípios *Lean* na cultura e na gestão das organizações;
- Métricas *Lean*: são medidas de desempenho da operação da empresa sob a perspectiva *Lean*, isto é, focando em aspectos relacionados com a eficiência dos processos (tempo, velocidade, uso de recursos etc.) e com a geração de valor. Essas medidas podem ser utilizadas na identificação de metas a serem atingidas em projetos de melhoria e na verificação do atingimento dessas metas ao final desses projetos.³ Entre as métricas *Lean* mais utilizadas, estão: tempo de ciclo; *lead time*; *takt time*; tempo de agregação de valor etc. No laboratório clínico, entre as métricas alinhadas ao escopo *Lean*, pode-se citar o *turnaround time* (TAT – tempo de resposta ou tempo total de processo), constitui-se como uma das métricas mais utilizadas para avaliar a eficiência, visando a atender à solicitação médica.

LEAN: REFERÊNCIAS NA LITERATURA

O impacto potencial do *Lean* nas organizações de saúde motivou os laboratórios a desenvolverem projetos, buscando a eficiência necessária para “fazer mais com menos”, considerando o contexto de aumento da pressão de custos.

A aplicação do *Lean* pode se dar em um nível de cadeia de valor ou em um segmento dela. Melanson e colaboradores⁴ aplicaram conceitos “enxutos” à fase pré-analítica. A identificação e a remoção de desperdícios contribuíram para uma redução significativa do tempo médio de espera do paciente, de 21 para 5 minutos, associado a um processo consistente, com tempo de coleta inferior a 10 minutos para 90% dos pacientes atendidos.

Persoon e colaboradores⁵ reportaram uma melhoria no TAT aplicando *Lean* na área pré-analítica, eliminando processos redundantes e sem agregação de valor, contribuindo

para a obtenção de um fluxo contínuo. O processo pré-analítico redesenhado apresentou menor número de etapas e utilizou o conceito de *single-piece flow*, isto é, a movimentação das amostras dentro e entre os processos é realizada individualmente, sem bateladas e esperas. A partir dessa melhoria, foi identificada uma redução na mediana do tempo pré-analítico de 29 para 19 minutos, viabilizando que cerca de 80% dos resultados de bioquímica pudessem ser liberados com um TAT inferior a 1 hora, conforme a meta projetada.

No caso relatado por Rutledge e colaboradores,⁶ a abordagem *Lean* foi aplicada ao escopo integral das operações do laboratório central. Diversas iniciativas com conceito *Lean* foram implementadas, como: identificação e eliminação de desperdícios; reestruturação da área física; criação de células de trabalho; uso de controles visuais; promoção de fluxo contínuo; padronização do trabalho. Os resultados operacionais positivos desse processo de melhoria foram tangibilizados por: redução do TAT, mesmo com um aumento de 20% na demanda; menor variabilidade do TAT; melhor utilização do espaço físico disponível (25% de ganho); melhoria na eficiência e produtividade da equipe em 20,3%. Como consequência dessa otimização de desempenho, suprimiram a estratificação de amostras de emergência, pois todos os resultados passaram a ser disponibilizados em menos de 1 hora.

APLICAÇÃO DO PROJETO LEAN NO LABORATÓRIO: PLANEJAMENTO

A aplicação da abordagem *Lean* pode ser uma ação isolada com foco em determinado processo/área específica; entretanto, os resultados tendem a ser mais consistentes e relevantes se as iniciativas de melhoria *Lean* estiverem alinhadas em um contexto organizacional mais amplo, por meio de um programa de melhoria contínua estruturado e alinhado estrategicamente. Na Tabela 1, está listada uma sequência de passos que podem ser utilizados como referência para a estruturação de um programa de melhoria *Lean* nos laboratórios clínicos.

TABELA 1 Passo a passo para a estruturação de um programa *Lean* em laboratórios clínicos

Etapa	Atividades principais
Alinhamento estratégico e definição de objetivos	Definir macro-objetivos a serem atingidos, alinhados com a visão, a missão e os valores, e o planejamento estratégico. Os objetivos devem estar alinhados aos principais requisitos para a competitividade e suas principais partes interessadas, especialmente pacientes e médicos
Planejamento do programa <i>Lean</i>	Estruturar a iniciativa <i>Lean</i> como um programa organizacional, definindo estratégias de implantação, recursos necessários, responsabilidades e principais metas com os respectivos prazos
Cultura <i>Lean</i>	Definir as estratégias que serão implementadas para aculturar e empoderar metodologicamente os profissionais para utilizar a abordagem <i>Lean</i> . Definir se essas ações serão desenvolvidas internamente ou com apoio externo, e como essa evolução será monitorada

(continua)

TABELA 1 Passo a passo para a estruturação de um programa Lean em laboratórios clínicos (*Continuação*)

Etapa	Atividades principais
Desdobramento e priorização	<p>Definir como será desdobrado dentro do laboratório, estabelecendo quais áreas e processos devem ser priorizados visando a atingir com efetividade e rapidez os objetivos pretendidos. Diferentes abordagens e ferramentas podem ser utilizadas:</p> <ul style="list-style-type: none">• Matrizes de priorização: (a) matriz GUT (gravidade, urgência e tendência); (b) matriz modelo BÁSICO (benefícios, abrangência, satisfação, investimento, cliente-impacto, operacionalidade); (c) matriz RICE (<i>reach</i> – alcance, <i>impact</i> – impacto, <i>confidence</i> – confiança, <i>effort</i> – esforço); (d) matriz custo/benefício; matriz urgência/importância• <i>Value stream mapping</i> (VSM): mapeamento do fluxo de valor da operação por meio de seus principais processos, destacando os fluxos de materiais e informações, e os tempos de execução relacionados• Resultados dos indicadores de desempenho; relacionados com o <i>benchmark</i> do mercado• <i>Feedback</i>, manifestações de clientes e demais partes interessadas
Engajamento e comunicação	<p>Estruturar plano de engajamento, alinhamento e comunicação com as principais partes interessadas, internas e externas ao laboratório, que serão impactadas pela iniciativa <i>Lean</i>; de maneira especial, os gestores e profissionais das áreas com projetos <i>Lean</i> devem ser envolvidos</p>
Abordagem metodológica	<p>Definir a estratégia ou o modelo metodológico que será utilizado. Entre os modelos mais utilizados, estão as abordagens do <i>Kaizen Blitz</i> e derivados acelerados do modelo <i>Six Sigma DMAIC</i></p>
Execução dos projetos <i>Lean</i>	<p>No próximo tópico, será apresentada uma sugestão de <i>framework</i> para execução de projetos rápidos <i>Lean</i> como base nas abordagens do <i>Kaizen Blitz</i> e do <i>Six Sigma DMAIC</i></p>
Acompanhamento	<p>Seguindo as padronizações definidas para os projetos <i>Lean</i>, os processos nos quais foram implementadas melhorias devem ser revisitados com frequência definida, viabilizando identificar novas oportunidades de melhoria</p>
Acesso de resultados do programa	<p>Visando a acessar a efetividade do programa <i>Lean</i> frente aos objetivos propostos, os resultados gerados nos projetos devem ser consolidados e analisados criticamente. A partir dessas análises, melhorias no programa <i>Lean</i> podem ser identificadas e implantadas continuamente</p>

Fonte: elaborada pelos autores.

APLICAÇÃO DO PROJETO LEAN NO LABORATÓRIO: EXECUÇÃO

Em um contexto organizacional de melhoria contínua utilizando *Lean* como um programa estruturado ou com abrangência limitada ao nível de projetos de melhoria independentes, as iniciativas *Lean* devem seguir um *workflow* padronizado para que o foco em resultados efetivos seja assegurado. Na Tabela 2, há uma sugestão e um *framework* estruturado para execução da abordagem *Lean* nos processos do laboratório.

TABELA 2 *Framework* para execução da abordagem *Lean* em laboratórios clínicos

Etapa	Atividades principais
Mapeamento do processo e análise de valor	Mapear o fluxo do processo, desdobrando-o em suas principais atividades. Ter atenção especial aos eventos que definem o início e o final do processo, a fim de que o processo mapeado possa estar adequado ao propósito de melhoria a ser implementado Identificar as áreas físicas ou setores onde esse processo é executado, as movimentações das informações e materiais e outros recursos nessas áreas físicas ou organizacionais Classificar as atividades quanto à sua agregação de valor: agrega valor; não agrega valor; não agrega valor, mas é necessária Identificar as formas de execução de cada atividade principal: se é executada integralmente de forma manual ou automatizada em algum nível Exemplo de ferramentas: mapa de processo (com raias, preferencialmente); diagrama SIPOC; diagrama VSM
<i>Layout</i> físico e <i>workflow</i> do processo	Identificar as áreas físicas onde o processo é executado. Avaliar como o fluxo do processo anteriormente mapeado ocorre dentro desse <i>layout</i> físico; se viável, representar esse <i>workflow</i> dentro de um diagrama do tipo Spaguetti, permitindo a visualização das movimentações dentro desse <i>layout</i> físico Identificar as principais limitações da área física e da atual distribuição dos recursos (incluindo pessoas, insumos e equipamentos) e suas contribuições para o desempenho do processo, incluindo desperdícios sob a óptica <i>Lean</i>
Obtenção de dados do processo	Avaliar a operação do processo atual no local onde as atividades são executadas (<i>gemba</i> , no vocabulário <i>Lean</i>). Observar o processo sendo executado, coletar dados dessa execução (tempo, quantidade de trabalho em processamento, esperas, perdas etc.), acessar dados de controle e indicadores de desempenho relacionados. Conversar e coletar informações dos profissionais que executam as atividades

(*continua*)

TABELA 2 *Framework* para execução da abordagem *Lean* em laboratórios clínicos
(*Continuação*)

Etapa	Atividades principais
Avaliação do processo e identificação de oportunidades de melhoria	Consolidar as informações coletadas durante o acompanhamento do processo e contextualizá-las com resultados de desempenho, mapas de processo e <i>workflow</i> Identificar potenciais <i>gaps</i> de desempenho, desperdícios e desconexões diante dos objetivos do processo sob a óptica dos requisitos das principais partes interessadas
Definição do processo futuro	Sempre de maneira alinhada aos requisitos das partes interessadas para esse processo específico, definir o estado futuro almejado para o processo-alvo das melhorias Definir, caso seja pertinente, métricas de desempenho projetadas para esse processo futuro
Identificação das causas-raízes e planejamento das ações de melhoria	De maneira alinhada aos dados obtidos e às análises realizadas, identificar as causas vitais que contribuem para o desempenho não otimizado do processo. Sempre que viável e pertinente, utilizar o apoio da equipe do processo para gerar consenso quanto às causas Fazer um <i>brainstorming</i> de possíveis ações para eliminar definitivamente ou minimizar os impactos das causas-raízes a serem enfrentadas; utilizar o conhecimento da equipe de processo e boas práticas/ferramentas <i>Lean</i> (5S, <i>Poka-yoke</i> , Kanban, gestão visual, nivelamento da carga de trabalho, TPM etc.) para propor essas ações de melhoria no processo Gerar um plano de ação estruturado, com atividades a serem executadas, responsabilidades, prazos e recursos
Execução das ações de melhoria	Executar as ações conforme o planejamento definido; monitorar continuamente a execução desse plano de ação para evitar atrasos diante dos prazos anteriormente acordados
Acesso aos resultados das melhorias	Após a execução das ações, acessar os resultados obtidos. Avaliar esses resultados frente aos objetivos do projeto e às métricas de desempenho projetados para o estado futuro pós-melhorias <i>Lean</i> . Identificar e implementar ações de ajuste ou complementação adicionais

(*continua*)

TABELA 2 Framework para execução da abordagem *Lean* em laboratórios clínicos
(Continuação)

Etapa	Atividades principais
Padronização, implementação de controles e revisitação do processo	Alinhar o novo processo, inclusive documentalmente, ao sistema de gestão da qualidade; a documentação operacional do novo processo é essencial para garantir a capacitação da equipe, a execução padronizada das atividades e a manutenção dos ganhos obtidos. Caso pertinente, planejar e implementar ações de controle dedicadas para assegurar a perpetuação dos ganhos das melhorias do projeto. Definir prazos e a abordagem para o monitoramento do processo, assegurando que seja revisitado periodicamente em um contexto de melhoria contínua

Fonte: elaborada pelos autores.

GESTÃO DE PESSOAS PARA A TRANSFORMAÇÃO LEAN

Para a eficácia do *Lean*, é fundamental que a gestão de pessoas seja tratada como um dos principais pilares e absolutamente alinhada à implantação da metodologia. O aspecto mais desafiador da transformação *Lean* é o fator humano. É necessário comunicar, engajar, capacitar e empoderar as pessoas para obter a excelência operacional. Toda a equipe deve entender o seu papel no processo e, para isso, precisa ser envolvida desde a implantação da metodologia. Para uma mudança de cultura, é preciso que a capacitação seja adequada, com propósitos e focos claros e, principalmente, não deve ser apresentada simplesmente de uma forma expositiva e teórica. Ela precisa ser aplicada, vivenciada para o completo entendimento e real engajamento das pessoas. Além disso, é necessário que a atuação seja sustentável ao longo do tempo, visto que muitos resultados são atingidos em médio e longo prazo.

O pensamento *Lean* permite aos envolvidos a liberdade de descobrir novas maneiras de alcançar resultados mais rápidos, melhores e mais baratos, elevando o nível de desempenho, o engajamento e a satisfação profissional.

CULTURA DE MELHORIA CONTÍNUA E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Independentemente do nível de estruturação dentro do qual as iniciativas de melhoria *Lean* sejam implantadas no laboratório, para que os resultados dessa abordagem possam ser efetivamente traduzidos em benefícios percebidos por suas principais partes interessadas, em especial pacientes e médicos, existe a necessidade de que a aplicação dessa iniciativa esteja inserida em um contexto de gestão e cultura organizacional voltada para a melhoria contínua. Em um ambiente com a cultura da qualidade implementada, tendo como essência a tradução dos requisitos dos clientes em atributos efetivamente percebidos nos serviços prestados, existirá o substrato vital para que a abordagem *Lean* possa se materializar na amplitude de seus ganhos prometidos.

O pensamento *Lean* não transforma somente o laboratório clínico em uma operação enxuta, eficiente e focada no atendimento dos requisitos dos clientes. O laboratório é uma organização que associa produção à prestação de serviços em saúde, uma missão mais complexa de muitas das operações industriais que consagraram mundialmente o

Lean. Entretanto, sua cultura de melhoria contínua, associada a um robusto arsenal de ferramentas, permite o aprimoramento dos seus processos, ampliando a satisfação de médicos e pacientes, bem como um posicionamento competitivo e sustentável no mercado de medicina laboratorial.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- BICHENO J. *The lean toolbox*. Buckingham: Picsie Books; 2000.
- DE OLIVEIRA KB, DOS SANTOS EF, GARCIA JUNIOR LV. Lean healthcare as a tool for improvement: a case study in a clinical laboratory. In: Duffy VG, Lightner N (eds.). *Advances in human factors and ergonomics in healthcare. Advances in intelligent systems and computing*. Switzerland: Springer; 2017. p. 129-40.
- GEORGE ML. *Lean six sigma for service*. New York: McGraw-Hill; 2003.
- LARAIA C, MOODY PE, HALL RW. *The kaizen blitz: Accelerating breakthroughs in productivity and performance*. New Jersey: John Wiley & Sons; 1999.
- MELANSON SE, GOONAN EM, LOBO MM, ET AL. Applying Lean/Toyota production system principles to improve phlebotomy patient satisfaction and workflow. *Am J Clin Pathol*. 2009;132(6):914-9.
- OHNO T. *The Toyota production system: beyond large-scale production*. Portland: Productivity Press; 1988.
- PANDE PS, NEUMAN RP, CAVANAGH RR. *The six sigma way team fieldbook: an implementation guide for process improvement teams*. New York: McGraw-Hill; 2002.
- PERSOON T, ZALESKI S, FRERICHS J. Improving preanalytic processes using the principles of lean production (Toyota production system). *Am J Clin Pathol*. 2006;125(1):16-25.
- RUTLEDGE J, XU M, SIMPSON J. Application of the Toyota production system improves core laboratory operations. *Am J Clin Pathol*. 2010;133(1):24-31.
- WERKEMA C. *Lean seis sigma: introdução às ferramentas do lean manufacturing*. Belo Horizonte: Werkema; 2006.
- WOMACK JP, JONES DT. *Lean thinking. Banish waste and create wealth in your corporation*. New York: Simon & Schuster; 2003.

14 A importância da água grau reagente no laboratório clínico

Maria Elizabete Mendes, Adriana Nascimento de Carvalho,
Ricardo Alexandre dos Santos, Nairo Massakazu Sumita

INTRODUÇÃO

As decisões clínicas apoiam-se na conjugação de sua história clínica com o exame físico e exames complementares, como os laboratoriais. Os resultados de exames produzidos de acordo com as boas práticas em laboratórios clínicos dependem da *expertise* dos laboratoristas, da confiabilidade dos equipamentos, do uso de bons suprimentos, dos mecanismos de controle da produção e da qualidade da água.

Este capítulo discute a importância da água em diversos processos laboratoriais, seja pelo seu uso na rotina operacional, seja pelos riscos que os contaminantes trazem, pela escolha inadequada do tipo de água ou aqueles trazidos pela gestão ineficiente da manutenção do sistema de tratamento e de purificação da água.

SIGNIFICADO DA ÁGUA GRAU REAGENTE NO LABORATÓRIO

A água de grau reagente (AGR) é aquela adequada para o uso em um procedimento especificado no laboratório clínico, de modo a não interferir na especificidade, na exatidão e na precisão do método. Os seus contaminantes podem alterar os resultados dos exames laboratoriais, produzindo eventuais erros e até mesmo falhas no desempenho de equipamentos analíticos.

Nos sistemas de qualidade de laboratórios de excelência, exige-se o monitoramento regular dos parâmetros de qualidade da água mais relevantes e recomenda-se a opção por soluções de purificação de água que possam ser validadas e qualificadas.

AMPLA UTILIZAÇÃO NO LABORATÓRIO DA ÁGUA GRAU REAGENTE

A água é um elemento essencial, que contribui para o desenvolvimento e a qualidade do laboratório, sendo o principal reagente empregado na prática laboratorial.

Ela é conhecida como solvente universal, pois mais substâncias se dissolvem na água em graus variados do que em qualquer outro solvente, em razão da polaridade única e das ligações de hidrogênio da molécula de água, ou seja, em função da natureza química de sua molécula e das propriedades físico-químicas específicas (em especial polaridade e reatividade), que diferem muito daquelas de qualquer outra substância, conferem à água as características de um bom solvente e nelas se apoiam as suas diversas aplicações no laboratório clínico.

Uma abordagem abrangente deve ser considerada quando as soluções de purificação de água são definidas para os laboratórios clínicos. As necessidades específicas de cada aplicação devem ser levadas em consideração para aprimorar a fonte de produção de AGR e a distribuição desse recurso pelo laboratório.

APLICAÇÕES DO USO DA ÁGUA GRAU REAGENTE

- Gerais: reconstituição de reagentes e de controles liofilizados, diluições de reações, soluções brancas ou padrões, preparação de padrões, preparação de soluções de enxágue e de tampões, confecção de meios de cultura, titulometria, alimentação de analisadores automatizados, lavagem, sanitização e recuperação de utensílios;
- Colorações e preparo de corantes: a AGR é um fator crítico de sucesso, seja na produção de corantes, seja nas colorações em geral do laboratório;
- Microbiologia: sua utilização ocorre na confecção de meios de cultura, na coloração de lâminas para a bacterioscopia, na espectrometria de massas (tipo MALDI-TOF MS – *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry*) e no processo de autoclavação. O nível de bactérias deve ser reduzido o máximo possível, já que as bactérias podem ser uma fonte de interação em vários ensaios, incluindo-se dosagens de ácido fólico, ensaio de cálcio e imunoenaios;
- Eletrodo íon seletivos: as análises cujas metodologias baseiam-se nos eletrodos íon seletivos, por exemplo, para cálcio iônico, sódio, potássio, cloretos e lítio, requerem o uso de AGR com baixas concentrações eletrolíticas; portanto, são de baixa condutividade e alta resistividade;
- Medidas de atividades enzimáticas: para esses processos, a especificação é utilizar água com baixa contagem de bactérias, alta resistividade e baixo nível de carbono orgânico total;
- Imunoenaios: os imunoenaios enzimáticos são particularmente sensíveis à qualidade da água. Ficou demonstrado que a água purificada com ultrafiltração para remover a fosfatase alcalina; portanto, é a escolha preferida para executar imunoenaios em condições ideais;
- Espectrometria de absorção atômica: a concentração de metais pesados em doenças ocupacionais, bem como os níveis de metais utilizados no tratamento do câncer, por exemplo, são monitorados usando-se espectrofotometria de absorção atômica e instrumentos *inductively coupled plasma mass spectrometry* (ICP-MS). A análise de metais no nível do traço requer o uso de água de alta pureza, livre de íons;
- Biologia molecular: nos testes de biologia molecular, a água precisa estar livre de endotoxinas e proteínas (p. ex., RNases, DNases e proteases), porque essas enzimas catalisam a hidrólise de moléculas de RNA e DNA tornando-as instáveis. A ultrafiltração é o melhor método de remoção de RNases e endotoxinas;
- Automação laboratorial: os materiais particulados devem ser removidos para evitar o entupimento das agulhas e de tubulações de analisadores automatizados. Embora a qualidade da água seja importante nos ensaios, a distribuição de água para os analisadores automatizados e em outras aplicações nos laboratórios deve ser considerada também.

TIPOS DA ÁGUA GRAU REAGENTE

A Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (RDC 302/2005) preconiza que o laboratório clínico, em sua fase analítica, deve

definir o grau de pureza da AGR utilizada em suas análises, a forma de obtenção e o controle da qualidade.

Há várias organizações que especificam normas sobre a AGR, a fim de minimizar sua interferência nos ensaios laboratoriais, como American Society for Testing and Materials (ASTM), ISO 3696 e Clinical and Laboratory Standards (CLSI), pelo documento GP 40-A4-AMD – *Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory* (a classificação mais empregada em nosso país).

Os tipos são *clinical laboratory reagent water* (CLRW), *special reagent water* (SRW) e *instrumental feed water* (IFW). Relembrando as classificações adicionais: água para autoclave e lavagem, água fornecida pelo fabricante do método e água purificada fornecida envasada comercialmente – o usuário deve tomar cuidado com a degradação da água quando estocada e deve validar os parâmetros da CLRW ao longo do tempo de utilização dessa água.

Nos testes de diagnósticos *in vitro* (IVD), a água é utilizada no preparo dos reagentes, mas também na realização dos ensaios, interferindo nos resultados e, conseqüentemente, nas decisões médicas, mostrando a importância de definir o tipo adequado para cada uso dentro do laboratório clínico.

No geral, a qualidade da água deve ser a seguinte:

- Alta resistividade, garantindo a ausência de íons;
- Valores baixos de compostos orgânicos totais (TOC), garantindo baixa concentração de compostos orgânicos;
- Sem partículas e sem bactérias;
- Água pura ou ultrapura é fornecida com um filtro final de tela de 0,22 mcm.

RISCOS DE CONTAMINAÇÃO PELA AGR INADEQUADAMENTE CONTROLADA

Nas dosagens espectrofotométricas

Na espectrofotometria UV-visível (que cobre a radiação UV de 190 a 350 nm, enquanto a radiação visível compreende a faixa de 350 a 800 nm), a água é usada para preparar amostras e padrões, como um branco, e para enxaguar as cubetas.

A escolha de um tipo de água apropriado para a espectrofotometria UV-visível depende de vários fatores, como: as condições do laboratório, a necessidade ou não de validação do sistema de água, a fonte de alimentação de água disponível no seu laboratório, o volume de água pura e ultrapura usado diariamente, o espaço disponível, os métodos de monitoramento *on-line* necessários para garantir que a qualidade da água permaneça dentro das especificações, as outras aplicações que podem exigir água ultrapura no laboratório e a possível evolução das aplicações da AGR no laboratório.

Alguns íons, como nitritos e nitratos, absorvem energia na região espectral de comprimento de ondas de 180 a 340 nm e, portanto, devem ser removidos. Além disso, os metais de transição podem absorver na faixa visível; portanto, a concentração desses metais deve ser reduzida ao máximo possível na água selecionada. Moléculas orgânicas altamente conjugadas também devem ser removidas, porque absorvem nessa região. A água deve estar livre de partículas, pois elas podem afetar a absorbância UV-visível pela dispersão

da radiação recebida. As bactérias também devem ser evitadas, pois se comportam como partículas e podem liberar íons e orgânicos.

A análise de cálcio por método colorimétrico consiste na reação do cálcio livre presente na amostra com o arsenazo, originando um complexo medido espectrofotometricamente. A concentração de moléculas orgânicas presentes na água deve ser baixa para que não se liguem ao cálcio, reduzindo, assim, a concentração real da amostra. Da mesma maneira, a alta contagem de bactérias eleva o nível de proteínas ligantes do cálcio, resultando em uma diminuição de seu valor real.

Um sistema de purificação em que não se utiliza carvão ativado como dispositivo de pré-filtragem pode apresentar quantidade considerável de cloro residual vindo do abastecimento externo. Esse cloro residual pode levar a uma interferência de até 25% nas dosagens de cloretos e também pode interferir nos testes bacteriológicos e de medidas enzimáticas.

As dosagens de sódio e potássio podem apresentar resultados alterados se a água utilizada na diluição obtiver 1 mg/L desses analitos. Na dosagem de sódio, pode ocorrer um erro de 3,2% em uma concentração de 136 mEq/L e, nas dosagens de potássio, esse erro pode ser de 50% em uma concentração de 5 mEq/L.

Como principais fontes de interferentes que a água pode trazer para as medidas enzimáticas que estão envolvidas em vários processos bioquímicos, citam-se: a presença de bactérias que liberem enzimas e íons, as quais apresentem comportamento similar ao das dosagens solicitadas; alguns íons que agem como cofatores, como o zinco e o magnésio, ao passo que outros agem como inibidores de determinadas reações, como o cádmio e o chumbo; ou, ainda, altas concentrações de compostos orgânicos que podem competir por sítios de ligação.

Nos imunoensaios, a presença de enzimas liberadas por bactérias, íons e moléculas orgânicas pode trazer interferências, por exemplo, quando houver a medida da atividade enzimática da fosfatase alcalina na amostra biológica. Algumas bactérias, como a *Citrobacter* sp., secretam fosfatase alcalina, a qual pode gerar reação cruzada nesse tipo de ensaio. A maior parte dos sistemas de água utiliza filtro de porosidade 0,22 mcm como parte do processo de filtração final, que remove partículas e bactérias maiores; no entanto, se elas se decompuserem antes do filtro, seu diâmetro diminui e a fosfatase alcalina é liberada com a água. Métodos de ultrafiltração podem ser usados eficientemente para remover bactérias menores e seus subprodutos. Estudos demonstram que a ultrafiltração com filtro de 13 kDa fornece água livre de fosfatase alcalina. Tecnologias de purificação mais modernas incluem uma filtração geral para reduzir a carga de partículas de entrada e osmose reversa para diminuir a carga de íons, orgânicos, coloides e partículas. Além disso, íons como magnésio e zinco são cofatores da fosfatase alcalina, enquanto o cádmio e o fósforo são inibidores da atividade dessa enzima, ressaltando a importância da água livre de íons.

Já as moléculas orgânicas em alta concentração, como ácidos carboxílicos, podem se ligar aos sítios ativos da enzima e formar complexos com o cofator de metal, alterando a afinidade entre o antígeno e o anticorpo. Os imunoensaios automatizados têm sido muito utilizados. Neles, o volume de amostra usado é menor, o que exige maior qualidade da água para reduzir o número de falhas no teste. Calibradores incorretos, branco alto e valores de pacientes tendendo à positividade evidenciam um ensaio de má qualidade, o que pode ser ocasionado pela água contaminada.

A medida espectrofotométrica por sensores ópticos pode sofrer interferência quando da presença de pequenas bolhas formadas por gases, como o nitrogênio. Essas bolhas podem ser removidas por meio da utilização de um cartucho de fibra de desgaseificação.

Nas técnicas moleculares

Nos testes de biologia molecular, as endotoxinas e proteínas como RNAses, DNAses e proteases precisam ser retiradas da água, pois essas enzimas catalisam a hidrólise de moléculas de RNA e DNA, tornando-as instáveis. A ultrafiltração é o melhor método de remoção de RNAses e endotoxinas. As reações da polimerase em cadeia (PCR) e a transcriptase reversa (RT-PCR) não podem ser contaminadas por bactérias, seus produtos, moléculas orgânicas e íons.

As fontes que interferem nesses processos incluem: íons como fosfato e muitos bivalentes que se ligam com ácidos nucleicos, os quais interferem em análises proteicas; ácidos orgânicos, especialmente carboxílicos e fosfóricos, que também interferem nesses tipos de análise; RNA e DNA; nucleases, que degradam as moléculas de DNA e RNA analisadas; bactérias heterotróficas, que metabolizam todos esses elementos. As técnicas moleculares requerem qualidade da água com: baixo nível de íons (18.2 Ω .cm de resistividade), baixa contagem de bactérias, baixo nível de TOC e água livre de endotoxinas.

Mais recentemente, *microarrays* de DNA e outras técnicas moleculares têm sido usadas para diagnosticar algumas doenças ou predisposição a alguns distúrbios. Esses testes requerem o uso de água livre de nucleases, que pode ser preparada usando técnicas de ultrafiltração.

O processo de sequenciamento genético é altamente sensível a qualquer atividade de nucleases. Embora o impacto da contaminação por nucleases possa não ser aparente durante o período inicial de carga e calibração, com o tempo, a degradação do sinal pode ser desastrosa para os resultados experimentais. Por esse motivo, recomenda-se água ultrapura livre de nucleases para diluições de tampão e tampões de operação do sistema.

O sequenciamento de próxima geração (NGS) tem revolucionado a pesquisa genômica e agora está desempenhando um papel crucial no ambiente clínico. Os testes baseados em NGS são inestimáveis na avaliação de novos medicamentos terapêuticos e também têm sido mais utilizados para triagem, diagnóstico e caracterização molecular de neoplasias e outras doenças. O desenvolvimento dessas ferramentas de patologia molecular abre caminho para o atendimento personalizado e a medicina preventiva. Os laboratórios que realizam sequenciamento de alto rendimento confiam em reagentes de qualidade para obter melhores resultados. A água é um reagente essencial, mas muitas vezes esquecido, no fluxo de trabalho do NGS. Desde a limpeza do sistema até a execução de sequenciamento, várias atividades no fluxo de trabalho do NGS requerem diferentes níveis de qualidade da água. A água é usada em todo o fluxo de trabalho do NGS, da fragmentação do DNA às execuções de sequenciamento e limpeza do instrumento. O uso da qualidade da água apropriada para cada etapa não apenas elimina o risco de os contaminantes da água interferirem nos ácidos nucleicos e nas muitas reações enzimáticas executadas nesse processo, mas também ajuda a evitar a contaminação do equipamento. Diversas bactérias liberam enzimas e íons que imitam o comportamento de enzimas usadas no método. Alguns íons agem como cofatores de enzimas, enquanto outros atuam como inibidores. Os íons, como fosfato e muitos outros bivalentes, também têm capacidade de se ligar ao DNA

e ao RNA das amostras, interferindo nas análises proteicas. É fundamental fazer a manutenção correta dos equipamentos responsáveis pela purificação da água, minimizando-se a contaminação microbiana. É fundamental fazer a manutenção correta dos equipamentos responsáveis pela purificação da água, minimizando-se a contaminação microbiana.

Next generation sequencing (NGS) à base de fluorescência

As plataformas NGS diferem na engenharia e nas químicas de sequenciamento, mas a maioria delas depende da detecção de fluorescência. Além dos contaminantes da água anteriormente mencionados, traços orgânicos devem ser evitados, pois podem afetar a fluorescência. De fato, contaminantes orgânicos na água podem extinguir ou aumentar o sinal fluorescente, gerando erros em ambos os casos.

Ensaio utilizando *microarrays* também são afetados pela qualidade da AGR. Compostos orgânicos e íons contaminantes na AGR podem afetar as etapas de hibridização, lavagem, detecção de fluorescência e análise correta dos resultados. A cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e a espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida (LC-MS) têm como exigência principal que a água apresente baixos níveis de moléculas orgânicas, pois estas são prejudiciais à vida média das colunas, ocasionando a redução de sua vida útil, com perda de resolução, aumentando o ruído de fundo e a interferência nos métodos de detecção (picos fantasmas). Altas concentrações de matéria orgânica também podem modificar a tensão superficial da água ou interferir em testes espectroscópicos que envolvem absorvância na faixa do UV.

Na espectrometria de massas e cromatografia

Dados os diversos tipos de ionização usados na espectrometria de massas, a utilização de AGR contaminada com íon pode prejudicar as análises, gerando picos anômalos ou suprimir picos que deveriam ser separados. Os contaminantes iônicos podem prejudicar as análises também na etapa de detecção, porque os detectores medem a corrente proporcional aos íons que os atingem.

Depois que a amostra é ionizada, o feixe de íons é acelerado por um campo elétrico e entra em um analisador de massa com a separação de íons pela relação massa/carga. Na etapa de separação de massas, como existem vários tipos de analisadores de massa, a presença de contaminantes orgânicos na água utilizada pode prejudicar essa fase da análise. Também podem aumentar o número de íons-fragmento, ou seja, íons não originais. Portanto, é imperativo que a AGR para essa aplicação tenha alta resistividade, baixo teor de TOC, ausência de nucleases produzidas por ultrafiltração, sem endotoxinas ou pirogênio (tipo SRW).

Nas análises por cromatografia líquida, a água é utilizada ao longo de todo o ensaio, a partir de eluente ou tampão na preparação de amostra, por exemplo, envolvendo diluição do padrão, para enxágue de coluna e soluções branco. Portanto, é essencial usar água com elevado grau de pureza. Para produzir esse tipo de água, uma combinação de tecnologias é utilizada para remover os principais contaminantes inicialmente presentes na água da torneira. Contaminantes iônicos e orgânicos são removidos com eficiência usando processos como osmose reversa e eletrodeionização, em combinação com resinas de troca iônica de alto grau, carvão ativado e processo de foto-oxidação UV e ultrafiltração.

Uma boa qualidade da água é ainda mais importante quando níveis menores de detecção são alcançados.

O impacto de contaminantes provenientes da fase móvel se torna mais proeminente na intensidade de *background* se a AGR não é produzida no momento de sua utilização. Fica mais difícil detectar analitos de concentração muito baixa na linha de base e processar os dados para encontrar um espectro de massa explorável. O uso de água mais pura na fase móvel permite ver muito mais picos na linha de base e atingir limites de detecção mais baixos.

O efeito da presença ou ausência de lâmpada ultravioleta no sistema de purificação foi mais significativo com a detecção por espectrometria de massa. Moléculas polares adicionais são detectadas em água purificada sem foto-oxidação por ultravioleta, resultando em uma interferência com a intensidade de fundo maior. É provável que esses níveis de vestígios orgânicos se originem do próprio sistema de purificação de água. Exemplos de moléculas conhecidas que lixiviam de plásticos incluem aditivos antioxidantes de plástico em tubos de polietileno, como ésteres de 2,6-di-terc-butil-1,4-benzoquinona ou de dialquiltalato. Uma etapa de foto-oxidação ultravioleta dentro de um sistema de purificação de água ultrapura reduz a contaminação por moléculas orgânicas, o que permite obter linhas de base mais baixas no cromatograma.

Na espectrometria de massas tipo MALDI-TOF

A MALDI-TOF MS é uma técnica de ionização suave, amplamente utilizada na análise de biomoléculas, como proteínas, peptídeos e oligonucleotídeos. Em MALDI, a amostra é misturada com uma matriz apropriada, e a mistura é manchada (*spot*) sobre uma placa de MALDI na qual a amostra e a matriz cocristalizam. O ponto é irradiado por um feixe de *laser*, a matriz absorve a maior parte da energia do *laser* e a transfere para as moléculas do analito. Como resultado, as moléculas da matriz e do analito são ejetadas na fase gasosa como íons. O analito ionizado e as moléculas da matriz entram no analisador de massa, onde são ordenados/separados de acordo com a razão massa/carga. A matriz usada no MALDI é um composto orgânico conjugado, geralmente um ácido orgânico fraco, que absorve fortemente a radiação UV. O *time-of-flight* (TOF – tempo de voo) é o analisador de massa mais adequado para o MALDI, pois tem alcance de massa teoricamente ilimitado e o *laser* pulsado no MALDI tira fotos individuais em vez de trabalhar em operação contínua. Quando usadas no modo refletor, as medições de TOF podem atingir uma resolução muito alta.

Embora o MALDI seja mais tolerante à contaminação que outros métodos de ionização na espectrometria de massas, é importante empregar reagentes (p. ex., matriz) e solventes do mais alto grau de pureza, para evitar tornar a análise dos espectros de massas mais desafiadora do que já é. A contaminação iônica, com íons sódio e potássio, formará adutos (segmento de DNA ligado a um produto químico com potencial cancerígeno) com os analitos e tornará a interpretação/análise dos dados mais desafiadora. Além disso, a alta concentração de sal pode afetar a cristalização da matriz e do analito, gerando espectros de baixa qualidade. Alguns compostos orgânicos (detergentes, polímeros) podem suprimir a ionização das moléculas do analito. Os detergentes também interrompem a cocristalização da matriz e do analito.

A água para aplicações MALDI deve ser livre de bactérias, pois são fontes de macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos) que podem ser detectadas pelo espectrômetro de massa, dificultando a análise dos dados. Eles também são fontes de íons e orgânicos.

Na microbiologia

Na preparação de meios de cultura, deve-se utilizar água produzida por osmose reversa, por ser livre de substâncias bactericidas. Os parâmetros que devem ser verificados nessa água incluem condutividade, pH e presença de grande concentração de íons de cobre, visto que estes inibem o crescimento bacteriano.

Na parasitologia

As doenças de veiculação hídrica causadas por protozoários oportunistas reemergiram como relevantes problemas de saúde pública nos últimos anos, apesar dos avanços tecnológicos nos processos de tratamento de água. *Cryptosporidium* e *Giardia* são agentes que possuem (oo)cistos resistentes aos processos de cloração e ao aumento de temperatura, permanecendo viáveis por muito tempo no ambiente e se caracterizam por causar sérias morbidades em indivíduos imunocomprometidos. O reconhecimento da existência desses parasitas patogênicos em diversas fontes de águas usadas para consumo humano evidencia a necessidade de avançar na proteção das águas superficiais e subterrâneas, bem como otimizar os processos dos sistemas de tratamento de água, além de manter uma distribuição que garanta a segurança e a saúde da população.

Falhas no processo de saneamento, tratamento e monitoramento de água de abastecimento público dos municípios podem evidenciar muitas bactérias, vírus e cistos (como a *Giardia lamblia* e o *Cryptosporidium*) encontrados na água. A identificação de cistos ou trofozoítos se dá no exame direto de fezes, pelo método de Faust, que consiste na centrifugo-flutuação em sulfato de zinco. Nessa metodologia, as fezes inicialmente são homogeneizadas em água filtrada. Se houver o uso de AGR inadequada ou contaminada para essa preparação, pode-se produzir falsos resultados.

CONCLUSÃO

A água é um fator analítico para vários processos laboratoriais e requer controles específicos para reduzir os erros potenciais e assegurar mais garantia de qualidade aos resultados.

Após ter demonstrado a interferência dos contaminantes nos diversos testes, afirma-se o quanto a AGR é fundamental para a realização dos procedimentos laboratoriais. Com isso, todos os parâmetros precisam ser monitorados, pois a qualidade da água entregue para as análises laboratoriais em suas diversas aplicações é tão importante quanto a de qualquer outro reagente.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BASU S, PAL A, DESAI PK. Quality control of culture media in a microbiology laboratory. Indian J Med Microbiol. 2005;23(3):159-63.

BÔLE J, MABIC S. Utilizing ultrafiltration to remove alkaline phosphatase from clinical analyzer water. Clin Chem Lab Med. 2006;44(5):603-8.

CARAWAY WT. Chlorine in distilled water as a source of laboratory error. Clin Chem. 1958;4(6):513-8.

CREE IA, DEANS Z, LIGTENBERG MJL, ET AL. Guidance for laboratories performing molecular pathology for cancer patients. J Clin Pathol. 2014;67:923-31.

MABIC S. Water for clinical chemistry. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/water-purification-systems/water-for-clinical-chemistry.html>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

MABIC S, KANO I. Impact of purified water quality on molecular biology experiments. Clin Chem Lab Med. 2003;41(4):486-91.

MABIC S, REGNAULT C, KROL J. The misunderstood laboratory solvent: reagent water for HPLC. Lc Gc North America. 2005;18(7):410-4.

NABULSI R, AL-ABBADI MA. Review of the impact of water quality on reliable laboratory testing and correlation with purification techniques. Lab Med Fall. 2014;45(4):e159-e165.

REGNAULT C, KANO I, DARBOURET D, MABI S. Ultrapure water for liquid chromatography – mass spectrometry studies. J Chromatog A. 2004;1030(1-2):289-95.

RICHE E, MABIC S. Water for next-generation sequencing. Application biomedical. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/water-purification-systems/bio-medical-applications/water-for-next-generation-sequencing.html>. Acesso em: 27 abr. 2020.

RICHE E, MABIC S. Nuclease-free water at your fingertips. Disponível em: <https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-JP-Site/ja_JP/-/JPY/ShowDocument-Pronet?id=201704.044>. Acesso em: 30 abr. 2020.

15 **Controle da qualidade da água reagente no laboratório clínico**

Maria Elizabete Mendes, Adriana Nascimento de Carvalho,
Ricardo Alexandre dos Santos, Nairo Massakazu Sumita

INTRODUÇÃO

Um dos desafios dos responsáveis técnicos do laboratório clínico é implantar uma cultura de qualidade dentro da instituição. No processo de produção da água reagente (AGR), envolver os colaboradores e promover a sua adesão às boas práticas em laboratório clínico são fundamentais. A adesão aos padrões estabelecidos, associada à disciplina e à motivação, possibilita que a equipe técnica transforme tudo o que faz em um exemplo exímio da busca da perfeição e da taxa zero de desvios.

Neste capítulo, são discutidos aspectos de garantia de qualidade da água reagente no laboratório clínico para os seus diferentes tipos, a partir do conceito da avaliação de riscos, é explicada a importância do plano de controle de qualidade para monitorar os principais contaminantes da água, são apresentados os métodos de tratamento e purificação para a obtenção de AGR e os tipos de água reagente, e discutidos os principais mecanismos de controle de qualidade para a produção da AGR.

GESTÃO DE RISCOS E PLANO DE CONTROLE DE QUALIDADE DA ÁGUA GRAU REAGENTE

A identificação e a avaliação de riscos em todo o ciclo da AGR envolvem desde a etapa da implantação do sistema de purificação até a produção da água, seu monitoramento, controle e utilização. O instrumento mais utilizado para essa avaliação é a análise de efeito e modo de falhas (FMEA) do processo, uma metodologia que permite analisar as possíveis falhas e o que a sua ocorrência poderia causar para a qualidade da água reagente. Nessa metodologia, são ponderadas a probabilidade de ocorrência, a gravidade e a probabilidade de detecção de falhas. Os riscos mais relevantes são tratados com ações preventivas e planejamento, visando a evitar a transformação desses riscos em danos e perigos, e buscando a mitigação das consequências de eventuais não conformidades.

O planejamento visa a definir os objetivos e ajuda a escolher antecipadamente o melhor curso para as ações ligadas ao controle de qualidade da água reagente. O plano de controle de qualidade (PCQ) da AGR define os mecanismos de monitoramento e controle, evitando as possíveis falhas que possam refletir no processo de tratamento e de purificação da água, atendendo adequadamente às especificações de cada tipo de água reagente. O PCQ ajuda a gerenciar a produção da água reagente utilizada dentro do laboratório, porque também auxilia na definição dos recursos necessários e na sequência entre os fluxos da produção desse insumo. A sua aplicação aumenta a eficiência do processo, reduzindo des-

perdícios e evitando gargalos na produção laboratorial. Na Tabela 1, os autores propõem um modelo de como estruturar o plano de controle de qualidade para a AGR.

TABELA 1 Plano de controle de qualidade água reagente

Volume produzido mensalmente Consumo médio por mês por tipo de água	
Especificações por tipo de água (CLRW, SRW, IFW, outros tipos)	
Metodologia de purificação utilizada: deionização, osmose reversa, destilação, filtração	
Sistema de purificação utilizado e quantidade de equipamentos	
Calibração Frequência de realização	
Rastreabilidade com controle de lotes de filtros Frequência de realização	
Mecanismos de controle: resistividade Frequência de realização	
Mecanismos de controle: TOC Frequência de realização	
Mecanismos de controle: controle microbiológico Frequência de realização	
Mecanismos de controle: endotoxinas Frequência de realização	
Revisão pela supervisão/quem faz	
Condições ambientais	

TOC: carbono orgânico total.

Fonte: elaborada pelos autores.

PRINCIPAIS CONTAMINANTES DA ÁGUA REAGENTE

A água da torneira contém muitas substâncias que, se não tratadas, podem reagir ou catalisar reações de formas indesejadas: cátions, como sódio, cálcio, magnésio ou ferro; ânions, como bicarbonato, cloreto e sulfato; íons inorgânicos, como moléculas orgânicas biológicas dissolvidas; gases, como nitrogênio, oxigênio e dióxido de carbono; partículas e colóides, que são introduzidos na água da torneira a partir de várias fontes; produtos orgânicos voláteis, como poluentes com traços de hidrocarbonetos mais baixos, provenientes do escoamento das águas agrícolas e da poluição industrial, também são considerados contaminantes; tri-halometanos (THM), subprodutos gerados pelo processo de cloração da água.

Há um grande número de contaminantes que não são regulados ou testados no curso do tratamento e da distribuição de água potável municipal, mas são prejudiciais para os processos analíticos do laboratório clínico, que exigem precisão, alta sensibilidade e resolução na operação instrumental.

A água também pode ser facilmente contaminada por produtos químicos sólidos, gases, vapores e íons que lixiviam desde as linhas de condução do sistema de purificação até os recipientes de armazenamento. Esses produtos podem incluir sódio e sílica do vidro, plastificantes e íons da tubulação, espécies microbianas e suas endotoxinas, bem como contaminantes particulados. Contaminantes orgânicos solúveis podem até mesmo ser introduzidos a partir de resinas deionizantes usadas no processo de tratamento, especialmente se resinas inadequadas forem selecionadas ou resinas previamente contaminadas.

As bactérias penetram nos sistemas de purificação através da água de alimentação, nas folgas de conexões, vazamentos e trincas. Há um grande impacto ambiental na elevação dos contaminantes orgânicos presentes na água, o que significa que houve um aumento do crescimento bacteriano. Essas duas condições ampliam o consumo de oxigênio presente na água. Sua avaliação é feita pela determinação de carbono orgânico total (TOC). Embora muitas bactérias, vírus e cistos (como a *Giardia lamblia* e o *Cryptosporidium*) encontrados na água de abastecimento sejam mortos ou inativados pelo processo de cloração local, subprodutos microbianos e fragmentos celulares, como pirogênios, nucleases, fosfatase alcalina e endotoxinas, não serão necessariamente removidos e podem proliferar em biofilmes (microrganismos incrustados em uma matriz de glicoproteínas e polissacarídeos, que aderem às superfícies e podem formar camadas macroscópicas).

MÉTODOS DE TRATAMENTO E PURIFICAÇÃO DE ÁGUA REAGENTE

A água utilizada no laboratório pode passar por várias etapas de tratamento e purificação antes da sua aplicação na rotina:

- Filtração: a água proveniente da rede pública passa através de filtros constituído de material poroso, com filtros de carvão ativado, visando à retenção de partículas e à absorção de cloro. Filtros contendo carvão ativado removem vários contaminantes orgânicos de massa molecular baixa. O carvão ativado, uma vez saturado, permite a passagem dos compostos orgânicos e o crescimento bacteriano;
- Destilação: processo físico de separação de líquidos, baseia-se na diferença entre pontos de ebulição dos constituintes da mistura, separados por aquecimento. Produz água com resistividade entre 0,2 e 1 megaohm.cm. Suas principais desvantagens são a falta de remoção de alguns contaminantes da água, o alto custo de produção em razão do consumo de energia elétrica e o grande consumo de água. Ela não é indicada para o controle de substâncias voláteis presentes na água;
- Deionização: através de resinas sintéticas carregadas eletricamente em sua superfície, permite a troca seletiva de íons H^+ e OH^- pelas impurezas ionizadas na água. A saturação da resina ocorre quando as cargas forem trocadas e não houver mais sítios ativos na resina. O efeito de regeneração química causa fragmentação e rompimento dos glóbulos poliméricos, causando a liberação do seu conteúdo e, conseqüentemente, aumentando os níveis de material particulado e de TOC na água. A regeneração da resina torna-se necessária quando a resistividade for menor que 1 megaohm.cm. Uma desvantagem é que a origem da resina da troca iônica é desconhecida e a qualidade da

água é variável, dependendo do tempo de uso. Esse método promove a remoção efetiva de íons (resistividade de 1 a 10 megaohm.cm);

- Adsorção: é usada para remover o cloro e as cloraminas da água de alimentação por meio de um carvão ativado de alta área superficial e, se dimensionado e selecionado adequadamente, também pode reduzir efetivamente os orgânicos, medidos como TOC. A adsorção pode ser combinada com outros métodos para atingir a máxima resistividade e baixo TOC. As técnicas de adsorção por si só não removem íons, nem material particulado;
- Desinfecção por sistema de ultravioleta: a oxidação fotoquímica com luz ultravioleta (UV) pode eliminar vestígios orgânicos a 185 nm e inativar microrganismos a 254 nm. A oxidação de vestígios orgânicos resulta em água pura com baixos níveis de TOC, mas não remove íons, colóides ou partículas. A luz UV na faixa de 254 nm é utilizada para redução de microrganismos (bactérias e vírus), mas não os remove fisicamente. Nesse comprimento de onda, o ozônio e os radicais livres oxidam os compostos orgânicos, gerando dióxido de carbono e íons. A fotoxidação também atua como germicida. Essa desinfecção depende da vida útil da lâmpada e da distância da lâmpada, do tempo de exposição e do fluxo de água pelo sistema. A localização da lâmpada deve ser anterior à troca iônica. Esse processo emprega baixo consumo de energia e é de fácil operação, entretanto, compostos orgânicos são convertidos a dióxido de carbono, mas não são removidos por esse método;
- Eletrodeionização (EDI): resina de troca iônica é continuamente regenerada através de corrente elétrica. Há várias membranas permeáveis intercaladas, algumas carregadas com cátion e outras carregadas com ânions. O campo elétrico criado faz com que os íons transitem por canais onde ficam concentrados. Essas resinas de troca iônica desse processo ampliam a eficiência, pois aumentam a velocidade de troca transportando os íons mais rapidamente. A sua saturação demora mais para acontecer porque os íons não ficam permanentemente ligados a elas. Nos polos negativos (cátodo), as cargas positivas são atraídas, principalmente íons cálcio e magnésio. Por atração química, há possibilidade de reação entre esses cátions com o carbonato, e, para evitar a precipitação de carbonato de cálcio ou carbonato de magnésio, existem partículas de carvão ativado entremeadas. Essas partículas agem como abrandadoras, criando um gradiente de pH e impedindo, assim, essa precipitação. A EDI não remove orgânicos, partículas, pirogênicos ou bactérias, embora possa ser menos propensa à contaminação microbiana em comparação com os leitos de resina de troca iônica;
- Osmose reversa (RO): trata-se de um processo no qual a água é forçada sob pressão (bomba de alta pressão e baixa vazão) através de uma membrana semipermeável para remover os contaminantes. A membrana semipermeável tem porosidade de 0,0005 até 0,001 micra. O fluxo de entrada da água nesse sistema é tangencial à superfície da membrana, permitindo o controle da velocidade do fluxo, possibilitando a ampliação da vida útil da membrana. Nesse processo, há remoção de íons, compostos orgânicos, pirogênicos, vírus, bactérias, partículas e colóides. A água purificada resultante da passagem pela membrana semipermeável denomina-se permeado, cuja qualidade depende da qualidade da água de alimentação. O processo de osmose retira entre 90 e 99% das impurezas. A água resultante apresenta uma condutividade inferior a 1,0 mcS/cm. Essa operação gera baixos custos, em virtude da pouca utilização de energia elétrica,

a manutenção é simples e tem bom controle dos parâmetros operacionais. A RO requer pré-tratamento da água de alimentação, para evitar danos à membrana por cloro, depósitos minerais, acúmulo de coloides e perfuração por partículas duras. Depende, portanto, da pureza da água de alimentação, da efetividade e da integridade das membranas de filtração (por isso elas devem ser protegidas contra incrustações e obstruções ao longo do tempo);

- Ultrafiltração: a água recebida do reservatório passa por um sistema de ultrafiltração, e, em seguida, através de duas membranas específicas e assimétricas constituídas por polímeros diferentes. As porosidades variam de 0,001 a 0,05 mcm. Esse processo depende da porosidade das membranas, da pressão exercida, da vazão e do tipo de molécula (tamanho e peso molecular). É eficiente para a remoção de pirogênio (inferior a 0,01 unidades de endotoxina/mL), vírus, restos bacterianos e outros contaminantes;
- Microfiltração: emprega um processo similar ao da ultrafiltração, mas utiliza tipos diferentes de membranas para a retirada de bactérias. As porosidades variam de 0,05 a 10 mcm. As vantagens são a remoção de 100% de todas as bactérias maiores que o tamanho dos poros e a promoção de uma filtração esterilizante.

GARANTIA DE QUALIDADE DA ÁGUA REAGENTE

A garantia da qualidade é alcançada tendo-se o controle sobre todas as etapas do processo da água reagente. É uma forma de prevenir erros ou falhas no seu processo de produção, evitando-se problemas ao entregar a água purificada para as análises laboratoriais. O objetivo é assegurar que os padrões de qualidade estabelecidos para cada tipo de água sejam obedecidos, utilizados da forma esperada, resultando em práticas isentas de não conformidades. Isso requer também o cumprimento de normas técnicas e das legislações vigentes.

A falta de atenção à qualidade da água no laboratório pode gerar resultados experimentais comprometidos, reagentes contaminados ou equipamentos danificados no laboratório. Assim, a água, como um fator analítico tão importante, precisa ser controlada e racionalmente utilizada para reduzir erros potenciais e garantir a qualidade dos resultados onde for empregada.

Como principais atividades da garantia da qualidade da água reagente podem ser citadas: planejamento do controle da produção, identificação correta, controle de qualidade, qualificação de fornecedores dos sistemas de purificação, inspeções periódicas, validação e qualificação do sistema, programa de manutenções preventivas dos equipamentos do sistema de purificação, documentação operacional [procedimento operacional padrão (POP) técnico e de equipamentos], registros consistentes e acessíveis, monitoramento do produto (água tratada e purificada), identificação e rastreabilidade completas (como pessoas que operam o sistema de purificação, equipamentos, filtros, resinas, osmose reversa), calibrações (de manômetros e condutivímetros), treinamento dos envolvidos, gestão e tratamento de não conformidades, medidas de prevenção.

O controle de contaminantes iônicos, orgânicos e microbianos através da medida de resistividade ou de condutividade, TOC e unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas e do teste de endotoxina fornece garantia significativa da qualidade da água. A presença de contaminantes específicos pode ser motivo de preocupação, no entanto, é importante confirmar que o processo está controlado e estável.

CRITÉRIOS PARA CLASSIFICAR GRAUS DE PUREZA DA ÁGUA REAGENTE

A especificação da qualidade da água depende de vários parâmetros, e não apenas do método de purificação, isso ocorre porque em parte há uma grande diversidade de aplicações que podem ter uma variação substancial nas tolerâncias em relação à composição e à quantidade de contaminantes. Portanto, deve-se complementar os parâmetros de qualidade da água com a identificação das aplicações pretendidas e preocupações específicas com os contaminantes para garantir que os resultados adequados sejam alcançados.

A classificação do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) do grau de pureza da água depende das seguintes especificações: condutividade/resistividade a 25°C, TOC, índice de densidade de sedimentos (DI), contagem de bactérias heterotróficas, material particulado.

As endotoxinas constituem o maior componente lipídico da membrana externa de bactérias Gram-negativas, que as liberam em seu meio circundante durante sua multiplicação ou quando morrem. As endotoxinas adsorvem-se de modo variado à maioria das superfícies, incluindo o carvão ativado e as resinas. A detecção e/ou a quantificação dos níveis de endotoxinas podem ser feitas por teste do coágulo, turbidimetria ou técnica cromogênica. Os testes de endotoxina podem fornecer um bom indicador de bactérias Gram-negativas e subprodutos microbianos, além de muitos fungos e algas.

TIPOS DA ÁGUA GRAU REAGENTE

A Resolução da Diretoria Colegiada, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) – RDC 302/2005, preconiza que o laboratório clínico, em sua fase analítica, deve definir o grau de pureza da água reagentes utilizada em suas análises, a forma de obtenção e o controle da qualidade.

Há várias organizações que especificam normas sobre a água reagentes, a fim de minimizar sua interferência nos ensaios laboratoriais, como: American Society for Testing and Materials (ASTM), ISO 3696 e CLSI C3-A4.

Os padrões estabelecidos pelo CLSI são os mais comumente empregados no país. No documento GP40-A4-AMD, o CLSI define os parâmetros utilizados para cada tipo de água e, de acordo com a necessidade do ensaio, um desses tipos deve ser escolhido. São os seguintes: *clinical laboratory reagent water* (CLRW), *special reagent water* (SRW) e *instrumental feed water* (IFW).

O CLSI define como classificações adicionais:

- Água para autoclave e lavagem: a água deve ser purificada e conter baixos níveis de compostos orgânicos, inorgânicos e material particulado, que poderiam contaminar soluções e meios de cultura no processo de autoclavagem;
- Água fornecida pelo fabricante do método: como diluente ou como reagentes, deve ser empregada apenas com o conjunto diagnóstico e em nenhuma outra aplicação. Esse tipo de água não substitui as águas dos tipos CLRW ou SRW;
- Água purificada fornecida envasada comercialmente: o usuário deve tomar cuidado com a degradação da água quando estocada e deve validar os parâmetros da CLRW ao longo do tempo de utilização dessa água. Cada novo lote de água envasada deve ser validado antes de seu uso.

Segundo as Boas Práticas em Laboratório Clínico (BPLC), cada serviço de medicina laboratorial deve definir o tipo de AGR necessário para cada um de seus procedimentos e prover um suprimento adequado desse tipo de água. Recomenda-se que, no procedimento técnico, haja essa descrição, quanto ao tipo de AGR aplicável e em quais atividades do procedimento ele é utilizado.

CONTROLE DA PRODUÇÃO DE ÁGUA REAGENTE

É importante que cada laboratório assegure a estabilidade do sistema de purificação de água e o monitoramento do seu desempenho com frequência suficiente para que os resultados monitorados detectem mudanças e possam desencadear manutenções necessárias. Essa conduta deve sempre basear-se nas melhores práticas, balanceando entre riscos, aplicações da água e praticidade. Quanto mais estável o sistema, menores serão os riscos. Com monitoramentos mais frequentes, limiares de alerta mais explícitos e estritos, garante-se a qualidade, há redução dos desvios e previnem-se mudanças abruptas no processo.

Neste capítulo, recomendam-se para cada tipo de mecanismo de controle uma frequência de realização e condutas para inadequações observadas, tomando-se por base a operação de um laboratório hospitalar, terciário, de grande porte, aberto 24 × 7, que usa técnicas complexas (moleculares, cromatográficas, espectrometria de massas, citometria de fluxo, microbiologia, automação total no seu *corelab*) em sua rotina diagnóstica.

Presença de material particulado e coloides

Estão inclusos como material particulado, principalmente, a sílica, os resíduos desagregados do metal de tubulação e os coloides. Os sistemas de purificação devem incluir uma etapa para bloquear a passagem de partículas acima de 0,22 micras antes da saída do sistema.

A presença de material particulado (discretas quantidades de material sólido dispersas na água) ou de coloides (pequenas partículas sólidas dispersas na água que não se depositam pela ação da gravidade) reflete o desempenho do sistema de filtração e da osmose reversa.

- Manutenção preventiva: troca de filtro a cada 4 meses, segundo orientações do fabricante;
- Critério de adequação: análise microbiológica adequada e monitoramento de TOC dentro do padrão do sistema de purificação;
- Conduta para inadequação: havendo obstrução do filtro, verificar no painel de comando do sistema a mensagem de alerta apontada para orientar a conduta.

Determinação de resistividade e condutividade

Condutividade é a medida da capacidade da água em conduzir eletricidade em virtude da contaminação iônica. É reportada em microsiemens por centímetro (mcS/cm).

Resistividade é a medida da resistência elétrica entre duas faces de 1 cm³ de água a 25°C, a essa temperatura é reportada em megaohm.cm. É uma função inversa da condutividade.

Ambas as medidas são úteis para mensurar a quantidade de contaminantes iônicos presentes na água, porque determinam indiretamente os sólidos totais dissolvidos. Elas dependem de vários fatores: tamanho das partículas, concentração dos íons e mobilidade dos íons dissolvidos.

- Equipamento para a mensuração: condutivímetro resistivímetro, que requerem calibrações uma vez ao ano, com aceitação na faixa de tolerância de calibração de 0 a 10%.

- Frequência de realização: as medidas da resistividade e a condutividade de uma amostra de água reagente devem ser feitas diariamente conforme descrito nas normas CLSI;
- Critérios de adequação: CLRW – superior a 10 megaohm.cm; SRW – 18,2 megaohm.cm a 25°C;
- Conduta para inadequação: verificar o módulo de eletrodeionização do sistema (EDI), verificar a mensagem no painel de comando do equipamento e acionar a assistência técnica. Em sistemas sem EDI, checar a vida útil das resinas de troca iônica ou do deionizador.

Determinação de carbono orgânico total

A concentração de carbono total (orgânico e inorgânico) é definida pela quantidade de gás carbônico (CO₂), bicarbonatos e carbonatos dissolvidos na água, ou seja, de impurezas orgânicas.

Quando medir TOC?

- Depois da osmose reversa para verificar a eficiência do monitor da membrana;
- Depois de estruturas de deionização (DI) para monitorar a vida útil e a eficiência de resinas;
- Depois da lâmpada UV para monitorar a eficiência da luz UV.

O aumento do TOC inativa reagentes por ação enzimática, promovendo bloqueios dos filtros e restrição do fluxo e proporcionando paradas para a manutenção. As mensurações periódicas possibilitam a avaliação de tendências ou de mudanças no nível de compostos orgânicos na água produzida.

- Equipamento para mensuração: monitor de TOC. Todos os instrumentos TOC requerem a substituição da lâmpada UV após 4.500 horas de operação. Depois da substituição da lâmpada, é necessária a calibração do equipamento de TOC. Efetuar calibração e substituição de lâmpada UV a cargo da empresa especializada;
- Frequência de realização: recomenda-se que a análise do TOC deve ser realizada mensalmente para garantir a ausência de moléculas orgânicas na água produzida. O CLSI no seu documento GP40-A4-AMD recomenda a medida de TOC anualmente para sistemas estáveis;
- Critério de adequação: CLRW menor que 500 ppb; SRW menor que 50 ppb;
- Conduta para inadequação: caso haja mudança no padrão de TOC, o operador deverá resetar o equipamento e proceder a uma nova medida para confirmar o resultado. Confirmando-se o resultado, efetuar a checagem do sistema de manutenções preventivas, em especial dos pré-filtros, filtros e da osmose reversa; ao persistir, acionar a assistência técnica do fabricante.

Controle microbiológico pela contagem de colônias de bactérias heterotróficas

A água de alimentação pode formar biofilmes, que interferem nos resultados de exames laboratoriais e degradam equipamentos pela biocorrosão.

O biofilme é fonte de endotoxinas e polissacarídeos, gerando a contaminação e a perda da pressão da água.

A contagem de bactérias heterotróficas em placa é um procedimento que estima o número de bactérias vivas na amostra de água, dando uma indicação do tipo de organismo presente na amostra. As contagens de bactérias são reportadas em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL).

- Coleta de amostra para análise: deve ser cuidadosa e asséptica, prevenindo contaminação; efetuada por pessoa devidamente paramentada e habilitada para esse procedimento em frasco estéril. O procedimento deve ser iniciado o mais brevemente possível, mantendo o material coletado sob refrigeração (2 a 8°C) durante o transporte;
- Meios de cultura empregados: ágar, R2A ágar incubados por 5 dias entre 20 e 28°C;
- Mecanismo de identificação: são realizados por meio da técnica de contagem de bactérias heterotróficas (THPC), em que o valor obtido é uma aproximação do número de microrganismos viáveis presentes no sistema de purificação. As metodologias utilizadas são as técnicas de espalhamento em placa, de membrana filtrante e por microscopia de epifluorescência. Em nosso meio, a técnica mais empregada é a de espalhamento em placa;
- Frequência de realização: o controle microbiológico deve ser feito semanalmente;
- Critério de adequação: menor que 10 UFC/mL;
- Conduta para inadequação:
 - » Caso haja contaminação, recomenda-se verificar se a água está realmente contaminada por bactérias (descartando-se a possibilidade de contaminação durante a coleta ou outro meio manual de contaminação), utilizar a contagem de TOC, pois, como indicador de impurezas orgânicas, essa verificação pode ajudar a confirmar esse resultado. Se a contagem for inferior à especificada para aquele tipo de água, o sistema é liberado para utilização, sob monitoramento até a próxima análise, ou seja, dentro de 7 dias;
 - » Caso o monitoramento de TOC seja superior à especificação: o sistema deverá ser sanitizado, verificando-se todo o sistema de purificação, checando a frequência de manutenções preventivas efetuadas e a troca de filtros. Seguido de nova coleta e aguardar os resultados da análise microbiológica.

Teste de endotoxinas

O teste de lisado de amebócito limular (LAL) é um método rápido e eficaz para testar a endotoxina, é recomendado para aplicações da água sensíveis, como nos preparos de medicações. É sempre importante descartar reações cruzadas e interferências, executando adições, padrão de concentrações conhecidas de endotoxina e/ou um (1,3)-beta-D-glucano, dependendo de qual entidade é de interesse.

Como na água reagente o número de microrganismos tende a ser pequeno, a concentração de lipopolissacarídeos, em função da área de superfície celular, é relativamente baixa.

Segundo o documento GP40-A4-AMD do CLSI, o método mais sensível para LAL é a medida cinética turbidimétrica, com sensibilidade de 25 pequenas células (ou equivalente de sua parede) por mL.

- Frequência de realização: o controle de endotoxinas deve ser feito mensalmente para a água do tipo SRW;
- Critério de adequação: para as aplicações menos sensíveis e testes de rotina de sistemas de água de alimentação, o método do coágulo de gel pode ser considerado. Os níveis

de endotoxina são medidos em unidades de endotoxina por mililitro (Eu/mL), e níveis menores que 25 e preferencialmente abaixo de 2 a 5 Eu/mL podem ser considerados representativos dos encontrados em água potável de boa qualidade. Níveis de endotoxina significativamente mais baixos devem estar presentes em águas ultrapuras usadas para certas aplicações analíticas (p. ex., para a cultura de células, espectrometria de massas, técnicas moleculares, cromatografia líquida de alto desempenho – HPLC/*ultra performance liquid chromatography* – UPLC, espectrometria de massas). A maioria das aplicações de laboratório não requer água estéril e, quando necessária, é normalmente produzida ou adquirida especificamente para esse fim;

- Conduta para inadequação: verificar o controle microbiológico da água.

Os pirogênios são fragmentos de paredes de células bacterianas Gram-negativas ou lipopolissacarídeos. Quando injetados em um mamífero, os pirogênios causam um aumento na temperatura do corpo.

Assim, a água de uso farmacêutico e para injetáveis deve ser isenta de pirogênios, que também têm efeito degenerador ou letal em culturas de tecidos, além de prejudicar análises muito sensíveis, como HPLC, UPLC, espectrometria de massas.

Os pirogênios são detectados por injeção da amostra de água em cobaias e monitoramento de sua temperatura corporal.

A Tabela 2 resume as especificações da AGR, segundo o CLSI.

TABELA 2 Especificações de água reagente, segundo o CLSI

Indicador	Parâmetro	Especificação CLRW	Especificação SRW
Medida das impurezas e da contaminação iônicas	Resistividade megaohm.cm a 25°C	Superior a 10 megaohm.cm a 25°C	18,2 megaohm.cm a 25°C
Medida da capacidade da água em conduzir eletricidade em virtude da contaminação iônica	Condutividade mcS/cm a 25°C ou MOhm/cm	Superior a 107 mcS/cm a 25°C	18,2.106 mcS/cm a 25°C
Medida de impurezas e contaminantes orgânicos	Carbono orgânico total ppb ou ng/g	< 500 ppb (ng/g)	Inferior a 50 ppb
Impurezas por microrganismos	Contagem total de unidades formadoras de bactérias heterotróficas UFC/mL	Até 10 UFC/mL	Até 10 UFC/mL
Material particulado	Filtração com porosidade capaz de remover partículas micra (mcm)	Inferior a 0,22 mcm no último estágio de purificação	Inferior a 0,22 mcm no último estágio de purificação

(continua)

TABELA 2 Especificações de água reagente, segundo o CLSI (*Continuação*)

Indicador	Parâmetro	Especificação CLRW	Especificação SRW
Isenção de materiais orgânicos e inorgânicos, partículas e coloides, além de bactérias e seus subprodutos, nucleases	Presença de nucleases (DNAses, RNAses)	Isenta de materiais orgânicos e inorgânicos, partículas e coloides, além de bactérias e seus subprodutos	Água livre de nucleases (DNAses e RNAses)
Teste de endotoxinas	Baixas concentrações de endotoxinas Unidades de endotoxina por mililitro (Eu/mL)	NSA	< 25 Eu/mL

Fonte: CLSI; 2012.

Validação de novos sistemas de purificação de AGR

Essa atividade foi regulamentada pela Anvisa, cujo protocolo de validação recomendado é apresentado na Tabela 3. Trata-se de uma sistemática documentada, definida pelos responsáveis técnicos do serviço, que proporciona confiabilidade e segurança. Essa metodologia garante o atendimento de determinadas especificações e atributos de qualidade antes do uso na prática laboratorial cotidiana desse sistema purificador, a partir da coleta e da análise de evidências que sustentam a completa eficiência do processo. Inicialmente, deve ser feito um plano de validação preparando-se um roteiro das atividades deste processo, cujo conteúdo está recomendado na Tabela 3, gerando, ao final, um relatório de análise do processo de validação.

TABELA 3 Protocolo de validação recomendado

- Descrição do sistema que será validado, os objetivos da validação, a definição dos responsáveis, os procedimentos a serem empregados, as análises físico-químicas e microbiológicas, o teste de integridade dos filtros, a frequência de realização, a indicação do ponto de coleta da amostra, os critérios de aceitação e os registros a serem efetuados
- Treinamento e habilitação do pessoal (ponto crucial)
- Verificação do cumprimento do documento de *site installation* gerado pelo fornecedor pela equipe de engenharia clínica do laboratório
- Documentação da etapa de instalação
- Validação da calibração, higienização, permeabilidade da linha de distribuição, qualificação operacional com controle de qualidade e avaliação da capacidade do sistema
- Verificação do tanque de estocagem de água, que deve ser de material opaco e protegido da luz, possibilitando que a água recircule por ele continuamente

Fonte: adaptada de Anvisa, 2005.

Manutenção do sistema de purificação de água

Como qualquer equipamento do laboratório clínico, o sistema de purificação de água deve ser submetido a uma manutenção preventiva para garantir o bom funcionamento, ampliar a sua vida útil, produzir água dentro das especificações pretendidas e antecipar paradas para manutenções corretivas. Para isso, recomenda-se seguir as orientações do fabricante.

Os componentes do sistema podem falhar por várias causas, como: a deterioração da lâmpada ultravioleta; as resinas de trocas iônicas podem ficar saturadas; os filtros podem sofrer bloqueio por material ou partículas ou sofrer perfurações ou ser contaminados.

Algumas partes do sistema de purificação de água requerem calibrações e verificações periódicas, como os manômetros e os condutivímetros/resistivímetros. Recomendam-se calibrações anuais para esses componentes.

A osmose reversa deve ser trocada a cada 5 anos, em decorrência do desgaste da membrana.

A sanitização do sistema de purificação e da linha de distribuição é crítica para evitar a contaminação bacteriana e a criação de biofilmes. Ela deve basear-se na frequência de utilização do sistema, no monitoramento dos parâmetros de controles e nas recomendações do fabricante.

Na prática operacional, recomenda-se que a higienização do sistema e da linha de distribuição seja efetuada mensalmente, utilizando-se pastilhas de cloro. A sanitização do tanque reservatório é recomendada para ser cumprida anualmente, garantindo que o residual de biocida permaneça dentro dos limites estabelecidos, de acordo com as instruções do fabricante.

CONCLUSÃO

A água é um dos reagentes mais importantes utilizados na rotina diária, e o controle rigoroso da sua produção é um quesito importante para a qualidade das análises realizadas pelo laboratório.

É importante conhecer o ciclo de vida da água dentro das instalações laboratoriais para que se estabeleçam as especificações para seu uso e os parâmetros de monitoramento, os quais devem ser do conhecimento de todos que fazem uso desse reagente. Um sistema de purificação de água obtido de fornecedores confiáveis, cumprindo os requisitos de instalação do fabricante, com um programa de manutenção preventiva, adequadamente cumprido, tem vida média mais longa, maior percentual de disponibilidade e apresenta um menor número de manutenções corretivas gerando água de melhor qualidade.

A AGR requer padronização, cuidados e monitoramento de sua produção continuamente, o que se enquadra nas melhores práticas.

Todos os parâmetros de controle de qualidade contribuem para minimizar os riscos de danos, por meio da eliminação dos contaminantes, evitando que sejam necessários procedimentos de descontaminação. Isso otimiza o desempenho do sistema de purificação e diminui o tempo de inatividade, fatores que aumentam o custo operacional e a ineficiência.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Brasília: DOU; 2005.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Standard specification for reagent water. Disponível em: <https://freitag.com.br/files/uploads/2018/01/portaria_norma_290.pdf>. Acesso em: 28 maio 2020.

ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION (AAMI). AAMI standard and recommended practices. Dialysis. Volume 3. New York: AAMI; 1993.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory. CLSI document GP40-A4-AMD. 4. ed. Wayne, PA: CLSI; 2012.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). Laboratory General Checklist CAP Accreditation Program. Quality of Water. Northfield, IL: CAP; 2020.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). Commission on Laboratory Inspection and Accreditation. Reagent water specification. Northfield, IL: CAP; 1985.

LONG J, MABIC S. The impact of water quality on IVD testing. *In-vitro Diagnostic Technol.* 2009;8:29-35.

LONG J, MABIC S. Water quality in patient testing. Disponível em: <<http://www.clpmag.com/2007/04/water-quality-in-patient-testing/>>. Acesso em: 12 abr. 2020.

McFETERS GA, BROADAWAY SC, PYLE BH, EGOZY Y. Distribution of bacteria within operating laboratory water purification systems. *Appl Environl Microbiol.* 1993;89(5):1410-5.

MENDES ME, FAGUNDES CC, PORTO CC, ET AL. A importância da qualidade da água reagente no laboratório clínico. *J Bras Patol Med Lab.* 2011;47(3):217-23.

MENDES ME, SUMITA NM. Água reagente. In: Oliveira CA, Mendes ME [orgs.]. *Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática.* Rio de Janeiro: Controllab; 2011. p. 163-79.

MENDES ME, ROMANO P. Validação de sistema analítico. In: Mendes ME, Oliveira CA [orgs.]. *Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar qualidade na prática.* Rio de Janeiro: Controlab; 2010. p. 39-62.

MERCK. Water for Clinical and Biomedical Laboratories. Disponível em: <<https://www.merckmillipore.com/BR/pt/water-purification/learning-centers/applications/biomedical/clinical-biomedical-labs/RgKb.qB.nq4AAAAFA6GUQWTde.nav?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F&bd=1>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

NABULSI R, AL-ABBADI MA. Review of the impact of water quality on reliable laboratory testing and correlation with purification techniques. *Lab Med.* 2014;45:e159-65.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). Laboratory water: its importance and application. 2013. Disponível em: <https://www.orf.od.nih.gov/TechnicalResources/Documents/DTR%20White%20Papers/Laboratory%20Water-Its%20Importance%20and%20Application-March-2013_508.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC). Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) – versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2020.

SILVA CHPM, LINS AP, CRUZ CSO, ET AL. Caracterização dos biofilmes formados em filtros de carvão ativado de sistemas de purificação de água em laboratórios clínicos. *Rev Bras de Análises Clínicas.* 2006;38(4):243-53.

STEWART BM. The production of high- purity water in the clinical laboratory. *CE Update Water III.* *Lab Med.* 2000;31(11):605-11.

WHITEHEAD P. Application note: laboratory monitoring of total organic carbon in ultrapure water. *American Laboratory.* 2003;35(17):20-4.

16 Aplicação da métrica Sigma no laboratório clínico

Fernando de Almeida Berlitz, Maria Elizabete Mendes

INTRODUÇÃO

O uso da métrica Seis Sigma, originária da manufatura, passou também a ser utilizada por empresas da área de saúde, iniciando-se em grandes hospitais norte-americanos nos anos 1990. O crescente interesse pela aplicação da abordagem Seis Sigma ocorre em razão de os serviços de saúde apresentarem como objetivo a segurança dos pacientes, a busca do erro zero, associada à necessidade de redução de custos. Essas também são premissas da sua expansão para as aplicações na área de medicina diagnóstica.

Além de letra do alfabeto grego, sigma, representa uma medida de variação usada em estatística. A métrica Sigma demonstra o grau no qual o processo se desvia de sua meta, isto é, a capacidade desse processo em gerar produtos dentro das especificações predefinidas. Um processo com desempenho Seis Sigma é aquele que não produz mais que 3,4 defeitos por milhão de oportunidades, no qual defeito é definido como qualquer característica do produto fora das especificações percebidas pelo cliente, esse nível é atingido por serviços de excelência.

A abordagem Seis Sigma contempla roteiros de implantação que orientam para resultados, desde a definição dos objetivos até a eliminação das causas-raízes de variação, com o uso robusto de ferramentas estatísticas, contribuindo para resultados consistentes e sustentáveis. Como ela trabalha com cálculos matemáticos e ferramentas estatísticas, então, estabelecer métodos de avaliação para mensurar resultados é fundamental. A partir dessa análise, podem ser estabelecidas métricas válidas e confiáveis para ajudar a monitorar o progresso rumo às metas definidas.

Essa metodologia abrange não somente o pensamento estatístico, mas também o alinhamento da qualidade às estratégias do laboratório clínico, além de enfatizar a relação custo-benefício dos projetos de melhoria.

Neste capítulo, os autores apresentam as principais aplicações desse conceito na medicina laboratorial e os benefícios que propicia para a empresa.

DIMENSÕES DA PRÁTICA SEIS SIGMA

A abordagem e o conceito Seis Sigma podem ser encarados como:

1. A filosofia Seis Sigma: provoca o entendimento de que a variação nos processos é o principal obstáculo para a excelência dos serviços prestados. Como filosofia, reforça valores, princípios e diretrizes organizacionais, como: excelência na qualidade de serviços/produtos, erro zero, abordagem baseada em fatos mensuráveis, satisfação de clientes, com-

- bate ao desperdício, lucratividade e melhoria contínua. Uma vez que esses conceitos são aprendidos, devem ser aplicados aos processos, produtos e serviços dentro do laboratório para reduzir falhas e custos de produção, ajudando a manter a competitividade;
2. Na dimensão da estratégia de negócio: procura o sucesso da empresa em longo prazo, com uma abordagem organizada, com o compromisso de realizar a melhoria contínua dos processos empresariais, conduzindo para a identificação e a eliminação das principais causas que podem ser atribuídas como críticas para gerar variação e, consequentemente, falhas nos processos. Age, assim, como uma estrutura poderosa para a solução de problemas, contribuindo para a ampliação da capacidade do processo em gerar produtos ou serviços dentro das especificações planejadas e para a percepção de valor na visão dos clientes e das demais partes interessadas. Por meio dessa dimensão, definem-se claramente o processo a ser estudado e o que precisa ser melhorado (defeitos) para que as variáveis de trabalho sejam claras e explícitas (escopo), calculando-se matematicamente o nível de desempenho desse processo e, a partir do valor obtido pela métrica Sigma (diagnóstico), traçando os objetivos e as metas de melhoria do seu desempenho (oportunidades);
 3. Entendida como uma metodologia: corresponde a um conjunto de práticas estruturadas e organizadas que são desenvolvidas para maximizar o desempenho dos processos dentro do laboratório, eliminando-se os seus defeitos e as suas não conformidades de acordo com as especificações. Essas práticas ajudam a organizar e gerenciar as etapas de implantação do projeto de melhoria que buscam reduzir as causas de variações, monitorando o processo, com medições das variáveis identificadas, mantendo-o estável e efetivamente controlado. A sua aplicação propicia a redução do número de defeitos por milhão de oportunidades, gerando o aumento da eficiência e da eficácia. Em consequência, os custos operacionais são reduzidos e os clientes ficam mais satisfeitos;
 4. Como métrica de desempenho: ela acessa especificamente o nível de qualidade de cada processo, quantificando a sua capacidade em atender às especificações predefinidas, por meio de parâmetros, como número de falhas/defeitos ou variação. Adicionalmente, essas métricas podem viabilizar um processo de *benchmarking* entre processos internos do mesmo laboratório e/ou entre diferentes instituições.

BENEFÍCIOS DA ABORDAGEM SEIS SIGMA NO LABORATÓRIO CLÍNICO

A implantação dessa abordagem traz uma série de benefícios para o laboratório clínico, como:

- Gestão por processos: o conceito de processo na medicina laboratorial, o mapeamento dos processos; maior conhecimento das atividades;
- Estímulo à análise estatística dos fatos: o uso de ferramentas estatísticas aplicadas ao laboratório clínico possibilita a medida da qualidade de maneira objetiva e quantitativa;
- Para a excelência do serviço laboratorial: proporcionar uma comparação para a melhoria do processo em direção às BPLC, aumentar significativamente a qualidade e a produtividade de produtos e serviços, estimular o uso de ferramentas de qualidade;
- Redução da variabilidade analítica: com a consequente diminuição da variação terapêutica e dos desfechos clínicos, há um aperfeiçoamento da eficácia de todas as operações que atendam às necessidades dos clientes;
- Melhora da eficiência dos processos internos: diminuição do ciclo dos processos, eliminação de defeitos;

- Mais valor agregado ao laboratório: exige uma capacidade de identificar e eliminar atividades e custos que não agreguem valor aos clientes, acréscimo e retenção de clientes;
- Benefícios financeiros: redução dos custos da não qualidade pelo desempenho ruim, diminuição dos custos organizacionais, priorização do aumento da rentabilidade;
- Possibilita a utilização de *benchmarking*;
- Mudança cultural benéfica para a organização.

Na Tabela 1, os autores exemplificam quando utilizar a abordagem Seis Sigma.

TABELA 1 Quando utilizar a abordagem Seis Sigma no laboratório clínico?

-
- Quando se pretende criar um novo processo
 - Quando um processo ou problema pode ser mapeado/medido
 - Em problemas recorrentes ou crônicos
 - Em situações nas quais a causa-raiz é desconhecida
 - Em problemas multifatoriais
 - Em processos complexos ou multissetoriais
 - Quando há variabilidade excessiva no processo analítico (imprecisão)
 - Quando há necessidade de melhoria drástica de desempenho
 - Quando algo tem impacto no cliente ou na organização
 - Quando precisar se comparar com um referencial
 - Quando há necessidade de adequação na relação custo/benefício
-

Fonte: elaborada pelos autores.

CENÁRIOS PARA A APLICAÇÃO DO CONCEITO DE SEIS SIGMA NA AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS PROCESSOS NO LABORATÓRIO

- Projetos para a correção de atividades dentro do ciclo do exame laboratorial que estejam não conformes: representadas pelas situações nas quais as falhas podem ser identificadas e contabilizadas (p. ex., número de testes cujos resultados foram liberados fora do prazo prometido ao cliente diante do número total de resultados liberados nesse período);
- Projetos para a prevenção e a melhoria do desempenho técnico na fase analítica do ciclo do exame laboratorial: representadas por situações nas quais se pode acessar a probabilidade de geração de falhas por determinado processo técnico através das especificações analíticas de qualidade estabelecidas. Combinando parâmetros de *bias* e imprecisão de um ensaio analítico comparados com a especificação de erro total máximo permitido para esse mesmo teste laboratorial, traduzindo essa comparação em termos de uma métrica na escala Sigma, que estará relacionada com uma probabilidade de geração de resultados fora das especificações.

METODOLOGIA DMAIC (DEFINE, MEASURE, ANALYZE, IMPROVE, CONTROL)

Antes de buscar melhorias, é importante mapear os processos para entender completamente cada etapa dos processos internos do laboratório.

Fator crítico de sucesso é a qualidade de um produto ou serviço aos olhos do cliente. Identificar os parâmetros críticos para a qualidade significa que eles se relacionam com o que é importante para o cliente.

Para aplicar a abordagem Seis Sigma no laboratório, é necessário engajar toda a equipe, estimular a cooperação mútua, promover o compartilhamento de conhecimentos, manter um sistema de comunicação eficaz e manter o foco nos objetivos e nas metas do projeto de melhoria, evitando-se criar expectativas irreais sobre o processo.

Cada fase da metodologia aplicada deve ser seguida pela entrega de um conjunto de informações e dados que finalizam aquela etapa.

- Fase *define*: envolve a definição de metas claras para as atividades e as melhorias almejadas. Ao findar, o projeto deve estar definido, estipulando as metas e os ganhos esperados, o escopo, estabelecendo o cronograma e convocando a equipe do projeto. A descrição do projeto deve estar gerada e os fatores críticos para o sucesso do projeto devem ter sido estabelecidos junto aos clientes. Enfim, o projeto deve ter sido validado;
- Fase *measure*: definição do problema revisado, projeto revisado, coleta de dados realizada, mapeamento detalhado do processo realizado, estabelecimento de métricas válidas e confiáveis para ajudar a monitorar o processo, desempenho atual do processo determinado e identificadas oportunidades de melhorias que possuem características de baixa complexidade de execução, com curto prazo e considerável potencial de benefício foram identificadas (*quick wins*) e plano de implantação definido;
- Fase *analyze*: o objetivo dessa análise é identificar caminhos para eliminar a lacuna entre os números atuais e as metas definidas anteriormente. Atenção, essa análise deve ser fundamentada por dados sólidos e uma análise estatística robusta. Projeto atualizado, análise de valor e eficiência do processo, com causas-raízes identificadas e priorizadas;
- Fase *improve*: significa que o processo será melhorado, e não serão realizadas mudanças estruturais. Nessa etapa, encontram-se novas soluções e melhorar os processos torna-se um diferencial importante. Soluções são definidas, testadas e implantadas, novo processo é documentado e os profissionais serão capacitados;
- Fase *control*: o objetivo dessa etapa é garantir que as metas alcançadas serão mantidas em longo prazo. Plano de controle está implantado, cartas-controle estão monitoradas, feita a avaliação da métrica pós-projeto, acompanhamento dos ganhos do projeto, documentação do novo processo, documentação do projeto e transferência do conhecimento para os “donos” do processo.

ESCALA SIGMA

A escala Sigma de desempenho relaciona a métrica Sigma com a métrica de defeitos por milhão de oportunidades (DPMO), conforme apresentado na Tabela 2.

Para características de desempenho que podem ser medidas em uma escala quantitativa, que são o alvo da abordagem Sigma, pode-se identificar dois tipos de variáveis: discretas ou contínuas.

Para acessar o desempenho Sigma da maioria dos processos no laboratório clínico, a abordagem utilizada está baseada em uma contagem de falhas. Para calcular a métrica Sigma desses processos, deve-se, inicialmente, acessar o número de falhas no processo diante do número total de eventos (oportunidades de falhas) em determinado período.

TABELA 2 Defeitos por milhão de oportunidades (DPMO) e a métrica Sigma correspondente

DPMO	Short-term Sigma*	Efetividade (%)
3,4	6,0	99,99966
233	5,0	99,98
6.210	4,0	99,4
66.807	3,0	93,3
308.538	2,0	69,1
691.462	1,0	30,9
933.193	0	6,7

* A métrica Sigma *short-term* é a mais frequentemente utilizada; ela acessa o desempenho do processo em um momento específico, ou seja, é uma visão de curto prazo e desconsidera uma possível variação do processo ao longo de um período maior.

Fonte: Westgard et al., 2018.

Projetos de melhoria com a abordagem Seis Sigma são aplicáveis a todas as fases do exame laboratorial, conforme mostrado na Tabela 3.

TABELA 3 Exemplos de falhas a serem estudadas nas fases do ciclo do exame laboratorial

Exemplos de falhas na fase pré-analítica	Exemplos de falhas na fase analítica	Exemplos de falhas na fase pós-analítica
<ul style="list-style-type: none"> Exames não cadastrados Cadastros errados Cadastros incompletos Reconvocações 	<ul style="list-style-type: none"> Número de acidentes do trabalho com laboratoristas 	<ul style="list-style-type: none"> Resultados de exames não entregues no prazo TAT excessivo
<ul style="list-style-type: none"> Erros no preparo do paciente Uso de frascos de coleta incorretos Erros de coleta 	<ul style="list-style-type: none"> Número de vezes que o controle interno da qualidade esteve fora do intervalo especificado 	<ul style="list-style-type: none"> Resultados com valores críticos não comunicados
<ul style="list-style-type: none"> Erros de transporte Tempo de transporte demasiado Acondicionamento indevido Entrega no local errado 	<ul style="list-style-type: none"> Número de manutenções corretivas de equipamentos automatizados 	<ul style="list-style-type: none"> Não reconvocação de pacientes
<ul style="list-style-type: none"> Erros na triagem do laboratório 	<ul style="list-style-type: none"> Tempo médio entre falhas de equipamentos 	<ul style="list-style-type: none"> Reclamação do corpo clínico
<ul style="list-style-type: none"> Material perdido acidentalmente na centrifugação 	<ul style="list-style-type: none"> Inadequações em avaliações de ensaios de proficiência 	<ul style="list-style-type: none"> Retificação de laudos

TAT: *turnaround time*.

Fonte: elaborada pelos autores.

Métrica Sigma na coleta de amostras biológicas do laboratório

Segundo Damato e colaboradores, em 2011, foi efetuado um estudo colaborativo empregando-se a metodologia Lean – Six Sigma para reduzir os níveis de hemólise em um centro de atendimento de emergência. Observaram, no centro de atendimento de emergência, a diminuição de 91% para 9,8% (isto é, 423 amostras hemolisadas/4.295 amostras colhidas) e, depois, para 0,88% (58 amostras hemolisadas/6.560 amostras colhidas). No laboratório como um todo, a hemólise diminuiu de 59% para 3,4% (2.046 hemolisadas/60.307 colhidas) e, depois, para 1,39% (619 hemolisadas/44.528 coletadas). Os resultados continuaram a cair e, em média, na emergência, os índices ficaram inferiores a 0,05% e, no geral, menores que 1%.

Métrica Sigma no transporte de amostras do laboratório

No Froedtert Hospital (Milwaukee, Estados Unidos), Nevalainen e colaboradores (2000) utilizaram a estratégia Seis Sigma para resolver problemas com o sistema de transporte por tubo pneumático, que gerava um grande aumento do TAT, perda de materiais colhidos durante o transporte e reclamações dos clientes. Com o trabalho conjunto, entre o fornecedor do sistema e a equipe do hospital, eles conseguiram reduzir o tempo de trajeto para 20% do inicial, houve uma diminuição do TAT médio para 7,5 minutos e os erros foram reduzidos para 35% da porcentagem inicial.

Métrica Sigma na triagem de amostras do laboratório

No Seattle Children's Hospital (Seattle, Estados Unidos), a abordagem Lean Seis Sigma ajudou na eliminação de desperdício de tempo, com fluxo de trabalho complexo, que não agregava valor à triagem de amostras de *corelab*. Houve a remodelação da movimentação de colaboradores dentro da triagem de amostras no *corelab*; implantação de controle de gerenciamento visual; padronização de tarefas (todos agindo da mesma forma, de uma só maneira), ocorreu simplificação de tarefas; alteração do fluxo de priorização de amostras (a primeira que entra é a primeira que sai), balanceamento de cargas de trabalho entre colaboradores do setor, criação de postos de trabalho (*work cell*), subsídio à introdução da automação na fase pré-analítica. Isso resultou na otimização do TAT de creatinina (54 para 23 minutos), no aumento de 20% do volume de exames, em economia de dinheiro e na melhor utilização do espaço, com ganho de 25%.

A metodologia contribuiu para reduzir a taxa de rejeição de amostras na emergência do laboratório clínico da Hacettepe University Faculty of Medicine em Ankara na Turquia (com cerca de mil leitos). Em 2013, a instituição tinha 27.067 amostras rejeitadas em um universo de 453.171. Nesse estudo, 41% delas vinham da emergência (sendo 31% da emergência de adultos e 10% da pediatria), 31% da unidade de terapia intensiva e 28% de pacientes internados. As principais causas de rejeição foram presença de fibrina (28%) e de volume inadequado na bioquímica (13%). As maiores taxas de rejeição ocorreram mais no período noturno (64%) que no diurno (34%).

Métrica Sigma na recepção de amostras no laboratório

Riebling e colaboradores (2004) implantaram um projeto Seis Sigma para reduzir os erros de acesso às amostras que consistiam em falhas com as solicitações médicas, no cadastro do paciente ou na etiquetagem de amostras no laboratório do North Shore-Long Island Jewish Medical Center, observando, no início, que 5% de todas as requisições eram inexa-

tas ou incompletas (DPMO: 7.210 = 3,9 sigma). Reorganizaram o acesso às informações, ministraram treinamentos ao pessoal envolvido, definiram uma pessoa responsável para fazer as entregas de amostras pelo laboratório, fizeram uma programação visual por cores distintas para indicar diferentes setores do laboratório onde havia testes daquele paciente, alteraram o código de barras com informações de endereço do paciente e de sua localização. Ao final, obtiveram na fase de controle DPMO: 1.387 = 4,5 sigma, o que significou uma economia de U\$ 339.000 por ano e lucro.

Inal e colaboradores (2018) demonstraram uma redução de atrasos no envio de amostras a partir da recepção para as áreas técnicas do laboratório do hospital da Çukurova University em Adana, Turquia, graças à redução de amostras identificadas erroneamente por problemas com a impressora de código de barras, através da aquisição de novas impressoras (de 300 reimpressões por dia, depois da implantação reduziu-se para 25 a 30 reimpressões por dia). Processos pré-analíticos na recepção também melhoraram, eliminando-se 3 h e 22,5 min por dia de trabalhos que não agregavam valor (de 3 h e 45 min para 22,5 min) e reduzindo-se o TAT de amostras de emergência de 68 para 59 minutos após a aplicação da metodologia Lean. Etapas propensas a erros e com danos biológicos potenciais aos recepcionistas foram reduzidas de 30% para 3%.

Métrica Sigma na automação do laboratório

Segundo Yerian e colaboradores (2012), em um estudo analisando 68 fluxos de trabalho, houve redesenho de processo, que provocou: reforma de instalações, reestruturação do *layout* das estações de trabalho na automação de *corelab*, reestruturação do fluxo de trabalho, padronização do trabalho, maior eficiência com diminuição do trânsito da equipe técnica, diminuição da distância entre o trabalhador e os itens requeridos para completar o seu trabalho (*temotoka*), através da concentração de tarefas junto ao técnico de laboratório. Os resultados evidenciavam 38% (n = 251) das 664 tarefas com movimentação a partir da estação de trabalho do funcionário; após a análise e o redesenho, somente 9% (n = 59) deixavam seu posto de trabalho para completar suas tarefas, o que significou, na média, que 3,4 viagens foram removidas de cada posto de trabalho. Nos trajetos, observava-se um gasto de tempo de 8 a 70 segundos em movimentação cada vez que se afastavam do posto de trabalho.

Métrica Sigma de ensaios laboratoriais, definindo e padronizando as estratégias de controle da qualidade analítica

Durante 1 ano de trabalho no laboratório, foram enviados 500 resultados para um provedor de ensaio de proficiência, para os quais dois resultados foram considerados inadequados:

$$\text{DPMO} = (2 \text{ resultados inadequados}) / (500 \text{ resultados enviados}) \times 10^6$$
$$\text{DPMO} = 4.000$$

Esse resultado de 4.000 DPMO pode ser transformado em métrica Sigma com a utilização de uma tabela padronizada Sigma (similar à Tabela 2, anteriormente apresentada), usando uma calculadora Sigma disponível em diversos sites da internet, ou, ainda, por meio de uma fórmula no *software* Microsoft Excel (INV.NORMP[1-falhas/oportunidades]+1,5). Assim, para um nível de falhas de 4.000 DPMO, acessa-se uma métrica Sigma equivalente a cerca de 4,2.

Para acessar o desempenho do processo analítico do laboratório em termos de erros de resultados, há duas abordagens:

- **Simplista:** contabilizando o número de resultados incorretos identificados pela fase pós-analítica do laboratório e pelos erros identificados após o questionamento do médico ou paciente. Haveria subestimação dos erros laboratoriais (mesmo somente os originados por falhas analíticas), visto que esse tipo de medida ignoraria outros resultados que não atendem às especificações de qualidade analítica dos ensaios e que acabaram não sendo também identificados na liberação de laudos ou pelo médico do paciente;
- **Comparativa:** mais aceita para acessar o quantitativo de falhas dos ensaios em atender às especificações de qualidade predefinidas, considera comparar as características de desempenho desses ensaios (via de regra, *bias* e imprecisão), consolidadas em termos de “erro total calculado” e comparadas com as especificações de erro total permitido, obtidas a partir de modelos cientificamente válidos. Para isso, os autores recomendam seguir as etapas primordiais resumidas na Tabela 4.

TABELA 4 Principais etapas e atividades para acessar a métrica Sigma de ensaios laboratoriais

Etapa	Objetivo	Situação	Atividade/alternativas
1	Acessar a imprecisão do ensaio laboratorial	Método em implantação	Acessar variação via protocolo de verificação de desempenho (CV do estudo replicação)
		Método em uso na rotina	Acessar variação via controle interno da qualidade (CV dos controles internos)
2	Acessar a inexactidão (<i>bias</i>) do ensaio laboratorial	Método em implantação	Acessar <i>bias</i> via protocolo de verificação de desempenho (<i>bias</i> frente ao método comparativo)
		Método em uso na rotina	Acessar <i>bias</i> via ensaio de proficiência (<i>bias</i> frente ao grupo comparativo do EP)
			Acessar <i>bias</i> via programa interlaboratorial de controle da qualidade (<i>bias</i> frente ao grupo comparativo do programa)
3	Calcular o erro total do ensaio laboratorial		Calcular o erro total do ensaio, a partir do <i>bias</i> e do CV ($bias + CV$)
4	Definir a especificação de erro total máximo permitido		Definir qual base de especificação da qualidade será utilizada e identificar o erro total máximo permitido (ETp)
5	Calcular a métrica Sigma		Calcular a métrica Sigma do ensaio, utilizando: $Sigma = (ETp - bias) / CV$

CV: coeficiente de variação; EP: ensaio de proficiência.

Fonte: elaborada pelos autores.

É considerada uma boa prática de gestão analítica nos laboratórios clínicos a iniciativa de customizar a estratégia de controle interno da qualidade (número de amostras-controles e regras de controle) ao desempenho analítico específico de cada ensaio.

O racional dessa customização está na visão de que um ensaio com elevada métrica Sigma tem menor probabilidade de gerar resultados fora das especificações da qualidade pretendidas, exigindo regras de controle menos rígidas; contudo, ensaios com baixa métrica Sigma são mais suscetíveis a gerar resultados fora das especificações, requisitando estratégias mais rígidas de controle para garantir a segurança do paciente. A Tabela 5 relaciona a métrica Sigma do ensaio com as estratégias de controle interno da qualidade.

Apesar da robustez e da importância da métrica Sigma nos laboratórios clínicos, alguns cuidados especiais devem ser considerados na interpretação da métrica Sigma dos ensaios laboratoriais. Conforme discutido anteriormente, a métrica Sigma dos ensaios é uma composição matemática entre parâmetros como imprecisão, *bias* e especificação da qualidade. Como não existe uma única diretriz para acessar de maneira inequívoca essas três características de desempenho, cada apresentação de métrica Sigma para determinado ensaio deve ser acompanhada de considerações quanto à abordagem utilizada para o cálculo da métrica Sigma, incluído o modelo para acessar *bias*, imprecisão e fonte de especificação escolhida. Essas informações devem ser consideradas quando, por exemplo, compara-se desempenhos em métrica Sigma de diferentes metodologias/equipamentos para um mesmo ensaio laboratorial, ou mesmo para diferentes estudos publicados em um mesmo sistema analítico. Além disso, deve-se ter especial atenção quanto à fonte de especificação utilizada para acessar a métrica Sigma de um ensaio. Existem várias fontes de especificações para um mesmo ensaio laboratorial, as quais, por vezes, são sensivelmente divergentes quanto ao seu nível de exigência em termos de desempenho, o que pode ocasionar um desempenho em Sigma inferior ao desejado. Na Tabela 5, são definidas estratégias de controle interno da qualidade, de acordo com o desempenho Sigma do ensaio laboratorial.

TABELA 5 Definição de estratégias de controle interno da qualidade de acordo com o desempenho Sigma do ensaio laboratorial

Métrica Sigma	Categoria	Regra de controle proposta	Frequência de controle proposta	Ação adicional
> 6	Excelente desempenho	1 _{3,5σ}	1 controle/dia	
4 a 6	Desempenho adequado ao propósito	1 _{2,5σ}	2 níveis de controle/dia	
3 a 4	Desempenho inferior ao desejado	1 _{3σ} , 2 _{2σ} , R _{4σ} , 4 _{1σ} , 10 _x	2 níveis de controle 2 vezes/dia	
< 3	Testes problemáticos	1 _{3σ} , 2 _{2σ} , R _{4σ} , 4 _{1σ} , 10 _x	3 níveis de controle 3 vezes/dia	Considerar testes de pacientes em duplicata

Fonte: Gras, 2017.

Métrica Sigma na fase pós-analítica do laboratório

Riebling e Tria (2005) aplicaram essa metodologia no laboratório do Long Island Jewish Medical Center (Nova York, Estados Unidos) estudando as retificações de laudos laboratoriais para atingir uma redução para 35% dos dados iniciais nesse tipo de erro no laboratório (inicialmente era 355 DPMO = 4,8 sigma, visando a atingir DPMO de 3,4 = 6 sigma). O estudo estatístico revelou que 86% dos erros decorriam de duas causas: erros processuais (52%) e por autoverificação de resultados (34%). Criaram, com a tecnologia da informação, uma ferramenta para simplificar a revisão dos resultados pela equipe técnica, alteraram o *software* e colocaram, para resultados interfaceados alterados, um sinal visual (*flag*), com alarmes sonoros. Na fase de controle, o nível atingido foi de 5 sigma.

Como demonstrado anteriormente, as aplicações para a metodologia Seis Sigma abrangem todo o ciclo do exame laboratorial, auxiliando na redução de variações e não conformidades com mais qualidade e custos menores.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- BERLITZ FA, HAUSSEN ML. Seis sigma no laboratório clínico: impacto na gestão de performance analítica dos processos técnicos. *J Bras Patol.* 2005;41(5):301-12.
- BERLITZ F. Controle da qualidade no laboratório clínico: alinhando melhoria de processos, confiabilidade e segurança do paciente. *J Bras Patol.* 2010;46(5):353-63.
- DAMATO C, RICHARD D. Using lean-Six Sigma to reduce hemolysis in the emergency care center in a collaborative quality improvement project with the hospital laboratory. *The Joint Commission Journal on Quality and Patient Safety.* 2015;41(3):99-107,AP1. Disponível em: <[https://doi.org/10.1916/s1553-7250\(15\)41014-1](https://doi.org/10.1916/s1553-7250(15)41014-1)>. Acesso em: 01 maio 2020.
- DIKMEN ZG, PINAR A, AKBIYIK F. Specimen rejection in laboratory medicine: necessary for patient safety. *Biochemia Medica.* 2015;25(3):377-85.
- GEORGE M. *Lean six sigma for service.* New York: McGraw-Hill; 2003.
- GRAS JM. *Laboratory quality control and patient safety.* Berlin: De Gruyter; 2017.
- GRAS JM, PHILIPPE M. Application of the Six Sigma concept in clinical laboratories: a review. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(6):789-96.
- ISIXSIGMA. Process Sigma Calculator. Disponível em: <<https://www.isixsigma.com/process-sigma-calculator/>>. Acesso em: 26 abr. 2020.
- INAL TC, OZTURK OG, KIBAR F, ET AL. Lean six sigma methodologies improve clinical laboratory efficiency and reduce turnaround times. *J Clin Lab Anal.* 2018;32:e22180. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jcla.22180>>. Acesso em: 1 maio 2020.
- MORON-CASTANEDA LH, USECHR-BERNAL A, MORALES-REYES OL, ET AL. Impacto de la metodología lean em la mejora de procesos asistenciales y niveles de satisfacción em la atención de pacientes em um laboratorio clínico. *Rev Calid Asist.* 2015;30(6):289-96.
- NEVALAINEN D, BERTE L, KRAFT C, ET AL. Evaluating laboratory performance on quality indicators with the Six Sigma scale. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124(4):516-9.
- OLIVEIRA C, BERLITZ F. Especificações da qualidade. In: Oliveira CA, Mendes ME. *Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática.* Volume II. Rio de Janeiro: Controllab; 2011. p. 11-45.
- PEREZ-WILSON M. *Seis Sigma: compreendendo o conceito, as implicações e os desafios.* São Paulo: Qualitymark; 1998.

RUTLEDGE J, XU M, SIMPSON J. Application of the Toyota production system improves core laboratory operations. *Am J Clin Pathol.* 2010;133:24-31.

RIEBLING NB, CONDON S, GOPEN D. Toward error free lab work. *ASQ Six Sigma Strategy Forum Magazine.* 2004;4:23-9.

RIEBLING NB, TRIA L. Six Sigma strategy project reduces analytical errors in an automated lab. *Med Lab Obs.* 2005;20:22-3.

WESTGARD S, BAYAT H, WESTGARD J. Analytical sigma metrics: a review of six sigma implementation tools for medical laboratories. *Biochem Med (Zagreb).* 2018;28(2):020502.

YERIAN LM, SEESTADT JA, GOMEZ ER, MARCHANT KK. A collaborative approach to Lean laboratory workstation design reduces wasted technologist travel. *Am J Clin Pathol.* 2012;138:273-80.

17 **Como realizar a equivalência entre sistemas analíticos na prática laboratorial**

Maria Elizabete Mendes, Adriana Nascimento de Carvalho,
Nairo Massakazu Sumita

INTRODUÇÃO

Testes de laboratório fornecem uma base para decisões médicas; por esse motivo, são de grande relevância para a assistência à saúde, tanto no esclarecimento de diagnósticos, na prescrição e no monitoramento terapêutico, assim como na tomada de decisões sobre internar ou dar alta hospitalar. A confiabilidade dos resultados desses testes depende da qualidade técnica, da tecnologia empregada dentro de especificações rígidas, do uso de materiais e suprimentos de origem confiável, da eficiência e da implantação de mecanismos para a prevenção de falhas em potencial.

A harmonização de métodos e equipamentos nos últimos anos faz parte de um contexto orientado por: busca pela segurança do paciente; prontuários eletrônicos de saúde (EHR); consolidação de serviços de laboratório em grandes cadeias regionais ou nacionais; uso de múltiplas plataformas de equipamentos nas rotinas de diagnóstico, para aumentar a produtividade e a eficiência dos sistemas analíticos; atendimento ao paciente em diversos tipos de serviços de saúde, dentro de um mesmo sistema; necessidade urgente de redução de erros laboratoriais para minimizar os riscos para os pacientes.

A procura por uma equivalência matemática decorre da necessidade de processar, em paralelo, no laboratório, exames em mais de uma plataforma, para que haja uma comparação entre os resultados obtidos, dentro de faixas de variação consideradas aceitáveis. Esses resultados precisam ser constantemente avaliados e os desempenhos desses sistemas analíticos devem ser equivalentes, demonstrando-se um alinhamento aceitável entre métodos e/ou equipamentos distintos.

Isso assegura que eventuais diferenças nos resultados sejam decorrentes das terapêuticas instituídas, da evolução natural da doença, e não de variações entre sistemas analíticos em uso no laboratório, evitando-se eventos adversos. Esse padrão de qualidade tem íntima relação com a cultura de segurança do paciente, porque reduz os riscos de uma elevada variabilidade nos resultados do paciente por causas espúrias e eventuais danos que possam disso decorrer.

As melhores práticas dentro do laboratório clínico definem como padrão de excelência a verificação periódica da comparabilidade dos resultados obtidos em diferentes equipamentos para o mesmo analito. Nessa especificação, o laboratório deve possuir um processo para avaliar a relação entre os resultados para o mesmo teste realizado com diferentes metodologias ou instrumentos, ou em diferentes locais. Ela está contida em todos os programas de acreditação laboratorial, sejam eles nacionais (como o Programa de Acredita-

ção em Laboratórios Clínicos – PALC e a Organização Nacional de Acreditação – ONA), assim como os internacionais (programas do College of American Pathologists – CAP e da Joint Commission International – JCI).

Essa política aprimora os esforços de garantia de qualidade, permitindo a análise e possibilitando relatórios personalizados por um sistema analítico comparado, com base em ferramentas estatísticas.

A harmonização também deve ser incluída no processo de validação de novos métodos, sistemas ou equipamentos, precedendo a implantação de seu uso na rotina. Dessa maneira, é possível verificar se o novo método, sistema ou equipamento atende às especificações da qualidade e se seus resultados são equivalentes ao método, ao sistema ou ao equipamento já em uso no laboratório clínico. O termo “comutabilidade” foi inicialmente usado para definir a capacidade de possuir propriedades interensaios comparáveis em materiais de referência, de calibração ou de controle, demonstradas por amostras clínicas autênticas, quando medidas por mais de uma plataforma analítica. Documentos da International Standardization Organization (ISO) expandiram esse conceito, descrevendo comutabilidade como a equivalência das relações matemáticas entre os resultados de diferentes sistemas analíticos de medida para um material de referência e para amostras representativas de indivíduos saudáveis ou doentes para determinado analito.

Explicações para a não realização dessa avaliação incluem o desconhecimento de sua importância, a pouca familiaridade com as ferramentas e os procedimentos necessários para sua aplicação. Outra barreira à harmonização de resultados é a falta de procedimentos de medição de referência ou de materiais de referência certificados. Há esforços conjuntos de sociedades científicas e de fabricantes de diagnóstico *in vitro* para apresentar informações indicando que os testes de rotina são rastreáveis por materiais de referência e/ou métodos de referência. Eles também envolvem provedores de testes de proficiência para produzir amostras comutáveis com valores-alvo do método de referência, para permitir a classificação com base na precisão dos testes dos fabricantes.

Neste capítulo, os autores preocuparam-se em demonstrar, de uma maneira prática, como cumprir este requisito de qualidade técnica nos laboratórios de maneira simplificada e acessível.

PLANEJAMENTO DA VERIFICAÇÃO PERIÓDICA

Cabe à direção do laboratório definir o melhor protocolo a ser estabelecido para efetuar a comparabilidade para cada analito, que é medido em mais de um sistema analítico.

Fatores operacionais que precisam ser considerados: a disponibilidade de colaboradores para a realização dessa tarefa, a estabilidade de amostras adequadas que serão testadas, a capacidade de estocagem de amostras de pacientes, os locais onde serão realizados os testes e o custo dos reagentes.

Para a realização do estudo, deve-se planejar e prover os recursos necessários:

- Definir os responsáveis pela realização do estudo, os locais e os equipamentos a serem comparados, assim como a duração do estudo (diariamente por 10 a 20 dias), a comunicação com a equipe sobre essa atividade;
- Provisão dos insumos, calibradores e controles necessários;
- Preparação, acondicionamento e a identificação das amostras que serão usadas;
- Definir a forma de registro para os resultados;

- Escolher o protocolo de avaliação estatística a ser utilizado e prover o aplicativo requerido (planilha Excel ou *software* estatístico específico);
- Determinar os critérios de aceitação, considerando a relevância clínica do analito e o impacto da sua variação aceita no resultado laboratorial;
- Registrar os resultados e demais dados brutos, de forma a garantir a rastreabilidade dos dados do estudo;
- Comparar os resultados com base no protocolo selecionado de avaliação estatística e critérios de aceitação com nível de significância para os ensaios quantitativos.

Quando o método comparativo não é 100% eficiente, podem acontecer resultados discrepantes entre o método candidato e aquele considerado referência. Ressalta-se, portanto, a importância de um planejamento correto e da definição da amostragem, se ela efetivamente está correspondendo às necessidades do uso do método.

APLICAÇÕES

Esse tipo de estudo se aplica a exames complexos, realizados em um mesmo sistema analítico, que estejam em uso dentro da mesma área técnica (em várias plataformas) ou em equipamentos similares localizados em laboratórios satélites da mesma rede de laboratórios (em hospitais ou em cidades diferentes). Na microbiologia, esse requisito se aplica quando dois instrumentos são usados para detectar o mesmo analito (do mesmo ou de diferentes fabricantes).

Esse estudo fica dispensado em analisadores da microbiologia quando dois ou mais detectores ou células de incubação estejam conectados a um único sistema de coleta, análise e registro computadorizado, já que esse sistema é considerado único.

Ou múltiplos termocicladores de PCR *real time* para o mesmo analito.

PERIODICIDADE DE REALIZAÇÃO

O estudo deve ser realizado duas vezes ao ano respeitando-se o intervalo de 6 meses entre eles.

Algumas situações justificam uma verificação da comparabilidade fora do planejamento:

- Depois da resolução de problema em um ou mais equipamentos;
- Imediatamente após o término de um grande e importante serviço de manutenção em um equipamento;
- Troca de algum componente importante do(s) equipamento(s);
- Atualização de *software*; ou
- Indagações do corpo clínico a respeito da exatidão dos resultados.

AMOSTRAS DE PACIENTES

As amostras ideais para os protocolos de comparabilidade são as nativas de pacientes, coletadas e processadas de acordo com a estabilidade dos requisitos de cada analito. Amostras de pacientes enfermos recentemente obtidos representam o material “ideal” para esse estudo de comparação dos testes, porque são amostras destinadas a serem analisadas pelos sistemas analíticos na rotina.

Também é possível efetuar este tipo de estudo empregando-se *pool* de amostras. O material deve ser processado à semelhança daqueles utilizados na rotina diagnóstica. As amostras devem ser representativas da população que recorre ao laboratório e também dos estados clínicos observados na prática da instituição na qual o laboratório atua.

Atualmente, provedores de ensaios de proficiência comercializam material para a realização desse tipo de estudo (p. ex., Controllab, CAP).

O tamanho da amostra depende da intenção do avaliador para o uso do método e a prevalência da doença de interesse, ficando a critério do responsável pelo protocolo a definição do tamanho da amostra.

Como orientação, o documento EP12-A2 do CLSI recomenda um mínimo de 50 amostras positivas obtidas no método considerado de referência e 50 amostras negativas. Na prática operacional, são aceitos estudos com pelo menos 20 amostras para ensaios quantitativos.

USO DE MATERIAL DE CONTROLE

O uso de material de controle de qualidade pode ser aceito para a realização do protocolo de comparabilidade sob algumas circunstâncias, devendo-se ficar atento e considerar alguns cuidados na interpretação: quando há diferenças entre plataformas de equipamentos (mesmo que sejam do mesmo fabricante), diferenças entre os lotes de reagentes usados – ainda que no mesmo equipamento – ou diferentes sistemas analíticos de medida, existe uma grande probabilidade de os resultados de material de controle não terem relação com os resultados de amostras de pacientes.

Segundo o documento EP12-A2 do CLSI, para estudos de avaliação de concordância podem ser empregadas amostras de pacientes, painéis de amostras de referência ou amostras de ensaios de proficiência.

De acordo com o documento EP30-A do CLSI, a seleção de materiais para os testes de comparabilidade deve levar em conta a comutabilidade do material.

AValiação Estatística de EnsaioS Quantitativos

- Boxplot: é útil para uma análise exploratória dos dados, porque permite a visualização da dispersão e da simetria. Critério de aceitação: que as medianas (percentil 50) dos dados das duas populações de dados estudados sejam equivalentes;
- Coeficiente de correlação de Pearson (r): mede a intensidade da associação existente entre as duas variáveis quantitativas comparadas. Varia de -1 até $+1$. Valores negativos indicam um tipo de relação inversa, enquanto valores positivos demonstram haver uma relação direta. Critério de aceitação:
 - » Coeficiente de correlação de Pearson (r) superior a 0,80;
 - » Análise de concordância entre os métodos Bland-Altman: quando se busca saber se duas medidas são equivalentes e se uma poderia substituir a outra, o coeficiente de correlação não responde a essas questões. Esse teste avalia de maneira visual as dispersões das diferenças entre duas variáveis e a média das duas, além do erro sistemático, sendo possível obter a relação das discordâncias com as medidas avaliadas. A partir do viés e do desvio-padrão, é possível chegar aos limites de concordância, que devem ser calculados e colocados no gráfico. Critérios de aceitação/ interpretação:
 - Se o viés tem distribuição normal, esses limites representam a região em que se encontram 95% das diferenças nos casos estudados;
 - Nas situações em que o viés não apresenta distribuição normal, recomenda-se uma abordagem não paramétrica;

- Havendo relação entre os valores das diferenças e as médias, existem diversas sugestões de tratamento para tentar homogeneizar a variação das diferenças em relação aos tamanhos das medidas;
- Quanto à precisão dos valores de viés e dos limites de concordância, o erro-padrão pode ser calculado, assim como os intervalos de confiança, desde que o viés apresente distribuição normal;
- A repetibilidade de cada medida também deve ser avaliada, além do cálculo dos limites de concordância, quando existirem replicações de cada método.

ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR SIMPLES PELO MÉTODO DOS QUADRADOS MÍNIMOS

- Elaborar um gráfico de dispersão dos dados;
- Obtenção da reta de regressão pelo método dos mínimos quadrados;
- Teste de significância de hipóteses da regressão para checar a existência de regressão, não apenas na amostra, como também na população.

Critério de aceitação:

- A relação matemática entre os métodos estudados gera uma reta de regressão.

COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO

O coeficiente de determinação é o quadrado do coeficiente de correlação de Pearson (R^2) e informa a proporção da variância de Y explicada pela influência linear de X em relação à variação total.

Critérios de aceitação/interpretação:

- Seu menor valor é zero (quando não há relação linear);
- O maior valor é 1, que significa haver uma correlação perfeita entre Y e X.

COMPARAÇÃO PARA TRÊS OU MAIS SISTEMAS ANALÍTICOS E UM TIPO DE AMOSTRA OU MAIS – ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA)

É um método estatístico para comparar as médias de vários grupos. Ela decompõe em diversos componentes identificáveis a variação total entre os valores obtidos no protocolo de comparabilidade. Cada componente atribui a variação a uma causa ou fonte de variação diferente. O número de causas depende do delineamento do estudo.

No modelo *One Way* ANOVA, a variação global subdivide-se em duas frações. A primeira é a variação entre as médias dos vários grupos, quando comparadas com a média geral, e a segunda é observada entre as unidades experimentais de um mesmo grupo, com relação à média desse grupo.

Varição total = variação entre tratamentos + variação dentro dos tratamentos

Critérios de aceitação/interpretação:

- A variação “entre” deve ser maior que a variação “dentro”. Isso equivale a dizer que se espera que a razão entre a variação entre/dentro (denominada razão F de variâncias, simbolizada apenas por “F”) seja sempre maior que 1;

- O resultado F calculado deve ser comparado com um valor tabelado (F crítico);
- Quando F for significativo (maior que o F crítico), implica dizer que há pelo menos uma diferença entre os grupos estudados.

A identificação de diferenças particulares entre médias, tomando-as duas a duas, deve ser feita usando uma das comparações múltiplas entre as médias. O passo a passo é o seguinte:

- Estabelecimento de hipóteses estatísticas;
- Escolha do nível de significância (alfa);
- Determinação do valor crítico do teste, dado pelo F;
- Determinação do valor calculado do teste;
- Aplicação da regra de decisão;
- Conclusão.

AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DE ENSAIOS QUALITATIVOS

- A comparação analítica junto ao *cut off* é um ponto crítico;
- Deve-se optar pelo intervalo de confiança de 95% para a diferença entre o novo e o método vigente pareados para sensibilidade e especificidade;
- Calcular concordância entre os dois métodos;
- Comparar sensibilidades.

CRITÉRIOS DE EXATIDÃO DIAGNÓSTICA

Confecciona-se uma tabela de contingência (Tabela 1).

TABELA 1 Contingência

Método X	Critério de exatidão diagnóstica		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	VP: verdadeiro-positivo	FP: falso-positivo	VP + FP
Negativo	FP: falso-positivo	VP: verdadeiro-positivo	FN + VP
Total	VP + FP	FP + VP	N

Fonte: elaborada pelos autores.

- Sensibilidade = $100 \times [VP/(VP + FN)]$;
- Especificidade = $100 \times [VN/(FP + VN)]$;
- Prevalência = $100 \times (VP + FN)/N$;
- Valor preditivo positivo (VPP) = $100 \times [VP/(VP + FP)]$;
- Valor preditivo negativo (VPN) = $100 \times [VN/(FN + VN)]$.

ESTATÍSTICA KAPPA DE COHEN

Utilizada na verificação do grau de concordância entre somente duas variáveis. Aplicada na comparação de resultados entre dois microscopistas na urinálise, parasitologia, hematologia e na microbiologia. Essa análise é utilizada para dados nominais. Fornece

uma ideia do grau de concordância entre dois observadores independentes que realizam a mesma análise. O teste depende da proporção de indivíduos em cada categoria. É aplicável para um número de amostras superior a cinco. Os dados são colocados em uma matriz de comparação com tantas colunas e linhas quantas forem as características a serem estudadas.

Classificação da concordância frente ao valor kappa:

- Valor kappa inferior a 0: sem concordância;
- Valor kappa 0 a 0,19: mínima concordância;
- Valor kappa 0,20 a 0,39: discreta;
- Valor kappa 0,40 a 0,59: moderada;
- Valor kappa 0,60 a 0,79: boa;
- Valor kappa 0,80 a 1,00: ótima;

Critério de aceitação:

- Valor kappa superior a 0,79.

GRÁFICO DE BOLHAS

É confeccionado comparando-se o método de referência com o método de teste. Um gráfico de bolhas é uma variação de um gráfico de dispersão, no qual os pontos de dados são substituídos por bolhas e uma dimensão adicional dos dados é representada no tamanho das bolhas.

RELATÓRIO DE ANÁLISE CRÍTICA DE ESTUDO

O relatório de análise crítica do estudo deve descrever todas as etapas planejadas e cumpridas e aquelas que tiveram alguma retificação ao longo do estudo. Deve contemplar uma matriz de responsabilidades pelas tarefas executadas. Analisando-se os resultados obtidos nos estudos estatísticos e definindo-se se eles foram adequados ou não, dentro dos critérios de adequação predefinidos no planejamento.

Se houver discrepâncias entre os sistemas analíticos estudados, devem ser investigadas as causas prováveis de diferenças observadas entre resultados provenientes de mais de um instrumento ou método:

- Diferentes métodos;
- Diferenças na calibração entre os procedimentos de medida;
- Distintos níveis de imprecisão;
- Variação entre lotes distintos de calibradores;
- Uso simultâneo de diferentes lotes de reagentes;
- Degradação do reagente após a calibração;
- Falhas no equipamento;
- Diferenças na programação dos parâmetros dos equipamentos que usam a mesma metodologia (p. ex., diluições ou tempo de incubação);
- Uso de diferentes lotes de reagentes ou condições distintas de estocagem dos insumos, quando a metodologia usada em vários equipamentos é a mesma;
- Efeitos pré-analíticos na amostra;
- Finalizando-se com as conclusões se os sistemas analíticos comparados são equivalentes.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). CAP Accreditation Program. All Common Check List COM.40300. Northfield, IL: CAP; 2019.

CONSÓRCIO DE ACREDITAÇÃO BRASILEIRA (CBA)/JOINT COMMISSION INTERNATIONAL (JCI). Padrões de acreditação da Joint Commission International para Hospitais. Standard: quality control process. 6. ed. Oakbrook Terrace, IL: JCI; 2019.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). User protocol for evaluation of qualitative test performance: approved guideline. Wayne, PA: CLSI; 2008.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Characterization and qualification of commutable reference materials for laboratory medicine. Approved Guideline. CLSI document EP. Wayne PA: CLSI; 2010.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Harmonized terminology database. Disponível em: <<https://htd.clsi.org/listterms.asp?searchd>>. Acesso em: 29 abr. 2020.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Assessment of Equivalence or Suitability of Specimen Types for Medical Laboratory Measurement Procedures. CLSI guideline EP35. Wayne, PA: CLSI; 2019. MALUF CB, SILVA IO, VÍDIGAL PG. Avaliando a comutatividade: importante requisito da qualidade para laboratórios clínicos. J Bras Patol Med Lab. 2011;47(6):595-601.

ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO. Manual Brasileiro de Acreditação ONA Laboratórios Clínicos, versão 2018. São Paulo: Ona; 2018.

MENDES ME. Harmonization efforts add value to clinical laboratory and improve patient safety. J Bras Patol Med Lab. 2018;54(3):130-1.

MENDES ME, EBNER PAR, ROMANO P, PATRÃO IFL, SUMITA NM. Equivalência de Sistemas Analíticos para Cálcio Iônico em quatro Equipamentos ABL 800 Flex Radiometer. LAES/HAES. 2014;35:134.

MENDES ME. Como colocar em prática a equivalência entre sistemas analíticos laboratoriais. LAES/HAES. 2012;212:63.

MYERS GL, MILLER WG. The International Consortium for Harmonization of Clinical Laboratory Results (ICHCLR) – a pathway for harmonization. EJIFCC. 2016;27(1):30-6.

OLIVEIRA CA, MENDES ME. Equivalência de sistema analítico. In: Oliveira CA, Mendes ME (orgs.). Gestão da Fase Analítica do Laboratório como assegurar a qualidade na prática. Rio de Janeiro: Controllab; 2010. p. 63-93. Disponível em: <http://www.controllab.com.br/pdf/gestao_fase_analitica_vol1.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2020.

PLEBANI M. Harmonization in laboratory medicine: the complete picture. Clin Chem Lab Med. 2013;51:741-51.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Norma do Programa de Acreditação de Laboratório Clínicos (PALC) – 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2020.

TATE JR, MYERS GL. Harmonization of clinical laboratory test results. EJIFCC. 2016;27(1):5-14.

SCAPIN LD, RAMOS VP, SIQUEIRA RP, TAVARES RG. Estudo de harmonização de resultados entre analisadores bioquímicos Labmax 240® e Labmax 240 Premium. J Bras Patol Med Lab. 2018;54(3):158-63.

18 Como analisar o Controle de Qualidade Interno (CQI) diariamente e a interpretação de Gráficos de CQI

Márcio Yuiti Tomiyoshi, Nico VandePoele

INTRODUÇÃO

O controle de qualidade (CQ) na medicina laboratorial é um processo estatístico usado para monitorar e avaliar o processo analítico que produz resultados de pacientes. Ele requer testes frequentes de materiais de controle de qualidade junto a amostras de pacientes, comparando esses resultados a limites e variações específicas.

MATERIAL DE CONTROLE DE QUALIDADE

O material utilizado para produção de CQ deve ser semelhante ao material do paciente com concentrações conhecidas do analito e testado da mesma maneira. O material de CQ pode vir liofilizado ou líquido e deve ser de origem humana e apresentar uma concentração em níveis de importância clínica, de maneira que seja possível avaliar todo o espectro clínico relevante. Diferentes materiais de CQ estão disponíveis:

- CQ produzido pelo fabricante da metodologia testada (CQ de primeira opinião): pode ser otimizado para operar para a metodologia específica e normalmente é feito a partir da mesma matéria-prima que o padrão ou calibrado e, dessa maneira, apresenta risco de não detectar erros sistemáticos específicos;
- CQ produzido em nome de um fabricante da metodologia testada (CQ de segunda opinião): são produzidos a partir de uma formulação específica e otimizados para as especificações do fabricante, ou seja, bastante similares aos do item anterior;
- CQ produzido por um agente externo, independentemente do fabricante (CQ de terceira opinião): podem ser utilizados em diversas metodologias e instrumentos e são independentes da formulação dos fabricantes;
- *Pool* de amostras: são materiais feitos pelo próprio laboratório, a partir de amostras de concentrações conhecidas e necessárias para cada instrumento. Também podem ser considerados com CQ de terceira opinião e apresentam como limitante a sua estabilidade desconhecida.

Observação: laboratórios acreditados na ISSO 15189 (5.6.2.2 Nota 2) devem usar material de CQ de terceira opinião ao invés ou além de usar o controle fornecido pelo fabricante do reagente ou do equipamento.

REGULARIDADE DE TESTES E DADOS ESTATÍSTICOS

A regularidade de testes do CQ é necessária para que se crie uma base de dados que será utilizada para monitorar e avaliar o ensaio testado. Essa avaliação é a comparação diária dos resultados de CQ a um valor-alvo, definido pelo laboratório (média) e sua variação de desvio-padrão (DP). Existem muitas maneiras de calcular essa média e o DP, e recomenda-se que sejam utilizadas as diretrizes do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) – “*Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions*”, 4ª edição.

Definindo o alvo ou a média

Quando o laboratório recebe um novo lote de CQ, ele deve estabelecer um novo alvo ou média enquanto segue utilizando em paralelo o lote anterior. Dessa maneira, a avaliação do instrumento permanece sendo realizada pelo lote de CQ já estabelecido enquanto o novo lote está em teste. Esse procedimento é conhecido como *cross-over* para o novo lote. Realizar medições de um resultado de CQ do novo lote a cada dia por 10 dias é o suficiente para estabelecer um novo alvo ou média de CQ interno (CQI).

Definindo o desvio-padrão

Existem duas maneiras de estabelecer seu DP para um novo lote de CQI. Se já estiver utilizando um lote anterior do mesmo material de CQI, então a imprecisão desse lote pode ser utilizada para calcular o DP do novo lote. Para acomodar as mudanças do alvo ou valor de média do novo lote, é melhor usar o coeficiente de variação (CV) ao invés do DP. Se não tiver nenhum lote em uso, então um novo DP deve ser estabelecido, o qual pode ser estimado pela realização de um CQI por dia durante 20 dias. Após esse período, é possível, então, estabelecer esse DP como um valor fixo para avaliar seus resultados de QC. Vale lembrar que é importante reavaliar seu DP sempre que coletar novos dados.

CRIANDO UM GRÁFICO DE LEVEY-JENNINGS

O gráfico de Levey-Jennings (LJ) é a representação visual mais comum dos resultados de CQI em um laboratório. Ele mostra os resultados individuais de CQ em uma escala de tempo horizontal e utiliza a média descrita previamente na escala vertical. De maneira usual, o LJ terá em seu centro a média e terá os diferentes DP no eixo vertical. Como o DP representa a distribuição do resultado de CQI usando uma escala de -3 a $+3$ DP, isso fará com que o gráfico inclua 99,7% da distribuição normal dos resultados de CQ (Figura 1).

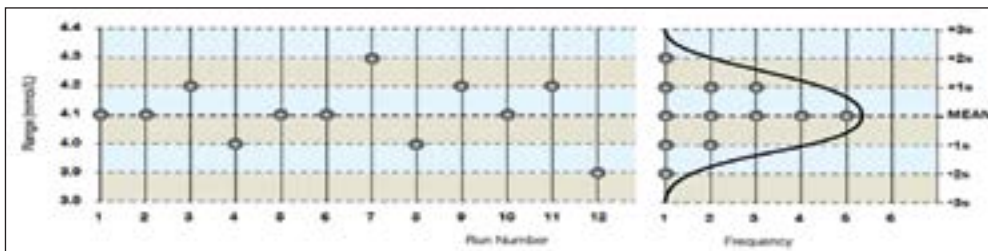


FIGURA 1 Duas representações do gráfico de Levey-Jennings, com os resultados individuais (à esquerda) e normalizados pelo desvio-padrão (à direita).

Fonte: Cooper, 2011 (autorizada pela Bio-Rad).

A Figura 1 mostra os resultados individuais de CQI por corrida. No gráfico à esquerda, pode-se ver a concentração individual de cada um, e, à direita, com a normalização pelo DP. O gráfico de frequência à direita foi adicionado para observar a distribuição normal dos resultados de CQI.

A maioria dos gráficos conectará os dados de CQI com uma linha para facilitar a identificação de tendências ou mudanças. Com a normalização da escala de DP, múltiplos níveis podem ser sobrepostos em um único gráfico, utilizando cores diferentes para facilitar a visualização. Essa sobreposição de níveis ajudará a mapear a leitura total de um analito em um gráfico só, como demonstrado na Figura 2.

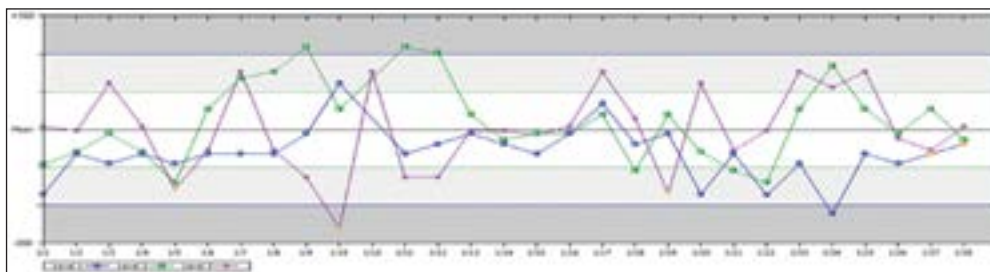


FIGURA 2 Exemplo de gráfico Levey-Jennings com vários níveis.

Fonte: Cooper, 2011 (autorizada pela Bio-Rad).

Utilizando um gráfico Levey-Jennings para avaliar seus resultados de controle de qualidade interno

A utilização do gráfico LJ proporcionará ao técnico de laboratório uma ferramenta visual rápida e fácil de avaliação dos resultados de CQI. A partir dele, pode-se avaliar a qualidade do controle, procurando sinais de erros sistemáticos ou randômicos.

Erros sistemáticos

São evidenciados por uma alteração na média dos resultados de CQI. Essa alteração pode ser vista de maneira gradual nos valores ou como uma tendência. No entanto, algumas vezes pode se dar de maneira abrupta e vista como uma mudança em todos os resultados de CQI.

Erros randômicos

Um erro randômico pode ser explicado com qualquer resultado que não seja o esperado (ou a média). Esse erro pode ser tanto positivo (maior que a média) como negativo (menor que a média) e será visto dentro da distribuição normal acerca da média; dessa maneira, a maioria dos resultados terá um erro randômico aceitável, definido pelo DP do teste (resultados dentro de 2 a 3 DP).

Regras de controle de qualidade interno (regras de Westgard)

Em 1981, o doutor J. Westgard publicou um artigo que determinou uma base para avaliar os resultados de CQI, a partir de princípios de controle de processos estatísticos utilizados na indústria desde os anos 1950. Existem cinco regras principais que podem ser utilizadas individual ou coletivamente para avaliar a qualidade de uma corrida analítica e identificar erros randômicos ou sistêmicos. A maioria dessas regras é expressa como N_L ,

onde N representa o número de observações e L o limite estatístico observado, conforme exemplificado pelas Figuras 3 a 7.

A maioria das regras será interpretada e analisada por um *software* de gerenciamento de dados e é importante que cada uma das regras e suas aplicações sejam conhecidas pelo laboratório, a fim de determinar a melhor maneira de utilizá-las em cada sistema.

Cada uma dessas regras apresenta variações na habilidade em detectar diferentes tipos e grandezas de situações “fora de controle”. De maneira usual, regras de análise individual serão utilizadas em conjunto com outras de modo que todas analisem um resultado único de CQI para verificar se existe alguma falha antes que o resultado seja rejeitado. Por exemplo, para um CQI com dois níveis, pode ser utilizada a combinação 1-3s, 2-2s e R4; e para três níveis: 1-3s; 2/3-2s e R4s.

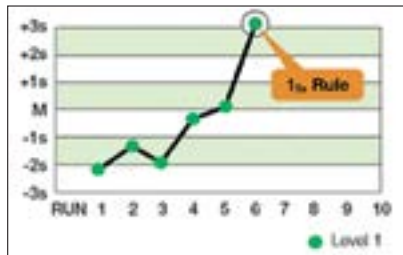


FIGURA 3 Regra 1-3s: quando um resultado de CQI está além do limite de $+3$ ou -3 DP. Essa regra identifica um erro randômico inaceitável ou o provável início de um erro sistemático inaceitável.

Fonte: Cooper, 2011 (autorizada pela Bio-Rad).

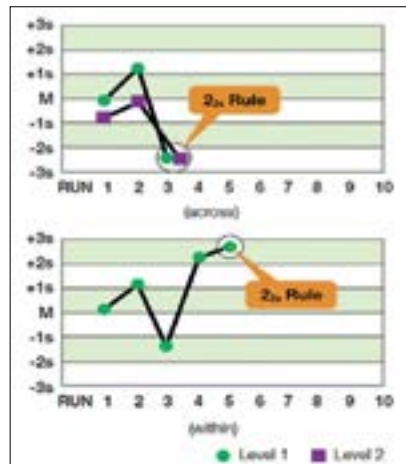


FIGURA 4 Regra 2-2s: quando dois resultados consecutivos de CQI de mesmo nível estão além do limite de $+2$ ou -2 DP ou quando níveis diferentes estão com uma variação de $+2$ ou -2 DP além do limite; em ambas as situações, as variações têm de estar do mesmo lado. Essa regra identifica um erro sistemático inaceitável.

Nota: para materiais de CQI com três níveis existe uma variação dessa regra deve ser usada. A regra 2/3-2s identificará caso 2 de 3 níveis estejam com variação (no mesmo lado) de $+2$ ou -2 DP.

Fonte: Cooper, 2011 (autorizada pela Bio-Rad).

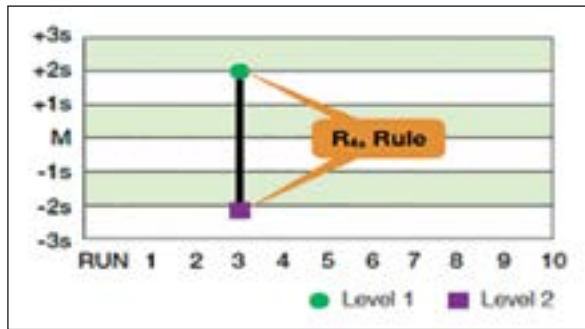


FIGURA 5 Regra R_{4s}: quando existem pelo menos 4 DP de diferença entre dois níveis diferentes de controle. Essa regra indica um erro randômico inaceitável e só pode ser utilizada em uma mesma corrida analítica.

Fonte: Cooper, 2011 (autorizada pela Bio-Rad).

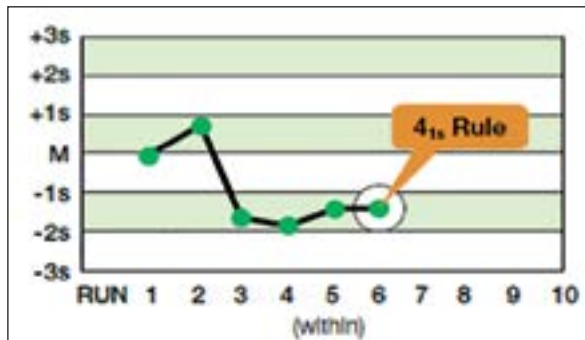


FIGURA 6 Regra 3-1s ou 4-1s: quando 3 ou 4 resultados de CQI apresentam resultados consecutivos além do limite de 1 DP do mesmo lado; em caso de mais de um nível, a regra se aplica quando um total de 3 ou 4 extrapola esse limite. Essa regra identifica um erro sistemático inaceitável.

Fonte: Cooper, 2011 (autorizada pela Bio-Rad).

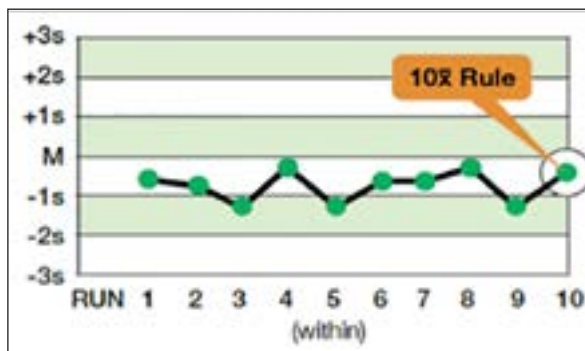


FIGURA 7 Regra 6x, 7x, 8x, 9x, 10x e 12x: quando 6, 7, 8, 9, 10 ou 12 resultados totais e consecutivos ficam do mesmo lado da média. Essa regra indica um erro sistemático.

Fonte: Cooper, 2011 (autorizada pela Bio-Rad).

CONCLUSÃO

A avaliação visual de CQ com o auxílio de um gráfico de LJ é um dos processos mais importante para a rotina diária de CQI. Todo técnico de laboratório deve ter um conhecimento básico dos processos de CQ do laboratório, ser capaz de interpretar as diferentes regras, identificar situações potenciais fora de controle e ter processos para atuar para corrigir tais situações.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

COOPER WG. Lições básicas em laboratório de controle de qualidade. Califórnia: Bio-Rad Laboratories Inc.; 2011.

PARVIN CA. Assessing the impact of the frequency of quality control testing on the quality of reported patient results. Clin Chem. 2008;54:2049-54.

PARVIN CA, YUNDT-PACHECO J, WILLIAMS M. The focus of laboratory quality control: why QC strategies should be designed around the patient, not the instrument. ADVANCE for Administrators of the Laboratory. 2011;20(3):48-9.

WESTGARD JO. Assuring the right quality right. Madison, WI: Westgard QC; 2007.

19 Importância dos materiais de controle interno da qualidade para resultados confiáveis

Controllab:

Lívia de Oliveira Soares, Claudio Rodrigues Bastos



INTRODUÇÃO

O objetivo principal dos laboratórios clínicos é gerar informações confiáveis, o que representa entregar aos médicos e aos pacientes (clientes finais) laudos que apresentem, de maneira consistente, a situação clínica investigada, servindo como subsídio para uma tomada de decisão diagnóstica.

A evolução constante das tecnologias agregadas aos métodos laboratoriais contribui para um alto grau de confiabilidade dos exames, tornando desafiador definir estratégias de melhoria e alinhá-las com as práticas laboratoriais, mantendo o foco do serviço prestado.

Nesse cenário, o controle de qualidade laboratorial vem evoluindo, passando por diversas adaptações e avanços ao longo dos anos. Com a crescente demanda por resultados rápidos e a quantidade de informações fornecidas para os médicos e pacientes, há uma eminente preocupação para que a liberação desses dados apresente uma margem de erros mínima.

Diante dessa necessidade, ferramentas importantes para esse fim, como o controle externo (conhecido também como ensaio de proficiência – EP) e o controle interno (CI), deixaram de ser consideradas apenas requisitos mandatórios e passaram a adquirir papel crucial na rotina analítica. As legislações vigentes determinam o uso em conjunto do EP e do CI, de modo a potencializar o monitoramento da rotina, pois cada uma dessas ferramentas apresenta uma maior afinidade na detecção de diferentes erros analíticos (aleatório ou sistemático).

A aplicação e a utilização eficaz do EP e do CI tornam-se mais fáceis diante de um sistema de gestão de qualidade estruturado, que envolva o planejamento de todas as fases do exame. Outro ponto importante, que contribui para a credibilidade do serviço, é conseguir manter a rastreabilidade de todo o processo laboratorial, pois isso auxilia não apenas na busca de agentes causadores de desvios, mas também ajuda a mensurar possíveis impactos. Informações como a identificação de mudança de reagentes, troca de lotes de controles, calibração, manutenção preventiva, treinamentos, troca de operador, entre outras, são de extrema importância.

O objetivo deste capítulo é auxiliar o leitor na compreensão da riqueza de informações que podem ser obtidas com a utilização do CI e a contribuição dessa ferramenta para laudos confiáveis, a descrição está direcionada aos exames quantitativos em razão de sua complexidade. Como complemento, sugere-se a leitura dos capítulos relaciona-

dos ao tema, que estão disponíveis nesta obra, além da bibliografia disponibilizada ao final deste capítulo.

INDICADORES DA CONFIABILIDADE

É possível pressupor a confiabilidade de um exame quando o laboratório consegue evidenciar o monitoramento de dois importantes indicadores do seu processo: a exatidão e a precisão.

A exatidão reflete a capacidade de produzir resultados próximos de um valor considerado “verdadeiro”, diferentemente da precisão, que demonstra a capacidade de gerar resultados semelhantes em análises repetidas da mesma amostra, o que não garante que o resultado esteja correto, mas sim que houve uma reprodutibilidade desse resultado. A Figura 1 apresenta os dois conceitos de maneira didática, representando resultados de exames como pontos vermelhos dentro de um alvo.

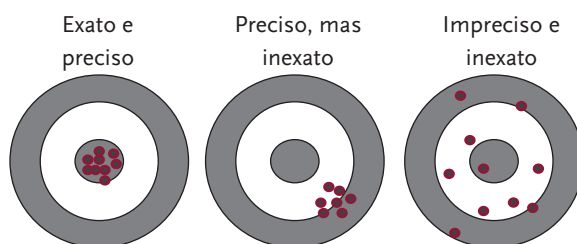


FIGURA 1 Diferença entre exatidão e precisão.

Fonte: adaptada de WHO, 2011.

Esses indicadores são amplamente conhecidos pelos laboratórios, que os acompanham por meio do controle de qualidade. O EP e o CI são as ferramentas responsáveis por esse monitoramento.

CREDIBILIDADE, CONFIANÇA E SEGURANÇA NOS LAUDOS

Um exame perfeito e impecável, teoricamente, seria um exame com laudo exato e preciso, no entanto, embora a atual tendência seja a de que os laboratórios adotem sistemas analíticos cada vez mais robustos, os instrumentos e as manipulações das amostras contribuem para variações nos processos (consideradas inerentes à rotina) que podem ser insignificantes ou ter grande impacto na interpretação dos resultados e na decisão médica.

Então, inicialmente, para ter resultados confiáveis, o laboratório precisa conhecer o seu parque tecnológico e definir o quanto de erro é admissível no seu processo; diante disso, haverá uma direção a ser seguida e metas poderão ser traçadas, como melhorias a serem atingidas.

Após a qualidade desejada ser especificada (especificação da qualidade), as estratégias para acompanhar e manter a rotina analítica sob controle devem ser estabelecidas. O laboratório passa a conhecer, dimensionar e classificar as suas variações em erro sistemático (ES) e erro aleatório (EA).

O CI está intimamente relacionado com o EA. Quando realizado de maneira contínua e em conjunto com amostras de pacientes, além de verificar periodicamente a precisão

dos resultados e manter a variabilidade do processo sob controle, também é um validador para os resultados produzidos durante a corrida analítica.

CONTROLE INTERNO

O CI, por definição, consta na análise diária de amostras, com valores conhecidos, para identificar e avaliar a precisão dos resultados, assim como o funcionamento eficiente e confiável dos procedimentos laboratoriais. Dessa maneira, pode-se dizer que o seu papel principal é auxiliar o laboratório a reconhecer o desempenho diário do seu sistema analítico, facilitando a identificação de possíveis situações não conformes em tempo real, antes que desvios possam interferir no resultado dos laudos. O CI retrata o processo e também consegue demonstrar mudanças ao longo do tempo.

A legislação brasileira (RDC 302/2005) recomenda a utilização de controles comerciais sempre que disponíveis, pois há certeza de que os fatores que garantem a qualidade do material (p. ex., estabilidade da amostra, homogeneidade e concentrações adequadas à rotina) já foram analisados e contemplados. Porém, caso não haja disponibilidade de controles comerciais, a utilização de formas alternativas descritas na literatura devem ser adotadas pelo laboratório.

Os controles a serem utilizados variam de acordo com o tipo de exame a ser monitorado e podem se dar com dados quantitativos (numéricos), qualitativos (positivo/negativo) ou semiquantitativos, que são obtidos em escala ordinal (título).

A seleção do controle mais adequado para cada exame, tomando como base a avaliação do sistema analítico, é o ponto inicial da etapa de planejamento. Nesse processo, devem ser determinados: a quantidade de níveis, a frequência do controle, a corrida analítica apropriada (intervalo de tempo ou número de amostras de pacientes, para o qual uma análise do CI é determinante) e os melhores critérios de decisão.

Em análises quantitativas, o laboratório pode optar por um controle simples ou realizar o controle utilizando as suas próprias métricas.

Muitos fabricantes disponibilizam o material de controle com valores conhecidos, ou seja, acompanhados de uma bula, mas a natureza desses dados (p. ex., uma comparação interlaboratorial, que engloba inúmeros sistemas analíticos) pode contribuir para que as faixas disponibilizadas sejam amplas e desvios-padrões bem maiores do que os geralmente encontrados em uma rotina.

Quando o laboratório determina que a aprovação ou a rejeição dos dados de CI será baseada nos dados fornecidos pelo fabricante, a sistemática de controle é considerada simplória. É indiscutível que ter em sua rotina materiais de controle valorados é um fator que auxilia o laboratório, mas é de extrema importância utilizar esses valores apenas como referência, visto que os dados podem não refletir a realidade do laboratório – a aplicação de uma faixa ampla, por exemplo, pode eventualmente mascarar desvios.

Ao obter as próprias métricas, na etapa conhecida como valoração, o laboratório estará caracterizando seu processo e, com isso, será possível aplicar as regras múltiplas e acompanhar mudanças de comportamento e variações do sistema analítico.

Então, embora as duas opções de controle citadas anteriormente coexistam, um CI bem implementado pode utilizar o valor fornecido pelo fabricante como uma comparação inicial, mas deve trabalhar com as regras de decisão baseadas na realidade do seu processo.

Destaca-se, ainda, que não se deve utilizar uma mesma regra para todos os exames, pois cada um apresenta desempenho diferente. Assim, o CI deve retratar de modo fidedigno a rotina laboratorial.

COMO O MONITORAMENTO DO CONTROLE INTERNO CONTRIBUI PARA LAUDOS CONFIÁVEIS?

A quantidade de dados gerados a partir de um CI é extensa, o que faz com que a aplicação da ferramenta aparente ser complexa. Nesse contexto, a etapa de planejamento ganha fundamental importância e, quando bem estruturada, será o pilar para que o laboratório consiga apreciar os benefícios obtidos com a sua utilização.

Um planejamento bem delimitado permite a aplicação de um conjunto de regras de controle com uma alta capacidade para detectar erros e uma menor chance de falsas rejeições, garantindo confiabilidade ao processo e baixa variação das informações fornecidas.

Há no mercado algumas soluções que visam a facilitar e desmitificar a implantação do CI, com destaque para as soluções da Controllab (Gestão da Qualidade Analítica, GQA e CI ONLINE), que permitem realizar o planejamento com base no desempenho do processo e na especificação definida.

A Figura 2 apresenta um exemplo do planejamento de CI para o monitoramento do exame cálcio no soro humano. A partir do desempenho encontrado no processo, a solução GQA apresenta duas estratégias de planejamento (Sigma e Erro Sistemático Crítico) e sugestões de regras de controle com alto poder de detecção de erros e baixa probabilidade de falsas rejeições.



FIGURA 2 Área de planejamento do CI para o exame de cálcio no soro humano. Solução GQA.

Fonte: autorizada pela Controllab.

Na Figura 3, tem-se o monitoramento do CI utilizando um gráfico de Levey-Jennings, com a aplicação da regra selecionada na etapa do planejamento (1-3s).

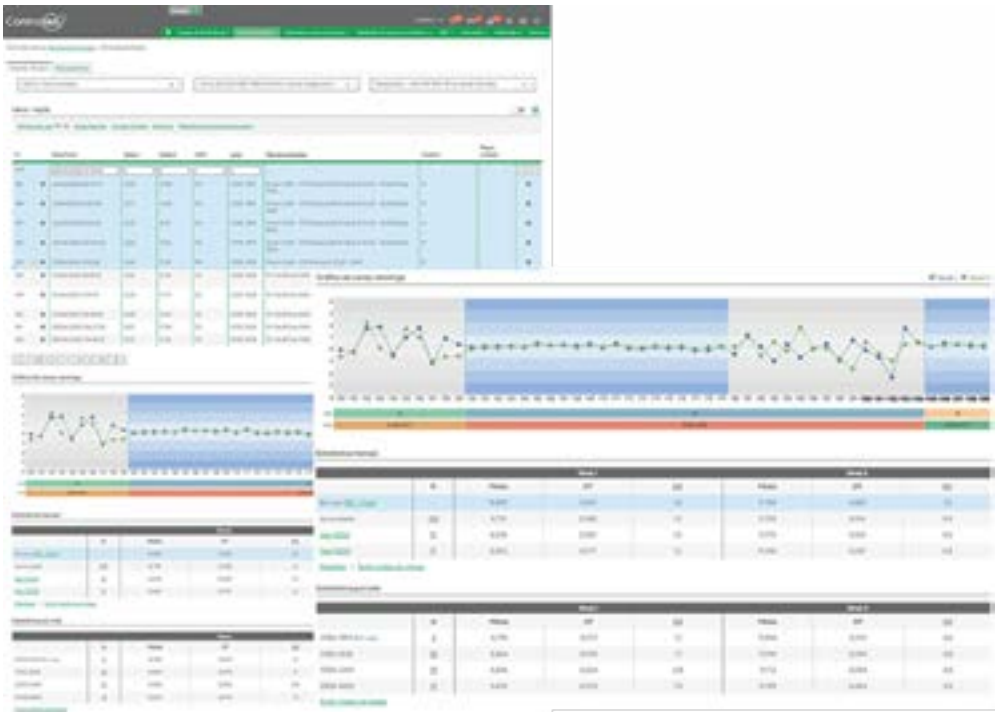


FIGURA 3 Monitoramento do CI para exame de cálcio no soro humano. Solução CI ONLINE.

Fonte: autorizada pela Controllab.

Conseguir planejar como o CI deve ser implantado permite a aplicação de regras adequadas e, atualmente, posiciona o laboratório em um patamar diferenciado, no entanto, para garantir a excelência do processo, os procedimentos de preparo, manuseio e armazenamento das amostras devem ser definidos e padronizados, assim como a sistemática para o registro e o acompanhamento dos dados.

Uma boa prática da utilização do CI envolve a rastreabilidade do processo. Dispor de registros sobre todas as práticas da rotina (p. ex., reanálises do controle, calibrações, manutenções, troca de lotes dos reagentes) auxilia nas investigações e nas tomadas de decisões.

Mudanças de comportamento nos dados do CI como apresentado na Figura 4 (dosagens identificadas como 234 e 235) podem ser facilmente justificadas quando existem evidências de que, no mesmo período, houve uma troca do lote do reagente. Um comportamento como o apresentado na Figura 5 também pode ser tranquilamente associado à prática de alíquotagem.

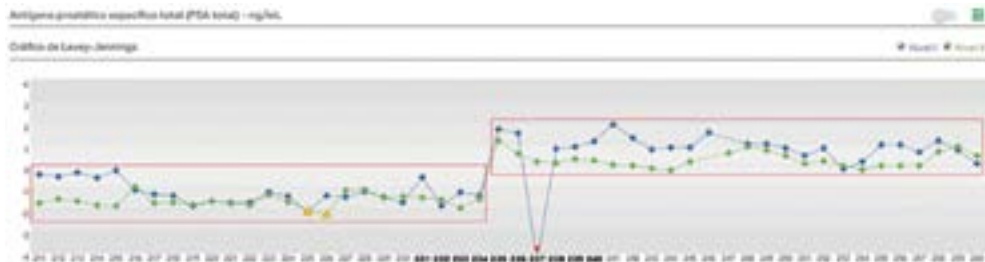


FIGURA 4 Gráfico de Levey-Jennings do exame de antígeno prostático específico total no soro humano. Solução CI ONLINE.

Fonte: autorizada pela Controllab.



FIGURA 5 Gráfico de Levey-Jennings do exame de beta-HCG no soro humano. Solução CI ONLINE.

Fonte: autorizada pela Controllab.

Garantir os registros e mantê-los reunidos ampliam a visão sobre o processo, viabilizando a geração de estatísticas específicas e indicadores analíticos. Na Figura 3, por exemplo, é possível verificar as métricas do CI (média, desvio-padrão e coeficiente de variação) calculadas de acordo com o lote reagente utilizado (estatística por lote), o que facilita acompanhar a presença de variação significativa relacionada com esse fator. Os indicadores analíticos, como a quantidade de análises de CI diante do número de exames realizados pelo laboratório, são a garantia de uma profunda discussão e revisão de processos.

A análise imediata dos dados é crucial, nesse ponto, é ótimo ter disponível todas as informações reunidas e é essencial que a equipe técnica esteja envolvida e detenha conhecimento para: identificar o aumento de variação no processo, verificar mudanças de comportamento, investigar os desvios, eliminar a causa-raiz e, mais importante do que justificar e tratar as falhas, conseguir antecipar a sua ocorrência.

Diante do comprometimento com a aplicação da ferramenta, a tendência é que o laboratório obtenha ganhos importantes e evite custos desnecessários (p. ex., paradas desnecessárias dos equipamentos, reanálise de controles, investigações de problemas inexistentes e desgaste da equipe).

Os protocolos para a tomada de ações rápidas diante de desvios devem estar previstos, tendo em vista que os laudos dos pacientes não devem ser liberados até que as investigações tenham sido concluídas e o desempenho do sistema analítico seja considerado adequado.

CONCLUSÃO

O laboratório clínico exerce importante função na sociedade fornecendo um instrumento valioso para médicos: o exame laboratorial. Na ausência dele, dificilmente os tratamentos seriam tão eficientes como são atualmente.

Fornecer laudos com informações consistentes, fidedignas, condizentes com o estado clínico do paciente e no menor prazo possível é dever dos laboratórios, para esse fim, todas as fases do processo de análise (pré-analítica, analítica e pós-analítica) devem estar alinhadas, padronizadas e não podem ser negligenciadas.

Na fase analítica, procedimentos eficazes de controle de qualidade são essenciais para monitorar indicadores, como a exatidão e a precisão do processo. Nesse contexto, o CI, se aplicado adequadamente, contribui para a identificação de possíveis falhas que possam vir a acontecer ou as que já aconteceram.

Falhas ou desvios fazem parte da rotina laboratorial, mas podem ter efeitos significativos, como: desperdícios de recursos, atendimento médico inadequado ao paciente, surtos de doenças transmissíveis não detectadas e até mesmo a morte de indivíduos. Para evitar que situações como essas ocorram ou para minimizá-las, a equipe do laboratório deve estar preparada, munida de conhecimento e ferramentas para agir prontamente.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BERLITZ FA. Análise crítica de experiência com redesenho de processos em um laboratório clínico. *J Bras Patol Med Lab.* 2011;47(3):257-69.

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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Brasília: Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil; 2005.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). International vocabulary of basic and general terms in metrology. Geneve: ISO; 1993.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial – SBPC/ML: Inovação no laboratório clínico. Barueri: Manole; 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial – SBPC/ML: fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais. Barueri: Manole; 2018.

OLIVERA CA, MENDES ME. Gestão da fase analítica do laboratório – como assegurar a qualidade na prática. Volume I. Rio de Janeiro: Controllab; 2010.

OLIVEIRA CA, MENDES ME. Gestão da fase analítica do laboratório – como assegurar a qualidade na prática. Volume II. Rio de Janeiro: Controllab; 2011.

PETERSEN PH, RICÓS C, STÖCKL D, ET AL. Proposed guidelines for the internal quality control of analytical results in the medical laboratory. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1996;34(12):983-99.

WESTGARD JO. Regras múltiplas e regras de Westgard: gráficos da Função Poder (2002). Traduzido pela Controllab. Disponível em: <<http://www.controllab.com.br>>. Acesso em: 24 abr. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Handbook: Laboratory quality management system. Geneva: World Health Organization; 2011. Disponível em: <<https://www.who.int/ihr/publications/lqms/en/>>. Acesso em: 17 abr. 2020.

20 Especificação da qualidade analítica na prática operacional do laboratório clínico

Controllab:

Rafael Monsores Lopes, Ana Paula Chaves Sobral Gomes



INTRODUÇÃO

Segundo Oliveira e Mendes (2011) “a especificação da qualidade analítica trata de requisitos do processo analítico para garantir que resultados produzidos pelos laboratórios atendam a um nível de qualidade desejada”.

Atualmente, a literatura ressalta a necessidade de o laboratório definir, para todos os seus ensaios, a especificação da qualidade, seja ela: para a escolha segura de um novo sistema analítico, para a validação (inicial ou periódica) e/ou para o monitoramento dos sistemas implantados em seus processos, garantindo, assim, o atendimento à qualidade desejada.

Para que a especificação da qualidade analítica seja aplicada no laboratório, é imprescindível que, além de um bom conhecimento sobre o assunto em questão, o profissional tenha um entendimento básico de estatística, a fim de poder desenvolver junto ao seu processo analítico os estudos necessários para definir sua especificação. Além disso, é importante destacar que definir especificação da qualidade exige um tempo de dedicação do profissional.

Como os laboratórios do Brasil e do mundo estão utilizando a especificação da qualidade em seus processos? Quais são as principais dificuldades e os erros mais comuns no dia a dia do laboratório? Que tipos de ferramentas utilizar para aplicar a especificação da qualidade em processos laboratoriais?

ESPECIFICAÇÃO DA QUALIDADE NOS LABORATÓRIOS

Em 2015, Westgard realizou uma pesquisa com 80 países, obtendo mais de 400 respostas relacionadas com especificação da qualidade, em que 78,1% dos laboratórios relataram que utilizam a especificação da qualidade para avaliar o desempenho dos seus métodos. Em um percentual bem próximo a esse, destacou-se o uso para avaliar o desempenho diante dos resultados do ensaio de proficiência, representado por 75,8%. Com base nessas informações e nos demais percentuais disponíveis para as perguntas realizadas por Westgard, conclui-se que a maioria dos laboratórios está utilizando a especificação da qualidade em diferentes etapas dos seus processos laboratoriais, conforme recomendado pela literatura.

Em 2019, a Controllab realizou uma enquete com seus clientes, perguntando a abrangência da aplicação da especificação da qualidade diante dos exames realizados pelos

laboratórios. Apesar de 72% dos laboratórios relatarem que utilizam a especificação da qualidade em seus processos laboratoriais, percentual próximo ao que Westgard relatou, observa-se um número baixo de laboratórios que aplicam a especificação da qualidade em todos os seus ensaios, apenas 28%.

Vale destacar que esse tipo de dificuldade não existe apenas no Brasil. O estudo foi realizado com laboratórios de diferentes partes do mundo, que também relataram dificuldades na abrangência dos ensaios. Nesse momento, a ausência da especificação da qualidade pode ocasionar falsas rejeições no controle de qualidade interno, pelo uso de regras indevidas, e, conseqüentemente, resultar em custos desnecessários.

USO INDEVIDO DAS REGRAS DE CONTROLE

Para entender como os laboratórios aplicam as regras de controle em suas rotinas, a Tabela 1 apresenta um levantamento com dados de 2019, listando a frequência de regras prefixadas e utilizadas por laboratórios, na solução CI ONLINE da Controllab, voltada para o monitoramento do controle interno. Junto às regras, apresentou-se também o Sigma relacionado a cada conjunto.

TABELA 1 Frequência de regras utilizadas por laboratórios na solução CI ONLINE da Controllab

Regras de controle	Sigma	% de laboratórios
1-2s	—	56,6
1-3s	6	20,8
1-3s, 4-1s	5	3,5
1-3s, 2-2s, R4s	5	8,0
1-3s, 2-2s, 4-1s, R4s	4	5,8
1-3s, 2-2s, 4-1s, 8-x, R4s	3	0,9
1-3s, 2-2s, 4-1s, 9-x, R4s	3	4,4

Fonte: Controllab.

É importante destacar nesse momento que o Sigma mede a capacidade do processo em trabalhar livre de falhas e que, quanto maior o Sigma, maior é a eficácia do processo, e, por isso, menos regras de controle são necessárias para monitorar a rotina. Quanto menor o Sigma, maior é a necessidade de utilizar mais regras, pois o processo está se desviando cada vez mais da meta (especificação da qualidade).

Se considerarmos essa correlação, desconSIDERANDO a seleção da regra única “1-2s” e supondo que ocorreu o estudo da especificação da qualidade dos laboratórios na escolha dos demais conjuntos de regras, esses resultados indicariam que 11,1% das rotinas consideraram uma qualidade em Sigma menor ou igual a 4. Contudo, com a alta tecnologia empregada (sistemas automatizados) e conforme relatado na pesquisa realizada pela Controllab, na qual apenas 28% aplicam especificação da qualidade

para todos os seus ensaios, tais regras em uso podem não estar condizentes com a realidade dos laboratórios, e sim representar a ausência de conhecimento sobre a sua qualidade analítica.

A possibilidade de os laboratórios não estarem aplicando a especificação da qualidade em seus processos fica mais aparente quando se observa a quantidade que utiliza apenas a regra 1-2s (56,6%) como alerta e/ou rejeição em seus processos. É importante destacar nesse caso que o uso dessa regra em duas observações por rotina ($n = 2$) fornece uma probabilidade de falsa rejeição de 8,89%, enquanto ao usar três observações por rotina ($n = 3$) aumenta para 13,04%.

MUDANÇAS NOS CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO

Outro ponto importante de destacar, e que prejudica a correta análise crítica da rotina, é a constante alteração do critério de aceitação das corridas analíticas do controle interno. Muitos laboratórios, por não identificarem a causa do comportamento atípico indicada pela regra de controle violada, acabam recorrendo ao intervalo de referência da bula do controle do fabricante para aprovar a corrida e liberar a rotina. É importante destacar que o limite aplicado na bula é amplo, gerando, assim, intervalos de referência mais “largos”, exatamente para atender aos diferentes sistemas analíticos do mercado. Dessa maneira, ao utilizar esse recurso, o laboratório está deixando de olhar para a realidade do seu processo e, conseqüentemente, adotará um critério mais frouxo para aprovar e liberar a rotina.

Para elucidar melhor esse ponto, observa-se na Figura 1 a área demarcada em azul no gráfico de Levey-Jennings, que retrata o processo de valoração no qual foi utilizada a referência da bula do controle (limite aplicado ± 2 desvios-padrões – DP) para aprovação das corridas analíticas, e a área em cinza, que indica o uso da regra 1-3s (rejeição) de Westgard diante das próprias métricas do laboratório (média e DP), que foram calculadas a partir dos dados da valoração. Nota-se que o resultado da dosagem 5 foi exatamente o mesmo que o da dosagem 23, contudo há uma diferença no comportamento do gráfico em decorrência dos diferentes critérios de aceitabilidade.

Na dosagem 23, houve uma violação da regra 1-3s, o que significa que, frente à realidade analítica do laboratório, ocorreu algum problema no processo que impactou negativamente esse resultado. Se o critério de aceitabilidade fosse alterado para o intervalo da bula, o cenário seria o que ocorreu na dosagem 5, no qual o mesmo resultado foi considerado aprovado por estar dentro do intervalo da bula, que, como sinalizado anteriormente, é mais amplo. É importante que fique claro para o laboratório que as suas medidas de dispersão [DP e coeficiente de variação (CV)] tendem a ser menores que as da bula, em virtude da diferença de realidades analíticas dos dados.

Assim, alterar o critério de aceitação do controle interno para a referência da bula para liberar a rotina e justificar a rejeição da regra de controle não contribui positivamente para a busca da qualidade desejada pelo laboratório. É preciso conhecer o real desempenho da rotina, assim como o do sistema analítico, para que, com a especificação da qualidade, o laboratório possa determinar o nível de qualidade desejado, de acordo com suas limitações.

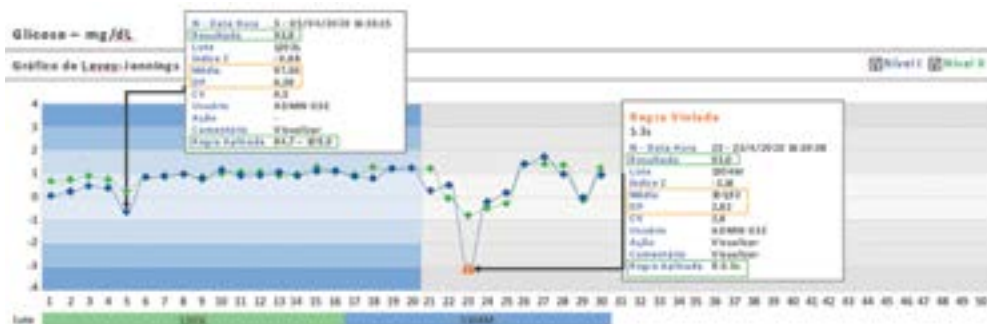


FIGURA 1 Gráfico de Levey-Jennings do ensaio glicose retirado da solução CI ONLINE da Controllab.

Fonte: autorizada pela Controllab.

ACESSO ÀS REFERÊNCIAS

Uma das principais dificuldades que os laboratórios sinalizam para justificar a ausência da especificação da qualidade refere-se à necessidade de buscar todas as referências disponíveis para cada ensaio. As fontes encontram-se em diferentes tabelas e, em alguns casos, nem todos os erros analíticos estão calculados e, nesse ponto, além de exigirem certo entendimento do profissional para a realização dos cálculos, requerem uma maior disponibilidade de tempo.

Atualmente, é possível consultar algumas plataformas que possuem banco de dados com fontes da variação biológica, como é o caso do EFLM Biological Variation Database. No site de Westgard, também são disponibilizadas outras tabelas, de diferentes fontes, para serem utilizadas como referências. Outra solução disponível é a da Controllab, chamada de “Gestão da Qualidade Analítica”, conhecida como GQA, que centraliza essas informações em uma única tabela, facilitando a escolha da melhor referência.

APLICABILIDADE IDEAL

O primeiro passo para montar um processo para a especificação da qualidade é fazer uma lista com todos os ensaios quantitativos realizados em sua rotina analítica. Nessa lista, além do nome do ensaio, outras informações são necessárias, como: faixa de trabalho (concentração), caso a especificação considere a necessidade de cortes; erro total permitido; erro sistemático permitido; erro aleatório permitido; regras de controle interno, além do Sigma e do erro sistemático crítico (ESc), obtidos no momento em que a especificação foi definida. É importante se atentar também a dispor da informação sobre a fonte utilizada para aplicar a especificação, assim como a sua versão.

Em seguida, deve-se separar aqueles ensaios que necessitam de uma maior prioridade. Mas como identificar os ensaios críticos para aqueles que ainda não têm especificação da qualidade? Nessa hora, deve-se pesquisar o desempenho analítico através das ferramentas de monitoramento (controle externo e controle interno), nas quais se pode identificar os ensaios que apresentam um maior índice de alertas e rejeições.

Uma vez definida a especificação da qualidade, o laboratório passa a ter que monitorar apenas as violações obtidas de sua especificação. Nesse momento, qualquer violação de erro aleatório ou erro sistemático que ocorrer em seu processo de controle exigirá dele uma maior atenção por se tratar de um erro significativo diante da sua realidade analítica.

REVISANDO A ESPECIFICAÇÃO DA QUALIDADE

Quando o laboratório realiza estudos da especificação da qualidade, ele visa a conhecer seu desempenho e atingir o grau de qualidade tão almejado. Mas qual o melhor momento para revisar a especificação aplicada? Muitos laboratórios acabam não sabendo qual prazo deverá considerar para que essa revisão aconteça, pois isso está relacionado com o desempenho que seu processo demonstrará ao longo do tempo. Para isso, é importante que o laboratório acompanhe seu desempenho por meio da métrica (Sigma ou ESc), adotada na etapa da definição das estratégias do controle de qualidade.

Um ótimo recurso na hora de montar uma nova especificação é a utilização de gráficos de desempenho, como o da Figura 2, no qual se comparam os erros analíticos da última configuração da especificação da qualidade com a atual. Nota-se que o tamanho dos erros aceitáveis é o mesmo, e que a área verde do gráfico indica uma melhora do seu comportamento analítico (queda nos erros analíticos).

Assim, foi possível não apenas verificar que os erros obtidos diminuíram, como também que seria possível se adequar a uma referência mais rígida, conforme evidenciado na Figura 3, na qual foi alterada a referência para “variação biológica – desejável”. Nesse momento, o laboratório consegue ter mais confiança para decidir se aplica a revisão de imediato ou se prefere acompanhá-la por mais tempo, até que consiga adotar uma referência mais robusta.

Sobre esse ponto de decisão, é muito importante que o profissional responsável por essa análise tenha aptidão para interpretar corretamente o real desempenho do processo para que consiga pensar mais à frente. Para uma melhor integração e conhecimento, é essencial que toda a equipe envolvida na análise (bancada) e do controle de qualidade alinhem e discutam sobre o comportamento observado durante a análise crítica. Com isso, diminui-se o tempo de interrupção da rotina e também permite-se um melhor monitoramento do comportamento do desempenho, tendo em vista que, quando conhecemos o processo interno e algum dado se comporta de maneira inesperada, sabe-se com certeza que não se trata de um “alarme falso”.

FERRAMENTAS QUE AUXILIAM

Quando se trata de especificação da qualidade, em geral os laboratórios utilizam planilhas em Excel para montá-la e, posteriormente, fazem o monitoramento do desempenho da rotina. Contudo, seu uso requer certo nível de conhecimento da ferramenta para que sejam realizadas as configurações corretas. Além disso, como a especificação necessita ser realizada de maneira individual para cada exame desejado, o número de planilhas pode acabar sendo elevado, o que gera um desconforto e a necessidade de ceder certo tempo para as revisões das especificações.



FIGURA 2 Gráfico de desempenho retirado da solução GQA da Controllab.

Fonte: autorizada pela Controllab.



FIGURA 3 Gráfico de desempenho retirado da solução GQA da Controllab.

Fonte: autorizada pela Controllab.

Atualmente, algumas soluções estão disponíveis no mercado, com as quais é possível trabalhar com a especificação da qualidade, como a Gestão da Qualidade Analítica (GQA) da Controllab. Nela, é possível realizar todo o planejamento da especificação para cada exame, desde a escolha da fonte da referência até as métricas (Sigma ou ESc) da estratégia de controle de qualidade, e são sugeridas as melhores regras de controle diante do desempenho analítico. Por interligar as ferramentas de controle de qualidade (controle interno e ensaio de proficiência), o laboratório tem a facilidade de verificar todos os dados no relatório de acompanhamento, realizando de maneira mais eficiente e rápida a análise crítica dos exames.

Na GQA, o laboratório dispõe ainda da área “Análise e Conclusão”, que oferece a possibilidade de automatizar o processo de análise mensal. Desse modo, ele pode se dedicar apenas aos exames críticos que realmente necessita analisar, deixando todo o processo rastreável (com seus respectivos registros) e pronto para ser apresentado em uma auditoria.

CONCLUSÃO

Diante do conteúdo abordado neste capítulo, pode-se observar que, atualmente, há muito mais referências bibliográficas e materiais sobre a especificação da qualidade, o que contribui para o conhecimento e a correta aplicação dessa ferramenta tão importante para a rotina laboratorial.

Apesar de mais de 70% dos laboratórios entenderem sobre o assunto e utilizarem a especificação em seus processos analíticos, o baixo percentual de aplicação em todos os ensaios está relacionado com alguns fatores, como: falta de conhecimento de toda a equipe sobre o assunto, informações espaçadas para realização do estudo e a necessidade de ferramentas que ajudem o laboratório a definir as suas especificações.

Destacam-se, ainda, as soluções disponíveis no mercado voltadas para o planejamento e definição da melhor estratégia com a regras de controle. Dessa maneira, o laboratório ganha mais confiança para identificar comportamentos atípicos na sua rotina, aplicar a correta ação corretiva/preventiva e definir também metas eficazes, de acordo com o real desempenho do seu processo. Com todos os profissionais da rotina envolvidos na busca contínua da melhoria da qualidade, tornam-se mais fáceis o entendimento e o monitoramento do processo analítico.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_302_2005_COMP.pdf/7038e853-afae-4729-948b-ef6eb3931b19>. Acesso em: 29 abr. 2020.

CONTROLLAB [HOMEPAGE NA INTERNET]. Disponível em: <<https://www.controllab.com>>. Acesso em: 29 abr. 2020.

OLIVEIRA CA, MENDES ME (ORGS.). Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática. v. 1. Rio de Janeiro: Controllab; 2010.

OLIVEIRA CA, MENDES ME (ORGS.). Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática. v. 2. Rio de Janeiro: Controllab; 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Diretriz para a gestão e garantia da qualidade de testes laboratoriais remotos (TLR). Barueri: Manole; 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Diretriz para a gestão e garantia da qualidade de testes laboratoriais remotos (TLR). 2. ed. Barueri: Manole; 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): automação laboratorial: histórico, seleção, implantação e gestão. Barueri: Manole; 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): inovação no laboratório clínico. Barueri: Manole; 2019.

WESTGARD JO, ARMBRUSTER D, WESTGARD SA. Risk, error and uncertainty: laboratory quality management in the age of metrology, an issue of the clinics in laboratory medicine. St. Louis: Elsevier; 2017.

21 **Avaliação externa da qualidade no laboratório clínico**

Controllab:

Adriana de Oliveira Vieira, Luiza Bottino Grangeiro Balli,
Rafaelle Silva da Costa



INTRODUÇÃO

O controle de qualidade tem chamado a atenção de todo o mundo e cada vez mais ganha notoriedade e importância. A preocupação com a confiabilidade nos resultados dos pacientes vem aumentando.

Várias ferramentas foram desenvolvidas ao longo dos tempos para avaliar a qualidade dos laboratórios e o ensaio de proficiência (EP), também conhecido como avaliação externa da qualidade, é uma delas. É um componente primordial da gestão da qualidade do laboratório, além de ser um requisito para a acreditação dos laboratórios em muitos países. Desde a implementação do EP nos laboratórios clínicos, no final da década de 1940, diversas melhorias foram realizadas. No Brasil, a norma NBR ISO/IEC 17025 prevê a participação dos laboratórios clínicos em programas de controle externo de qualidade, como também é conhecido. O Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) relata alguns benefícios da participação desses programas, como: avaliação externa regular, comparação de desempenho com laboratórios com sistemas semelhantes, tomada de decisão para implementar ações preventivas, fornecimento de informações sobre o desempenho dos métodos analíticos e possibilidade de obter do provedor do programa orientações sobre os problemas e apontar soluções analíticas. Entretanto, dependem da habilidade dos laboratórios em interpretar e utilizar os dados fornecidos pelo provedor.

Este capítulo tem como objetivo transformar as informações fornecidas pelos provedores em aplicabilidades da rotina, em um contexto menos teórico e mais prático, contribuindo para o aprimoramento dos profissionais dos laboratórios nessa etapa tão importante do ciclo de uma rodada do EP que é a análise crítica dos dados.

Essa análise será direcionada aos ensaios quantitativos, por apresentarem maior frequência de dúvidas; no entanto, vale ressaltar que os ensaios qualitativos devem ter a mesma atenção e cuidado, a fim de chegar ao mesmo objetivo de qualidade.

PREMISSAS DO ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Para que os resultados obtidos no EP possam ser analisados criticamente pelo laboratório e utilizados para a melhoria de processos e decisões assertivas, primeiro é preciso garantir que esses resultados sejam confiáveis e que realmente estejam traduzindo o comportamento do laboratório.

Um dos pontos importantes é a escolha de um provedor de EP que atenda às expectativas do laboratório e transmita segurança nas informações disponibilizadas. Para realizar

esse *benchmarking* entre os provedores, é importante que os laboratórios compreendam o conceito do EP, sua contribuição para o processo da qualidade analítica e ter um mínimo de envolvimento com análise numérica e estatística, esta última de extrema importância para avaliar se as funcionalidades oferecidas garantem uma análise crítica de qualidade. O critério-chave para iniciar essa escolha é observar se o provedor tem o reconhecimento de uma instituição de acreditação. Outras responsabilidades, preconizadas pela ISO 17043, que os laboratórios devem compreender junto aos provedores são listadas e discutidas por Oliveira e Mendes (2011). Outro ponto de destaque, que garante a qualidade dos resultados obtidos em programas de EP, é a correta participação dos laboratórios. Uma transcrição incorreta de um resultado, a seleção inadequada de um sistema analítico ou o não seguimento do procedimento de uso do material podem acarretar erros “grosseiros”, impactando não somente o próprio laboratório, mas os demais participantes. Esses tipos de erros não estão relacionados aos processos analíticos dos laboratórios, motivo pelo qual devem ser evitados para que os laboratórios realmente invistam o tempo de análise em inadequações que podem acabar por impactar na sua rotina.

ANÁLISE DOS RESULTADOS – ENSAIOS QUANTITATIVOS

A participação no programa de EP permite ao laboratório avaliar o seu desempenho, principalmente em termos de erro sistemático, contribuindo diretamente para um planejamento estratégico de controle de qualidade condizente com a sua realidade.

Os provedores de EP geralmente disponibilizam, a cada rodada, dois documentos principais: o Perfil de Resultados, também chamado de Resumo Estatístico, e o Relatório de Avaliação. Ao longo deste tópico, será apresentado um exemplo real de um laboratório, demonstrando-se como as informações podem ser extraídas desses documentos e interpretadas.

A Figura 1 mostra um fragmento do Perfil de Resultados de glicose no soro humano, referente à rodada em que um laboratório participou, com um resumo estatístico dos resultados obtidos de todos os participantes do programa.



FIGURA 1 Perfil de Resultados do ensaio de proficiência de glicose (soro).

Fonte: autorizada pela Controllab.

- As principais informações que podem ser exploradas nesse documento estão listadas a seguir.
- Quantidade de dados (Qtd): permite ao laboratório ter ideia do “movimento” do mercado com relação ao uso dos diferentes *kits* e equipamentos;
 - Desempenho do laboratório frente aos seus pares: verificado ao comparar o resultado do laboratório com a média do seu grupo de avaliação, considerada um consenso e valor de referência;
 - Desempenho dos sistemas em uso no mercado: verificado a partir dos grupos de avaliação (GA) e seus respectivos dados de média (M) e variação – coeficiente de variação ($CV_{(%)}$) ou desvio-padrão (DP). Vale destacar que sistemas com menor variação são considerados robustos;
 - Limite: fator definido pelo provedor, que, junto ao valor de consenso (média), delimitará a faixa de avaliação. Pode ser adotado o clássico Z-escore ($2 \times DP_{\text{grupo}}$), em que o laboratório é avaliado frente à variação do seu grupo, podendo, em alguns casos, ser demasiadamente rígido ou amplo. Uma maneira de equiparar o critério de avaliação é optar pelo uso de limite fixo ($2 \times DP_{\text{médio}}$), considerando a variação média dos sistemas em uso (ISO 13528 – item E.8). No exemplo do perfil anterior, utiliza-se um limite fixo para glicose de 13%, considerando que a variação média entre os sistemas analíticos é de cerca de 6,5%. Pode, ainda, ser utilizado pelo laboratório como um dos critérios de especificação da qualidade (com base no “estado da arte”) para “erro total máximo permitido”;
 - Referencial para monitoramento do controle interno (CI): o laboratório pode utilizar a variação do seu grupo de avaliação no EP como referência de “erro aleatório máximo permitido”. Espera-se que a variação no CI seja de pelo menos a metade da variação observada no grupo. Essa simples comparação já pode sinalizar ao laboratório comportamentos atípicos que precisam de investigação.

O Relatório de Avaliação (RA) apresenta o desempenho individual do laboratório na rodada e possibilita uma análise mais detalhada, conforme exemplificado na Figura 2. É importante ressaltar que o RA se refere à mesma rodada de participação do Perfil de Resultados da Figura 1.

Exame: Glicose/Soro Humano		Rodada: Jul/2019 (rodada 4)											
Módulo: Bioquímica I		Emissão: 23/08/2019											
Glicose (mg/dL)													
Sistema Analítico	Item	GA	Qtd	Média	DP	CV	Faixa	Resq.	ID	Aval.	Z	ET	ES
KIT XYZ	1	263	54	273,5	4,8	1,8	237 a 310	272	-0,04	1A	-0,3	-0,5%	
	2	263	54	59,1	1,6	2,7	51 a 67	60	0,13	1A	0,6	1,5%	0,5%
EQUI ABCD	3	263	54	156,1	3,9	2,5	135 a 177	157	0,05	1A	0,2	0,6%	

FIGURA 2 Relatório de Avaliação do ensaio de proficiência de glicose (soro) de um laboratório.

Fonte: autorizada pela Controllab.

Estão listadas a seguir as principais informações desse relatório e suas finalidades no contexto prático do dia a dia de um laboratório:

- Faixa de avaliação: critério adotado pelo provedor que determina os resultados adequados (média_(grupo) ± limite). Nesse exemplo, o limite foi de 13%, como mostrado na Figura 1, e o laboratório recebeu adequado (1A) em todos os itens;
- Índice de desvio (ID): mostra o desempenho do laboratório e seu distanciamento frente ao critério adotado pelo provedor. Pode-se dizer que é um desempenho diante do praticado pelo mercado, já que a média utilizada é a do grupo e o limite considera a variação dos diferentes sistemas em uso.

$$ID = \frac{\text{resultado}_{(\text{lab})} - \text{média}_{(\text{grupo de avaliação})}}{\text{limite provedor}} = \frac{\text{resultado}_{(\text{lab})} - \text{média}_{(\text{grupo de avaliação})}}{(\text{limite superior da faixa de avaliação} - \text{média do grupo de avaliação})}$$

O intervalo de aceitabilidade do ID (-1 a +1, faixa verde no gráfico da Figura 3) equivale à faixa de avaliação adotada pelo provedor, assim como ID = 0 significa que o resultado do laboratório é igual à média. Dessa maneira, ID = -1 indica que o resultado do laboratório foi igual ao limite inferior da faixa de avaliação e ID = +1 igual ao limite superior. Em ambos os casos, serve como um alerta ao laboratório, mostrando que seu resultado está nos extremos dos critérios de adequação, podendo a qualquer momento receber uma inadequação.

O ID auxilia na identificação do tipo de erro (aleatório ou sistemático) que pode estar ocorrendo na rotina do laboratório, principalmente quando analisado em forma gráfica, conforme exemplificado na Figura 3. Essa informação é bastante poderosa, no sentido que já norteia o laboratório para sua investigação das causas. É preciso observar que o erro sistemático se caracteriza por um distanciamento dos dados em relação ao valor de referência (ID = 0), enquanto que, no aleatório, há uma dispersão dos dados ao redor desse valor.

No caso do exemplo utilizado, os ID obtidos ao longo das rodadas foram bem próximos a zero, demonstrando que o laboratório apresenta desvios pouco significativos e bem controlados, conforme retratado na Figura 4.

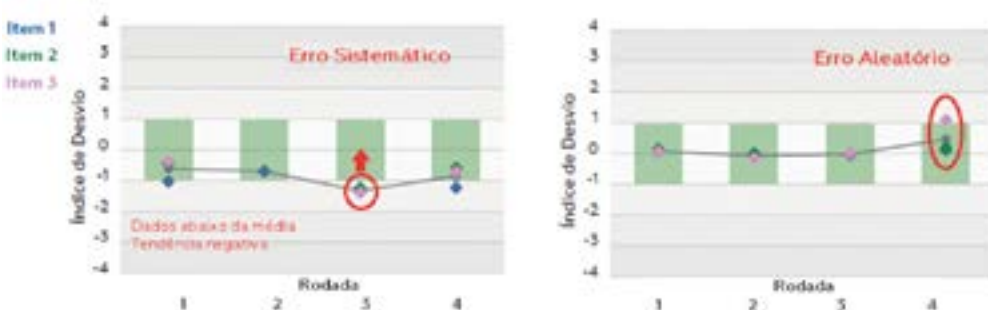


FIGURA 3 Gráficos hipotéticos de acompanhamento (índice de desvio).

Fonte: autorizada pela Controllab.



FIGURA 4 Gráfico de acompanhamento (índice de desvio) e Relatório de Avaliação de glicose (soro) do laboratório utilizado no exemplo.

Fonte: autorizada pela Controllab.

- Índice Z: seu objetivo é similar ao do ID, contudo representa o desempenho do laboratório e seu distanciamento frente à variação do seu próprio grupo de avaliação.

$$Z = \frac{\text{resultado}_{(\text{lab})} - \text{média}_{(\text{grupo de avaliação})}}{\text{DP}_{(\text{grupo de avaliação})}}$$

Essa análise é interessante para casos nos quais o laboratório utiliza sistemas analíticos robustos, que geralmente apresentam menor variação frente aos demais em uso. Isso possibilita verificar o seu real desempenho diante de um critério mais rigoroso. Esse foi o caso do exemplo utilizado para a glicose, no qual o laboratório utiliza um sistema analítico (Kit XYZ/Equipamento ABCD) que apresenta uma variação de aproximadamente $CV = 2\%$ (ver Relatório de Avaliação), bem menor em comparação ao praticado pelos demais kits em uso no mercado ($CV \sim 6,5\%$), conforme mostrado na Figura 5.

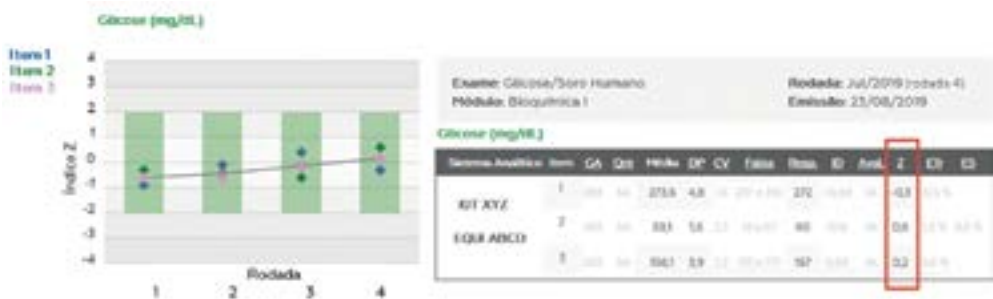


FIGURA 5 Gráfico de acompanhamento (índice Z) e Relatório de Avaliação de glicose (soro).

Fonte: autorizada pela Controllab.

Ao comparar os gráficos de ID e Z-escore desse laboratório, observa-se um comportamento um pouco diferenciado, principalmente nas rodadas 3 e 4, em que há uma maior dispersão dos dados no gráfico índice Z. Apesar de parecer que o processo está menos “controlado” (esperado frente a um critério mais rigoroso), é importante notar que esse laboratório continua dentro da sua especificação, que, nesse caso, foi não ultrapassar 2 DP em comparação a seus pares (faixa em verde no gráfico).

- Erro total relativo (ET_R) e erro sistemático (ES): o ET_R é uma estimativa do erro total analítico, possibilitando ao laboratório uma comparação com a sua especificação da qualidade, como mostrado na Figura 6.

$$ET_R = \left[\frac{\text{resultado}_{(lab)} - \text{média}_{(grupo\ de\ avaliação)}}{\text{média}_{(grupo\ de\ avaliação)}} \right] \times 100$$



FIGURA 6 Gráfico de acompanhamento (erro total e erro sistemático) e Relatório de Avaliação de glicose (soro).

Fonte: autorizada pela Controllab.

Nessa análise, observa-se que os ET_R se apresentaram dentro da especificação da qualidade definida pelo laboratório para “erro total máximo permitido” (ET_p , representado pela faixa verde-escura no gráfico), que, nesse caso, foi o limite do provedor de 13%.

O ET_R também é utilizado para estimar o ES, obtido pela média dos seus valores (levar em consideração o sinal). Deve ser estimado somente se não forem identificados erros “grosseiros” em algum item. O ES também pode ser utilizado para uma comparação direta com a especificação definida para “erro sistemático permitido” (ES_p , representado pela faixa verde-clara no gráfico), como mostra a Figura 6. Nesse exemplo, o laboratório utilizou como especificação uma recomendação da literatura, considerando a metade do ET_p (ou seja, a metade do limite do provedor: 6,5%). Pode-se concluir ao analisar o gráfico que o processo está sob controle e dentro dos critérios clínicos exigidos pelo laboratório.

Vale destacar a grande relevância do EP ao permitir estimar o erro sistemático. Esse dado, quando associado ao erro aleatório, possibilita conhecer o “erro total analítico” de cada exame, que, diante da especificação da qualidade definida pelo laboratório, possibilitará o planejamento adequado do seu controle de qualidade com o uso das estratégias em Sigma ou erro sistemático crítico, conforme citado por Oliveira e Mendes (2011).

ANÁLISE DOS RESULTADOS – ENSAIOS SEMIQUANTITATIVOS

Os ensaios semiquantitativos (p. ex., contagem celular realizada por um microscopista) são pouco explorados na literatura, e observa-se um número significativo de dúvidas com relação à interpretação dos dados a partir da medida de dispersão “desvio interquartilico” (DIQ), por esse motivo foi considerado pertinente abordar um exemplo neste capítulo.

Os tipos de estatística utilizados pelo provedor devem ser condizentes com o comportamento dos dados obtidos, respaldados pela norma ISO 13528, de 2015. Para a contagem celular, um dos métodos estatísticos utilizados para análise é o dos quartis, que pode ser representado pelo gráfico boxplot a fim de facilitar a análise. O boxplot é constituído com base na mediana e nos quartis, o que reduz o impacto dos valores discrepantes (*outliers*) e permite uma excelente análise exploratória.

Quando os dados apresentam esse caráter semiquantitativo, não é conveniente a aplicação da média e do DP, substituindo-os pelo uso da mediana e do DIQ. Para a definição da faixa aceita pelo provedor, continua-se levando em consideração o valor designado do grupo de avaliação como referência, e sua respectiva variação, sendo definida nesse caso por mediana ± 1 DIQ.

O exemplo a seguir (Figura 7) demonstra um caso de superestimação e subestimação de dois tipos celulares na contagem de diferencial no módulo do EP hematoscopia.

Relatório de Avaliação				
Módulo Hematoscopia			Data: 05/2/2020	
Rodada: 1			Versão: 1	
Ensaio Segmentados Neutrófilos				
Item	Resultado Laboratório	Resultado Provedor	Avul.	Consenso Geral (%)
01	47,0	25 a 55	1A	90,7
02	58,0	50 a 68	1A	95,4
03	55,0	59 a 77	1B	90,0
Ensaio Bastonetes Neutrófilos				
Item	Resultado Laboratório	Resultado Provedor	Avul.	Consenso Geral (%)
01	2,0	0 a 4	1A	99,7
02	4,0	0 a 4	1A	99,2
03	20,0	0 a 9	1B	92,1

FIGURA 7 Relatório de Avaliação dos ensaios segmentados neutrófilos e bastonetes neutrófilos.

Fonte: autorizada pela Controllab.

O gráfico em boxplot (Figura 8) representa as informações disponibilizadas no Perfil de Resultados com relação ao 1º quartil (1ºQ: 25% dos dados reportados e avaliados), o 2º quartil (2ºQ: 50% dos dados) e o 3º quartil (3ºQ: 75% dos dados). Na prática, isso quer dizer que 25% dos 924 participantes reportaram um percentual de segmentados neutrófilos de até 65%, 50% um percentual de até 68% e 75% a contagem de até 71%, como demonstrado na Figura 8. O tamanho e o formato da “caixa” (em verde no gráfico) permitem ao laboratório ter uma noção do comportamento dos dados obtidos. Nesse exemplo, ambos os casos apresentaram distribuições homogêneas (tamanho pequeno da “caixa”) e

resultados dos laboratórios uniformemente distribuídos em torno do valor de referência (formato simétrico da “caixa” em relação à mediana).

O objetivo do gráfico é o laboratório utilizar os marcos dos quartis para se localizar em relação aos demais. O ideal é que seu resultado esteja o mais próximo da mediana, indicando comportamento similar ao da maioria dos participantes. Observa-se em bastonetes neutrófilos uma superestimação no dado reportado em função de o resultado (20%) do laboratório se apresentar bem acima da mediana (= 2ºQ). O mesmo observa-se em segmentados neutrófilos, contudo um caso de subestimação, no qual o resultado (33%) obtido pelo laboratório se apresenta bem abaixo da mediana. Em vermelho, é a localização do laboratório, e, em azul, demonstra-se a faixa de avaliação adotada pelo provedor. Observa-se que a faixa de avaliação contempla adequadamente os dados do boxplot (1ºQ, 2ºQ e 3ºQ), como o esperado.



FIGURA 8 Perfil de Resultados do EP hematoscopia e gráfico boxplot dos ensaios bastonetes neutrófilos e segmentados neutrófilos.

Fonte: autorizada pela Controllab.

No exemplo apresentado na Figura 7, o laboratório obteve resultados inadequados apenas nesses dois tipos celulares, o que reforça a necessidade de investigar a origem desses desvios. Como ação, o laboratório pode realizar uma comparação entre microscopistas, avaliando a capacidade de detectar as estruturas e a reprodutibilidade.

INVESTIGAÇÃO DAS CAUSAS

Para garantir um melhor aproveitamento dos benefícios que o EP pode fornecer, é importante que os resultados sejam analisados e que o laboratório busque identificar as causas dos desvios observados, a fim de antecipar as suas ações.

Descartada a possibilidade de erros “grosseiros”, é importante verificar as etapas do processo que possam estar relacionadas com as falhas observadas no EP. As principais variáveis que podem contribuir nesse cenário estão descritas na Figura 9, conforme diagrama de causa e efeito (diagrama de Ishikawa).

Um exemplo da importância e do benefício de realizar a investigação das causas dos resultados insatisfatórios é o caso representado na Figura 10, que demonstra um laboratório que obteve inadequação para o item 1 de amilase total, no EP de bioquímica (rodada out/2019), apresentando resultado abaixo da média do grupo de comparação.

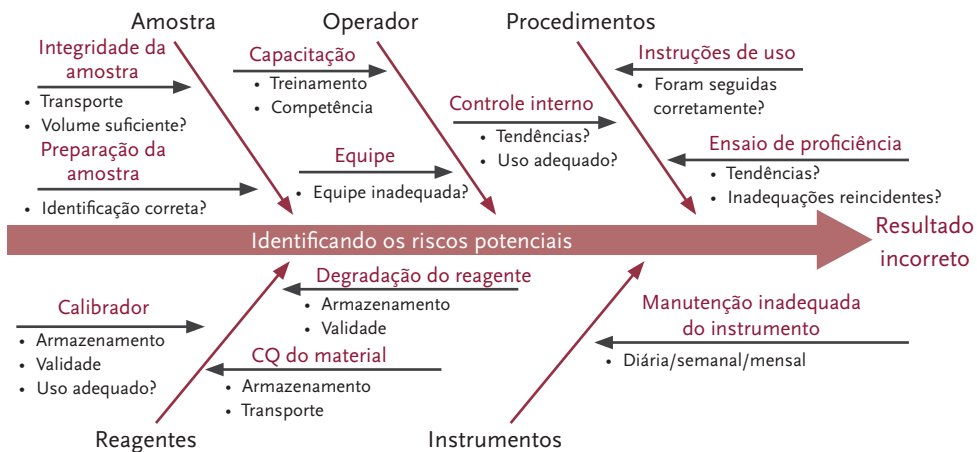


FIGURA 9 Principais causas de falha no EP (diagrama de Ishikawa).

Fonte: autorizada pela Controllab.

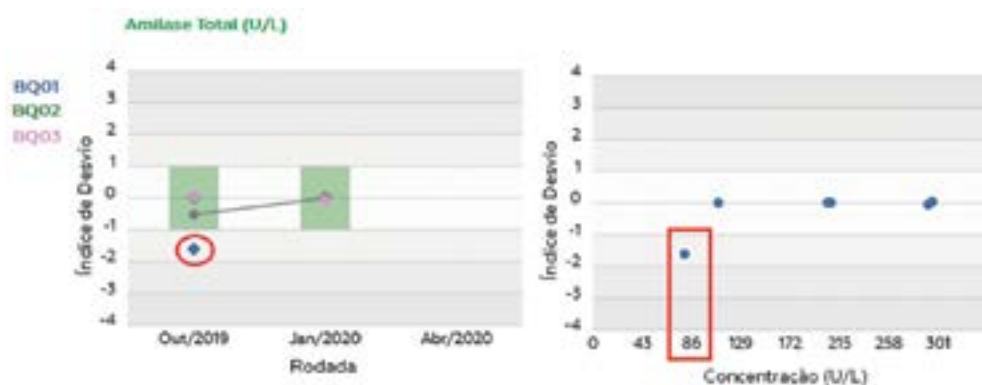


FIGURA 10 Gráficos de acompanhamento de amilase total em soro (ID por rodada e ID por concentração).

Fonte: autorizada pela Controllab.

Ao observar o gráfico de ID por concentração, é possível notar que esse comportamento ocorreu para o item de menor concentração (< 100 U/L).

Mediante verificações internas, o laboratório identificou que o equipamento não havia sido ajustado para medição na faixa de trabalho abaixo de 100 U/L, o que contribuiu para a situação observada. As ações corretivas foram aplicadas, sendo necessário o acompanhamento das rodadas posteriores de itens com concentração similar para a verificação da sua eficácia.

ITENS DE ENSAIOS NÃO AVALIADOS

A análise crítica dos dados obtidos em programas de EP também deve incluir os itens de ensaios não avaliados. Entender junto ao provedor o motivo pelo qual se optou pela não

avaliação de determinado item ou grupo de avaliação pode, em muitos casos, acarretar valiosas informações na tomada de decisão, assim como na definição de ações de modo a contornar essa situação.

A seguir, estão listadas as causas mais frequentes de não avaliação e sugestões de ações a serem realizadas em conjunto com o provedor:

- Quantidade insuficiente de dados para formação de grupo:
 - » Novo sistema analítico em uso no mercado: com o decorrer do tempo, novos usuários passam a utilizá-lo permitindo a formação de um grupo específico. Para agilizar esse processo, tanto o laboratório como o provedor podem intensificar o relacionamento com o fabricante para que fiquem cientes da situação e possam participar do programa (quando viável), assim como recomendá-lo a outros usuários desse sistema analítico. Cabe ao provedor manter a lista de sistemas analíticos sempre atualizadas, o que também favorece a avaliação, e identificar oportunidades de agrupar diferentes sistemas analíticos que apresentam comportamentos homogêneos como uma alternativa;
 - » Sistema analítico em desuso: o mercado está em constante renovação, conforme as novas tecnologias que vão surgindo. E isso faz com que os laboratórios mudem seus sistemas analíticos para uma nova plataforma. O Perfil de Resultados, liberado pelo provedor, auxilia na visualização desse movimento natural do mercado;
- Variação dos dados: comportamento atípico de determinado grupo de avaliação que compromete sua confiabilidade, diante de um desempenho satisfatório apresentado pelos demais grupos (alto percentual de adequação do item). Pode ocorrer de maneira pontual (em uma rodada específica) ou frequentemente. No último caso, vale uma discussão com o fabricante.

Para situações como as comentadas anteriormente, recomenda-se aos laboratórios utilizar outras formas de controlar a sua rotina (controles alternativos) até que se obtenha uma regularização na avaliação no programa de EP, conforme apresentado no CLSI GP29-A2 e por Sá e colaboradores (2011). Vale destacar que o uso de controle interno nesse momento também é de grande valia, pois, apesar de não ser específico, pode auxiliar também na identificação de tendências (erros sistemáticos).

CONCLUSÃO

É notória a evolução por parte dos laboratórios quanto à consciência do uso e dos benefícios do EP, garantindo dois aspectos essenciais, que são a qualidade dos serviços e a segurança do paciente, como um movimento natural de se manter competitivo e sustentável no mercado de medicina diagnóstica.

Contudo, ainda se percebe certa fragilidade dos laboratórios em conseguir converter todo o valor investido nessa ferramenta em aprimoramento contínuo dos seus processos. Isso pode ser alcançado principalmente com a ajuda dos provedores de EP, gerando informações cada vez mais simples e úteis aos laboratórios.

Este capítulo teve como objetivo contribuir para o alcance dessa excelência no uso da ferramenta do EP, transmitindo aos laboratórios uma visão simplista e prática de como utilizar os dados dos provedores e transformá-los em informações-chave para melhorias no processo de gestão da qualidade analítica.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO/IEC 17025 – Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. São Paulo: ABNT; 2005.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Seleção, uso e interpretação de programas de ensaios de proficiência (EP) por laboratórios – 2000. Séries Temáticas. v.2. Brasília: Anvisa; mar 2006.
- CARTER J. External Quality Assessment in resource-limited countries. *Biochem Med (Zagreb)*. 2017; 27(1):97-109.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Assessment of laboratory tests when proficiency testing is not available. Approved guideline. CLSI document GP29-A2. Wayne, PA: CLSI; 2008.
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E METROLOGIA (INMETRO). Informações sobre Ensaios de Proficiência. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/ensaioProf.asp>>. Acesso em: 19 abr. 2020.
- MIGLIARINO GA. External quality assessment schemes in Latin America. *EJIFCC*. 2015;26(4):226-37.
- MILLER WG, JONES GR, HOROWITZ GL, WEYCAMP C. Proficiency testing/external quality assessment: current challenges and future directions. *Clin Chem*. 2011;57(12):1670-80.
- NÓBREGA AW, CRUZ MHC, CARDOSO MHW, CORRALES M. Ensaio de proficiência para determinação de elemento inorgânico em alimentos 4ª rodada – ferro em farinha de trigo (2019). Disponível em: <https://www.incqs.fiocruz.br/images/stories/incqs/ensaio/2019/Relat%C3%B3rio_FINAL_-_ING_04_19_r00.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2020.
- SÁ A, OLIVEIRA CA, BOTTINO L. Gestão da fase analítica do laboratório – como assegurar a qualidade na prática. In: Oliveira CA, Mendes ME. Ensaio de Proficiência. Rio de Janeiro: Controllab; 2011. p. 47-95. Disponível em: <https://controllab.com/pdf/GestaoDaFaseAnaliticaDoLaboratorioVOL2_PDF.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2020.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial – SBPC/ML: fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais. São Paulo: SBPC/ML; 2018.

INTRODUÇÃO

O Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) foi criado em 1988 e consiste em um sistema periódico de acreditação independente, confidencial, do qual os laboratórios participam de maneira voluntária. Ele utiliza uma norma própria, que representa o consenso de especialistas brasileiros, a partir de informações da literatura científica, da prática dentro dos laboratórios clínicos e de normas aceitas internacionalmente, como a International Organization for Standardization (ISO), o College of American Pathologists (CAP) e o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

A acreditação propicia muitos benefícios à instituição acreditada, entre eles, aumento da eficiência em razão da redução do desperdício e do retrabalho, fornece aos seus clientes uma evidência concreta da sua preocupação com a qualidade dos exames oferecidos, aumenta seu poder de negociação sob a forma de subsídio para valorização em negociações com compradores de serviço, determina mais transparência ao permitir que os clientes e médicos comparem os serviços disponíveis e representa argumento de defesa contra ações judiciais de má prática profissional.

Alguns aspectos são muito importantes para o sucesso de um projeto visando à acreditação de um laboratório clínico. Entre eles, dedicação ao estudo e compreensão dos requisitos da norma, divisão e organização das ações, associados a trabalho motivacional para combater a natural resistência à mudança. Todo esse processo deve ser liderado pela alta direção, que precisa se envolver e garantir recursos para a concretização do projeto.

ITENS DA NORMA ENVOLVIDOS COM MAIOR FREQUÊNCIA EM NÃO CONFORMIDADES

Os laboratórios acreditados pelo PALC apontam que a etapa mais trabalhosa da preparação é a elaboração dos documentos (manuais, procedimentos operacionais-padrão – POP) e registros. A etapa referida como mais difícil é o estabelecimento das rotinas de controle analítico.

No processo de implantação do PALC nos laboratórios clínicos, as dúvidas e dificuldades frequentemente dão origem a não conformidades. A seguir, são abordados os requisitos que mais frequentemente deram origem a relatos de não conformidades durante as auditorias externas realizadas no ano de 2019.

A norma PALC dispõe, em sua última versão (2016), de um total de 166 subitens, distribuídos em 17 itens. Os dois itens que mais frequentemente deram origem a não conformidades foram os itens 7, com 20% do total, e o item 11, com 17%.

Item 7

Trata da gestão de equipamentos e insumos. Nessa gestão, é possível desenvolver um passo a passo para auxiliar a implantação, que deve compreender:

1. Seleção e definição de fornecedores (qualificação);
2. Inventário dos equipamentos e insumos;
3. Cadastro dos equipamentos no sistema de informática ou em planilhas;
4. Planejamento e gerenciamento das manutenções preventivas externas, no mínimo com a periodicidade indicada pelo fabricante;
5. Definição da periodicidade, do planejamento e do gerenciamento da calibração dos instrumentos de medição;
6. Gerenciamento de recebimento e uso dos insumos, com todos os dados necessários para tal;
7. Avaliação dos fornecedores de serviço.

Dos 14 subitens na gestão de equipamentos e insumos, os que mais frequentemente deram origem a não conformidades foram o 7.2, o 7.11 e o 7.13.

Item 7.2

O SGQ do laboratório deve contemplar um sistema de controle de estoque dos reagentes e suprimentos. Este deve assegurar a separação dos produtos já inspecionados e aceitos daqueles não aceitos ou ainda não inspecionados. Deve haver um procedimento que inclua: a) A inspeção inicial e o registro de recebimento; b) A rastreabilidade dos dados referentes ao seu uso, qualidade e validade; c) O armazenamento e a gestão de estoque. Os reagentes e suprimentos devem ser armazenados de acordo com as especificações do fabricante. Caso sejam recebidos em outro local, o laboratório deve assegurar que as condições estabelecidas sejam atendidas de maneira a prevenir deterioração.

Deve-se observar que, nesta descrição, a exigência pode ser dividida em três situações:

1. Deve existir um sistema de controle de estoque de reagentes e suprimentos que inclua a garantia de indicação clara do que já foi inspecionado e do que ainda não foi. Nesse caso, é necessário criar uma sistemática de controle do que é utilizado, quanto é utilizado e a sistemática de reposição. É aquilo a que se dá o nome de “inventário”. Além disso, é preciso que se separe claramente o que já foi inspecionado do que não foi, para que não se faça o uso inadvertido do que ainda não foi inspecionado;
2. Deve existir um procedimento referente ao controle da inspeção em cada local onde o reagente/insumo for recebido e deve incluir: inspeção inicial do produto, registro do recebimento, dados referentes ao seu uso, qualidade e validade, de tal modo que possam ser rastreáveis, além da forma de armazenamento e gestão de estoque para cada um deles;
3. No que tange ao armazenamento, as orientações do fabricante devem ser obedecidas, evitando-se a deterioração dos materiais.

Item 7.11

O SGQ do laboratório deve contemplar a avaliação do impacto de eventuais defeitos dos equipamentos sobre os exames anteriores das amostras de pacientes e as ações corretivas adequadas. Sempre que um equipamento se encontrar defeituoso, deve ser retirado de uso, claramente rotulado ou adequadamente segregado até que tenha sido reparado. Antes de entrar em uso, deve ser demonstrada a efetividade do reparo por meio de análise de materiais de controle, de amostras de pacientes com valores conhecidos ou outro método aplicável.

Da mesma maneira, essa exigência pode ser dividida em três situações:

1. Quando houver alguma interrupção do uso do equipamento por apresentar algum defeito, após o reparo e antes de reiniciar o processamento dos exames, é necessário avaliar a partir de qual momento esse defeito começou a fornecer resultados inadequados. Na prática, significa que algumas amostras, que foram analisadas imediatamente antes da parada do equipamento, devem ser reprocessadas para que se faça essa verificação;
2. Enquanto um equipamento estiver fora de uso, aguardando alguma correção, deverá apresentar-se claramente sinalizada a condição em que se encontra (fora de uso), para que não ocorra utilização inadvertida;
3. É necessário que, após a correção do defeito, seja demonstrado se o reparo foi adequado; isso pode ser avaliado, por exemplo, por meio da análise de materiais de controle ou de amostras de pacientes.

Item 7.13

Equipamentos e insumos que afetam a qualidade dos exames laboratoriais não devem ser utilizados até que sejam verificados ou validados internamente e que haja comprovação de que atendem às especificações ou requisitos definidos de acordo com os procedimentos analíticos a eles vinculados. O laboratório deve avaliar o desempenho de novos reagentes ou de lotes diferentes dos reagentes antes do uso.

Esse é o item da chamada “validação” ou “verificação”, no qual estão embutidas duas exigências:

1. Antes de iniciar o uso de todo e qualquer equipamento ou insumo que der entrada no laboratório, deve-se fazer a validação ou a verificação da validação para saber se atendem às especificações que foram determinadas na aquisição e se estão adequados para uso;
2. Além disso, todo novo reagente ou novo lote de reagente deve passar por uma validação, igualmente, antes de iniciar o seu uso.

Item 11

Para a implantação da garantia da qualidade, é possível organizar um roteiro, conforme o exemplo:

1. Mapear os sistemas analíticos;
2. Listar todos os analitos realizados no laboratório;
3. Definir as formas de controles internos e externos. Para os internos, usar no mínimo dois níveis de controle (normal e patológico), quando aplicável;
4. Escolher o provedor;
5. Na ausência de controles comerciais, definir as formas alternativas a serem utilizadas;
6. Definir os limites e critérios de aceitabilidade caso a caso;
7. Definir os responsáveis pela análise dos resultados dos controles, pelo registro e pela implementação das ações corretivas, além da validação das corridas analíticas. Formalizar essas responsabilidades.

Outras medidas também não devem ser esquecidas para essa gestão, como:

1. Identificar todos os sistemas analíticos múltiplos para o mesmo analito;
2. Escolher o sistema analítico principal;
3. Calibrar os sistemas para que forneçam as mesmas respostas;
4. Documentar todas as rotinas em procedimentos escritos;
5. Treinar os colaboradores em suas atividades.

O controle da qualidade tem a função de medir e manter a variabilidade dentro de limites aceitáveis sem comprometer a utilidade médica dos resultados. A imprecisão, por sua vez, representa a variabilidade que ocorre em um resultado de exame. Essa variabilidade pode representar a influência de pessoas (realizam o procedimento de modo diferente), equipamentos (apresentam desempenho diferente), materiais (originados de fornecedores diversos), métodos (inadequação e baixa robustez dos procedimentos) e ambiente (variações de temperatura ou umidade).

Detalhando as maiores dificuldades de implantação e controle nesse item, os subitens 11.13 (20,8%), 11.6 (18,1%), 11.5 (17,4%) e 11.9 (16,7%) originaram mais frequentemente não conformidades.

Item 11.13

A Direção do laboratório ou responsável designado deve analisar criticamente os resultados do PAEQ (Programas de Avaliação Externa da Qualidade), contidos em relatórios emitidos pelo provedor, com a equipe envolvida, e manter registros desta avaliação. Para os resultados inadequados deve haver investigação da causa-raiz, respectivas ações corretivas e análise da sua efetividade. O laboratório deve avaliar tendências e programar ações preventivas, quando aplicável.

A denominada “avaliação externa da qualidade” é um processo de avaliação da adequação do resultado de uma análise que envolve a interação com outras organizações. Pode ser realizada por meio de ensaios de proficiência (PAEQ), de análise de padrões certificados, de comparações interlaboratoriais e de validação clínica.

Neste item, há a solicitação de três ações:

1. Análise dos resultados do PAEQ, envolvendo a equipe e registrando essas análises;
2. Havendo resultados inadequados, deve-se implantar uma rotina de investigação da causa-raiz, implementação de respectivas ações corretivas e análise da sua efetividade;
3. Avaliação de tendências nesses relatórios do PAEQ, com implantação de ações preventivas.

Item 11.6

O PCIQ deve contemplar uma avaliação periódica do desempenho dos sistemas analíticos quanto à sua variabilidade (controle interno) e à abrangência e à adequação dos controles usados. Estas avaliações devem ser feitas pela Direção do laboratório ou por responsável(is) formalmente designado(s). Quando forem observadas tendências, o laboratório deve implementar e registrar ações corretivas.

Nesse subitem, observam-se duas exigências:

1. A avaliação regular da variabilidade dos sistemas analíticos e a análise dos controles utilizados quanto à sua abrangência e à sua adequação ao que se necessita verificar;
2. Avaliação de tendências no controle interno com implantação de ações preventivas, quando aplicável.

Item 11.5

O PCIQ deve contemplar a descrição dos limites de aceitabilidade e os critérios de avaliação para os resultados dos controles e garantir seus registros e análise. Deve definir claramente o(s) responsável(is) pela avaliação e aprovação dos resultados e pela tomada de ações corretivas. Para os resultados fora dos limites estabelecidos, devem ser aplicadas as ações corretivas pertinentes. No caso de resultados de controle interno fora das especificações, registrados durante a rotina, se não houver a certeza de que a perda de estabilidade do sistema ocorreu exatamente naquele momento, recomenda-se reprocessar amostras já analisadas após o último controle com resultados dentro dos limites preestabelecidos, para determinar o momento e causa da perda de estabilidade, permitindo, inclusive, a retificação de resultados potencialmente liberados incorretamente nesse período anterior.

São duas exigências:

1. O Programa de Controle Interno da Qualidade (PCIQ) deve incluir a descrição dos limites de aceitabilidade e os critérios de avaliação para os resultados dos controles, da forma de registro e análise desses resultados, assim como das ações corretivas aplicáveis;
2. Durante a rotina, no caso de serem observados resultados de controle interno fora das especificações estabelecidas, deve-se reprocessar amostras que foram analisadas após o último controle com resultados dentro dos limites estabelecidos, com a finalidade de determinar o momento exato em que houver perda da estabilidade, podendo-se, assim, promover retificações de possíveis resultados incorretos liberados.

Item 11.9

Quando um mesmo exame pode ser realizado por meio de diferentes sistemas analíticos, diferentes equipamentos ou analistas, diferentes locais, ou de maneira que reúna todas ou parte dessas condições, o PCIQ deve contemplar um procedimento para a verificação da comparabilidade dos resultados de amostras de clientes ao longo do intervalo clinicamente apropriado. Essa verificação deve ser realizada periodicamente, de acordo com as características do procedimento ou sistema. O PCIQ deve contemplar a periodicidade de realização das comparações e as especificações da qualidade analítica para estabelecer os critérios de aceitabilidade para as diferenças encontradas, desde que seja garantida a equivalência dos resultados das amostras de clientes para um mesmo analito.

Este é o item que se refere à “comparabilidade”. Ele determina que periodicamente os exames realizados em mais de um sistema analítico devem ter seus resultados comparados, de modo que sejam equivalentes. Para isso, é preciso que se estabeleçam as especificações da qualidade analítica a fim de determinar os critérios de aceitabilidade para os diferentes resultados encontrados entre eles, garantindo-se a equivalência entre os resultados de um mesmo analito, em amostras de clientes. A periodicidade de realização desse

processo é determinada pelo laboratório, segundo a necessidade e as características inerentes ao exame e ao sistema envolvidos. Os equipamentos de *backup* devem ser incluídos nessa avaliação.

COMENTÁRIOS FINAIS

A SBPC/ML é uma entidade científica dedicada a atividades voltadas para o ensino e a pesquisa na área de medicina laboratorial, e criou o PALC com o propósito de promover a qualidade e a melhoria contínua dos laboratórios clínicos brasileiros. O endereço virtual da sociedade (<www.sbpc.org.br>) contém preciosas informações para nortear laboratórios interessados em acreditar seus sistemas de gestão da qualidade, entre elas o regulamento e a versão atualizada da norma PALC. Da mesma maneira, os canais de comunicação da SBPC/ML e do PALC encontram-se disponíveis para orientar e esclarecer dúvidas desses laboratórios.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

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.

CHAVES CD. Controle de qualidade no laboratório de análises clínicas [editorial]. J Bras Patol Med Lab. 2010;46(5):352.

GARZON AC. Quality management systems in the clinical laboratories in latin america. EJJFCC. 2015;26(4):216-20.

PETER TF, ROTZ PD, BLAIR DH, ET AL. Impact of laboratory accreditation on patient care and the health system. Am J Clin Pathol. 2010;134(4):550-5.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) – versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2020.

SHCOLNIK W, CHAVES C, FERREIRA, CES, ET AL. Clinical Laboratories Accreditation Program of the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (PALC/SBPC-ML): 15-year experience. Am J Med Qual. 2015;30(3):294-5.

ZIMA T. Accreditation of medical laboratories – system, process, benefits for labs. J Med Biochem. 2017;36(3):231-7.

23 Fase pré-pré-analítica

Leonardo de Souza Vasconcellos

INTRODUÇÃO

A solicitação de exames laboratoriais é uma prática comum, realizada por diferentes profissionais da área da saúde. Dados da literatura apontam que 70% das decisões médicas baseiam-se em exames complementares de diagnóstico, entre os quais os exames laboratoriais. Quando bem solicitados, os exames laboratoriais auxiliam os profissionais quanto à condução clínica mais assertiva e com menor dano aos pacientes. Contudo, seu uso indevido pode gerar consequências negativas para o paciente, para o serviço e até mesmo para o profissional solicitante.

Em geral, os serviços prestados pelo laboratório clínico são julgados pelos pacientes com base nas boas práticas de coleta, rapidez e pontualidade da entrega dos resultados. A avaliação da qualidade do laboratório pelos profissionais vai um pouco além, com ênfase também na acurácia e na confiabilidade dos resultados recebidos. De maneira inversa, o saber e a qualidade do serviço prestado pelos profissionais da saúde também são avaliados, tomando como base o atendimento e suas atitudes (visão do paciente) e a consistência de informações inseridas nos pedidos de exames solicitados por eles (visão do laboratório).

Para efeitos didáticos e com a finalidade de separar os responsáveis pelas diferentes etapas laboratoriais, as expressões “pré-pré-analítica” e “pós-pós-analítica” foram criadas para se referir ao protagonismo do profissional solicitante nas fases pré e pós-analíticas, respectivamente.

ENTENDENDO AS FASES LABORATORIAIS

Os processos laboratoriais são complexos e dinâmicos, sendo compostos por diferentes etapas, cada uma com suas particularidades e protagonistas. Didaticamente, os processos são agrupados em três fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica.

A fase analítica compreende a etapa em que ocorre a análise (pesquisa ou quantificação) do exame ou biomarcador solicitado, sendo em geral conduzida na área técnica dos laboratórios clínicos, de modo manual ou por automação.

Tudo o que ocorre antes da análise laboratorial faz parte da fase pré-analítica, que compreende, entre outros: solicitação de exames, orientação e preparo do paciente, coleta e identificação das amostras biológicas; preparo, armazenamento e transporte de amostras até a área técnica do laboratório, onde serão processadas. É a fase que apresenta mais variáveis e interferentes, além da menor intervenção da tecnologia e, por isso, é responsável pela maior frequência de erros, seguida pelas fases analítica e pós-analítica.

De maneira análoga, tudo o que acontece logo após o término da análise laboratorial se refere à fase pós-analítica, que compreende, entre outros: digitação ou interfaceamento de resultados, retenção ou liberação do resultado, comunicação de valores críticos, solicitação de recoleta, discussão dos resultados com o corpo clínico, entrega ou divulgação dos resultados e, finalmente, interpretação dos resultados pelo solicitante.

As três etapas laboratoriais são sequenciais e se fecham em uma espécie de círculo, cujos pontos de partida e término são os mesmos, criando a expressão *brain-to-brain loop*, proposta inicialmente por Lundberg, em 1981. Portanto, tudo começa e termina com o profissional de saúde que solicitou os exames e, posteriormente, recebeu e interpretou os resultados (Figura 1).



FIGURA 1 Diferentes fases do complexo processo laboratorial (*brain-to-brain loop* – Lundberg, 1981).

Fonte: modificada por Vasconcellos LS.

FASE PRÉ-PRÉ-ANALÍTICA

A fase pré-pré-analítica inicia-se no momento do atendimento clínico, quando o profissional da saúde opta pela solicitação de algum exame laboratorial. Em situações nas quais o paciente decide, por conta própria, ir ao laboratório para fazer exames sem pedido médico, ele assume responsabilidades e riscos inerentes a essa conduta, incluindo a escolha dos exames e a interpretação dos resultados. Os questionamentos éticos e legais dessa questão não serão reportados neste capítulo.

A atuação do profissional solicitante é tão importante quanto a do paciente e a do laboratório, visando à qualidade e à representatividade dos resultados. Saber escolher os exames, preencher corretamente o pedido laboratorial e orientar os pacientes sobre os motivos da

solicitação e o preparo prévio adequado à coleta são atitudes nobres e fundamentais da fase pré-pré-analítica.

Definição dos exames

A escolha dos exames laboratoriais deve ser embasada por evidências científicas que comprovem seus benefícios. Portanto, cabe ao profissional da saúde ter formação acadêmica e profissional adequadas e se manter atualizado com as boas práticas de sua profissão e sua área de atuação.

A medicina laboratorial vem evoluindo de maneira avassaladora, com métodos e biomarcadores de maior acurácia diagnóstica. Em paralelo, as solicitações de exames laboratoriais vêm aumentando, refletindo o maior acesso da população aos serviços de saúde. Contudo, muitos exames estão sendo solicitados de maneira indiscriminada, sem critério clínico.

O uso inadequado (inapropriado e irracional) dos marcadores laboratoriais é um fenômeno bastante estudado e preocupante para planos de saúde, órgãos governamentais e sociedades científicas. Os erros mais comuns nas solicitações de exames são o *overuse* e o *underuse*. Entende-se por *overuse* o excesso de exames e por *underuse* o oposto, ou seja, quando exames específicos e necessários deixam de ser solicitados ou o são de modo insuficiente. Ambos os extremos devem ser evitados, pois prejudicam e confundem o raciocínio clínico, bem como prorrogam o diagnóstico e o tratamento dos pacientes.

Acertar o ponto de equilíbrio na solicitação de exames é uma tarefa que exige boa formação profissional, estudo e muita prática. Exames laboratoriais têm indicações específicas e não devem ser banalizados, a sua escolha deve respeitar a regra dos “quatro certos”: o exame certo, para o paciente certo, no momento certo e na quantidade certa.

Outra maneira de auxiliar os profissionais da saúde no momento da solicitação de exames é lembrá-los de três perguntas básicas:

1. O exame tem alguma relação com a clínica do paciente?
2. O resultado do exame será útil na condução clínica ou no tratamento do paciente?
3. Os benefícios do exame superam os custos e riscos para o paciente?
4. Há, ainda, a possibilidade de se acrescentar uma quarta pergunta, de cunho psicológico e emocional: se fosse seu familiar (mãe ou filho, por exemplo), o exame seria solicitado? Se a resposta for “sim” a todas as perguntas, o exame está bem indicado.

Na literatura, além das recomendações do Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária, pode-se encontrar artigos científicos, diretrizes e portarias publicados por diferentes autores e sociedades científicas. Campanhas educativas também são instrumentos válidos para orientar e educar os profissionais da saúde. Entre os projetos mais conhecidos, vale a pena citar a campanha *Choosing Wisely*® da American Board of Internal Medicine (ABIM) e, mais recentemente, as campanhas do *Choosing Wisely* Brasil e da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

A SBPC/ML vem publicando diferentes materiais e cartilhas, como “Mitos e verdades sobre os exames laboratoriais”, “Uso consciente dos exames laboratoriais” e livros da série “Recomendações da SBPC/ML”, sobre importantes temas de medicina laboratorial. Todos esses produtos estão disponíveis gratuitamente no portal eletrônico <www.sbpc.org.br>.

Pedido laboratorial

Os pedidos de exames laboratoriais, manuais ou eletrônicos, devem ser preenchidos corretamente. Embora formulários possam variar entre os serviços, todos apresentam campos estratégicos comuns, relacionados com a identificação do paciente, os dados clínicos; a lista de exames solicitados; a identificação do profissional solicitante e a data do pedido. São inaceitáveis campos em branco, ilegíveis, incompletos e rasurados.

O nome dos exames deve ser legível e, de preferência, sem abreviaturas, exceto aquelas já consagradas pelos laboratórios, como FA (fostatase alcalina) e GGT (gama glutamil transferase). Deve-se evitar nomes genéricos do tipo: íons, função renal, bilirrubinas, sorologia para hepatite viral, entre outros. As especificidades de cada analito devem estar explícitas, como cálcio “total” ou “iônico” e glicose “em jejum” ou “sem jejum” (“aleatória” ou “casual”).

No campo relacionado com os dados clínicos, deve-se evitar informações genéricas do tipo: “diabete melito”, pois não está claro se se trata de suspeita de diabete ou se o paciente é sabidamente diabético; e mesmo se diabético, também não se sabe qual é o estado clínico do paciente – se estável (em avaliação de rotina) ou se descompensado (em cetoacidose diabética), por exemplo. Tais informações são importantes ao laboratório, principalmente para a liberação de resultados. Uso de medicamentos e vitaminas também é importante e deveria constar no pedido laboratorial.

Nas solicitações manuais, é comum observar palavras com caligrafia e canetas distintas, bem como presença de campos para marcação de “x” na lista de exames. Nesses casos, fica difícil saber se houve adulteração ou não do original. Vale a pena lembrar que o pedido de exames é tão importante quanto os demais documentos relacionados com a saúde do paciente, como prescrição de medicamentos, prontuário clínicos e atestado médico.

Orientações aos pacientes

Todo profissional solicitante deve saber orientar adequadamente seus pacientes com relação ao preparo pré-analítico dos exames laboratoriais que foram solicitados. Dependendo dos exames, os interferentes e preparativos prévios podem ser variados. Entre os principais interferentes, o jejum é considerado um dos mais polêmicos, sendo bastante estudado. Jejum significa a não ingestão de alimentos, seja sólido ou líquido. Portanto, durante o jejum, não se pode consumir qualquer quantidade de alimento, mesmo produtos classificados como *diet* e de baixa caloria, independentemente do tipo, como suco, café, bala, biscoito, salgados etc. Por sua vez, a ingestão de água é permitida, bem como medicamentos de uso contínuo, desde que não suspensos pelo médico. Em pacientes mais vulneráveis, como pacientes pediátricos e idosos, o tempo de jejum deve ser planejado com familiares ou responsáveis de modo a resguardar os intervalos de alimentação.

Quando os exames são coletados em domicílio, como urina de rotina, urina de 24 horas, exame parasitológico de fezes, dosagem de gordura fecal, entre outros, os pacientes devem ser orientados sobre os preparos prévios, os interferentes, a maneira correta de coletar o material, o volume da amostra, o tipo de frasco, seu armazenamento e sua identificação. Na dosagem de boa parte dos testes bioquímicos, por exemplo, deve-se evitar

uso de bebidas alcoólicas durante 48 a 72 horas. No caso de monitoramento terapêutico de algum fármaco, deve-se informar os horários corretos da ingestão e de comparecimento ao laboratório. Para dosagem do antígeno prostático específico (PSA), o paciente deve ser orientado a evitar os interferentes pré-analíticos, como relação sexual, ejaculação, toque retal, ciclismo e hipismo, nos dias anteriores à dosagem laboratorial.

Contudo, na prática, nem sempre isso ocorre. Pacientes que não recebem orientação durante a consulta acabam buscando outras fontes, como familiares, amigos, internet e redes sociais. Nesses casos, para evitar orientações inadequadas, o paciente pode buscar informações no próprio laboratório, dias antes da coleta.

Sabendo que o preparo adequado do paciente é um pré-requisito fundamental para garantir a qualidade e a representatividade da amostra, cabe aos profissionais da saúde assegurar que os seus pacientes sigam corretamente as instruções repassadas. Portanto, além de deter o conhecimento, os profissionais devem procurar transmiti-lo de maneira clara e objetiva e se preocupar em saber se os pacientes realmente compreenderam suas orientações.

Na literatura, estudos prévios já demonstram que muitos profissionais de saúde não orientam previamente seus pacientes quanto às dosagens laboratoriais. Lamentavelmente, a relação médico-paciente vem se transformando ao longo dos anos, sendo alvo de críticas de diferentes entidades de classe, inclusive da própria classe médica. Como consequência, pacientes são pouco informados não apenas quanto ao preparo adequado para a realização de exames complementares, mas também sobre suas doenças e tratamentos. Essa desinformação contribui negativamente na qualidade da fase pré-analítica.

CONCLUSÕES

Na fase pré-pré-analítica, cabe aos profissionais de saúde escolher quais exames serão solicitados com base em evidências científicas e nas particularidades do paciente e preencher adequadamente a requisição laboratorial. Durante a consulta, os pacientes devem receber orientações sobre sua doença, os motivos da solicitação dos exames e a forma adequada de preparo. Caso contrário, devem buscar auxílio prévio com funcionários do próprio laboratório. O paciente deve ser esclarecido sobre jejum, atividade física, medicamentos, suplementos vitamínicos, entorpecentes, etilismo, tabagismo e outros interferentes pré-analíticos. Orientações incompletas ou ausentes podem gerar resultados inadequados, condutas clínicas incorretas e risco à saúde do paciente.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Brasília: DOU; 2005.

KACKOV S, SIMUNDIC AM, GATTI-DRNIC A. Are patients well informed about the fasting requirements for laboratory blood testing? *Bioch Med.* 2013;23(3):326-31.

KLJAKOVIC M. Patients and tests – a study into patient understanding of blood tests ordered by their doctor. *Aust Fam Physician.* 2012;41:241-3.

LIPPI G, BECAN-MCBRIDE K, BEHÚLOVÁ D, ET AL. Preanalytical quality improvement: in quality we trust. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51:229-41.

- LIPPI G, BAIRD GS, BANFI G, ET AL. Improving quality in the preanalytical phase through innovation, on behalf of the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(4):489-500.
- LIPPI G, BETSOU F, CADAMURO J, ET AL. Preanalytical challenges – time for solutions. *Clin Chem Lab Med*. 2019;57(7):974-81.
- LUNDBERG GD. Acting on significant laboratory results. *J Am Med Assoc*. 1981;245:1762-3.
- MILER M, SIMUNDIC AM. Low level of adherence to instructions for 24-hour urine collection among hospital outpatients. *Bioch Med*. 2013;23(3):316-20.
- PLEBANI M, LAPOSATA M, LUNDBERG GD. The Brain-to-Brain Loop concept for laboratory testing 40 years after its introduction. *Am J Clin Pathol*. 2011;136(6):829-33.
- PLEBANI M. Exploring the iceberg of errors in laboratory medicine. *Clin Chimica Acta*. 2009;404:16-23.
- PLEBANI M. The detection and prevention of errors in laboratory medicine. *Ann Clin Biochem*. 2010;47:101-10.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Gestão da fase pré-analítica: recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Rio de Janeiro: SBPC/ML; 2010.
- SCIACOVELLI L, PLEBANI M. The IFCC Working Group on laboratory errors and patient safety. *Clin Chim Acta*. 2009;404:79-85.
- SIMUNDIC AM, LIPPI G. Preanalytical phase-a continuous challenge for laboratory professionals. *Biochem Med (Zagreb)*. 2012;22(2):145-9.

24 Ações para minimizar a hemólise

Latin American Preanalytical Scientific Committee (LASC):

Glais Libanori, Adagmar Andriolo,
Ana Margarita Baldion Elorza,
Carlos R. Vega Salinas,
Carolina Giselle Trunzo,
Eduardo Miguel Brambila Colombres,
Jovanna Itzel Borace, Luisane Maria Falci Vieira,
Maria Mercedes Zirpoli, Nairo Massakazu Sumita



INTRODUÇÃO

Hemólise em amostras sanguíneas em laboratório clínico representa o maior desafio relacionado com a fase pré-analítica do processo laboratorial.¹ Tem sido um assunto recorrente em muitas publicações e representa o maior número entre os indicadores de repetição de coleta na fase pré-analítica.

Neste capítulo, serão abordadas quais são as ações para minimizar a hemólise, seus principais mecanismos e também como os resultados com materiais hemolisados estão sendo liberados atualmente.

COMO HARMONIZAR UMA FORMA DE LIBERAÇÃO?

A hemólise é definida como a destruição da hemácia decorrente do rompimento da membrana dos eritrócitos e a consequente liberação de seu conteúdo intracelular, principalmente a hemoglobina. Pode ocorrer em decorrência de um evento intravascular (hemólise *in vivo*), bem como durante ou subsequente ao processo de coleta do sangue (hemólise *in vitro*).

A hemólise pode ser visualizada no soro ou plasma quando a concentração de hemoglobina excede o nível de 50 mg/dL. Quando a concentração ultrapassa valores entre 150 e 200 mg/dL, a aparência do soro ou plasma poderá variar da tonalidade rósea ao vermelho-vivo.

A hemólise *in vitro* é a que acontece durante a fase pré-analítica do laboratório. A ruptura da membrana celular ocorre por manipulação, acondicionamento ou transporte inadequados da amostra e pode resultar não apenas na ruptura dos glóbulos vermelhos, mas também dos leucócitos e plaquetas.

Distinguir a hemólise *in vivo* da *in vitro* é crítica para a segurança do paciente. Na hemólise *in vivo*, as concentrações plasmáticas dos diferentes analitos correspondem às concentrações reais presentes na circulação do paciente e, portanto, necessitam ser relatadas. Caso não exista uma causa clínica identificada que indique uma hemólise *in vivo*, deve-se fortemente considerar a possibilidade da hemólise *in vitro*.

Habitualmente, os fabricantes fornecem informações acerca dos efeitos da hemólise no desempenho analítico dos conjuntos diagnósticos. Assim, cada laboratório deve avaliar a magnitude dessa interferência durante o processo de seleção e validação do método. O laboratório deve também definir o nível de hemólise na qual os resultados não devem ser reportados, visando a impedir que uma conduta clínica inadequada seja tomada com base em resultados não confiáveis.

Uma hemólise discreta nem sempre resultará em uma alteração significativa nos resultados dos exames laboratoriais. No entanto, a hemólise mais acentuada poderá afetar os resultados dos exames em todos os setores laboratoriais. Alguns exemplos de parâmetros que podem sofrer alterações significativas são: potássio, sódio, cálcio, magnésio, bilirrubina, haptoglobina, proteína total, aldolase, amilase, lactato desidrogenase (LD), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fósforo, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, gamaglutamiltransferase (GGT), folato, ferro e troponina.²

Entre esses analitos, um dos mais críticos é o potássio, uma vez que as hipocalemias, assim como as hipercalemias, são emergências médicas. Para evitar a repetição de coleta para confirmação de resultados em decorrência de hemólise, alguns autores propuseram que, em caso de hemólise, pode-se utilizar a taxa de filtração glomerular $> 60 \text{ m/min/1,73 m}^2$ em combinação com o eletrocardiograma (ECG) normal como um indicador de pseudo-hipercalemia,³ o que eliminaria a necessidade de repetir o teste. Porém, há discordâncias quanto a isso, pois esse caminho pode impedir a identificação de pacientes com hipercalemia e ECG normal, assim como de pacientes com hipocalemia.

Os equipamentos atuais permitem saber qual o índice de hemólise (IH) e de acordo com o grau de hemólise, dependendo do analito, pode-se determinar se há necessidade de repetição de coleta ou não.

Neste capítulo, será abordado como padronizar as práticas pré-analíticas relacionadas com a identificação da amostra hemolisada, assim como seu gerenciamento.

Como esses resultados estão sendo reportados?

Mais da metade dos laboratórios tem acesso ao IH, assim como muitos dispõem de procedimentos determinados para a liberação de resultados em amostras hemolisadas. Porém, não há harmonização entre os laboratórios, e sim uma grande variação na forma como esses resultados estão sendo relatados.⁴

EFEITOS DA HEMÓLISE

A hemólise representa a maior causa de rejeição de amostras de sangue nos laboratórios clínicos, como demonstrado em um estudo realizado pelo CAP (*Chemistry Specimen Acceptance Q-Probes*). Como já citado anteriormente, pode ser reconhecida visualmente ou por meio de equipamentos mais modernos.

Representando a maior causa na repetição de coleta, acarreta transtornos para o laboratório e para os pacientes, ambulatoriais ou internados, além de encarecer o processo como um todo.

Para obter amostras com qualidade, não basta apenas o conhecimento das boas práticas, mas também é necessário usar insumos de qualidade e de acordo com as normas técnicas vigentes. Infelizmente, é sabido que, entre as equipes em um laboratório clínico, a equipe de coleta é a que mais apresenta rotatividade. Por esse motivo, os treinamentos devem ser periódicos e ministrados pelo laboratório por pessoas responsáveis por treinamentos, para que não haja involução da boa prática. Há hospitais que ainda mantêm a coleta sendo realizada pela equipe de enfermagem do hospital, o que dificulta muito para o laboratório gerenciar o indicador de repetições de coleta. Por isso, muitos laboratórios preferem ser os responsáveis por toda a coleta laboratorial em quase todos os setores hospitalares. Porém, é responsabilidade do laboratório gerenciar o indicador de repetição

de coleta para minimizar os eventos sentinelas em qualquer setor hospitalar, seja a coleta feita por equipes do laboratório, seja do hospital.

Para especificar o significado da interferência da hemólise, muitos autores utilizam a variação biológica (VB) para cada analito como critério, ou seja, o resultado de uma amostra com hemólise deve diferir de uma amostra sem hemólise com valor maior que a VB para que essa diferença seja significativa: $VB = 1,96 \times (CVA^2 + CVw^2)^{1/2}$, onde CVA = CV analítico do ensaio e CVw = CV intraindividual.

Com relação às magnitudes afetadas pela hemólise, muitas vezes a existência de interferência dependerá do método analítico utilizado. Recomenda-se que cada laboratório verifique as informações que os fornecedores dão sobre a interferência da hemólise em condições reais de trabalho.

BOAS PRÁTICAS PARA COLETA DE SANGUE PARA EVITAR A HEMÓLISE

- Calibre do vaso e trauma: a punção de veias de pequeno calibre, veias frágeis ou mesmo “pescar” a veia com uma agulha podem produzir a hemólise. Usar o calibre de agulha correto para o calibre da veia é fundamental. Para veias frágeis, deve-se utilizar tubos de menor volume. Se houver trauma durante a punção, o primeiro tubo pode apresentar hemólise. Atualmente, com métodos mais sensíveis para detectar a hemólise, sabe-se que o primeiro tubo após a punção apresenta maior presença de hemólise do que os outros, por menor que seja essa detecção. Não se deve puncionar em áreas que apresentem hematomas;
- Preparação da área com álcool: é necessário que o álcool seque completamente antes da punção, caso contrário pode causar hemólise;
- Tamanho da agulha: uma agulha de calibre grosso (menor que 21G) pode provocar hemólise, por permitir que uma grande quantidade de sangue entre no tubo de uma só vez com força. Do mesmo modo, agulhas mais finas podem causar hemólise ao forcarem o fluxo de sangue por uma abertura estreita. A membrana celular das hemácias se rompe na agulha durante a coleta. Com relação ao calibre da agulha, os fabricantes utilizam a medida em milímetros (mm) ou polegadas. Uma agulha com as medidas $0,70 \times 30$ mm, significa que o calibre é de 0,70 mm e o comprimento de 30 mm, ou seja, o primeiro número identifica o calibre da agulha e o segundo, o comprimento da agulha. Já na medida em polegadas, uma agulha 22G \times 1 $\frac{1}{4}$ indica um calibre de 22 (“G” ou *gauge* – calibre na língua inglesa) com comprimento de 1 polegada e $\frac{1}{4}$. Existe uma relação inversa entre *gauge* e milímetros para a medida do calibre. Quanto menor o *gauge*, maior o valor em milímetros. Assim, quanto maior o calibre, mais estreito é o orifício da agulha. Uma agulha 25G apresenta um diâmetro de cerca de 0,5 mm; já uma agulha 23G corresponde a um diâmetro aproximado de 0,6 mm;
- Conexões soltas: todas as conexões dos componentes da flebotomia devem estar ajustadas, como o equipo de coleta de sangue e o adaptador *Luer* ou entre o cateter e o adaptador *Luer*. Quando essas conexões estão soltas, a entrada de ar no sistema produz espuma, podendo causar hemólise;
- Volume insuficiente: a quantidade de anticoagulante ou aditivo acelerador de coágulo é proporcional ao volume de sangue predeterminado para cada tubo. Um volume menor de sangue pode produzir hemólise pelo excesso de anticoagulante ou aditivo;

- Coleta de sangue com seringa: as coletas com seringa são a causa mais notória de hemólise. O uso de seringas para coleta de sangue para análise laboratorial deve ser evitado, sempre que possível. O sistema de coleta a vácuo já existe no mercado há muitos anos e já se tem comprovado sua eficiência (maior qualidade com menor custo), uma vez que diminui sensivelmente a necessidade de repetição de coleta em decorrência da hemólise. Há estudos que comprovam que a taxa de hemólise é superior quando a coleta é realizada com seringas⁵. Nas ocasiões nas quais o uso da coleta a vácuo não é possível, há alguns cuidados essenciais para diminuir o risco de hemólise:
 - » Antes da coleta, bombear o êmbolo da seringa três ou quatro vezes para deslizar melhor;
 - » Ajustar bem a agulha na seringa;
 - » Evitar o uso de seringas de volume acima de 10 mL;
 - » A velocidade de aspiração não deve ultrapassar 1 mL/s. A força de aspiração é a maior causa de hemólise;
 - » O sangue colhido deve ser transferido para os tubos imediatamente, com o auxílio de um dispositivo especial para essa transferência;
 - » O enchimento do tubo deve ser feito somente por vácuo. A transferência ativa também provoca hemólise em virtude da força empregada para o esvaziamento da seringa;
 - » Incliná-la a seringa e o tubo de modo que o sangue escoe pela parede do tubo, evitando que colidam com o fundo do tubo, o que também causa hemólise.
- Coleta com cateter periférico: em muitos atendimentos de urgência, para aproveitar a mesma punção para colher exames laboratoriais e administrar medicamentos aos pacientes, um cateter periférico é utilizado. Há estudos que demonstram que as amostras obtidas a partir do uso desses cateteres apresentam maior probabilidade de hemólise.⁶

MECANISMOS DE INTERFERÊNCIA DA HEMÓLISE

Podem ser divididos em quatro categorias:⁷

1. Interferência em espectrofotometria;
2. Liberação de componentes intracelulares para a amostra;
3. Diluição do sangue;
4. Interferência química.

Interferência espectrofotométrica

A hemólise libera a hemoglobina das hemácias e a hemoglobina livre interfere em uma faixa de comprimento de onda (desde 415 até 570 nm), afetando, assim, a leitura das concentrações dos analitos, cujos ensaios utilizam esses mesmos comprimentos de onda.

Liberação de componentes intracelulares para a amostra

Os principais analitos que se encontram em maior abundância intracelular em comparação com o meio extracelular são: lactato desidrogenase (LDH), ácido fólico, potássio, AST e fosfato inorgânico. Quando há ruptura da membrana celular, esses analitos aumentam suas concentrações no meio extracelular, interferindo nos resultados finais, sendo que essa interferência varia com o grau da hemólise.

O fosfato orgânico também presente dentro das hemácias, quando liberado para o meio extracelular, sofre ação das fosfatases séricas se transformando em fosfato inorgânico, causando a pseudo-hiperfosfatemia.⁷

A hemoglobina livre pode contribuir para aumentar a medida da proteína total no soro e, assim, afetar a eletroforese de proteínas (principalmente nas regiões alfa e betaglobulina).

Diluição do sangue

Em geral, é uma das menores consequências, mas pode ocorrer e também ser um fator de interferência. Os analitos que normalmente se encontram em menor concentração dentro das hemácias, quando comparado ao meio extracelular (plasma ou soro), uma vez liberados, podem causar uma diluição para esses analitos, diminuindo seu resultado final. Mas esse efeito é mais observado em hemólises graves (maiores que 3 g/L de hemoglobina livre).

Interferência química

Essa interferência pode ocorrer por mecanismos diretos e indiretos com as reações químicas nos ensaios laboratoriais, afetando os resultados finais.

- Mecanismos diretos: por competição com o substrato ou outros componentes, por exemplo, o falso aumento da atividade de creatinoquinase (CK) em virtude da atividade da adenilquinase e a falsa diminuição de ácido úrico, decorrente da competição da hemoglobina livre com o método da uricase-catalase (reação de Kageyama);⁷ ou por meio da inibição de reações como, por exemplo, a interferência da hemoglobina livre com a bilirrubina na metodologia Jendrassik-Grof, inibindo a formação de cor;
- Mecanismos indiretos: por afetarem os analitos em virtude de algumas modificações de sua estrutura química, causando precipitação do analito, formação de complexos entre o analito e outros liberados da hemácia e proteólise – afetando muitos ensaios imunológicos, como a troponina.

COMO SÃO LIBERADOS OS RESULTADOS DAS AMOSTRAS HEMOLISADAS NO LABORATÓRIO DE ESPECIALIDADES DA CLÍNICA DÁVILA, CHILE?

Qual é o mecanismo de detecção da hemólise?

A primeira coisa a considerar para harmonização no que diz respeito ao manuseio de amostras de hemólise é qual sistema de detecção de hemólise cada laboratório tem e, em seguida, quais protocolos serão aplicados para o manuseio dessas amostras.

O laboratório especializado da Clínica Dávila (Chile), possui a plataforma Cobas EP612, cujo sistema pré-analítico permite detectar precocemente o interferente por meio de uma comparação de imagens fotográficas armazenadas e que é alimentada dia a dia. Isso permite que a entrada dessa amostra para a área de processamento seja cancelada.

Posteriormente, há um segundo filtro no autoanalisador de química clínica, em que o menor nível de tolerância aceito (maior ou igual a 15) é configurado correspondente ao nível mais baixo de hemólise com o qual algum analito é afetado, nesse caso o LDH. Essas informações são baseadas no que o provedor declara nas inserções de analito. A Tabela 1 descreve as concentrações de hemoglobina, triglicérides e bilirrubinas que podem interferir na análise de diversos analitos.

TABELA 1 Concentrações de hemoglobina, triglicérides e bilirrubinas que interferem na medição de analitos

Analito	Hemólise (H) mg/dL de hemoglobina	Lipemia (L) mg/dL de triglicérides	Icterícia (I) mg/dL de bilirrubinas
Ácido úrico	≥ 1.000	≥ 1.500	≥ 40
ADA	≥ 200	≥ 750	≥ 20
Albumina	≥ 1.000	≥ 550	≥ 60
Amônia	≥ 200	≥ 50	≥ 10
ALT/TGP	≥ 90	≥ 150	≥ 60
Amilase	≥ 500	≥ 1.500	≥ 60
AST/TGO	≥ 40	≥ 150	≥ 60
Bilirrubina direta	≥ 25	≥ 750	Não interfere
Bilirrubina total	≥ 800	≥ 1.000	Não interfere
Cálcio	≥ 1.000	≥ 1.000	≥ 60
Cloro	≥ 1.000	≥ 2.000	≥ 60
Colesterol HDL	≥ 1.200	≥ 2.000	≥ 60
Colesterol total	≥ 700	≥ 2.000	≥ 14
CK total	≥ 100	≥ 1.000	≥ 60
Creatinina	≥ 1.000	≥ 800	≥ 5
Dímero D	≥ 500	≥ 1.000	≥ 30
Fosfatase alcalina	≥ 200	≥ 2.000	≥ 60
Fósforo	≥ 300	≥ 1.250	≥ 40
GGT	≥ 200	≥ 1.500	≥ 20
Glucose	≥ 1.000	≥ 1.000	≥ 60
Lactato	≥ 1.000	≥ 1.500	≥ 28
LDH	≥ 15	≥ 900	≥ 60
Lipase	≥ 1.000	≥ 2.000	≥ 50
Lítio	≥ 1.000	≥ 2.000	≥ 37
Magnésio	≥ 800	≥ 2.000	≥ 60
PCR	≥ 1.000	≥ 1.000	≥ 60
Potássio	≥ 90	≥ 2.000	≥ 60
Proteínas totais	≥ 500	≥ 2.000	≥ 20
Sódio	≥ 1.000	≥ 2.000	≥ 60
Triglicérides	≥ 700	Não interfere	≥ 10
Troponina T	≥ 75	Não se aplica	Não se aplica
Ureia	≥ 1.000	≥ 1.000	≥ 60
Vancomicina	≥ 1.000	≥ 1.000	≥ 60
HIV	≥ 500	≥ 1.500	≥ 60

Fonte: cortesia da Clínica Dávila, Chile.

O autoanalisador de química envia um alerta para o *middleware*, que faz com que esses resultados não sejam transferidos para o módulo de validação. Isso ocorre com cada análise e permite determinar os analitos que são afetados pela hemólise e que devem ser solicitados como uma nova amostra para o serviço clínico.

Uma nova amostra é sempre solicitada?

É protocolado que uma nova amostra deve ser sempre solicitada quando há a informação de que o nível de hemólise detectada afeta a qualidade do resultado dos analitos envolvidos.

Quais são as situações em que, mesmo com a amostra hemolisada, os resultados são divulgados?

- Quando a hemólise é por condição clínica do paciente (por exemplo, picada de aranha, síndrome urêmica hemolítica etc.);
- Quando uma amostra do mesmo paciente foi solicitada pela terceira vez.

Quando uma nova coleta não é recomendada, como esse resultado é liberado?

Quando uma amostra é validada com hemólise, pelas razões descritas anteriormente, um comentário é feito em cada analito afetado pela hemólise. Esse comentário é descrito em um anexo (AN-T-00-069 “Recebimento de amostras que não atendem às condições”) e corresponde aos seguintes itens, dependendo do caso da hemólise:

- Terceira amostra hemolisada: os resultados podem estar afetados;
- Hemólise por condição clínica do paciente: os resultados podem estar afetados.

Que tipo de monitoramento o laboratório realiza em amostras hemolisadas?

O monitoramento em tempo real através do sistema SAP BI possibilitou um monitoramento visual das amostras rejeitadas por cada serviço e uma intervenção para obter uma diminuição na taxa de rejeição. As taxas de amostragem hemolisadas permanecem estáveis nas áreas de internação e ambulatorial, embora não seja assim nos serviços de emergência, onde as flutuações são observadas de tempos em tempos (Figura 1).



FIGURA 1 Índice de amostras hemolisadas no laboratório clínico especializado da Clínica Dávila.

Fonte: cortesia da Clínica Dávila, Chile.

REFERÊNCIAS

1. BONINI P, PLEBANI M, CERIOTTI F, RUBBOLLI F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem.* 2002;48:691-8.
2. YUCEL D, DALVA K. Effect of in vitro hemolysis on 25 common biochemical tests. *Clin Chem.* 1992;38:575-7.
3. MARTÍNEZ-MORILLO E, ALVAREZ FV. Management of potassium results in hemolyzed plasma samples at the emergency department laboratory. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57(11):e271-3.
4. GIDSKE G, AAKRE KM, RUSTAD P, ET AL. Handling of hemolyzed serum samples in clinical chemistry laboratories: the Nordic hemolysis project. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57(11):1699-1711.
5. BD DIAGNOSTICS. Evaluation of sample quality and analytic results between specimens collected in BD Vacutainer™ tubes and current syringe collections. BD White Paper VS5391. 2001.
6. BURNS ER, YOSHIKAWA N. Hemolysis in serum samples drawn by emergency department personnel versus laboratory phlebotomists. *Lab Med.* 2002;33(5):378-80.
7. SIMUNDIC AM, BAIRD G, CADAMURO J, ET AL. Managing hemolyzed samples in clinical laboratories. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2020;57(1):1-21.

25 Ações para evitar erros na coleta de sangue

Suzimara Aparecida Vicente Tertuliano de Oliveira,
Luciane de Carvalho Sarahyba da Silva

O **LABORATÓRIO CLÍNICO** é parte da cadeia de assistência à saúde, na qual desempenha papel vital, contribuindo para mais de 70% das decisões médicas, segundo Forsman (1996) e Andriolo (2007).¹

A realização de exames divide-se, classicamente, em fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, três momentos distintos com atividades peculiares; porém, com um ponto focal em todos eles – o monitoramento do processo.

A fase pré-analítica inicia-se na solicitação de exames. Porém, há estudos indicando que há uma fase que a antecede, a fase pré-pré-analítica. As iniciativas de melhoria da qualidade devem, portanto, levar em conta os passos pré-analíticos clássicos e os procedimentos iniciais incluídos na chamada fase pré-pré-analítica, que geralmente não estão sob o controle do laboratório.²

A fase pré-pré-analítica refere-se à seleção de exames laboratoriais pelo médico e aos procedimentos de coleta e transporte das amostras, quando essas atividades não estão sob a responsabilidade do laboratório. É amplamente conhecido que 60 a 70% dos erros laboratoriais estão relacionados com a fase pré-analítica.³

As ações descritas neste capítulo apresentam oportunidades para reduzir os erros na fase pré-analítica, visando a garantir a segurança do paciente, o resultado com qualidade e a confiança no laboratório.

AÇÕES APLICADAS PARA EVITAR ERROS NA COLETA DE SANGUE

Atendimento domiciliar

Um dos serviços que mais crescem no Brasil, beneficia a relação com o paciente, trazendo a ele conforto, privacidade, atenção individualizada e fortalecendo o vínculo do paciente e da família com a equipe do laboratório, que transmitirá orientações visando ao resultado do exame com qualidade e conduta clínica adequada, desde o pré-analítico ao pós-analítico. Conforme a RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005,⁴ todas as atividades de coleta, domiciliar, em empresas ou em unidades móveis devem estar vinculadas a um laboratório clínico e seguir todos os requisitos aplicáveis a este.

Manual de orientações para coleta de amostras laboratoriais

Deve ser disponibilizado por diversos canais, com linguagem de fácil entendimento ao público-alvo, descrevendo o preparo adequado do paciente e a necessidade de informações relevantes, que podem alterar os resultados, sendo potenciais indutores de erro e

interferentes na conduta médica (p. ex., data da última menstruação, o tempo de jejum, uso de medicamentos prescritos ou não pelo médico etc.).

Política de comunicação efetiva

Entre o paciente/familiar, o laboratório e o clínico, estabelece-se uma relação empática e de confiança, provendo a segurança do paciente. O diálogo nos traz dados relevantes, como a informação do tempo de jejum, a dosagem/horário de medicação, o uso de drogas de abuso, tabagismo, se houve intercorrência anterior durante a coleta de sangue e se o paciente tem hipersensibilidade ao látex (podendo ocorrer choque anafilático). Minimiza, ainda, a ansiedade, que conduz a distúrbios no equilíbrio acidobásico, preocupação e medo (estimulando a um maior risco de reação vasovagal – síncope). Importante ressaltar a necessidade de uma comunicação inclusiva. Deve ser prevista a acessibilidade e a sinalização, motora, audiovisual e atendimento a transgêneros. Sanitários de sua preferência, ou, simbologia da neutralidade de gênero,³ por exemplo, podem ser utilizados. O cumprimento do direito de uso do nome social, conforme o Decreto n. 8727, de 28 de abril de 2016 da Presidência da República – Casa Civil, deve ser atendido pelo laboratório por meio de padronização de atendimento.⁴

Cadastro dos exames

Deve ser realizado seguindo protocolos definidos para a transcrição do pedido médico, garantindo a segurança e a rastreabilidade do processo, utilizando *software* informatizado sempre que possível. Na padronização dos sistemas informatizados e dos parâmetros analíticos, devem constar, para transgêneros, ambos os nomes, social e de registro civil, utilizando a partir desse ponto, somente o nome social.⁴

Identificação e confirmação

É crucial identificar e confirmar os dados do paciente. A amostra de sangue coletada deve ter a garantia de ser do indivíduo designado no pedido médico, por meio da conferência de, no mínimo, dois identificadores, conforme definição da instituição e seguindo o protocolo de identificação do paciente do Programa Nacional de Segurança do Paciente (PNSP),⁵ além de confrontar as informações de cadastro com o documento do paciente atual e com foto.

Condições pré-analíticas

Incluem variação cronobiológica, gênero, faixa etária, mudança rápida na postura corporal do paciente (causando alterações na concentração de componentes séricos), uso de drogas para fins terapêuticos, prática de atividade física, dieta, álcool, fumo, gestação e jejum. Com relação a este último item, nem todos os exames têm a necessidade de o paciente ficar sem se alimentar por 12 horas, recomenda-se seguir as diretrizes da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (SBPC) e a padronização da instituição/laboratório clínico. Outras condições também precisam ser consideradas, como transfusão de sangue, infusão de soluções e a variabilidade biológica relacionada com as mudanças fisiológicas (variam ao longo da vida). Ainda, há as variações cíclicas previsíveis, que ocorrem em parâmetros laboratoriais e são afetadas por influências ambientais (estações do ano, ciclo dia/noite). Um dos exemplos é a determinação do cortisol no sangue, que sofre alterações no decorrer do dia, podendo haver variação significativa no resultado.⁶

Cadeira de coleta de sangue

Não deve ser um fator de interferência, e, para tal, a posição de descanso de braço deve ser levemente inclinada para baixo e estendida, formando uma linha direta do ombro para o pulso do cliente.⁷

Limitações da seleção do local ao coletar amostra de sangue venoso

Ver Tabela 1.

TABELA 1 Indicação dos locais inadequados para coleta de sangue e sua justificativa

Locais que não devem ser usados	Motivo
Fístula, braço com fístula ou enxerto vascular	Ameaça à integridade das fístulas e dos enxertos vasculares, podendo ocasionar complicações graves do paciente
Artérias	Risco de má interpretação dos resultados e má gestão do paciente, se for utilizado sangue arterial em vez de sangue venoso Apresenta um risco significativamente maior de lesões e complicações do que o acesso venoso
Veias na superfície lateral e palmar (parte inferior) do punho	Aumento do risco de envolvimento de nervo, tendão e arterial
Locais infectados	Potencial para resultados alterados do teste, exacerbação da infecção e desconforto do paciente
Locais que requerem permissão do médico	Motivo
Membros do lado de uma mastectomia	Risco de linfedema e potencial para resultados alterados dos testes
Qualquer parte das extremidades inferiores	Riscos de necrose tecidual em pacientes diabéticos e tromboflebite em pacientes com coagulopatias
Locais que devem ser evitados	Motivo
Extensas cicatrizes, queimaduras cicatrizadas	Complicações de palpação e inserção de agulha Incapacidade de detectar reações adversas
Hematoma	Pode causar desconforto ao paciente e resultado alterado do teste
Acima e abaixo de infusão de fluidos ou de um dispositivo de acesso vascular	Possível contaminação da amostra com fluidos, hemólise
Locais inflamados (incluindo tatuagens inflamadas)	Desconforto do paciente e possível complicação
Locais edematosos	Potencial para resultados alterados do teste
Extremidade afetada por acidente vascular cerebral e lesão	Incapacidade de detectar reação adversa, por exemplo, lesão nervosa, dor, infecção

Fonte: adaptada de CLSI, 2018.

Torniquete

Utilizado para aumentar a pressão intravascular em uma extremidade por um período limitado, facilitando a palpação da veia,³ deve ser preferencialmente isento de látex, estar seguro, com tensão suficiente para tornar as veias proeminentes, mas sem interromper a circulação e aplicado cerca de 7,5 cm acima do local de punção.⁹ Segundo o documento GP41-CLSI,⁶ recomenda-se o torniquete de uso único para evitar a propagação de infecções. Recomendamos que a coleta seja realizada preferencialmente sem garroteamento, especialmente em pacientes com as veias visíveis, utilizando-o somente quando necessário e, não deve permanecer mais que 1 minuto. Segundo Sumita (2017), no primeiro minuto de garroteamento pode ocorrer indução de perda de água e eletrólitos do plasma para o espaço extravascular, elevando a concentração de proteínas, e, no terceiro minuto, pode ocorrer a elevação de 5 a 8% na concentração de proteínas na amostra de sangue.¹⁰

Sequência da ordem de coleta dos tubos

Deve ser respeitada para não ocasionar a contaminação cruzada por aditivo no tubo subsequente e, conseqüentemente, acarretar variações nos resultados (Figura 1). Por exemplo, ao coletar um tubo contendo aditivo de heparina antes do aditivo citrato de sódio, esta pode carrear para dentro do tubo de citrato de sódio, interferindo nos resultados dos exames de coagulação. Coletar o tubo de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) antes do tubo com ativador de coágulo pode causar elevação nos níveis de potássio.³

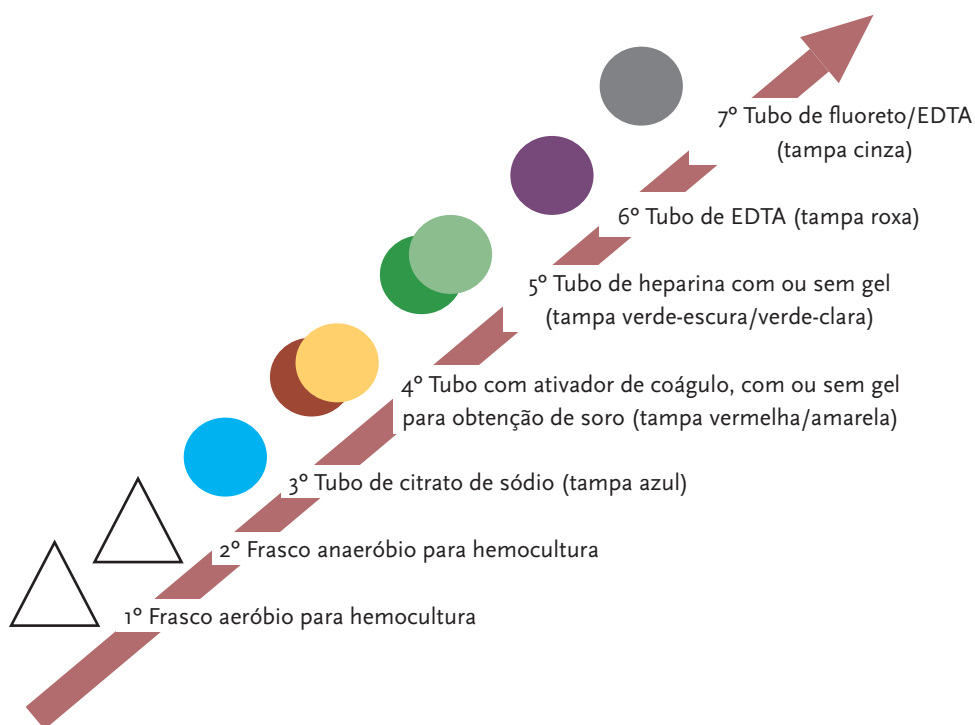


FIGURA 1 Ordem dos tubos para a coleta de diversos analitos durante uma única punção venosa.

Fonte: adaptada de CLSI, 2018.⁸

Atenção:

Segundo o CLSI, é obrigatória a coleta em tubo de descarte ou em tubo sem ativador de coágulo antes do tubo com citrato, quando este for destinado à realização de alguns exames específicos de coagulação, como proteína C, proteína S e anticoagulante lúpico, evitando-se, assim, interferência pela tromboplastina tecidual. Esse primeiro tubo pode ser outro tubo de citrato quando também houver a necessidade de coleta de sangue para exames básicos de coagulação, como tempo de protrombina, tromboplastina e fibrinogênio. Para exames de TAP e TTPA, não é necessária a coleta de um tubo de descarte, a não ser que a coleta esteja sendo realizada com escalpe. Nesse caso, deve-se usar um tubo de desprezo. Essa sequência deve ser cuidadosamente analisada pela necessidade de se coletar sempre o menor volume de sangue possível.³

Punção venosa

Deve ser realizada por um profissional com conhecimento da anatomia para examinar cuidadosamente o local da punção e a escolha do calibre da agulha, que seja adequado às condições clínicas do paciente, evitando-se a hemólise, que pode ser causada em duas situações: utilização de agulha de grosso calibre, que permite a entrada do sangue com rapidez e força contra a parede do tubo; e o uso de agulhas finas, o que força a passagem do fluxo de sangue na abertura estreita do lúmen da agulha. As veias mais usuais para a coleta de sangue são: cefálica, mediana cubital, mediana cefálica, longitudinal (ou antebraquial), mediana basílica, do dorso e marginal da mão. Existem dispositivos no mercado que podem auxiliar a punção venosa através da visualização de veias.⁷ Fazer antisepsia do local a ser puncionado com gaze umedecida com álcool etílico a 70%, em movimento circular do centro para a periferia. Não tocar mais o local. Aguardar a evaporação do álcool antes de perfurar a pele, pois, além de o paciente sentir sensação de ardência, o resíduo de álcool pode causar hemólise. Além disso, a mistura do sangue com álcool interfere em alguns testes.¹² Recomenda-se a permanência dos tubos na posição vertical após a coleta (retração do coágulo), quando poderá ser centrifugado, evitando que ocorra hemólise.³ Realizar a punção com o bisel da agulha voltado para cima em ângulo de 30 graus; inserir o primeiro tubo a vácuo; quando o sangue começar a fluir dentro do tubo, desgarrotar e realizar a troca dos tubos sucessivamente, seguindo a ordem de coleta, até que o volume máximo indicado seja atingido (proporção ideal entre sangue e aditivo); e realizar homogeneização por inversão durante a troca do tubo, conforme as instruções do fabricante do tubo, para evitar microcoágulo e hemólise. Após a retirada do último tubo, remover a agulha e acionar o dispositivo de trava de segurança imediatamente. Com o auxílio da gaze, comprimir o local da punção por um período de até 2 minutos e até 10 minutos para pacientes em uso de anticoagulante,⁹ evitando a formação de hematomas e sangramentos, e aplicar uma bandagem. Orientar que o paciente mantenha a compressão local sem dobrar o braço. Descartar a agulha imediatamente após sua remoção do braço do paciente, em um recipiente para materiais perfurocortantes.

Coleta para testes laboratoriais remotos (TLR)

Pode utilizar amostras de sangue venoso, arterial ou capilar (não realizada em pacientes com desidratação grave e circulação periférica prejudicada). Deve-se evitar massagear o local da punção antes da coleta capilar (pode ocasionar diluição da amostra de sangue pelo

líquido intersticial) e utilizar lancetas que possibilitem a incisão exata. A primeira gota de sangue deve ser limpa e removida com gaze, pois pode conter líquido adicional de tecidos.¹¹

Identificação das amostras coletadas

Com os dados do paciente, data e hora da coleta, manualmente, ou de maneira informatizada (código de barras), padronizando o número de tubos para coleta, de acordo com os exames solicitados e a metodologia empregada.

Transporte de amostras biológicas

Seguindo a legislação vigente, cumprindo as disposições de normas técnicas, além de outros dispositivos legais: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), Agência Nacional de Transportes Terrestres (ANTT), Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente) e Agência Nacional de Aviação Civil (ANAC). O material biológico humano deve ser acondicionado de modo a preservar a sua integridade e a estabilidade, bem como a segurança do pessoal envolvido durante o processo de transporte, mantendo o registro e o controle da temperatura.^{4,12,13}

Qualificação de fornecedor

Por meio de processo definido, com critérios e registros de avaliação e análise crítica, garantindo a qualidade dos insumos nos serviços prestados.

Rastreabilidade

Permite identificar, acompanhar e monitorar a amostra e os insumos utilizados, em todas as fases do processo: o horário de chegada do paciente ao laboratório e emissão de senha, o horário e o profissional que realizou o cadastro e a coleta, o profissional que realizou anotação em caso de intercorrência clínica durante a coleta, o horário e o profissional que realizou o transporte de amostra, o horário e o profissional que recebeu a amostra na área técnica, bem como todos os insumos utilizados no procedimento.

Gerenciamento da equipe pré-analítica

Ocorre pela padronização de procedimentos descritos de maneira clara sobre protocolos de coleta e transporte da amostra. Treinamentos contínuos da equipe de coleta contribuem para evitar riscos e complicações associados à punção venosa, evitando eventos adversos. O gestor deve prover treinamento, insumos e equipamentos necessários e preparar a equipe para lidar com situações de urgências e emergências que podem ocorrer na coleta de sangue, como síncope, convulsões, hipotensão postural, acidente vascular cerebral (AVC) e parada cardiorrespiratória, habilitando a equipe a atuar de maneira rápida e sistemática.⁷

Monitoramento do processo

Deve ser constantemente acompanhado pelo gestor da fase pré-analítica, por meio de indicadores de desempenho. Estes devem ser bastante detalhados e com metas bem estabelecidas, proporcionando melhor visualização do serviço, análise e atuação na prevenção de falhas, propiciando a adequação de metas dos processos, além de permitir o *benchmarking* entre os pares. São alguns exemplos de indicadores, que devem ser demonstrados a partir

de gráficos: porcentagem de recoletas, porcentagem de erro de identificação, porcentagem de hematomas, porcentagem de proporção inadequada de sangue para anticoagulante, porcentagem de condições inadequadas de transporte, entre outros.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A coleta de sangue engloba muito mais que a punção. Não é possível separar essa ação de todos os quesitos do pré-analítico. Foram mencionadas neste capítulo ações para evitar erros na coleta de sangue; porém, o assunto apresenta um detalhamento tão tênue e profundo que discorreríamos um tratado, o que não é o objeto aqui. É fundamental ter como foco a segurança do profissional e do paciente, considerando os apontamentos expostos no capítulo, apontando para o clínico e o paciente que a coleta de sangue, dentro do pré-analítico, passa a identidade da instituição, seus princípios e valores.

REFERÊNCIAS

1. SHCOLNIK W. Erros laboratoriais e segurança do paciente: revisão sistemática. [Dissertação (mestrado)]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP); 2012. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/wp-content/uploads/2012/03/ErrosLabRevSistemática.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2020.
2. PLEBANI M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev.* 2012;33(3):85-8.
3. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais. Disponível em <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/livro_coleta_biologica2013.pdf>. Acesso em 13 mar. 2020.
4. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_302_2005_COMP.pdf/7038e853-afae-4729-948b-ef6eb3931b19>. Acesso em: 13 abr. 2020.
5. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Programa Nacional de Segurança do Paciente: Protocolo de identificação do paciente. 2013. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/identificacao-do-paciente>>. Acesso em: 10 abr. 2020.
6. CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA. Gestão da qualidade laboratorial: é preciso entender as variáveis para controlar o processo e garantir a segurança do paciente. Disponível em: <http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/132/encarte_analises_clinicas.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2020.
7. OLIVEIRA SAVT, SILVA LCS. Valor do pré-analítico para amostras de sangue. São Paulo: Sarvier; 2015.
8. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection of diagnostic venous blood specimens by venipuncture. 7. ed. CLSI standard GP41. Wayne, PA: CLSI; 2017.
9. SIMUNDIC AM, BOLENIUS K, CADAMURO J, ET AL. Recommendation for venous blood sampling. *Clin Chem Lab Med.* 2018;56:2015-38.
10. SUMITA NM. Dr. Nairo Sumita fala sobre ações para minimizar erros na fase pré-analítica no laboratório. *Labnetwork.* 30 abr 2017; Análises Clínicas. Disponível em: <<https://www.labnetwork.com.br/noticias/dr-nairo-sumita-fala-sobre-acoes-para-minimizar-erros-na-fase-pre-analitica-do-processo-laboratorial/>>. Acesso em: 18 abr. 2020.
11. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): coleta e preparo da amostra biológica. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/livro_coleta_biologica2013.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2020.

12. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 20, de 13 de abril de 2014. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867956/\(1\)RDC_20_2014_COMP.pdf/fda4b2b9-fd01-483d-b006-b7fcaa258ba](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867956/(1)RDC_20_2014_COMP.pdf/fda4b2b9-fd01-483d-b006-b7fcaa258ba)>. Acesso em: 13 abr. 2020.
13. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Manual de vigilância sanitária sobre o transporte de material biológico humano para fins de diagnóstico clínico. Brasília: Anvisa; 2015. Disponível em: <https://www.pncq.org.br/uploads/2015/not%C3%ADcias/Manual%20de%20Transporte%20de%20Material%20Biolo_gico.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2020.
14. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL. Posicionamento Conjunto Medicina Diagnóstica Inclusiva: cuidando de pacientes transgênero. Disponível em: <<http://www.bibliotecasbpc.org.br/index.php?P=4&C=0.2>>. Acesso em: 13 abr. 2020.

26 Critérios para liberação automática de resultados

Myriam de Siqueira Feitosa, Leonardo de Souza Vasconcellos

INTRODUÇÃO

Em boa parte dos serviços de medicina laboratorial, os processos de validação e de verificação dos resultados habitualmente são conduzidos de modo manual, mesmo com a chegada de computadores para o laboratório. A liberação dos resultados é feita individualmente, podendo chegar a centenas de resultados por turno. Trata-se de uma tarefa que exige um profissional capacitado e que é regulamentada por lei (Anvisa, 2005), pois compreende um momento crítico, no qual as fases anteriores da realização dos exames são revisadas. Consome muito tempo e tem alto grau de subjetividade, dependendo do conhecimento e da experiência do profissional que está liberando os resultados. Uma boa estratégia para minimizar essas variáveis é a implantação da liberação automática dos resultados.

A liberação automática de resultados, também chamada de autoverificação, é o processo de liberação de resultados laboratoriais sem necessidade de intervenção humana. Um *software* avalia automaticamente os resultados laboratoriais, com base em critérios estabelecidos pelo laboratório, e os libera sem a intervenção de um profissional habilitado.

VANTAGENS DA LIBERAÇÃO AUTOMÁTICA

A implantação da autoverificação permite a padronização das regras de verificação dos resultados e a otimização do tempo de trabalho dos profissionais de laboratório, liberando-os para revisar os resultados que realmente estejam alterados ou que necessitem de interpretação mais criteriosa, bem como discussão dos casos importantes com os médicos solicitantes, comunicação dos resultados críticos, garantia da qualidade dos exames liberados e, finalmente, maior segurança aos pacientes assistidos.

A implantação da autoverificação também possibilita agilidade na liberação dos resultados, com redução significativa no tempo de atendimento total (TAT) dos exames, sendo uma das medidas recomendadas. O TAT é um indicador estratégico da qualidade do laboratório e um importante aspecto do serviço avaliado pelos clínicos e clientes.

Outras vantagens da autoverificação incluem o aumento na detecção dos erros no laboratório, da eficiência operacional, da satisfação dos médicos e da segurança do paciente, além de propiciar aos profissionais, que liberam os resultados, tempo maior para investigar os resultados retidos.

DIRETRIZES E ORGANISMOS ACREDITADORES

As diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) orientam os laboratórios a como implementar, validar e elaborar regras de acordo com suas características e a população atendida. Elas descrevem as características necessárias do *software* a ser usado, o desenho dos algoritmos de autoverificação, validação e manutenção dos sistemas e dispõem de adequações dos algoritmos aos órgãos acreditadores e fiscalizadores. Em um documento mais recente, AUTO 15, além de expor uma orientação geral, descreve as etapas de desenho, implementação e validação em disciplinas específicas do laboratório.

Organismos acreditadores também abordam a autoverificação. O College of American Pathologists (CAP) lista diferentes itens relacionados com autoverificação, incluindo aprovação formal pelo diretor do laboratório, documentação relativa à validação inicial e auditoria anual, ou quando de mudanças nos parâmetros de liberação automática. Outros itens também são abordados, como critérios de aceitação do controle interno da qualidade, *delta check*, intervalos definidos de liberação automática dos resultados e resultados críticos.

A última versão da norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) não aborda especificamente o processo de liberação automática dos resultados, mas orienta no capítulo referente à liberação de resultados que todo o processo de liberação dos laudos deve ser definido e documentado, ou seja, a rastreabilidade de todo o processo deve ser garantida.

AUTOVERIFICAÇÃO

Os critérios de autoverificação podem ser definidos pelo usuário e adaptados aos diferentes ambientes e serviços, conforme o documento do CLSI – *Autoverification of Clinical Laboratory Tests Results; Approved Guideline* (AUTO10-A). Nesses critérios, podem ser incluídos valores de referência, resultados do controle da qualidade interno, alertas de instrumentos, *delta check* (comparação do valor atual do exame com outro valor prévio do mesmo paciente, se houver), verificação de lotes de reagentes, informações demográficas dos pacientes, informações clínicas, valores críticos e outros. Em alguns sistemas mais sofisticados, também podem ser inseridos comentários em laudos, com base em padrões de resultados de laboratórios.

Ao iniciar o processo de implantação da autoverificação, uma vez definido o *menu* de exames a serem autoverificados, deve ser nomeada uma equipe para conduzir o processo. Nessa equipe, recomendam-se um especialista em tecnologia da informação, um especialista na área da implantação e, pelo menos, um membro da área técnica, responsável pela liberação de resultados no dia a dia. Essa equipe deverá selecionar os indicadores desejados para monitorar a eficiência da autoverificação, definir e desenhar os algoritmos, inserir os parâmetros no sistema, implantar e validar. Tudo deve ser descrito e aprovado pelo diretor do laboratório.

As regras definidas podem ser programadas no *middleware* e/ou no sistema de informação laboratorial (SIL). Elas podem incluir diversos aspectos da análise, desde a aprovação do controle interno da qualidade, detecção de interferentes, *flags* ou alertas do equi-

pamento, *delta check*, valores críticos, intervalos de referência ou linearidade analítica. Em sistemas mais sofisticados, é possível parametrizar dados de origem do paciente, se internado ou ambulatorial, diagnóstico, idade e sexo.

Em uma descrição do processo de implantação da liberação automática de resultados laboratoriais no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG), feita por Feitosa e colaboradores, em 2016, os parâmetros relativos ao instrumento e à amostra foram configurados no *middleware* e os parâmetros relativos ao resultado do exame foram configurados no SIL, conforme demonstrado na Tabela 1.

TABELA 1 Parâmetros para autoverificação de resultados dos exames laboratoriais

Configuração	Origem	Parâmetro
Middleware	Amostra	Tipo de amostra
		Data da coleta
		Interferentes
		Hemólise/icterícia/lipemia
	Instrumento/teste	Flags do instrumento
		Linearidade do teste
		Aprovação do controle interno da qualidade (CIQ)
		Status da calibração
		Correlação com outros exames
Sistema de informação laboratorial (SIL)	Resultados dos testes	Delta check
		Intervalo de liberação
		Resultados críticos
		Alertas aos usuários

Fonte: adaptada de Feitosa et al., 2016.

Alguns equipamentos fazem leituras das amostras e liberam *flags*, quando há presença de hemólise, icterícia ou lipemia, em níveis que interferem nos resultados. Os *flags* podem ser configurados de modo a bloquear o resultado na presença de algum interferente.

É importante enfatizar a necessidade da aprovação do controle interno da qualidade como requisito para o início da autoverificação e que o processo de liberação automatizada de resultados deve ser interrompido imediatamente, sempre que houver falha nesse controle.

A maioria dos sistemas funciona com regras construídas e adaptadas aos próprios serviços e um controle da qualidade robusto é essencial para implantação da liberação automatizada dos resultados. O *middleware* pode ser configurado de modo a bloquear a liberação dos resultados, se o controle interno não for aprovado em intervalos predeterminados pelo usuário.

Dependendo dos exames presentes na mesma amostra, é possível configurar o sistema para bloquear os resultados em situações de resultados inesperados, como valor de albumina maior que proteínas totais, HDL-colesterol maior que colesterol total, entre outros.

Os resultados fora da linearidade analítica devem ser bloqueados, para revisão pelo profissional capacitado. Diluições reflexas podem ser programadas, dependendo do teste e da experiência do serviço.

Diferenças significativas em resultados seriados do mesmo paciente (*delta*) podem indicar mudança verdadeira na condição clínica do paciente ou erro em qualquer fase da realização do exame. O alerta no *delta check*, descrito pela primeira vez por Nosanchuk e Gottmann, em 1974, ocorre quando a discrepância entre os resultados atuais do paciente e os resultados anteriores excede o limite definido pelo usuário.

O uso de computador para verificação de *delta check* foi relatado pela primeira vez na década de 1970. Desde essa época, já era possível detectar problemas na identificação da amostra ou na sua qualidade pela automação. Contudo, esses problemas não são detectados pelo controle interno da qualidade e, muitas vezes, não são relatados, podendo comprometer o resultado final do exame e, conseqüentemente, a segurança do paciente.

REFERENCE CHANGE VALUE

Harris e Brown, em 1979, criaram uma fórmula que combinou a variação biológica intraindividual e a variação analítica para calcular a mudança esperada no valor de constituintes em homens saudáveis. Trata-se do cálculo do *reference change value* (RCV), ou seja, do valor de referência de mudança.

$$RCV = 2^{1/2} \times Z \times [CV_A^2 + CV_I^2]^{1/2}$$

$Z = 1,96$ (significância de 95%) ou $2,58$ (significância de 99%)

$CV_A =$ coeficiente de variação analítica do teste

$CV_I =$ coeficiente de variação biológica intraindividual

Fraser e colaboradores, em 2002, propuseram o uso de RCV para calcular o *delta check* de vários constituintes no setor de química clínica. Em contrapartida, na ausência de resultados anteriores, os limites de decisão clínica foram considerados. Somente resultados fora dos limites de decisão clínica e aqueles com mudança significativa em relação ao resultado anterior foram retidos para verificação manual. Com esses critérios, cerca de 60% dos resultados foram liberados automaticamente.

Ricos e colaboradores, em 2004, criaram uma tabela de RCV usando o coeficiente de variação intraindividual (CV_i) do banco de dados de variação biológica. A partir do coeficiente de variação intraindividual, calculou-se a imprecisão analítica desejável (50% do CV_i), e foi esse o dado usado para calcular o RCV de cada analito na tabela. A proposta foi que o RCV seja usado pelos clínicos para interpretação de resultados seriados e a tabela fosse um instrumento para isso.

A fórmula do RCV é muito utilizada na prática, entretanto suas limitações devem ser conhecidas, principalmente para o uso em pacientes internados, já que, originalmente, o RCV foi calculado em pacientes saudáveis. Outra variável importante é que a periodicidade entre os exames de pacientes internados é muito curta e a frequência das medidas seriadas pode prejudicar sua aplicação. Portanto, as condições clínicas dos pacientes, como mudanças terapêuticas e histórico dos resultados, também devem ser consideradas ao aplicar a fórmula.

Infelizmente, não há um consenso com relação ao intervalo a ser considerado para que os resultados possam ser liberados automaticamente. Há laboratórios que adotaram o

intervalo de linearidade como limite para liberação. Shih e colaboradores (2011) usaram os limites do intervalo de linearidade, mas, nos exames com intervalo grande, fizeram estudo estatístico de prevalência de valores entre 2 e 98%. Por exemplo, usaram 14.239 resultados de glicose e calcularam os limites entre 2 e 98% desses resultados para adoção como limite para autoverificação. Ao se ampliar o intervalo, a taxa de exames autoverificados foi maior. Torke e colaboradores (2005) usaram a distância média entre o ponto médio do intervalo de referência e os limites inferior e superior da linearidade de cada exame. Todo resultado dentro desse intervalo e sem exame anterior para ser comparado foi programado para ser liberado automaticamente.

Quanto aos resultados críticos, seus valores de cada exame se sobrepõem aos valores médios calculados. Assim, se um valor crítico for menor ou maior que a média calculada, ele deve ser o limite e, dependendo das características do *software*, um alerta pode ser configurado para o profissional que estiver liberando os exames.

Outros alertas também podem ser criados para que chamem a atenção do conferente sobre possíveis problemas, como verificar a identificação de amostras, a presença de coágulos e outros interferentes.

VALIDAÇÃO

Após a definição das regras e a parametrização do sistema, deve ocorrer a validação antes de colocar na rotina a autoverificação. Não existe uma única maneira de ser feita, mas cada serviço deve testar todo o processo, antes do pleno funcionamento.

A validação pode ser conduzida com resultados retrospectivos ou, em um ambiente de testes do sistema, ativando a liberação automática de poucos testes por vez, ou uma combinação de estratégias. Da mesma maneira, quando houver mudança nos testes e/ou ajustes nas regras, deve ser feita nova validação.

O funcionamento da liberação automática deverá ser verificado pelo menos uma vez ao ano, em todas as suas etapas. As métricas de desempenho também deverão ser acompanhadas periodicamente, permitindo ajustes nas regras e/ou criação de novas regras para melhor *performance*.

CONCLUSÕES

A liberação automática de resultados não apenas pode, como também deve ser implantada nos laboratórios clínicos, desde que tenham equipe qualificada e dedicada, além de sistema de interface que permita sua configuração, validação e monitoramento contínuo. Os benefícios são observados de imediato, principalmente pela padronização e pela segurança nos resultados, bem como expressiva redução de TAT dos exames, possibilitando aos profissionais do laboratório se dedicarem aos resultados retidos, que merecem atenção especial.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_302_2005_COMP.pdf/7038e853-afae-4729-948b-ef6eb3931b19>. Acesso em: 30 abr. 2020.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Autoverification of clinical laboratory tests results; approved guideline (AUTO10-A). Wayne, PA: CLSI; 2006.

FEITOSA MS. Implantação da verificação automatizada de resultados laboratoriais e seu impacto no tempo de atendimento total no serviço de medicina laboratorial do hospital das clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. [Dissertação de mestrado]. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 2016.

FEITOSA MS, BÜCKER DH, SANTOS SME, VASCONCELLOS LS. Implementation of criteria for automatic release of clinical chemistry test results in a laboratory of an academic public hospital. *J Bras Pat Med Lab.* 2016;52(3):149-56.

FRASER CG, STEVENSON MP, KENNEDY IMG. Biological variation data are necessary prerequisites for objective autoverification of clinical laboratory data. *Accred Qual Assur.* 2002;7:455-60.

GUIDI GC, BASSI PG, GIOBELLI L. Development and implementation of an automatic system for verification, validation and delivery of laboratory test results. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47:1355-60.

HAWKINS RC. Laboratory turnaround time. *Clin Biochem Reviews.* 2007;28:179-94.

HOWANITZ JH, HOWANITZ PJ. Timeliness as a quality attribute and strategy. *Am J Clin Pathol.* 2001;116:311-5.

JOHNSTONE LM. A practical approach to the implementation of autoverify. *Accred Qual Assur.* 2004;9:155-8.

JONES JB. A strategic informatics approach to autoverification. *Clin Lab Med.* 2013;33:161-81.

KRASOWSKI MD, DAVIS SR, DREES D, ET AL. Autoverification in a core clinical chemistry laboratory at an academic medical center. *J Pathol Inform.* 2014;5:13.

MINCHINELA J, RÍCOS C, PERICH C, ET AL. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2014 update. Disponível em: <<http://www.westgard.com/biodatabase-2014-update.htm>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

NOSANCHUK JS, GOTTMANN AW. CUMS and deltachecks. A systematic approach to quality control. *Am J Clin Pathol.* 1974;65(5):707-12.

NOVIS DA, DALE JC. Morning rounds inpatient test availability: a College of American Pathologist Q-Probes study of 79860 morning complete blood cell count and electrolyte test results in 367 institutions. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:499-503.

OMAR F, VAN DER WATT G, PILLAY TS. Reference Change values: how useful are they? *J Clin Pathol.* 2008;61(4):426-7.

PEARLMAN ES, BILELLO L, STAUFFER J, ET AL. Implications of autoverification for the clinical laboratory. *Clin Leadersh Manag Rev.* 2002;16(4):237-9.

RANDELL EW, YENICE S, WAMONO AAK, ORTH M. Autoverification of test results in the core clinical laboratory. *Clin Biochem.* 2019;73:11-25.

RICOS C, CAVA F, GARCIA-LARIO JV, ET AL. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J of Clin Lab Invest.* 2004;64(3):175-84.

SMELLIE WSA. What is a significant difference between sequential laboratory results? *J Clin Pathol.* 2008;61(4):419-25.

SHIH M-C, CHANG H-M, TIEN N, ET AL. Building and validating an autoverification system in the clinical chemistry laboratory. *Lab Med.* 2011;42(11):668-73.

STRASESKI JA, STRATHMANN FG. Patient Data Algorithms. *Clinical Laboratory Medicine.* 2013; 33:147-60.

TORKE N, BORA L, NGUYEN T, ET AL. Process improvement and operational efficiency through test result autoverification. *Clin Chem.* 2005;51(12):2406-8.

27 Sistematização para comunicação de resultados críticos

Victor Lage de Araujo, Leonardo de Souza Vasconcellos

INTRODUÇÃO

O desempenho adequado do laboratório moderno requer, além dos requisitos essenciais de qualidade quanto às etapas pré-analítica e analítica, a comunicação efetiva dos valores críticos, considerada um importante indicador de qualidade da fase pós-analítica.

Dados da literatura apontam que os resultados críticos representam menos de 2% do total de resultados liberados; esse percentual pode variar de acordo com o perfil do laboratório. A maioria dos profissionais da saúde considera útil a notificação laboratorial de resultados de exames cujos valores são classificados como críticos, pois não apenas evidenciam as alterações metabólicas importantes dos pacientes, mas podem necessitar também de intervenções especiais.

Partindo da detecção de valores críticos até a sua correta comunicação, há uma variedade de oportunidades de ineficácia, que devem ser abordadas por meio de processos abrangentes e respeitando a teoria sistêmica de abordagem do erro. Essa abordagem estabelece que, para a garantia de que erros não ocorram, são necessários processos múltiplos que se interconectem de maneira a permitir que erros de uma etapa possam ser checados e advertidos nas etapas circunstantes (teoria do “queijo suíço”), como ilustrado na Figura 1.

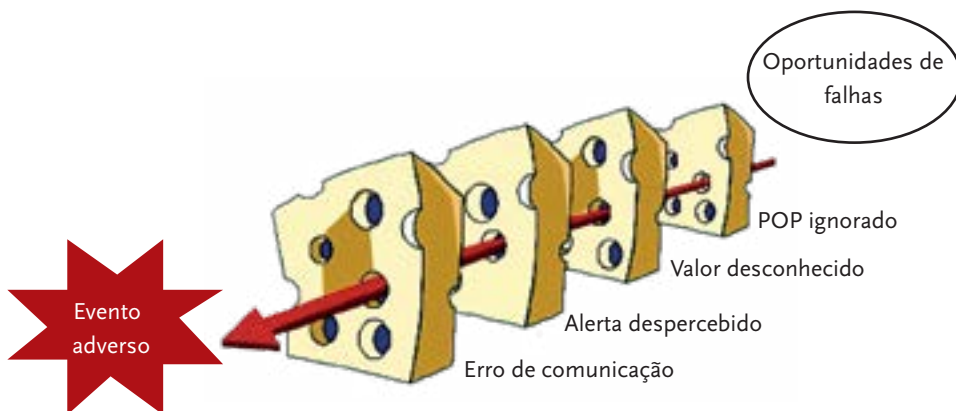


FIGURA 1 Possibilidades de ocorrência de erros em laboratório, causadas por falha de informação de valores críticos.

POP: procedimentos operatórios-padrão.

Fonte: adaptada de Reason, 2000.

O impacto da inobservância de uma conduta adequada pode recair não apenas sobre o paciente, como também em todo o sistema. Do ponto de vista econômico, pode acarretar hospitalização prolongada, custos de terapêuticas desnecessárias; dentro dos laboratórios, causar descrédito em seu desempenho, implicações morais e legais; e, sobre o paciente e os familiares, ocasionar morbidade, sequelas e óbitos evitáveis.

ALGUMAS DEFINIÇÕES

O conceito de valor crítico, do inglês *critical values* (inicialmente designado “valor de pânico” ou “valor de alerta”), foi primeiro definido por Lundberg, em 1972, e posteriormente redefinido como “um resultado de um exame laboratorial anormal, tão importante que fosse capaz de refletir algum processo patogênico que ameaça iminente a vida de um paciente caso não haja rápida ação corretiva”.

Atualmente, tem-se favorecido a utilização do termo “valor crítico”, o qual inibe falsas interpretações e reações emocionais consideradas inapropriadas. Esse conceito se relaciona a ideias sobre a segurança do paciente, pois não é desejável que, em um sistema de saúde adequadamente funcional, pacientes sofram desfechos inadequados, falhas estejam presentes na comunicação de resultados, ou numerosos eventos adversos sejam consequência da liberação tardia de resultados de testes diagnósticos.

Uma designação concorrente que não deve ser confundida com a de valor crítico é a de “valor de alarme” ou “alerta” – representando resultados que, embora não comprometam imediatamente a vida, requerem atenção médica breve, mas não urgente. A apreciação rápida desses últimos pressupõe benefício ao atendimento do paciente, mas sem as mesmas consequências intensamente desfavoráveis.

O Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), em sua última norma PALC, define valores críticos como “resultados de exames laboratoriais que se situam em uma faixa de valores quantitativos ou que, por si sós, podem estar relacionados a situações clínicas potencialmente graves e que devem ser comunicados ao médico imediatamente”.

O documento GP47, *Management of Critical and Significant-Risk Results* do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), determina uma subdivisão dos conceitos em resultado com risco “crítico” (necessidade de intervenção médica urgente, e, portanto, comunicação imediata – e que corresponde ao termo “valor crítico”) e resultado com risco “significativo” (um resultado anormal e inesperado, mas que não implica risco de dano imediato). Define-se também o termo “limiar” ou “limite crítico”, cujos limiares numéricos inferiores e superiores (ou ambos) podem também ser considerados críticos. Para a glicemia, por exemplo, o limite inferior pode definir um alto risco de hipoglicemia e convulsões associadas, e um limite superior, riscos associados à hiperglicemia e à hiperosmolaridade; em ambos os casos, os valores são críticos e devem ser comunicados.

Esses conceitos são indispensáveis ao laboratório acreditado moderno, pois é a partir deles que deverão ser elaborados uma lista de valores críticos, um procedimento institucional e um algoritmo de abordagem do fenômeno, cuja comunicação rápida é mandatária para garantir intervenção clínica adequada e segurança ao paciente.

PROCEDIMENTOS

Reconhecendo e adequando-se à importância dos valores críticos, sistemas de acreditação e entidades regulatórias diversos determinam consensualmente a necessidade dos laboratórios clínicos de apresentar um sistema de detecção, comunicação e controle de valores críticos. Essas ações fazem parte do sistema de qualidade global do laboratório e não são viáveis sem a conscientização e a participação efetiva dos profissionais do laboratório e também dos profissionais de saúde envolvidos no cuidado dos pacientes.

Elaboração e manutenção de listas de valores críticos

Uma vez identificado o perfil de clientes de um laboratório, o primeiro passo é a elaboração de uma lista de valores críticos. Artigos de revisão e determinações normativas podem ser utilizados como fontes de dados, bem como listas providas de outros serviços. A lista deve conter exames realmente percebidos como primordiais. Do ponto de vista do laboratório, uma lista muito extensa resultaria no consumo de recursos econômicos e humanos, podendo, inclusive, sobrecarregar o sistema de notificação. Do ponto de vista dos profissionais de saúde, um bombardeio de informações diluirá a importância dos itens realmente necessários.

Uma recomendação essencial para formar uma lista de valores críticos é a busca de consenso entre o laboratório e os médicos que atendem diretamente ao paciente, abordando também todos os demais profissionais envolvidos. Listas elaboradas unilateralmente podem não encontrar aceitação por estarem distantes da prática clínica.

A lista de valores críticos deve necessariamente ter embasamento técnico-científico e ser condizente com o perfil do serviço. Laboratórios que atendem a mais de um serviço (pediatria, cardiologia, terapia intensiva, ambulatório etc.), além dos valores individualizados, necessitarão ainda estabelecer algoritmos individualizados. Um estudo da estatística de morbimortalidade do serviço também pode fornecer apoio a decisões para a elaboração de listas de valores críticos adequadas a seu atendimento – analisam-se os principais desfechos e os exames que podem estar relacionados. Definida a abrangência da lista, os profissionais do laboratório devem estar cientes do seu conteúdo, devendo ser periodicamente revisado.

Alertas internos

Uma vez elaborada a lista, é necessário estabelecer um sistema de alertas internos, no qual devem constar procedimentos, algoritmos e fluxogramas, conforme as instruções de trabalho (IT) ou os procedimentos operatórios-padrão (POP) adotados nos diferentes setores do laboratório.

Os alertas internos podem ser configurados nos sistemas de automação laboratorial, por meio da configuração de *softwares* de liberação automática de resultados, de inteligência artificial ou similares, para garantir o reconhecimento dos valores críticos, seguido automaticamente de seu tratamento quanto à precisão e à qualidade. Os objetivos finais desse processo são o estabelecimento de um sistema de comunicação robusto, eficaz, rápido, preciso, claro e dirigido aos profissionais mais indicados.

Deve-se garantir a distinção rápida e precisa de valores positivos, discriminando os potenciais falso-positivos. A identificação visual de relatórios e valores por meio de cores (p. ex., indicador vermelho para valor crítico) pode ser uma alternativa útil.

Os sistemas informatizados de alarme complementam o processo e facilitam a documentação. A repetição de determinações pode representar um pequeno acréscimo aos fatores de segurança; porém, ao custo de aumento do tempo de notificação dos resultados. Por essa razão, sugere-se que, uma vez que cada laboratório tenha seus procedimentos de checagem da qualidade, não sejam adicionados passos extras exclusivamente determinados pelo fato de se tratar de um valor crítico. Cada laboratório deve ter determinações próprias, estabelecidas e, sobretudo, documentadas.

A eventual repetição da corrida analítica diante de um valor crítico introduz uma decisão adicional, particularmente se um dos resultados ultrapassa o limiar crítico e o outro, não. Nesse contexto, outras soluções que podem ser adotadas pelos laboratórios consistem em coletar novas amostras, reavaliar os processos internos da qualidade, checar identificação e condições das amostras e revisar os resultados anteriores do paciente. Entretanto, é importante considerar que o excesso de mecanismos de controle introduz atrasos na comunicação da informação.

Comunicação dos resultados

Quatro perguntas fundamentais devem ser contempladas ao decidir o processo de liberação de valores críticos aos profissionais de atenção médica direta: quem? como? a quem? quanto tempo?

As respostas devem ser adaptadas a cada tipo de laboratório, às instituições, aos clientes e aos tipos de exames. Nas determinações bacteriológicas complexas, por exemplo, é natural uma demora suficientemente longa para tornar de baixa relevância sua liberação em regime de valor crítico. Outro fator a ser considerado para esses procedimentos é o tipo de serviço atendido – particularmente serviços cirúrgicos, de medicina intensiva ou de urgências.

A determinação dos profissionais responsáveis pela transmissão da informação se reveste de importância notável: se, por um lado, a liberação por profissionais de nível técnico ou administrativo libera recursos humanos e resulta em economia, por outro, o uso de médicos patologistas clínicos imprime prestígio e capacidade de informação mais estruturada, inclusive com a possibilidade de discussão clínica com o colega responsável pelo paciente. Essa última deve ser a preferida sempre que viável na realidade econômico-administrativa do laboratório, e, particularmente, em exames determinados como mais críticos ou de comunicação delicada.

Os procedimentos a serem adotados por laboratórios hospitalares de nível primário, secundário ou terciário são diversos dos adequados a laboratórios ambulatoriais. O laboratório deve assumir a coordenação do processo, embora possa também dirigir questionários, envelopes ou avaliações estatísticas antes da decisão final. Entretanto, é necessário conhecer dados, como sistemas de plantão e responsabilidades médicas, agendas e disponibilidades de profissionais da saúde ou técnico-administrativos que possam ser responsabilizados.

Em sistemas ambulatoriais, o laboratório deve também decidir quais exames podem ser comunicados e como se conduzir na possibilidade de comunicação direta ao paciente, dada a impossibilidade de alcançar o médico responsável.

A definição do meio de comunicação também é importante, sendo o mais comum o telefônico. A disponibilidade de *call center* ou de vias informatizadas de comunicação pode ser uma realidade em alguns serviços; entretanto, introduz um grupo adicional de

profissionais no processo e pode gerar outras dificuldades na avaliação da efetividade e no tempo da transmissão da informação. Definir o meio de comunicação pressupõe também o estabelecimento de medidas de garantia de transmissão da informação – em transmissão telefônica, considera-se o *read back* a medida mais efetiva –, além do estabelecimento de estratégias alternativas mediante falha e durante quanto tempo deve persistir a tentativa de comunicação.

Em tese, todos os resultados críticos liberados pelo laboratório devem ser notificados. Entretanto, a frequência de notificação poderia ser pactuada com as equipes clínicas e levar em conta as condições específicas dos pacientes, particularmente caso se trate de cuidados críticos e agudos.

Diante de valores recorrentes em paciente em estado crítico conhecido ou em tratamento prolongado específico, por exemplo, é plausível comunicar apenas os primeiros valores críticos e deixar de reportar os demais, caso haja comum acordo com o corpo clínico. Isso porque esses resultados já seriam conhecidos pela equipe clínica e sua comunicação não adicionaria informações relevantes e/ou não alteraria a intervenção em andamento. Outra opção seria a implantação de regras e algoritmos de liberação automática, que poderiam auxiliar na detecção de mudanças extremas ou inesperadas de resultados, cujos valores e frequência podem ser pactuados com as equipes clínicas.

O College of American Pathologists (CAP) atribui especial relevância ao tempo decorrente entre a liberação do valor crítico e sua comunicação, cujo intervalo não deve ultrapassar 15 a 60 minutos, dependendo do exame. Esse prazo foi classificado pela GP47 como: oportuno (menor que 15 minutos), aceitável (menor que 60 minutos) e inoportuno (maior que 60 minutos). Convém avaliar essas estatísticas por uma metodologia não paramétrica, determinando, por exemplo, a mediana e os percentis de casos em que se alcançaram resultados adequados. Esses resultados devem fazer parte dos indicadores de qualidade dos laboratórios.

Registros e avaliação do processo

O acompanhamento do processo deve ser realizado desde o registro efetivo dos valores comunicados, preferencialmente por parte de quem efetuou a comunicação e, se possível, em sistemas informatizados. O laboratório pode estabelecer estratégias distintas para grupos diferentes de exames e para situações em que a comunicação inicialmente falhe.

As informações a serem coletadas para o registro são: a) identificação do profissional que realizou a comunicação; b) identificação (e/ou dados clínicos disponíveis) do paciente; c) identificação do profissional (ou eventualmente do paciente) que recebeu a comunicação; d) data e hora da comunicação; e) exames e resultados; f) falha de comunicação, se for o caso (ou tempo máximo de comunicação); g) método de comunicação e sua verificação (no caso de comunicação telefônica, foi realizado o *read back*?); h) registro eletrônico “automático” (se adotado) e sua documentação.

As informações dos registros podem ser tabuladas e avaliadas estatisticamente para efeitos de garantia de qualidade, cujas regulamentações estabelecem a disponibilidade hábil desses dados para instituições acreditadoras.

Também é necessário estabelecer indicadores estatísticos que avaliem a eficácia da comunicação de valores críticos. O número de eventos de falha de comunicação deve ser

reduzido a um mínimo, compatível com cifras que podem variar de 1 a 10% (dados divergentes na literatura). A avaliação continuada desses resultados pode ser efetivada também com *feedback* periódico dos clientes e desfechos observados nos pacientes.

O controle periódico do processo comunicativo é dinâmico e pode envolver marcadores próprios, como: número de avisos por caso clínico; número de repetições de análises para fins de confirmação de resultados; número de avisos que resultaram em modificação de condutas; número de análises necessárias para a verificação da correção do evento; número de avisos por serviço ou setor; número de avisos não completados; tempo médio de execução, a contar da disponibilidade do resultado. Também são possíveis indicadores relacionados com desfechos clínicos, como diagnósticos, morbidade, mortalidade e tempo de permanência hospitalar.

É necessário que cada laboratório determine seus próprios indicadores, sendo preferível selecionar um pequeno número que permita sua efetiva análise. Ao iniciar a coleta de dados, é imperativo que os indivíduos que os coletam e os registram o realizem de acordo com critérios homogêneos e reprodutíveis. Todos os indicadores podem ser revistos e readequados.

As avaliações dos processos laboratoriais envolvidos na comunicação de valores críticos podem resultar em diferentes ações: exclusão de parâmetros notificados que não apresentam alteração nos desfechos para um dado serviço; avaliação de desfechos associados a analitos específicos, com adequação de valores, observação da eficácia/ineficácia da comunicação e seus resultados; e introdução de novos analitos: novas análises de importância introduzidas, analitos originalmente não previstos na lista, alterações das características dos serviços aos clientes.

Os laboratórios clínicos também podem determinar, por meio de uma simples pesquisa, se os valores críticos comunicados em determinado mês foram efetivamente necessários. Caso as notificações de determinado exame não foram consideradas importantes em enquete com o corpo clínico, por exemplo, a sua permanência na lista de valores críticos dever ser revista.

O QUE DIZ A NORMA PALC DA SBPC/ML

Nas diretrizes da norma PALC 2016, o tema é desenvolvido em vários capítulos: capítulo 3 – “Gestão e Controle da Documentação”; capítulo 4 – “Gestão de Registros Técnicos e da Qualidade”; capítulo 10 – “Gestão dos Testes Laboratoriais Remotos”; capítulo 16 – “Gestão do Sistema de Informações Laboratorial”; e, principalmente, o capítulo 17 – “Gestão dos Riscos e da Segurança do Paciente”.

O item 17.11 do PALC 2016 afirma que:

com relação à fase pós-analítica, o laboratório clínico deve estabelecer uma política formal e elaborar documentos que orientem a comunicação de resultados potencialmente críticos, preferencialmente ao médico ou ao corpo clínico. A definição dos critérios para os resultados potencialmente críticos deve ser realizada preferencialmente em colaboração com outros líderes da organização onde o laboratório está inserido e com base na literatura.

Quanto ao procedimento de comunicação de resultados críticos, o item 17.12 do PALC 2016 declara:

devem constar: a) a definição dos resultados considerados potencialmente críticos e a quem devem ser comunicados; b) a definição dos mecanismos de identificação dos resultados considerados potencialmente críticos, durante as fases analítica ou pós-analítica; c) a definição de quem está autorizado e é responsável pela comunicação e quem está autorizado a receber os resultados comunicados; d) a definição do tempo considerado aceitável entre a disponibilização/reporte do resultado e a efetiva comunicação (ou tentativa de comunicação); e) a definição e gestão de indicador(es) da efetividade da comunicação de resultados críticos deve incluir, quando possível, a comparabilidade com outros laboratórios semelhantes ao seu perfil.

Quanto ao registro da comunicação de resultados críticos, o item 17.13 do PALC 2016 afirma:

A comunicação dos resultados críticos deve ser devidamente registrada, mesmo quando o contato não for conseguido. Estes registros devem incluir: a) resultado potencialmente crítico; b) data e horário; c) responsável pela comunicação; d) pessoa notificada; e) ou impossibilidade de comunicação e motivo.

CONCLUSÕES

Não é aceitável que um paciente tenha uma amostra coletada e analisada, apresente um resultado que evidencia risco iminente à vida ou necessidade de intervenção imediata, e a comunicação desse resultado não seja efetuada em tempo hábil aos profissionais de atenção médica. Desse entendimento, provém o foco na segurança do paciente, que impõe aos laboratórios clínicos a necessidade de criação, execução e acompanhamento de um sistema de detecção e de comunicação rápida de valores críticos. A tarefa não é simples, mas possibilita ao laboratório clínico um aprimoramento adicional de qualidade, ao atender normas dos órgãos reguladores e sociedades científicas. A lista de valores críticos deve ser elaborada de modo individual, compatível com a complexidade do serviço e com o perfil da clientela atendida. O sucesso da comunicação requer comprometimento da equipe e de interação harmoniosa entre o laboratório e o corpo clínico.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ARBIOL-ROCA A, CORRAL-COMESAÑA S, CANO-CORRES R, ET AL. Analysis of laboratory critical values at a referral Spanish tertiary university hospital. *Biochem Med (Zagreb)*. 2019;29(1):010704.
- CAMPBELL CA, HORVATH AR. Harmonization of critical result management in laboratory medicine. *Clin Chim Acta*. 2014; 432:135-47.
- DON-WAUCHOPE AC, CHETTY VT. Laboratory defined critical value limits: how do hospital physicians perceive laboratory based critical values? *Clin Biochem*. 2009; 42:766-70.
- HORTIN GL, CSAKO G. Critical values, panic values, or alert values? *Am J Clin Pathol*. 1998; 109:496-8.
- HOWANITZ PJ, STEINDEL SJ, HEARD NV. Laboratory critical values policies and procedures: a College of American Pathologists Q-Probes Study in 623 institutions. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126:663-9.
- THOMAS L. Critical Limits of Laboratory Results for Urgent Clinician Notification. *eJIFCC*. 2003; 14(1):11-8.
- ISO. ISO 15189:2012: medical laboratories. Requirements for quality and competence. Geneva: ISO; 2012.
- KOST GJ. Critical limits for urgent clinician notification at US medical centers. *JAMA*. 1990;263(5):704-7.
- LAM Q, AJZNER E, CAMPBELL CA, YOUNG A. Critical risk results – an update on international initiatives. *EJIFCC*. 2016;27(1):66-76.

- LEHMAN CM, HOWANITZ PJ, SOUERS R, KARCHER DS. Utility of repeat testing of critical values. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(6):788-93.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). GP47-Ed1: management of critical and significant-risk results. Wayne, PA: CLSI; 2015.
- MAYO CLINIC LABORATORIES. Critical values and results. Disponível em: <<https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/appendix/criticalvalues/index.html>>. Acesso em: 3 jun. 2020.
- ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO (ONA). Manual das organizações prestadoras de serviços de saúde. São Paulo: ONA; 2014. p. 1-125.
- PLEBANI M. Exploring the iceberg of errors in laboratory medicine. *Clinica Chimica Acta.* 2009;404:16-23.
- REASON J. Human error: models and management. *BMJ.* 2000. p. 768-70.
- ROCHA BCB, ALVES JAR, PINTO FPD, MENDES ME, SUMITA NM. The critical value concept in clinical laboratory. *J Bras Patol Med Lab.* 2016;52(1):17-20.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC), versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2020.
- THE JOINT COMMISSION ACCREDITATION PROGRAM. Laboratory, national patient safety goals. Disponível em: <<https://www.jointcommission.org/standards/national-patient-safety-goals/>>. Acesso em: 3 jun. 2020.
- VALENSTEIN PN, WAGAR EA, STANKOVIC AK, WALSH MK, SCHNEIDER F. Notification of critical results: a College of American Pathologists Q-Probes study of 121 institutions. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(12):1862-7.
- VASCONCELLOS LS. Critical results communication: quality and patient safety. *J Bras Patol Med Lab.* 2014;50(5):326.
- YANG D, CAI Q, QI X, ET AL. An evaluation of adult critical result policies in haematology in a teaching hospital in China. *Ann Transl Med.* 2019;7(3):47.

Vantagens da troponina ultrasensível no diagnóstico do infarto agudo do miocárdio

Carlos Eduardo dos Santos Ferreira

AS ISOFORMAS cTnI e cTnT apresentam epítomos específicos para o músculo cardíaco e, com isso, foram desenvolvidos ensaios para detecção dessas isoformas com alta especificidade pelo cardiomiócito. Todos nós apresentamos concentrações de troponinas na corrente sanguínea, valores que passaram a ser detectados com a chegada dos ensaios de alta sensibilidade. Essas concentrações se elevam de acordo com a dimensão do dano causado ao músculo cardíaco. A Figura 1 ilustra o complexo das troponinas e suas diferentes concentrações na corrente sanguínea.

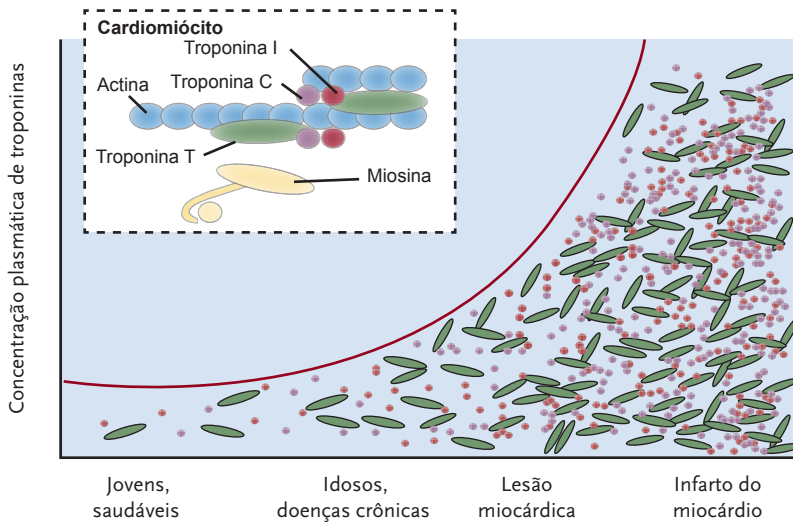


FIGURA 1 Complexo das troponinas (TnI, TnT e TnC) e as diferentes concentrações na corrente sanguínea, desde o paciente saudável até o que apresentou infarto do miocárdio.

Fonte: adaptada de Tanja, 2014.

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é causado pela interrupção do fluxo sanguíneo para partes do coração, causando a morte das células cardíacas. Isso acontece principalmente em decorrência do bloqueio de uma artéria coronária, seguida da ruptura de uma substância chamada placa arterial da parede interna das artérias. Um diagnóstico rápido

e preciso é essencial quando pacientes chegam com dor torácica aguda e suspeita de IAM no pronto-socorro. A cada 30 minutos de atraso entre os sintomas e o início do tratamento, aumenta-se em 7,5% a possibilidade de morte em 1 ano.

Há cerca de 10 anos, toda a indústria diagnóstica passou a desenvolver e disponibilizar ensaios de troponinas de alta sensibilidade. Hospitais e pronto-atendimentos na Europa e na América Latina passaram a utilizar esses ensaios mais sensíveis, desde que foram disponibilizados no mercado. Nos Estados Unidos, a aprovação desses ensaios só começou em janeiro de 2017 e, no final de 2019, praticamente todos os ensaios disponíveis pelas grandes empresas de diagnóstico *in vitro* já estavam aprovados. Em 2020, grande parte dos ensaios utilizados na prática clínica já consegue detectar pequenas concentrações de troponina, sendo classificados como de alta sensibilidade. Em breve, o termo “alta sensibilidade” deixará de ser utilizado e voltará a ser chamado apenas “troponina”, visto que só existirão ensaios sensíveis.

Com a capacidade dos ensaios em detectar pequenas concentrações de troponina, os algoritmos rápidos surgiram na prática clínica mundial, conforme divulgado em 2015 pela European Society of Cardiology (ESC). Especialmente os algoritmos de 0/1 hora foram validados por quatro estudos já publicados mundialmente, nos quais cerca de mais de 4 mil pacientes foram estudados e, na primeira hora de admissão na emergência, mais de 75% dos pacientes foram excluídos do diagnóstico de IAM. Desde 2019, o algoritmo de 0/1 hora já está sendo utilizado em centros do Brasil e do mundo.

A grande importância desses algoritmos rápidos (0/1 hora) reside na segurança na exclusão (alto valor preditivo negativo) do IAM e também na confirmação do diagnóstico de pacientes com IAM. Antes da troponina de alta sensibilidade, esse processo levava cerca de 6 a 9 horas para acontecer, o que acarretava maior tempo do paciente nas emergências, demora na confirmação diagnóstica e início de terapia específica. Outra grande vantagem para os protocolos de 0/1 h é que eles são altamente custo-efetivos. A otimização dos recursos de saúde é fundamental na prática clínica.

A estruturação do protocolo de dor torácica deve contar com a presença do corpo clínico do hospital/pronto-socorro e do laboratório clínico. Esses protocolos devem apresentar uma estratificação clínica e laboratorial. Todo o processo deve ser desenhado para que o diagnóstico possa ser assertivo.

São pontos importantes para a definição do protocolo de dor torácica: definição da estratificação clínica utilizada, conhecimento do ensaio de troponina utilizada, definição dos fluxos, definição dos valores de referência de troponina que serão utilizados, definição dos deltas de variação entre as dosagens e a realização do treinamento e a capacitação dos médicos no protocolo.

Diante do exposto, as troponinas de alta sensibilidade, ou simplesmente troponinas, são consideradas o teste-padrão de referência para o diagnóstico do IAM, com uma segurança muito grande para os pacientes.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

CHEW DP, LAMBRAKIS K, BLYTH A, ET AL. a randomized trial of a 1-hour troponin T protocol in suspected acute coronary syndromes: the rapid assessment of possible acute coronary syndrome in the emergency department with high-sensitivity troponin T study (RAPID-TnT). *Circulation*. 2019;140(19):1543-56.

FERREIRA CES. High-sensitivity troponins: a major breakthrough. *J Bras Patol Med Lab*. 2017;53(5):292.

MORROW DA, ANTMAN EM. Evaluation of high-sensitivity assays for cardiac troponin. *Clin Chem.* 2009;55:5-8.

TANJA S. Cardiac troponin specific autoantibodies: analytical tools for exploring their impact on cardiac troponin I testing [thesis]. Turku, Finland: University of Turku, 2014. Painosalama Ou, Turku, Finland. 2014;1(1):1-86.

WESTERMANN D, NEUMANN JT, SORENSEN NA, ET AL. High-sensitivity assays for troponin in patients with cardiac disease. *Nature Reviews Cardiology.* 2017;14:472-83.

29 **Abordagem laboratorial da hipercolesterolemia familiar**

Marileia Scartezini

A **HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR (HF)** é uma doença genética autossômica co-dominante que expõe um indivíduo a altas concentrações de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) no sangue ao longo da vida e dá origem à doença coronariana prematura, especialmente ao infarto do miocárdio.

Antes de fazer o diagnóstico de HF, no entanto, deve ser afastada qualquer hipercolesterolemia de causa secundária, como o hipotireoidismo e a síndrome nefrótica. Também é preciso observar que a presença de hipertrigliceridemia não exclui o diagnóstico de HF.

Com a elevada prevalência de doença coronariana precoce e a redução da expectativa de vida observada em várias famílias com HF, ela tem sido considerada um problema de saúde pública. Cerca de 50% das mulheres e 85% dos homens podem ter um evento coronariano antes de completar os 65 anos de idade, se não tratados adequadamente.

A prevalência da HF heterozigótica (HFHe) é alta na população geral, em cerca de 1:200 a 1:300 indivíduos, e da HF homozigótica (HFHo), atualmente, varia de 1:160 mil a 1:300 mil de indivíduos, que, se não tratados, morrerão antes dos 20 anos de idade.

O diagnóstico precoce permite antecipar o início da medicação hipolipemiante e a mudança na história natural da doença. A identificação dos casos de maior gravidade e o cuidado integrado à HF são estratégias para minimizar o impacto da HF na doença cardiovascular.

Embora a HF seja uma doença genética, os testes genéticos não são muito utilizados por vários motivos; além do custo elevado, o número de laboratórios especializados é reduzido. A comunidade internacional que estuda essa doença estabeleceu critérios para ajudar no rastreamento, sem a necessidade inicial da dosagem molecular dos genes causadores da HF.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO DA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

Os critérios diagnósticos da HF heterozigótica já foram descritos na literatura mundial, e a I Diretriz de HF Brasileira (2012), assim como a Atualização da Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (2020), recomendam utilizar a combinação dos critérios da Tabela 1.

TABELA 1 Critérios diagnósticos da HF heterozigótica

Parâmetro	Pontos
História familiar	
Parente de primeiro grau portador de doença vascular/coronariana prematura (homens < 55, mulheres < 60 anos) OU Parente adulto com colesterol total > 290 mg/dL	1
Parente de primeiro grau portador de xantoma tendíneo e/ou arco corneano OU Parente de primeiro grau < 16 anos com colesterol > 260 mg/dL	2
História clínica	
Paciente portador de doença coronariana prematura (homens < 55, mulheres < 60 anos)	2
Paciente portador de doença cerebral ou periférica prematura (homens < 55, mulheres < 60 anos)	1
Exame físico	
Xantoma tendíneo	6
Arco corneano < 45 anos	4
Níveis de LDL-C (mg/dL)	
≥ 330	8
250-329	5
190-249	3
155-189	1
Análise do DNA	
Presença de mutação funcional do gene do receptor de LDL, <i>ApoB100</i> ou <i>PCSK9</i>	8
Diagnóstico de HF	
Certeza se	> 8
Provável se	6-8
Possível se	3-5

Fonte: modificada de Dutch Lipid Clinic Network, adotando um critério do Simon Broome Register Group.

A utilização da tabela com os critérios já mencionados pelos médicos de todas as especialidades, em seus consultórios, pode reduzir o tempo do diagnóstico definitivo de HF.

O rastreamento em cascata de familiares de indivíduos afetados com a HF é uma medida custo-efetiva que propicia o reconhecimento precoce e o início de terapêutica que vise a retardar ou impedir o aparecimento da doença aterosclerótica.

Em geral, 50% dos descendentes em primeiro grau de um indivíduo afetado com HF serão portadores do defeito genético e apresentarão níveis elevados de LDL-C desde o nascimento.

O fenótipo clínico da HF está descrito nos defeitos genéticos em um dos três seguintes genes: 1) receptor de LDL (*LDLR*), sendo o mais frequente (mais de 90%); 2) apolipoproteína B (*Apo B*), perfaz de 5 a 10% dos casos; a pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (*PCSK9*), com frequência menor que 1%. Esses genes codificam proteínas

envolvidas na captação e no catabolismo do *LDLR*. Os genes *LDLR*, *APOB* e a *PCSK9* são considerados genes ligados ao desenvolvimento de HF, resultando na homeostase defeituosa das partículas de LDL e, conseqüentemente, na elevação das concentrações plasmáticas de LDL-C.

Existe uma forma rara de HF, chamada autossômica recessiva, que ocorre quando os indivíduos herdam mutações em ambas as cópias do gene *LDLRAP1*, que codifica a proteína adaptadora do receptor de LDL. Nesses casos, os pais do indivíduo investigado não apresentam HF.

No entanto, sabe-se ainda que um paciente com o fenótipo de HF possa decorrer de variantes patogênicas em genes não conhecidos, ou mesmo de vários genes simultaneamente, conhecida como HF poligênica.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

A coleta de sangue para determinação do perfil lipídico (CT, LDL-C, HDL-C e TG) pode ser realizada sem jejum prévio; porém, na presença de níveis de triglicérides > 440 mg/dL, deve-se repetir a coleta com jejum de 12 h, de acordo com o “Posicionamento sobre a flexibilização do jejum sobre o perfil lipídico” no Brasil, de 2017. Também, nesse documento, foi recomendada a inclusão de uma observação específica para o rastreamento da hipercolesterolemia familiar (HF) nos laudos laboratoriais: “valores de colesterol total \geq 310 mg/dL em adultos ou \geq 230 mg/dL para crianças e adolescentes podem ser indicativos de hipercolesterolemia familiar, se excluídas as dislipidemias secundárias”.

A análise do perfil lipídico nos laboratórios clínicos está sujeita a uma série de variações relacionadas tanto com o método e os procedimentos utilizados como com os fatores intrínsecos do indivíduo, como estilo de vida, uso de medicações e doenças associadas. Portanto, qualquer alteração laboratorial deve ser confirmada com nova amostra, idealmente colhida com intervalo mínimo de 1 semana após a primeira coleta, aumentando a precisão diagnóstica.

Para rastrear a HF, é fundamental obter o valor do LDL-C fidedigno, sem a interferência da fase pré-analítica (p. ex., tempo de garrote excessivo, hemólise) e da analítica (reagentes e/ou fórmula sem interferentes). Importante lembrar que, na utilização da fórmula de Friedewald para o valor do LDL-C, este pode ser subestimado, dependendo do valor de TG. Nessas situações, há a oportunidade de usar a fórmula corrigida de Martin, para minimizar a interferência dos triglicérides.

ANÁLISE GENÉTICA DA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

A importância do diagnóstico genético reside no fato de que os critérios clínico-laboratoriais muitas vezes não são conhecidos dos pacientes, dificultando a confirmação diagnóstica.

A HF engloba um espectro de fenótipos clínicos, em virtude do elevado número de variantes patogênicas (Tabela 2). Indivíduos com mais de uma alteração no mesmo gene, e em alelos diferentes, podem ter um fenótipo similar ao de homocigoto verdadeiro com a mesma variante em dois alelos.

TABELA 2 Variações dos valores do LDL-colesterol em relação aos genótipos possíveis de HF

Valores de LDL-C	Genótipos possíveis
400 a 1.000 mg/dL	Variantes patogênicas em homozigose
	Homozigoto LDLR “nulo”
	Verdadeiro homozigoto LDLR
	Heterozigoto composto LDLR
130 a 450 mg/dL	Variantes patogênicas em heterozigose
	LDLR “nulo”
	LDLR defeituoso
	Ganho de função da PCSK9
	APOB
	Formas poligênicas (múltiplos SNP que elevam o LDL-C)
130 a 200 mg/dL	Lipoproteína (a) elevada
	Hipercolesterolemia comum

Fonte: adaptada de Atualização da Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar, 2020.

METODOLOGIAS PARA DIAGNÓSTICO GENÉTICO

A análise molecular dos genes envolvidos com a HF deve ser realizada em laboratório especializado, público ou privado, para que o diagnóstico genético da HF seja elucidado.

A metodologia de diagnóstico genético para a HF deve incluir o sequenciamento da região codificadora de todos os genes possivelmente associados à etiologia da doença.

Um método de triagem para a HF, chamado *high resolution melting* (HRM), pode ser usado pelo *melting* de fragmentos de DNA e do *LDLR*, com alta resolução para a detecção de mutações. A triagem inicial se dá para verificar as possíveis mutações, e o diagnóstico definitivo da HF é feito pelo sequenciamento daquele fragmento do gene.

A tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *next-generation sequencing*) permite que um grupo de genes seja sequenciado, em grande escala. Nessa técnica, é feito um painel contendo todos os genes a serem sequenciados, os quais são colocados em um *chip* e inseridos no equipamento de sequenciamento de nova geração. Uma vez gerados os dados, eles são transferidos para uma plataforma, na qual as leituras são mapeadas com o genoma humano (hg19/GRCh37) e se realiza a interpretação das variantes.

A metodologia de sequenciamento Sanger é considerada padrão-ouro nessa técnica, mas a tecnologia NGS apresenta muitas vantagens, como a velocidade de obtenção de resultados, a quantidade de material necessário utilizado na reação, o custo do sequenciamento por base, a quantidade de informação gerada e a precisão dos resultados obtidos.

Cerca de 10% das alterações genéticas no gene *LDLR* não são alterações pontuais, mas grandes deleções ou duplicações de éxons do *LDLR*. Portanto, caso não seja identificada

nenhuma alteração por NGS, é importante a realização da técnica de *multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA), desenvolvida pela MCR-Holland, ou amplificação multiplex de sondas dependente de ligação para a identificação de prováveis deleções e/ou duplicações.

O programa HiperCol Brasil do Instituto do Coração (hipercolbrasil@incor.usp.br) e o programa Colesterol & Família (colesterolefamilia@gmail.com) da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp), no setor de lípidos, têm por objetivo rastrear a HF no Brasil, onde a identificação da doença é menor que 1%.

Também foi criada a Associação de Hipercolesterolemia Familiar (AHF) (<http://www.ahfcolesterol.org/>), formada por pacientes com HF e familiares e que conta com o apoio de médicos especialistas em seu conselho científico.

No Brasil, o diagnóstico da HF tem critérios e diretrizes que podem facilitar a triagem de pacientes pelos médicos. É fundamental o esforço multidisciplinar, para que o uso da medicação hipolipemiante no paciente com HF tenha início precoce e ocorra a mudança na história natural da doença arterial coronariana.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

FALUDI AA, IZAR MCO, SARAIVA JFK, ET AL. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arq Bras Cardiol.* 2017;109(2Supl.1):1-76.

IZAR MC, SARAIVA JFK, ROCHA VZ, ET AL. Atualização da diretriz brasileira de hipercolesterolemia familiar. *Arq Bras Cardiol.* 2020 (in press).

SANTOS RD, GAGLIARDI AC, XAVIER HT, ET AL. First Brazilian Guidelines for Familial Hypercholesterolemia. *Arq Bras Cardiol.* 2012;99(2 Suppl 2):1-28.

SCARTEZINI M, FERREIRA C, IZAR MCO, ET AL. Posicionamento sobre a flexibilização do jejum sobre o perfil lipídico. *Arq Bras Cardiol.* 2017;108:195-7.

STURM AC, KNOWLES JW, GIDDING SS, ET AL.; Convened by the Familial Hypercholesterolemia Foundation. Clinical genetic testing for familial hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(6):662-80.

WHITTALL RA, SCARTEZINI M, LI K, ET AL. Development of a high-resolution melting method for mutation detection in familial hypercholesterolemia patients. *Ann Clin Biochem.* 2010;47:44-55.

30 Gasometria

Nairo Massakazu Sumita, Maria Elizabete Mendes

INTRODUÇÃO

A coleta de sangue para a análise dos gases sanguíneos requer cuidados na escolha do material adequado na coleta, na conservação e no transporte imediato ao laboratório. A análise dos gases sanguíneos é fundamental para o diagnóstico e o acompanhamento clínico dos distúrbios respiratórios e metabólicos, e o tempo de execução do exame e a obtenção de resultados acurados são vitais para o sucesso no tratamento dos pacientes críticos. Nesse contexto, o uso do teste laboratorial remoto (TLR), também conhecido como *point-of-care testing* (POCT) na língua inglesa, vem conquistando um importante papel no processo de assistência ao paciente crítico.

IDENTIFICAÇÃO

A identificação correta do paciente, associada a outras informações complementares, é essencial para avaliar corretamente os resultados obtidos. A seguir, algumas informações relevantes para a caracterização da amostra:

- Nome completo do paciente, idade, sexo;
- Número/registo do paciente;
- Identificação do médico solicitante;
- Localização do paciente: andar, quarto e leito;
- Data e horário da obtenção da amostra;
- Fração de oxigênio inspirado (F_1O_2);
- Temperatura do paciente;
- Frequência respiratória;
- Modo da ventilação: respiração espontânea ou ventilação assistida/controlada;
- Identificação do profissional que está realizando o teste.

Com relação à avaliação do paciente, é importante que alguns pontos sejam observados e devidamente registrados:

- Se o paciente estiver consciente, é importante que seja esclarecido sobre o procedimento ao qual será submetido;
- O consentimento deve ser obtido previamente à coleta;
- As condições de coleta devem ser verificadas e documentadas;
- Atenção especial aos pacientes em terapia com anticoagulantes;

- Observar o estado do paciente em relação à temperatura, ao padrão de respiração e à concentração de oxigênio inalado;
- O paciente deve estar em uma condição ventilatória estável por cerca de 20 a 30 minutos antes da coleta, quando em respiração espontânea. Os outros pacientes necessitam de 30 minutos ou mais para alcançar o equilíbrio após alteração nos padrões ventilatórios.

Quanto ao tipo de seringa a ser utilizado, quando aplicável, o documento do CLSI C46-A recomenda o uso de seringas plásticas preparadas com anticoagulante apropriado, preferencialmente a heparina liofilizada. A seringa pode ser mantida em temperatura ambiente por no máximo 30 minutos após a coleta.

Com relação ao anticoagulante, a melhor opção é utilizar uma seringa previamente preparada com heparina de lítio jateada na parede, com “balanceamento” de cálcio. Esse tipo de material é facilmente obtido no mercado e apresenta uma relação custo-eficiência satisfatória. De acordo com o International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), a seringa de gasometria deve conter 50 UI de heparina lítica balanceada com cálcio por mL de sangue total.

A introdução do cálcio em concentração balanceada, nas seringas destinadas especificamente à coleta de gasometria e eletrólitos, tem por finalidade minimizar os efeitos da queda desse íon na amostra. A heparina líquida, em excesso, pode ainda causar diluição da amostra, resultando em valores incompatíveis com a situação clínica do paciente. As seringas específicas para a análise de gases sanguíneos, além de eliminarem o risco de diluição da amostra, asseguram a proporção exata entre o volume de sangue e de anticoagulante, evitando, assim, a formação de microcoágulos que podem produzir resultados errôneos, bem como obstruir os equipamentos analisadores de gases sanguíneos.

Os locais usuais para a realização da punção arterial são as artérias radial, braquial ou femoral. Para a escolha da artéria a ser puncionada, deve-se levar em consideração a presença de circulação colateral para que, em caso de espasmo ou coágulo que possa se formar, o território não tenha interrompido o fluxo sanguíneo; a artéria deve apresentar bom calibre e ser superficial. A artéria radial preenche esses critérios, sendo por isso a mais frequentemente puncionada.

A artéria radial, além de ser relativamente superficial em sua posição distal, não apresenta outros vasos importantes próximos, permite maior conforto ao paciente e fácil acesso para a realização do procedimento. No entanto, por ser um dos vasos de irrigação da mão, deve ser avaliada a capacidade de suprimento sanguíneo pela artéria ulnar previamente à punção da artéria. O exame que avalia essa circulação é denominado teste de Allen, que visa a verificar a permeabilidade do arco palmar e seu enchimento pela artéria ulnar. Na primeira fase do teste, comprimem-se as artérias radial e ulnar orientando o paciente a abrir e fechar a mão cinco vezes, em média, observando a palidez. Na sequência, faz-se a descompressão da artéria ulnar para verificar a perfusão.

A punção arterial não é indicada para pacientes com distúrbio de coagulação, particularmente para punção de artérias profundas ou quando o local escolhido apresenta algum grau de dificuldade de compressão.

Após a obtenção da amostra arterial ou venosa, despreza-se a agulha, esgota-se o ar residual, veda-se a ponta da seringa com o dispositivo ocluser e homogeneiza-se suavemente,

rolando-a entre as mãos. A posição preferencial da seringa durante o transporte é a horizontal, pois facilita a homogeneização da amostra previamente à análise e minimiza a sedimentação das hemácias.

PRINCIPAIS PARÂMETROS NA ANÁLISE DOS GASES SANGUÍNEOS

Pressão parcial do oxigênio (PO_2)

A PO_2 arterial indica a eficácia das trocas de oxigênio entre os alvéolos e os capilares pulmonares, e depende diretamente da pressão parcial de oxigênio no alvéolo, da capacidade de difusão pulmonar desse gás, da existência de *shunt* e da reação ventilação/perfusão pulmonar. Alterações desses fatores constituem causas de variações de PO_2 .

Pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2)

A PCO_2 arterial é o parâmetro que indica a eficácia da ventilação alveolar, sendo praticamente a mesma que a alveolar, em função da grande difusibilidade desse gás.

Saturação de hemoglobina (SO_2)

A SO_2 refere-se ao percentual de hemoglobina saturado com oxigênio. Corresponde à fração de hemoglobina transportando oxigênio em relação a todas as hemoglobinas que podem transportá-lo.

O cálculo da SO_2 pode ter a acurácia reduzida nas situações em que seja detectada a presença das dis-hemoglobinas: meta-hemoglobina (MetHb), carboxi-hemoglobina (COHb) e sulfo-hemoglobina (SulfHb). Nessa condição, a saturação de oxigênio deve ser expressa pela fração de oxi-hemoglobina (FO_2Hb).

O método espectrofotométrico utilizado para medida da oxi-hemoglobina, desoxi-hemoglobina, carboxi-hemoglobina e meta-hemoglobina é conhecido como CO-oximetria.

As fórmulas matemáticas para determinação da SO_2 e da FO_2Hb estão descritas a seguir:

$$SO_2 = \frac{cO_2Hb}{cO_2Hb + cHHb} \times 100$$

$$FO_2Hb = \frac{cO_2Hb}{cO_2Hb + cHHb + cMetHb + cCOHb + cSulfHb} \times 100$$

- SO_2 : saturação de hemoglobina
- FO_2Hb : fração de oxi-hemoglobina
- cO_2Hb : concentração de oxi-hemoglobina
- $cHHb$: concentração de desoxi-hemoglobina
- $cMetHb$: concentração de meta-hemoglobina
- $cCOHb$: concentração de carboxi-hemoglobina
- $cSulfHb$: concentração de sulfo-hemoglobina
- Os valores de SO_2 e FO_2Hb podem ser expressos em percentual (%) ou em fração decimal de 1,00

Conteúdo total de oxigênio (ctO₂)

O conteúdo total de oxigênio (ctO₂) corresponde à soma da concentração do oxigênio ligado à hemoglobina e do oxigênio dissolvido no sangue.

Pressão parcial do oxigênio em saturação de oxigênio de 50% (P₅₀)

O grau de associação ou dissociação do oxigênio com a hemoglobina é determinado pelo PO₂ e a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. A dissociação do oxigênio com a hemoglobina pode ser representada por uma curva sigmoidal que relaciona SO₂ com a PO₂ (Figura 1). A afinidade da hemoglobina pelo oxigênio depende de cinco fatores: temperatura, pH, PCO₂, concentração de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) e a presença das dis-hemoglobinas. A P₅₀ é um parâmetro calculado, definido como a pressão parcial do oxigênio (PO₂) em uma saturação de oxigênio de 50%.

Quando a curva sofre um desvio à direita, ocorre a elevação da P₅₀, indicando decréscimo da afinidade do O₂ pela hemoglobina, facilitando a liberação em nível tecidual. São situações em que se observa elevação da P₅₀: elevação da 2,3-DPG, elevação da temperatura corpórea, aumento da PCO₂ e acidose.

Quando a curva sofre um desvio à esquerda, ocorre queda da P₅₀, indicando aumento da afinidade do O₂ pela hemoglobina, dificultando a liberação em nível tecidual. São situações em que se observa elevação da P₅₀: diminuição da 2,3-DPG, queda da temperatura corpórea, diminuição da PCO₂, alcalose, níveis elevados de COHb, MetHb e hemoglobina fetal.

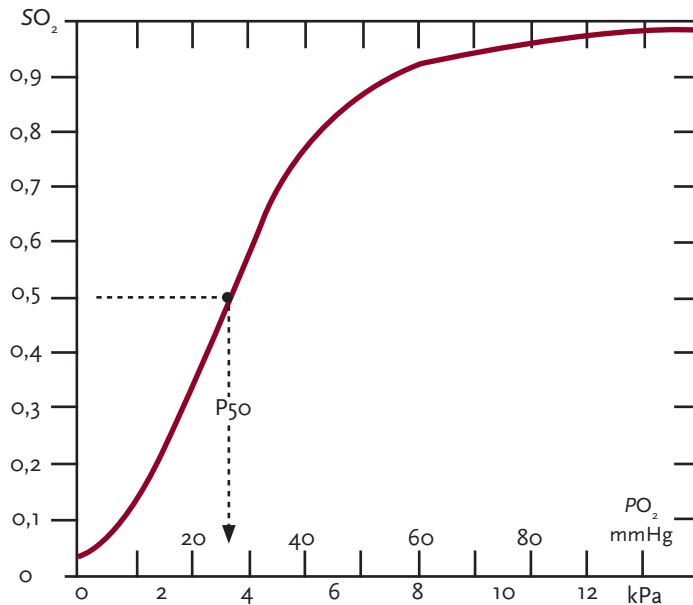


FIGURA 1 Curva de dissociação do oxigênio-hemoglobina e representação gráfica do P₅₀.

ERROS PRÉ-ANALÍTICOS NA ANÁLISE DA GASOMETRIA

Presença de bolha de ar na amostra

A presença de bolha de ar na amostra compromete os valores de PO_2 . As bolhas de ar devem ser imediatamente removidas da seringa após a obtenção da amostra. O erro aumenta proporcionalmente ao tempo em que a amostra ficar em contato com a bolha de ar. O efeito é potencializado se a amostra for armazenada em baixa temperatura, pois ocorre um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. Considerando que o PO_2 no ar atmosférico é ao redor de 150 mmHg, o erro habitualmente será positivo (elevação do PO_2 na amostra) se o PO_2 na amostra for inferior a esse valor. No entanto, o erro pode ser negativo se o nível de PO_2 na amostra for superior ao PO_2 da bolha de ar.

Sedimentação da amostra

É fundamental que as amostras sejam bem homogeneizadas previamente à análise visando a evitar a análise de uma amostra sedimentada. Todos os parâmetros podem sofrer alteração, em particular o nível de hemoglobina.

Efeito do tempo prolongado entre a coleta e a análise da amostra

As células sanguíneas mantêm o metabolismo mesmo após a coleta na seringa, induzindo a uma alteração nos valores de gases sanguíneos, pH e metabólitos. O nível dos gases também pode se alterar através da difusão pela parede de plástico da seringa.

O nível de potássio também pode se alterar em função da demora na análise, particularmente quando a amostra é resfriada. Nessa condição, ocorre a inibição da bomba de sódio-potássio, que se torna incapaz de manter o gradiente de concentração entre o meio intra e extracelular. O ideal é que a amostra seja analisada imediatamente após a coleta ou em até 30 minutos à temperatura ambiente. Caso contrário, a amostra necessita ser resfriada entre 0 e 4°C, visando a diminuir o metabolismo celular.

Diluição da amostra

- Heparina: recomenda-se o uso de seringas específicas para coleta de gasometria e pré-heparinizadas com heparina seca. O uso de heparina líquida não é indicado, pois aumenta o risco da diluição da amostra;
- Coleta de cateter arterial: previamente à coleta de sangue, a solução de infusão presente no cateter arterial necessita ser retirada por completo, visando a evitar a diluição da amostra que será analisada. Habitualmente, recomenda-se que 3 a 6 vezes do volume do cateter seja retirado e desprezado.

Transporte e conservação da amostra

As amostras devem ser analisadas, preferencialmente, em um intervalo de 30 minutos após a coleta, em razão da difusão de gases pela parede da seringa de plástico e da elevação dos níveis de potássio. Se a amostra não puder ser analisada em 10 minutos, precisa ser refrigerada a uma temperatura entre 0 e 4°C e mantida horizontalmente, visando a facilitar a mistura e minimizar o efeito da sedimentação.

O uso de água gelada com gelo moído ou gelo reciclável é adequado para o resfriamento das amostras. As amostras não devem ser colocadas diretamente sobre o gelo em razão do risco de congelamento da amostra e de hemólise.

Análise

Deve-se assegurar que a porção da amostra a ser avaliada esteja homogênea e seja representativa do total da amostra. É muito importante homogeneizar adequadamente a amostra, invertendo-a repetidamente e rolando-a entre as palmas das mãos, misturando-a por alguns minutos para que se obtenha uma amostra homogênea. As primeiras gotas da extremidade da seringa devem ser desprezadas.

TESTE LABORATORIAL REMOTO (TLR) EM GASOMETRIA

Vantagens e desvantagens da implantação do TLR para análise de gases sanguíneos e eletrólitos

Vantagens

- Os resultados podem ser obtidos em um intervalo de 2 a 4 minutos, permitindo uma rápida tomada de decisão clínica;
- Minimiza-se o risco de erros na comunicação de resultados;
- Parâmetros caracterizados como instáveis, como pH e lactato, podem ser imediatamente avaliados com resultados mais fidedignos em relação às amostras transportadas até o laboratório;
- Menor risco de acidentes ou infecção decorrentes da quebra dos recipientes ou de vazamentos de amostras, pois o material não sai da unidade de terapia intensiva;
- Os resultados podem ser imediatamente confrontados com os dados de monitoramento do paciente, terapia medicamentosa e resultados laboratoriais, fornecendo uma visão global das condições do paciente.

Desvantagens

- Possibilidade de duplicação de equipamentos;
- Ocupa o tempo da equipe da unidade de terapia intensiva, que poderia estar sendo dedicado ao paciente;
- A equipe do laboratório é deslocada para manutenção preventiva e corretiva do equipamento;
- Risco de falha no equipamento em virtude do uso incorreto;
- Risco de propagação de infecção em decorrência da limpeza inadequada do equipamento;
- Necessidade de treinamento prévio da equipe da unidade de terapia intensiva para manuseio do equipamento;
- Risco de realizar exames além das necessidades, em função da disponibilidade do equipamento ao lado do paciente. É necessário estabelecer um protocolo para utilização do equipamento.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Blood gas and pH analysis and related measurements; approved guideline. 2. ed. CLSI document C46-A2, vol. 29, n. 8 (Replaces C46-A, vol. 21, n. 14). Wayne, PA: CLSI; 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Ionized calcium determinations: precollection variables, specimen choice, collection, and handling; approved guideline. 2. ed. CLSI document H31-A2, vol. 21, n. 10 (replaces C31-A, vol. 15, n. 20). Wayne, PA: CLSI; 2001.

PRICE CP, ST JOHN A, CRICKA LL. Point-of-care testing. Needs, Opportunity and innovation. 3. ed. Washington: AACC Press; 2010.

SCOTT MG, LEGRYS VA, HOOD JL. Electrolytes and blood gases. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 5. ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. p. 807-35.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial: Fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais, 2018. Disponível em: <<http://bibliotecasbpc.org.br/index.php?P=4&C=0.2>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

TOFFALETTI JG. Blood gases and electrolytes. 2. ed. Washington: AACC Press; 2009.

31 Dificuldades na interpretação dos resultados de eletroforese de proteínas

Gustavo Loureiro

INTRODUÇÃO

A eletroforese de proteínas (séricas, urinárias, de outros líquidos biológicos) é uma técnica laboratorial amplamente utilizada em diversos contextos. Dois métodos de separação eletroforética são mais utilizados no laboratório clínico: o método em gel de agarose, em que, após a corrida eletroforética, é gerado um traçado de cinco zonas (albumina, alfa-1 globulinas, alfa-2 globulinas, betaglobulinas e gamaglobulinas); e o método de eletroforese capilar. Neste último, o traçado é obtido após a aplicação da amostra em um capilar de sílica, submetido à alta voltagem. A leitura é feita por luz ultravioleta, gerando seis zonas identificáveis (albumina, alfa-1 globulinas, alfa-2 globulinas, beta-1 globulinas, beta-2 globulinas e gamaglobulinas).

CASO 1

Paciente do sexo masculino, 65 anos, assintomático comparece para exames de rotina. Apresenta o traçado na eletroforese de proteínas séricas mostrado na Figura 1.

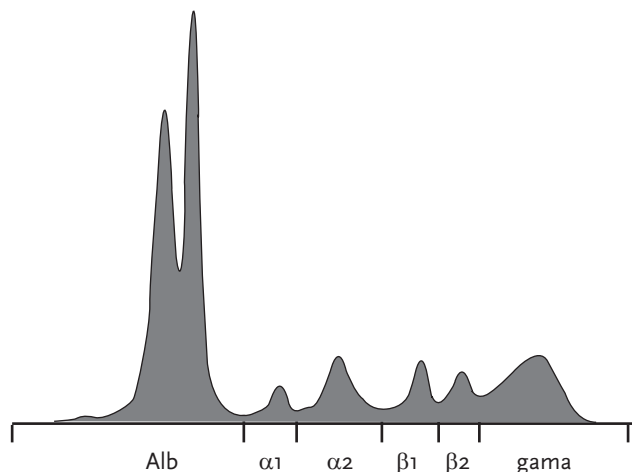


FIGURA 1 Traçado eletroforético apresentando dois picos na região da albumina.

Fonte: acervo do autor.

No traçado eletroforético normal, a região da albumina apresenta-se como pico único e é a zona com maior concentração relativa em relação às demais.

No traçado apresentado, verificam-se dois picos na região correspondente à albumina, característicos de uma condição denominada “bisalbuminemia”.

A bisalbuminemia é uma condição hereditária em que são produzidos dois tipos de albumina que apresentam uma pequena diferença de mobilidade eletroforética. Na eletroforese capilar de zona, a separação entre essas albuminas costuma ser mais evidente que na eletroforese em gel de agarose. Ocasionalmente, um dos picos apresenta elevação menor que o outro, como no caso citado, refletindo em menor produção de uma das variantes. Clinicamente, essa condição não tem significado patológico e a incidência varia entre 1:1000 e 1:10.000 na população caucasiana.

CASO 2

Paciente do sexo masculino, 52 anos, internado com quadro de pneumonia aspirativa. Apresenta o traçado na EPS mostrado na Figura 2.

Nota-se nesse traçado a presença de três pequenos picos monoclonais de baixa concentração (0,12, 0,18 e 0,32 g/dL, respectivamente) na região de gamaglobulinas, confirmados por meio da realização de imunofixação.

Quando, duas ou mais, pequenas bandas são detectadas na região de gamaglobulinas, alguns autores referem-se à expansão denominada oligoclonal, que pode ser observada em quadros infecciosos ou doenças autoimunes em atividade e, ocasionalmente, em algumas doenças linfoproliferativas. Nesses casos, são detectados os componentes monoclonais em associação à expansão policlonal de gamaglobulinas. Acredita-se que esses componentes são resultantes da produção de certos clones de imunoglobulinas em excesso pelas células-B. Uma vez resolvido o processo infeccioso/inflamatório, a tendência é o desaparecimento desses componentes.

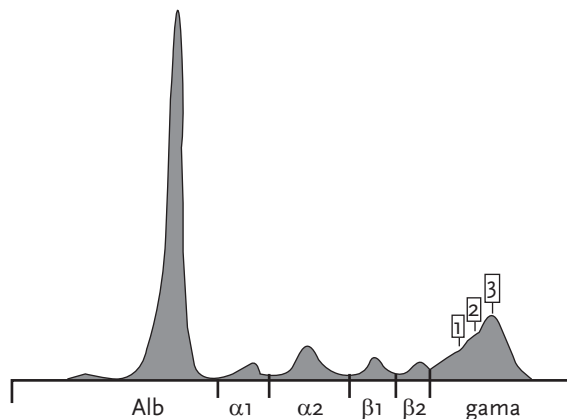


FIGURA 2 Traçado eletroforético apresentando três picos na região de gamaglobulinas.

Fonte: acervo do autor.

CASO 3

Paciente do sexo feminino, 72 anos, internada com quadro de dor lombar de forte intensidade com a presença de lesões líticas no estudo radiológico da coluna lombar (Figuras 3 e 4).

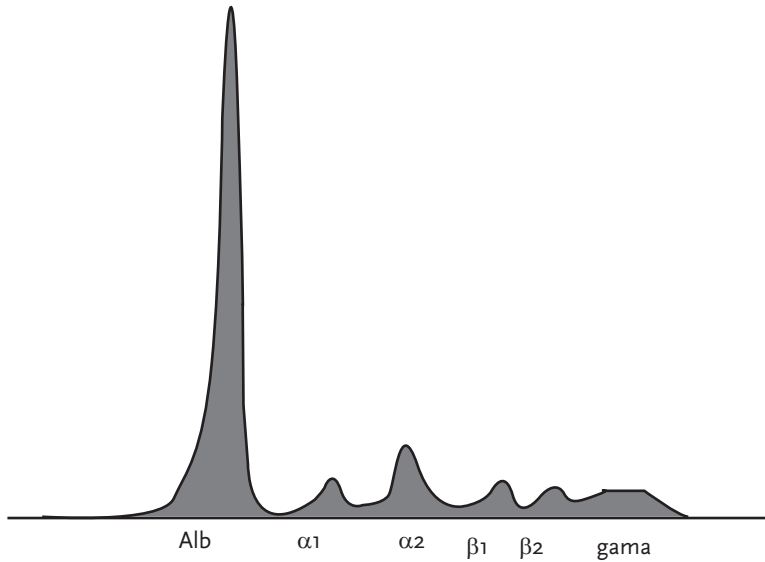


FIGURA 3 Traçado de EPS evidenciando hipogamaglobulinemia.

Fonte: acervo do autor.

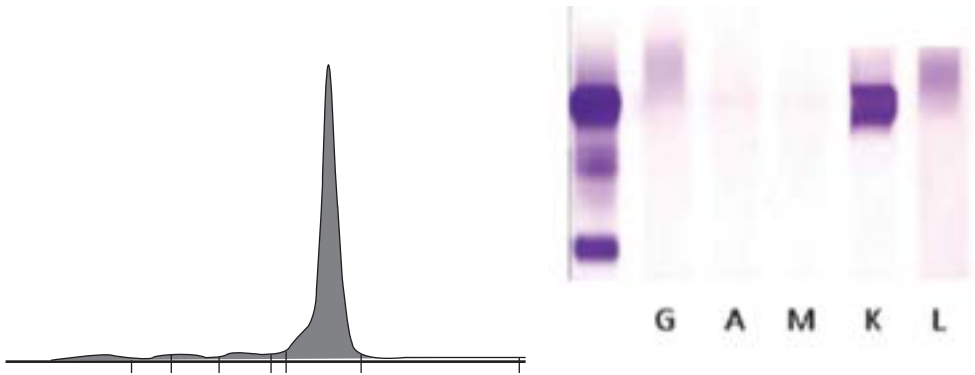


FIGURA 4 Traçado eletroforético (A) e imunofixação (B) de proteínas urinárias, demonstrando presença de pico monoclonal identificado como kappa livre.

Fonte: acervo do autor.

Nesse caso, o traçado de EPS não evidenciou a presença de componente monoclonal. No entanto, foi possível notar a presença de hipogamaglobulinemia (0,50 g/dL, VR: 0,74 a 1,75 g/dL).

Em cerca de 15% dos casos de mieloma múltiplo, o componente monoclonal é constituído apenas de cadeias leves livres (FLC). Esses casos, assim como algumas doenças linfoproliferativas, podem estar associados à hipogamaglobulinemia isolada na eletroforese de proteínas séricas e não evidenciar a presença de um componente monoclonal quando a função renal ainda está preservada. Nesses casos, porém, é possível identificar a presença do componente monoclonal de FLC excretado na urina (proteína de Bence-Jones).

A dosagem de FLC no soro tem grande utilidade no diagnóstico de acompanhamento desses casos, visto que apresenta alta sensibilidade para detecção de baixas concentrações de cadeias kappa ou lambda livres.

PROBLEMAS NA IDENTIFICAÇÃO DE COMPONENTES MONOCLONAIS – FALSO-POSITIVOS E FALSO-NEGATIVOS

Resultados falso-negativos

É possível que um pequeno componente monoclonal (proteína-M) esteja presente mesmo quando os valores quantitativos de imunoglobulina, de concentração sérica total de proteína e os componentes do traçado da EPS estão todos dentro dos limites normais. Se houver suspeita de uma discrasia de células plasmáticas, os testes mais sensíveis para detectar a presença de uma proteína monoclonal são a imunofixação sérica e urinária e a dosagem das cadeias leves livre no soro (kappa e lambda).

As seguintes situações precisam ser notadas:

- Na doença de cadeias pesadas (tipo alfa), que ocorre em pacientes com uma forma de linfoma intestinal denominado doença imunoproliferativa do intestino delgado, não é possível observar uma banda restrita ou pico estreito, possivelmente em decorrência da tendência de essas cadeias polimerizarem ou do seu conteúdo elevado de carboidratos. Em alguns pacientes, essas proteínas podem ser encontradas no fluido do jejuno, porém não no soro;
- Na doença de cadeias pesadas (tipo mu), a hipoglobulinemia é uma característica importante e um pico monoclonal é encontrado em apenas cerca de 40% dos casos;
- Eventualmente, em pacientes com doença de cadeias pesadas (tipo gama), o traçado eletroforético aparece alargado e heterogêneo em vez de apresentar uma banda restrita ou pico monoclonal;
- Uma proteína-M pode produzir uma banda alargada no gel de agarose, sugerindo componente policlonal. Isso ocorre quando a proteína-M se complexa com outras proteínas plasmáticas ou quando há a presença de dímeros e pentâmeros IgM, polímeros de IgA ou agregados de IgG;
- Alguns pacientes, como ilustrado no caso 3, apresentam apenas cadeias leves monoclonais, que geralmente estão em concentrações muito baixas para serem visíveis como um pico monoclonal na EPS, em razão, em parte, de sua rápida excreção pela urina. Caso esses pacientes desenvolvam quadro de insuficiência renal, as concentrações das cadeias leves livres podem elevar-se de tal forma que passam a apresentar um componente monoclonal visível na EPS;
- Em pacientes com mieloma múltiplo IgD ou IgE, o pico monoclonal pode ser pequeno e, eventualmente, acabar sendo negligenciado.

Resultados falso-positivos

Alguns elementos proteicos do soro além das imunoglobulinas podem sugerir falsamente a presença de componentes monoclonais.

- Fibrinogênio (no plasma) pode ser visualizado como uma banda restrita entre as regiões beta (ou beta 2) e gama. Quando presente, é indistinguível de uma proteína-M pela EPS. Nesses casos, a imunofixação não revelará a presença de componente monoclonal. A repetição do teste em amostra adequada não revelará componente monoclonal;
- Complexos de hemoglobina-haptoglobina secundários à hemólise podem aparecer como uma banda na região de alfa-2 globulinas;
- Altas concentrações de transferrina em pacientes com anemia ferropriva podem produzir banda localizada na região de betaglobulinas;
- A síndrome nefrótica geralmente está associada à elevação das bandas alfa-2 e beta, de modo que podem ser confundidas com a presença de proteína-M. As concentrações de albumina e gamaglobulinas geralmente estão reduzidas nessas situações;
- Elevações não específicas de proteínas de fase aguda ou certas hiperlipoproteinemias podem gerar elevação na região de alfa-1 globulinas;
- Um artefato comum é a presença de uma banda no ponto de aplicação da amostra no gel de agarose. Uma pista para a identificação desse artefato é a presença dessa banda em amostras de pacientes diferentes realizadas no mesmo momento.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

FERMAND JP, BROUET JC. Heavy-chain diseases. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1999;13(6):1281.

KEREN DF. *Protein electrophoresis in clinical diagnosis.* London, New York: Arnold Oxford University Press; 2003.

KATZMANN JA, CLARK R, WIEGERT E, ET AL. Protein electrophoresis in clinical diagnosis. Identification of monoclonal proteins in serum: a quantitative comparison of acetate, agarose gel, and capillary electrophoresis. *Electrophoresis.* 1997 Sep;18(10):1775-80.

NADER R, HORVATH AR, WITTWER C. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics.* St. Louis, Missouri: Elsevier; 2018.

WON SL, GURMUKH S. Serum free light chain assay in monoclonal gammopathic manifestations. *Lab Med.* 2019 Oct 10;50(4):381-9.

Marc Yves Chalom, Leonard de Vinci Kanda Kupa,
Paschoalina Romano, Pérsio de Almeida Rezende Ebner,
Nilo José Coêlho Duarte

A CROMATOGRAFIA LÍQUIDA acoplada a detectores de espectrometria de massas (LC-MS) vem sendo cada vez mais utilizada, tanto em laboratórios clínicos quanto em toxicologia forense, e mostrando um papel importante na rotina laboratorial, em virtude da capacidade de produzir resultados acurados e precisos que auxiliam na tomada de decisões clínicas. Para tirar proveito dos benefícios que essa técnica oferece, os métodos precisam ser desenvolvidos e validados de modo apropriado.

A física por trás da espectrometria de massas foi demonstrada pela primeira vez por Sir Joseph John Thomson, em 1913, mostrando que os íons presentes em uma mistura poderiam ser separados pela razão massa/carga, quando expostos a determinado campo magnético. Cinco anos depois, foi descrito com seu pupilo Francis William Aston o primeiro espectrômetro de massas para medir a massa de átomos carregados. Aston recebeu o prêmio Nobel de Química, em 1922. Nas décadas seguintes, avanços significativos foram feitos no sentido de melhorar o poder de resolução, e foi amplamente utilizado na comprovação da existência de isótopos elementares, muito importante para o projeto Manhattan na Segunda Guerra Mundial. As décadas seguintes foram repletas de descobertas e inovações, tanto em tipos de analisadores (aprisionadores de íons, quadrupolos, tempo de voo – TOF etc.) quanto em fontes de ionização (impacto eletrônico, ionização química, *matrix assisted laser desorption ionization* – MALDI, ionização química, ionização à pressão atmosférica – API etc.), todos esses avanços levaram a espectrometria de massas para além das universidades aos mais distintos laboratórios ao redor do mundo, sendo utilizada de maneira isolada ou em combinação com sistemas de separação cromatográficos.

Na área clínica e de saúde, experimentos com moléculas, como acilcarnitinas e aminoácidos em amostras biológicas, foram realizados ainda na década de 1990. Nas últimas duas décadas, a utilização de LC-MS tem se difundido cada vez mais nos laboratórios clínicos, em virtude dos avanços tecnológicos (aumento de produtividade, velocidade), além da facilidade de uso e da diminuição do custo de aquisição e operação.

As técnicas de ionização mais recentes, como *electrospray ionization* (ESI), permitem que moléculas de alto peso molecular, polares e pouco estáveis pudessem ser ionizadas e quantificadas. Esse desenvolvimento permitiu a hifenação da técnica de espectrometria de massas a sistemas de cromatografia líquida e contribuiu para a disseminação ainda maior da LC-MS nos laboratórios clínicos. Uma melhora importante aconteceu no final do século XX, com a introdução da espectrometria de massa *tan-*

dem, que oferece maior seletividade na determinação de compostos-alvo em matrizes de maior complexidade. Essa maior seletividade se dá pela seleção do íon precursor de um composto específico no primeiro espectrômetro de massas (quadrupolo), seguido da fragmentação desse íon precursor em uma célula de colisão e a subsequente seleção de um fragmento específico ou íon produto em um segundo analisador de massas. Quando acoplada à cromatografia líquida, que separa os analitos de acordo com suas características físico-químicas, essa técnica é designada pela sigla LC-MS/MS, a mais prevalente nos laboratórios clínicos atualmente.

A combinação da preparação de amostra, da cromatografia líquida e da espectrometria em *tandem* torna a LC-MS/MS altamente seletiva e acurada para análise qualitativa e quantitativa, tendo um escopo de aplicação que abrange as áreas de endocrinologia, toxicologia, farmacologia e monitoramento terapêutico. Na área de monitoramento terapêutico, destaca-se a quantificação simultânea de fármacos imunossuppressores no sangue como forma de monitorar a toxicidade e a rejeição de órgãos em pacientes transplantados.

Além das vantagens já mencionadas, a LC-MS/MS permite a quantificação dos analitos em matrizes alternativas, como saliva, cabelo, meconio, suor etc., e requer um volume de amostra muito pequeno para análise. A técnica ainda possibilita a adequação dos métodos para atender às necessidades e às condições específicas de cada laboratório, uma vez que esses métodos são desenvolvidos e validados nos próprios laboratórios (métodos *in house*).

Contudo, alguns desafios podem ser apontados, incluindo a fragmentação dos analitos na fonte de ionização, a supressão iônica em virtude do efeito matriz, a coeluição dos analitos durante a cromatografia, entre outros, questões que podem ser resolvidas com a experiência durante o desenvolvimento do método.

Uma vez que a maioria dos sistemas de LC-MS presentes no mercado é de interface aberta (isto é, não tem metodologias previamente desenvolvidas), cabe aos laboratórios desenvolvê-las e realizar sua validação analítica, a fim de que atenda aos requisitos de qualidade do laboratório, em conformidade com as normativas internacionais (*fit for purpose*).

Isso constitui o principal desafio na utilização de sistemas LC-MS, pois o desenvolvimento e a validação de métodos LC-MS são processos extensivos que requerem profissionais altamente qualificados, treinados e com experiência tanto nas etapas de desenvolvimento, validação, implantação, bem como na resolução de problemas (*troubleshooting*). O presente capítulo visa a discorrer sobre as principais etapas no desenvolvimento de um método analítico utilizando LC-MS. O tema de validação de métodos LC-MS será abordado em um capítulo separado.

Para tanto, o esquema da Figura 1 será utilizado e cada uma das etapas discutida separadamente e serão considerados exemplos de espectrometria de massas tipo triplo quadrupolo.

INFORMAÇÕES SOBRE A AMOSTRA E DEFINIÇÃO DOS OBJETIVOS DE SEPARAÇÃO

Essa etapa inicial é extremamente importante e é aqui que se leva mais tempo, nessa etapa realiza-se busca bibliográfica e de informações sobre a amostra. Como objetivo da separa-

Etapas sequenciais

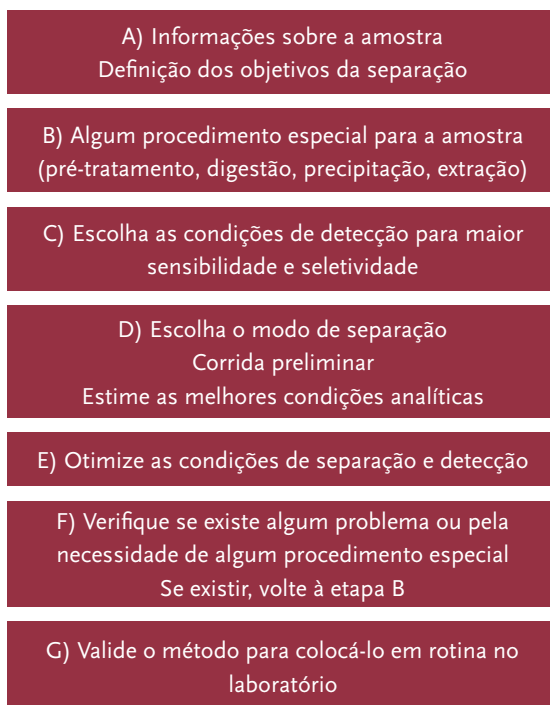


FIGURA 1 Esquema de desenvolvimento de método analítico LC-MS.

Fonte: adaptada de Leite, 2002.

ção, deve-se responder se esse método será utilizado para quantificar ou será somente um método qualitativo, no qual se busca uma resposta sobre se o composto está presente ou ausente. Deve-se também ter em mente qual matriz será utilizada, pois nem sempre um mesmo método pode ser válido para matrizes distintas.

Inicialmente, recomenda-se uma busca na literatura para saber se algum método para esses compostos já foi previamente desenvolvido. Nesse caso, a recomendação seria buscar em artigos científicos, notas de aplicação dos fabricantes dos equipamentos de LC-MS, experiência própria com compostos similares etc. Essas informações auxiliarão um desenvolvimento mais rápido do método analítico.

Nessa etapa, deve-se responder a algumas questões:

- Qual a natureza da matriz?
- Quais os compostos de interesse e possíveis interferentes?
- Qual o peso molecular dos compostos de interesse?
- Quais as estruturas químicas dos compostos de interesse?
- Quais os valores de pK_a ou pK_b dos compostos?
- Consigo localizar um artigo científico ou nota de aplicação que realizou a determinação desses compostos?

Procedimento de preparo de amostra

Com base nas informações colhidas na primeira etapa do desenvolvimento e dada a complexidade das amostras biológicas utilizadas nos sistemas de LC-MS em análises clínicas, nem sempre as amostras estarão prontas para a injeção. O objetivo do preparo de amostra é remover interferentes que possam comprometer a quantificação ou o sistema de LC-MS como um todo. O preparo de amostra visa a remover os interferentes e/ou extrair/enriquecer a presença do analito de interesse na solução de injeção.

Na maioria dos casos, tais amostras não estarão prontas para injeção, tendo o laboratório que lançar mão de estratégias, como: extração por fase sólida (SPE), precipitação de proteínas (quando o interesse está nos compostos livres presentes), imunoprecipitação, extração seletiva (com *beads* magnéticos contendo anticorpos ou MSIA), preparos *on-line* (SPE-*on-line*, *turboflow*) etc.

Condições de detecção para maior seletividade e sensibilidade

Essa etapa é realizada com um padrão das espécies de interesse e seu padrão interno em solvente em uma concentração relativamente alta (faixa de mcg/mL). O objetivo dessa fase é otimizar a fonte de ionização e os parâmetros de transmissão e fragmentação dos compostos de interesse dentro do espectrômetro de massas.

Existem diferentes formas de ionização em um espectrômetro de massas, a escolha depende da polaridade do composto e do peso molecular dos compostos de interesse. As mais conhecidas são chamadas *eletrospray* (ESI ou HESI), ionização química à pressão atmosférica (APCI) e fotoionização à pressão atmosférica (APPI), sendo as mais utilizadas a ESI e a APCI (Figura 2).

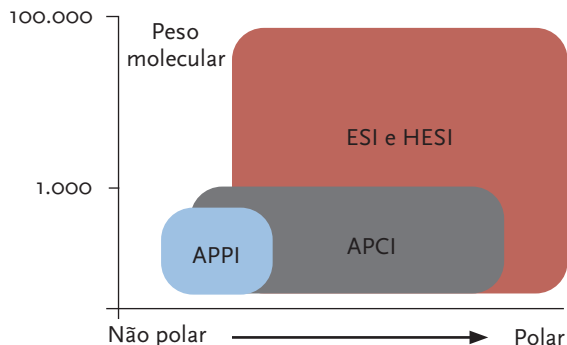


FIGURA 2 Modos de ionização para sistemas LC-MS.

ESI ou HESI – ionização por *eletrospray* aquecido; APCI – ionização química à pressão atmosférica; APPI – fotoionização à pressão atmosférica.

Fonte: adaptada de Lee, 2012.

Ao se realizar somente a infusão da mistura dos padrões dentro do espectrômetro, otimizam-se as voltagens das lentes e a energia de colisão do Q2 para descobrir os principais fragmentos gerados, e, para cada composto, deverá se eleger uma transição para quantificação e mais uma ou duas para confirmação. A Figura 3 mostra um esquema genérico

do caminho dos íons dentro do espectrômetro de massas em operação no modo SRM (*selected reaction monitoring*). O esquema mostra a seleção do íon precursor no primeiro quadrupolo (Q1), a fragmentação na célula de colisão (Q2) e os fragmentos isolados no terceiro quadrupolo (Q3) para posterior detecção.

Após essa otimização da infusão, o mesmo padrão é injetado com fluxo da fase móvel, no qual se otimizam as condições da fonte (voltagem, fluxo de gases, temperatura etc.).

O objetivo da escolha dessas transições e otimização de todos esses parâmetros é garantir a maior seletividade na detecção dos compostos.

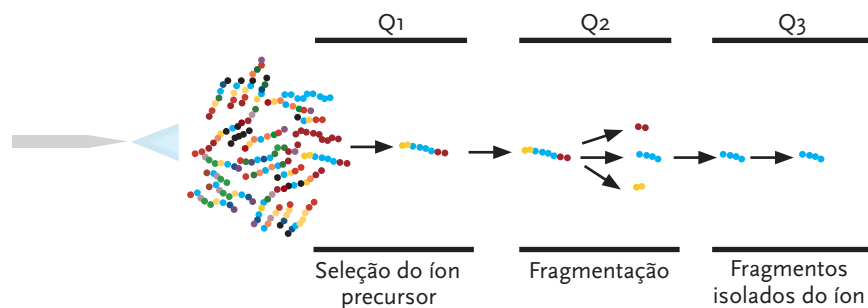


FIGURA 3 Modo de análise *selected reaction monitoring* (SRM).

Fonte: adaptada de Angel et al., 2012.

ESCOLHA DO MODO DE SEPARAÇÃO

Ao se conhecer as espécies de interesse e seus pKas e buscando referências na literatura, é possível estabelecer algumas condições arbitrárias de separação, iniciando pela mesma condição ou com base na separação de algum componente similar.

O objetivo nessa etapa é conseguir a melhor separação dos componentes em um menor tempo possível. Aumentar a produtividade é importante; porém, uma boa separação (picos bem resolvidos, formato de picos eficientes, eluição fora do volume morto da coluna) é fundamental para a robustez analítica.

Existem tipos distintos de colunas a serem empregados para separação de compostos de interesse e a escolha é feita de acordo com a polaridade e o peso molecular dos compostos de interesse, conforme a Figura 4.

As colunas mais comumente empregadas em testes clínicos utilizam mecanismos de partição e, em particular, são de fase reversa, como C18 (octadecilsilano) e C8 (octasilano). Quando se trabalha com compostos de maior polaridade, colunas de interação hidrofílica (HILIC) são utilizadas ou, ainda, fases estacionárias mais polares contendo grupamentos amino, fenil, fenil-hexil etc. Nos últimos anos, avanços nas fases estacionárias com partículas menores permitem a operação em modo UHPLC, tornando as corridas mais rápidas e com maior eficiência cromatográfica. A Tabela 1 mostra as principais fases estacionárias que podem ser empregadas de acordo com a sua polaridade e a capacidade em reter compostos apolares.

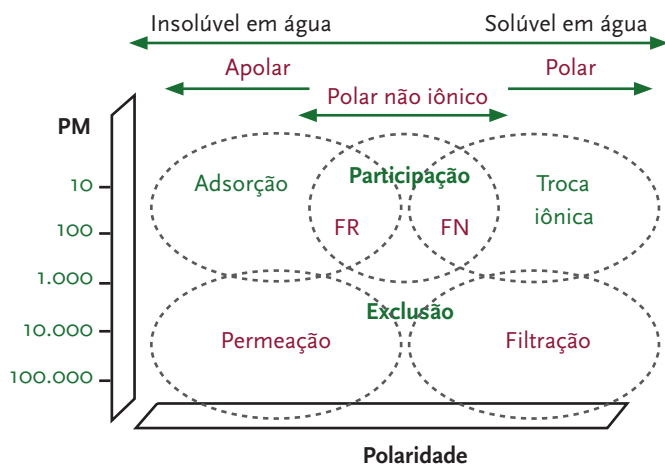


FIGURA 4 Separação cromatográfica.

Fonte: adaptada de Saunders et al., 1975.

TABELA 1 Fases estacionárias típicas em HPLC

Tipo de empacotamento	Funcionalidade da superfície	Polaridade
Fase sólida (adsorção)		
Sílica	-Si-O-Si-OH	Alta
Alumina		
ácida	-O-Al-Cl	Alta
básica	-O-Al-O-Na	Alta
neutra	-O-Al-O-Al	Alta
Fases ligadas		
Ciano	-CN	Intermediária
Diol	-OH e -C=O	Intermediária/baixa
Éter	-(CH ₂ -OCH ₂) _n -CH ₂ OH	Intermediária/baixa
	Aromático-O	Baixa
	Aromático-N	Baixa
Octil	-(CH ₂) ₈ H	Baixa
Fenil	-C ₆ H ₅	Muito baixa
Octadecil	-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	Muito baixa

Fonte: adaptada de Saunders et al., 1975.

Sistemas de LC-MS não permitem a utilização de tampões não voláteis de modo que, se a fase móvel precisar ser tamponada, recomenda-se a utilização de sais voláteis de amônio.

Um par muito utilizado é o formiato de amônio/ácido fórmico. Para os compostos ficarem mais retidos na coluna, o pH da fase será fundamental, e a eluição no exemplo de colunas de fase reversa se dá pelo aumento da proporção do solvente mais apolar (p. ex., metanol ou acetonitrila).

Uma corrida por gradiente, na maioria dos casos, ajuda a separar os picos do volume morto da coluna, e, ao mesmo tempo, faz com que se tornem mais estreitos e mais altos. O gradiente, em sua etapa final, limpa a coluna de compostos hidrofóbicos que possam estar presentes na matriz de trabalho.

Otimização das condições de separação e detecção

Nessa etapa, são otimizados ainda através da injeção de padrões dos compostos de interesse em solvente parâmetros, como:

- Vazão da fase móvel, de acordo com o formato de coluna utilizado;
- Proporção inicial do solvente orgânico;
- Duração e inclinação do gradiente;
- Duração da etapa de limpeza da coluna e equilíbrio;
- Ajuste fino nas voltagens e energias de colisão para maximizar resposta da transição de quantificação.

Ao final dessa avaliação, iniciam-se as injeções da matriz de trabalho passada pelo processo de preparo de amostra (extração, precipitação etc.) e adicionada do padrão interno respectivo. Pode-se fazer nessa etapa uma rápida avaliação da linearidade e da faixa de trabalho injetando-se padrões mais próximos das faixas analíticas de interesse. A diluição da amostra final deve, preferencialmente, dar-se na proporção inicial do gradiente analítico, para preservar o melhor formato de pico.

TROUBLESHOOTING E AVALIAÇÃO DO MÉTODO

Ao se injetar a matriz contendo o respectivo padrão interno, é possível avaliar a qualidade da separação e detecção. Para isso, nessa etapa, deve-se ser capaz de:

- Conseguir uma resposta proporcional ao incremento de concentração;
- Garantir que todos os picos eluam distantes do volume morto;
- Avaliar o formato dos picos;
- Conseguir uma resposta para baixas concentrações e em conformidade com o objetivo do método analítico;
- Conseguir avaliar todas as transições para cada componente e seus respectivos padrões internos (transição de quantificação e transições de confirmação);
- Atender a outros critérios de qualidade.

O *troubleshooting* consiste em responder a questões como as mencionadas anteriormente; caso alguma delas não esteja de acordo com o esperado, deve-se retornar à etapa B ou à etapa respectiva do tema.

VALIDAÇÃO ANALÍTICA

Trata-se da etapa final em um método desenvolvido em laboratório e consiste em uma série de testes e experimentos realizados para comprovar que o método atende aos requisitos analíticos e de qualidade. Esse tema será abordado em outra oportunidade.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ANGEL TE, ARYAL UK, HENGEL SM, ET AL. Mass spectrometry-based proteomics: existing capabilities and future directions. *Chem Soc Rev.* 2012;41(10):3912-3928.
- CEGLAREK U, LEMBCKE J, FIEDLER GM, WERNER M, WITZIGMANN H, HAUSS JP, ET AL. Rapid simultaneous quantification of immunosuppressants in transplant patients by turbulent flow chromatography combined with tandem mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta.* 2004;346(2):181-90.
- CHAPMAN JR, ERROCK GA, RACE JA. Science and technology in Manchester: the nurture of mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* 1997.
- CLARKE W, RHEA JM, MOLINARO R. Challenges in implementing clinical liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods – seeing the light at the end of the tunnel. *Journal of Mass Spectrometry.* 2013.
- GANCHOFF J. Analytical Chemistry: an introduction. In: Skoog DA, West DM, Holler FJ. *Journal of Chemical Education.* 1994.
- GRIFFITHS IW, THOMSON JJ. The centenary of his discovery of the electron and of his invention of mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* 1997.
- JENNIFER G. A brief history of mass spectrometry. *Analytical Chemistry.* 2008;80(15):5678-83.
- LEE MS. *Mass Spectrometry Handbook.* 2012;S.l.:s.n.
- LEITE F. *Validação em análise química.* 4. ed. Campinas: Átomo; 2002.
- LEUNG KSY, FONG BMW. LC-MS/MS in the routine clinical laboratory: Has its time come? *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 2014;S.l.:s.n.
- MURRAY KK. Definitions of terms relating to mass spectrometry – IUPAC Recommendations (2013). *Pure and Applied Chemistry.* 2013.
- SAID R, POHANKA A, ABDEL-REHIM M, ET AL. Determination of four immunosuppressive drugs in whole blood using MEPS and LC-MS/MS allowing automated sample work-up and analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012;897:42-9.
- SKELLERN GG. *Practical HPLC methodology and applications.* In: Bidlingmeyer BA. Chichester: Wiley; 1993.
- THERMOFISHER SCIENTIFIC. *TSQ Endura and TSQ Quantiva Hardware Manual (2017).* Disponível em: <<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/manuals/Man-80100-97014-TSQ-Endura-Quantiva-Hardware-Man8010097014-EN.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2020.
- VALDEMIR MC. The coming of age of liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry in the endocrinology laboratory. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences.* 2012;l:s.n.
- VESSECCHI R, LOPES NP, GOZZO FC, ET AL. Nomenclaturas de espectrometria de massas em língua portuguesa. *Química Nova.* 2011. Disponível em: <http://quimicanova.s bq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=4582>. Acesso em: 20 abr. 2020.
- VOGESER M, ZHANG YV. Understanding the strategic landscape surrounding the implementation of mass spectrometry in the clinical laboratory: a SWOT analysis. *Clinical Mass Spectrometry.* 2018;S.l.:s.n.
- WATSON JT, SPARKMAN OD. *Introduction to mass spectrometry: instrumentation, applications and strategies for data interpretation.* 4. ed. Chichester: Wiley; 2007.

Paschoalina Romano, Leonard de Vinci Kanda Kupa,
Maria Severina dos Santos, Nilo José Coêlho Duarte,
Marc Yves Chalom, Pêrsio de Almeida Rezende Ebner

A **NECESSIDADE DE** ferramentas analíticas com alta sensibilidade, que possam monitorar compostos em concentrações muito baixas, faz com que métodos baseados na espectrometria de massas de repetição acoplada à cromatografia líquida (LC-MS/MS) representem a opção mais adequada. A espectrometria de massas tem como princípio a geração de íons e sua separação de acordo com a razão massa/carga (m/z). Há uma variedade de técnicas de ionização usadas em espectrometria de massas. Um fator importante é a energia transferida durante o processo de ionização. Dependendo da quantidade de energia nesse processo, pode-se gerar uma extensa ou pouca fragmentação do íon precursor.

Apesar da especificidade analítica superior desses métodos, a interferência pode surgir em qualquer momento antes ou durante o fluxo de trabalho do teste. A LC-MS/MS é uma técnica altamente sofisticada, que necessita de validação e controle de qualidade rígido para que seus métodos funcionem do modo esperado. A automação ainda não é uma realidade para a quase totalidade dos métodos em LC-MS/MS, e as fases de desenvolvimento e validação devem ser bem controladas para evitar erros nas análises.

As condições de análise são dependentes da matriz da amostra, do método de extração na fase pré-analítica, do tamanho da molécula de interesse, do tipo de soluto e do tipo de solvente. São fatores que afetam a formação de íons em *electrospray* (ESI), mais comumente utilizada em laboratórios clínicos para a maioria das drogas de interesse:

- Variáveis do sistema: campo elétrico, diâmetro do capilar e voltagem do capilar;
- Variáveis do composto: atividade superficial, afinidade por prótons e energia de solvatação;
- Variáveis do método: fluxo de fase móvel e concentração de eletrólitos.

Os procedimentos de validação do processo analítico empregados para garantia da qualidade das medições químicas são realizados por meio da sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade.

Na validação de métodos bioanalíticos, são importantes:

- Qualificação analítica do equipamento;
- Conformidade do sistema: precisão, exatidão, linearidade e robustez;
- Estabilidade das fases móveis e de amostras.

Para gerar resultados reprodutíveis e seguros, as estabilidades das amostras, dos padrões, dos solventes e das fases móveis precisam ser avaliadas antes do início da validação do método.

A presença de interferência afeta a exatidão e a precisão do método e, portanto, a robustez. Os testes de interferência se dividem em duas categorias:

- Teste direto do efeito de substâncias específicas na concentração do analito;
- Avaliação de interferências não identificadas oriundas da matriz da amostra e qualquer molécula adicionada à matriz, ou seja, efeitos de matriz.

No desenvolvimento e na validação do método, os laboratórios precisam testar a sua robustez na presença de potenciais interferentes em amostras de pacientes, como hemólise, icterícia, lipemia, medicamentos prescritos nas condições para as quais o teste é oferecido, suplementos dietéticos etc., sempre que possível, de acordo com a disponibilidade de padrões para esses interferentes.

A diretriz do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), EP7-A2, seção 5.4, oferece recomendações para uma possível seleção interferente de substâncias.

Na LC-MS/MS, os laboratórios precisam prestar atenção especial aos compostos que são isobáricos com o analito/padrão interno, que podem interferir se não forem cromatograficamente separados.

Para atenuar a interferência, são necessários:

- Curva de calibração feita na matriz;
- Padrões internos análogos ou marcados isotopicamente (deuterados);
- Melhora da limpeza da amostra (*clean up*);
- Uso de cromatografia para separar componentes que coeluem.

A validação compreende um processo de garantia da qualidade das medições químicas, de modo que sejam gerados dados confiáveis. Diferentes guias fornecem as diretrizes para realização da validação, como: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), Eurachem, International Conference on Harmonization (ICH), Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) e United States Pharmacopeia (USP).

Para todos os testes que compõem a validação de um método por LC-MS/MS em calibradores, controles internos, branco de matriz e amostras, recomenda-se adicionar um calibrador interno, cuja concentração será sempre a mesma. A área desse calibrador interno deve ser analisada a cada rodada e se manter estável. Deve-se observar o íon *ratio* (razão de íons entre o precursor e os íons produto). O calibrador interno deve apresentar características físico-químicas semelhantes às da molécula de interesse, ter um tempo de retenção próximo e pureza adequada. A relação entre o sinal e o ruído (em relação à linha-base do solvente) para uma quantificação adequada deverá ser de 10 vezes do sinal em relação ao ruído.

Na prática, a validação para esses métodos inclui os requisitos: precisão, exatidão, limite inferior de quantificação, linearidade, limite de detecção, avaliação da robustez, *carryover*, estudo de interferentes endógenos e exógenos (se possível), estabilidade e análise de efeito matriz. Recomenda-se o uso do mesmo lote de fases móveis, calibradores, controles de qualidade e coluna para todo o processo de validação.

O ideal é que sejam preparadas amostras pelo mesmo operador para os testes de precisão e exatidão e que ele tenha passado por um treinamento adequado e esteja habilitado para o preparo de soluções e o manuseio do equipamento. Os solventes devem ter um grau de pureza adequado (superior a 98,8%). A água deve ser grau SRW. Um levantamento

bibliográfico inicial é aconselhável para conhecer as características físico-químicas da molécula a ser estudada na validação.

EXATIDÃO

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais, obtidos pelo método em estudo, em relação a um valor aceito como verdadeiro. Esse parâmetro pode ser avaliado a partir da análise de soluções em diferentes concentrações e de acordo com a faixa de trabalho das curvas analíticas de cada analito de interesse e, ainda, por ensaios de recuperação em que se adiciona o padrão analítico a uma amostra branca (fortificação) e o valor encontrado na análise (concentração observada) é comparado ao valor adicionado à amostra (concentração teórica). Para o cálculo da concentração experimental, são utilizadas as curvas analíticas do respectivo composto. A exatidão é calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra. A exatidão das concentrações calculadas é obtida a partir da equação: $(\text{concentração esperada} - \text{concentração obtida}) / \text{concentração esperada} \times 100$.

PRECISÃO

A precisão é avaliada por meio dos ensaios de repetibilidade (intradia) e precisão intermediária, que é a reprodutibilidade (interdia).

A repetibilidade é avaliada a partir da análise de soluções em três concentrações diferentes e em relação à faixa de calibração: baixa, média e alta. Cada solução é preparada para obter 20 replicatas. As análises são realizadas em dois períodos do dia (manhã e tarde). A precisão intermediária (interdia) é avaliada a partir da análise de soluções de três concentrações diferentes em relação à faixa de calibração: baixa, média e alta. Cada solução é preparada em duplicata. Esse procedimento é realizado durante 5 dias consecutivos, em dois períodos diferentes do dia (manhã e tarde). Ao final, são obtidas 20 análises de cada concentração. Desses dados obtidos, é avaliado o coeficiente de variação (CV%) ou o desvio-padrão relativo (RSD/DPR).

São considerados adequados CV% obtidos inferiores ao máximo aceitável, definido na literatura de acordo com a variabilidade biológica do analito.

LINEARIDADE

A linearidade é avaliada a partir da construção de curvas analíticas. Diante das distintas polaridades e absorvidade dos analitos, diferentes soluções-estoque são preparadas para viabilizar a construção das curvas analíticas.

O estabelecimento do intervalo analítico de medida (AMR) é obtido por meio dos resultados nos estudos de estabelecimento da sensibilidade e da linearidade. O intervalo de relato clínico (CRR) é definido pelo corpo clínico do laboratório, com base na relevância clínica.

As amostras com concentração superior ao AMR serão determinadas após a diluição a critério do CRR. Os resultados obtidos em amostras diluídas serão multiplicados pelo fator de diluição.

LIMITE DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) são obtidos com base na relação sinal/ruído de três vezes o ruído da linha base do solvente (LOD) e dez vezes para o limite inferior

de quantificação (LOQ). Realizam-se diluições sucessivas de soluções-padrões até serem obtidos valores de concentração com relação sinal ≥ 3 para LOD e ≥ 10 para LOQ. O LOD pode ser obtido pela leitura do branco da matriz, contendo o calibrador interno (o LOD é considerado ainda três vezes o desvio-padrão de 20 replicatas do branco da matriz).

EFEITO MATRIZ

O efeito matriz é avaliado pela comparabilidade entre a curva de calibração preparada em solvente e em matriz (soro, urina, saliva, plasma etc.). Efeito da matriz em porcentagem = (resposta dos analitos adicionados após extração/resposta dos padrões no solvente - 1) \times 100; se $< 20\%$, não há interferência da matriz nos resultados obtidos. Verifica-se se a ionização está ocorrendo de maneira adequada e se a extração da amostra (precipitação de proteínas e fosfolípidos) foi adequada.

CARRYOVER

No estudo do *carryover*, foram utilizadas 11 alíquotas de uma amostra de concentração conhecida baixa (B) e 10 alíquotas de uma amostra de concentração conhecida alta (A), analisadas sequencialmente para verificar a eficácia do sistema de lavagem do equipamento.

INTERFERENTES

Os interferentes testados podem ser: bilirrubina, lipemia e hemólise. Com um *pool* de amostras, são feitas alíquotas que recebem diferentes concentrações de um desses interferentes. Essas amostras com interferentes são analisadas em quintuplicata e aceitam-se como não interferentes valores que diferem em $\pm 10\%$ em relação aos valores esperados nas amostras sem interferentes.

ESTABILIDADE

A estabilidade é testada com alíquotas de um *pool* de concentração conhecido, das quais cinco alíquotas são colocadas em temperatura ambiente, cinco alíquotas em uma geladeira (2 a 8°C) e cinco alíquotas em um freezer a -80°C. Uma alíquota de cada é retirada e analisada depois de 1 semana, 1 mês, 2 meses e após 3 meses ou mais. Para a avaliação da estabilidade de curto prazo, é considerado o período de 1 mês.

ROBUSTEZ

Para o estudo de robustez, o pH das fases móveis pode ser alterado (p. ex., pH de 4 para pH de 1,5 com a adição de ácido fórmico, aumentando, assim, sua concentração na solução). Com operadores diferentes, colunas diferentes são comparadas aos dados originais. Verifica-se que pequenas e deliberadas modificações no método podem interferir na sua especificidade e seletividade.

MÉTODOS DE ANÁLISE DOS DADOS

Para as análises estatísticas, podem ser utilizados os *softwares*: Microsoft Excel, Minitab 15.0 e EP Evaluator versão 12.2.

As ferramentas estatísticas empregam:

- Estatística descritiva: média, desvio-padrão, distribuição dos dados, valores mínimos, máximos e medianas dos valores;

- Intervalo de confiança;
- Análise de regressão;
- *Boxplot*;
- Bland Altman e/ou índice de erro;
- Coeficiente de correlação de Pearson (r);
- Coeficiente de determinação (r²);
- Anova;
- Equivalência entre sistemas e solventes para estudo da robustez, empregando-se critérios estatísticos e clínicos.

Após o conhecimento do desempenho do método, obtido pela validação, ainda é necessário o acompanhamento de sua precisão ao longo do tempo, o que pode ser obtido por meio do controle de qualidade interno (CQI), avaliado a cada rodada de análise das amostras e de controle de proficiência (CQE) para a avaliação da exatidão.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Liquid chromatography-mass spectrometry methods; approved guideline. CLSI document EP62-A (2014). Disponível em: <www.clsi.org>. Acesso em: 1 out. 2019.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Approved Guideline EP-6; Evaluation of linearity of quantitative methods. 2. ed. Wayne, PA: CLSI; 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTES (CLSI). Mass spectrometry in the clinical laboratory: general principle and guidance; Approved guideline. CLSI document C50-A. 2007 Disponível em: <www.clsi.org>. Acesso em: 23 out. 2019.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTES (CLSI). User verification for precision and estimation of bias; approved guideline. CLSI document EP-15 A3.2014. Disponível em: <www.clsi.org>. Acesso em: 23 out. 2019.

ICH GUIDELINE 2005. International Conference on Harmonisation (ICH) of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use ich harmonised tripartite guideline validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1) current step 4 version parent guideline dated 27 october 1994 (complementary guideline on methodology dated 6 November 1996 incorporated in november 2005). Disponível em: <https://Database.ich.org/Sites/Default/Files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>. Acesso em: 3 abr. 2020.

LUNN G. HPLC Methods for Recently Approved Pharmaceuticals. Chichester: Oliveira CA, Mendes ME. Gestão da fase analítica do laboratório – como assegurar a qualidade na prática. Rio de Janeiro: Controllab; 2011. Disponível em: <http://www.controllab.com.br/pdf/gestaofaseanalitica vol1.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2020.

RIBANI M, MADER MA, BOTOLLI CBG, ET AL. Métodos cromatográficos e eletroforéticos. Quim Nova. 2004;27(0):1-10.

ROMANO P, AGENA F, EBNER PAR, ET AL. Longitudinal pharmacokinetics of mycophenolic acid in elderly renal transplant recipients compared to a younger control group: data from the neverold trial. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 2019 Apr;44(2):189-99.

ROMANO P, EBNER PAR. Monitoramento terapêutico de medicamentos. In: Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial – fase pré-analítica. Barueri: Manole; 2018. p. 386-47.

ROMANO P, FERNANDES ML, EBNER PAR, ET AL. UPLC-MS/MS assay validation for tacrolimus quantitative determination in peripheral blood T CD4+ and B CD19+ lymphocytes. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2018;152:306-14.

34 Controle da qualidade em espectrometria de massas

Paschoalina Romano, Marcio Santos Garcia,
Ricardo Alexandre dos Santos, Pésio de Almeida Rezende Ebner

A **FINALIDADE DA** utilização de ferramentas para o controle de qualidade de processos baseia-se na busca de erros e em como tentar evitá-los. As maiores causas de erro, como se sabe, estão relacionadas com a etapa pré-analítica, principalmente para processos automatizados. Porém, para métodos normalmente desenvolvidos no próprio laboratório, as causas de erros podem estar em todas as etapas do processo, desde a extração para limpeza das amostras até a ionização dos compostos e a análise dos resultados obtidos das áreas de íons de interesse, em razão dos íons precursores e produtos, e de seus calibradores internos.

São exemplos das maiores causas de erros de um processo analítico:

- Material: insumos do processo devem apresentar grau de pureza adequado;
- Mão de obra: equipe que trabalha na execução do processo – o treinamento em espectrometria de massas requer maior atenção em virtude das características que devem ser avaliadas a cada rodada de amostras, como áreas obtidas, tempo de retenção, relação entre íons gerados e relação entre o sinal e o ruído obtidos;
- Medida: monitoramento do processo, avaliação das curvas de calibração, controles internos, calibradores internos e cromatogramas gerados;
- Máquina: tecnologia envolvida no processo – conhecer a sensibilidade do equipamento, a limpeza de peças e a manutenção diária adequadas do equipamento;
- Método: fluxo do processo – a verificação da extração, se está sendo eficaz para precipitar proteínas e fosfolípidios, que podem causar supressão iônica e resultados inadequados.

Para controlar esses processos, uma validação prévia, antes da implantação do método, é de suma importância.

Para a verificação da exatidão do método, são utilizados calibradores com concentrações conhecidas a cada rodada de análises laboratoriais.

A calibração é necessária em cada corrida e em cada novo lote de reagentes. É preciso verificar a precisão do método com pelo menos duas concentrações de controle, de acordo com os requisitos de controle de qualidade estabelecidos pelo laboratório. Se os resultados de controle saírem dos limites aceitáveis, pode ser necessária a recalibração.

Quando a espectrometria de massas de repetição acoplada à cromatografia líquida (LC-MS/MS) é utilizada, os calibradores são preparados no próprio laboratório na matriz de uso (sangue total, soro, plasma, saliva, urina etc.), sem a droga. Usa-se um padrão interno (IS – *internal standard*) para verificação da correta ionização da molécula e separação cromatográfica por meio de colunas previamente testadas no desenvolvimento do método.

A relação entre o sinal medido (área ou altura do pico cromatográfico) e a concentração do analito é expressa pela curva de calibração, o número de calibradores adequados deve ser de 5 a 8 concentrações diferentes preparados na mesma matriz da amostra, abrangendo os limites de concentrações terapêuticas esperadas.

Concentração da droga = $(\text{área da amostra} \times \text{padrão interno (IS) no calibrador} / \text{área do calibrador} \times \text{IS na amostra}) \times \text{concentração do calibrador}$.

São fatores que devem ser considerados na determinação da variabilidade do método analítico:

- Preparo das amostras: estabilidade das soluções analíticas e tempo de extração;
- Cromatografia líquida: variação do pH da fase móvel, variação na composição da fase móvel, diferentes lotes ou fabricantes de colunas, temperatura da coluna e fluxo da fase móvel;
- Espectrômetro de massas: voltagem do cone e capilar, volume e temperatura dos gases de colisão e dessolvatação.

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

Deve ser analisado a cada rodada de amostras, na mesma matriz das amostras analisadas e seguir as regras de Westgard para análise de seu desempenho diário e acompanhamento de coeficientes de variação (CV%) mensais, que precisam estar dentro dos limites de aceitabilidade sugeridos pelos estudos de variabilidade biológica ou do Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA), e, para cada analito, devem ser definidos o erro total e CV% aceitáveis, de acordo com o descrito na literatura; quando não estiverem disponíveis na literatura, podem ser utilizados os coeficientes de variabilidade do perfil de participantes de exames de proficiência.

A confiabilidade da medida inclui:

- Calibração do instrumento;
- Tolerância do ensaio;
- Frequência das verificações periódicas.

Como as soluções de calibradores e de controles diluídas são preparadas a partir de uma solução-estoque, é necessária a confirmação das operações de preparo delas com uso de duas soluções-estoque de diferentes concentrações. Sempre que possível, é aconselhável o uso de calibradores e de controles comerciais.

Assim, é comum utilizar substâncias de referência de diferentes lotes ou fabricantes e empregar uma delas para estabelecer a curva analítica e outra como amostra de controle. Amostras, controles e calibradores devem ser submetidos a todas as etapas do ensaio.

Os resultados de controle são mostrados em gráficos de controle, nos quais são plotados as médias e ± 2 desvios-padrões. Devem ser seguidas as regras de Westgard.

Um laboratório, ao utilizar métodos analíticos validados, cumpriu apenas uma etapa em seu controle de qualidade interno. Além de métodos confiáveis, terá que demonstrar que em seu dia a dia produz resultados confiáveis, isto é, obtidos com a inclusão de materiais de referência e a execução de análises em duplicata, se recomendável, no trabalho de rotina, e a participação em estudos colaborativos para teste de proficiência do laboratório.

O material de controle usado na rotina não precisa ser certificado. O próprio laboratório pode preparar o material de controle doméstico em quantidade suficiente para alguns meses de trabalho, dependendo da estabilidade de amostras, avaliada previamente na validação. Para isso, é recomendável escolher um material semelhante em composição aos que são objeto da análise. O controle produzido no laboratório deve ser caracterizado por análises executadas em dias diferentes, até que se consiga um número elevado de resultados, permitindo o conhecimento da incerteza associada aos resultados obtidos, assim como a eliminação de eventuais resultados fora da média. De preferência, o processo de caracterização do controle deve incluir análises de material e testes de recuperação que confirmem maior segurança à precisão (erro aleatório).

ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA

A participação em exames de proficiência do Colégio Americano de Patologia Clínica (CAP) ou nacional garante a exatidão dos métodos utilizados, quando comparados a laboratórios internacionais e nacionais que utilizam a mesma metodologia. Devem ser acompanhadas as tendências (erro sistemático) em cada rodada.

Os dados de exames de proficiência são uma fonte rica de informações. Além da precisão interlaboratorial e do viés, a média intralaboratorial afere a precisão e o viés ao enviar amostras idênticas em diferentes momentos. Permite, ainda, a identificação de um erro de calibração.

O cálculo de erro total é obtido pela equação:

$$(1,65 \times CV \text{ mensal}) + \text{tendência ou } bias^*$$

* obtida da rodada do exame de proficiência em relação aos outros participantes

O cálculo é realizado a cada rodada do exame de proficiência e deve ser avaliado de acordo com definições prévias de qual é o erro total aceitável (obtidos da literatura ou dos limites estabelecidos em exames de proficiência).

Para métodos de LC-MS/MS, normalmente não estão definidos os coeficientes de variação e erros totais aceitáveis, podendo ser seguidas as recomendações definidas pela hierarquia, descritas a seguir em ordem de prioridade:

1. Avaliação do efeito do desempenho analítico na tomada de decisão em situações clínicas específicas (estratégia ideal para definir as especificações da qualidade);
2. Avaliação baseada no modo como os médicos interpretam os resultados dos exames.
3. Recomendações de sociedades científicas;
4. Especificações da qualidade definidas por entidades regulamentadoras, acreditadoras ou provedores de controle de qualidade externo;
5. Dados publicados sobre o estado de arte, como publicações sobre metodologias.

MÉTRICA SIGMA

O termo Sigma mede a capacidade do processo em trabalhar livre de falhas. A métrica Sigma avalia o número de defeitos por milhão de oportunidades (DPMO), seguindo-se os passos:

- Definir os requisitos de qualidade (erro total e especificação da qualidade);
- Avaliar o desempenho do sistema analítico para obter estimativas da imprecisão e da inexatidão;
- Calcular o Sigma do processo: $\text{Sigma} = [\text{erro total} - \text{erro sistemático (bias)}] / \text{erro aleatório (CV)}$.

RESULTADOS FORA DOS LIMITES ESPERADOS

Deve ser obtida uma documentação completa da falha no processo e qualquer consequência, tão logo seja evidenciada, com uma investigação para definir a causa ou as causas relativas ao erro observado; realizar uma ação corretiva eficaz; tomar ações preventivas para evitar novas ocorrências ou minimizar o erro e fazer uma análise de tendência para o erro ocorrido.

A estatística clássica (escore Z) permite estabelecer o erro total (ET) = 3 CV(%) ou 2 CV(%). Internacionalmente, é comum a adoção de 3 CV(%). Um exame de proficiência pode apresentar até 30% de *outliers*. Sistemas abertos tendem a apresentar CV (%) mais elevados. A não realização de validação e a não utilização de calibradores e demais ferramentas de garantia da qualidade influenciam a variabilidade, comprometendo todo o sistema de análise. Podem-se avaliar o erro aleatório e o erro sistemático conforme as equações:

$$\text{Erro aleatório} = \frac{1}{4} \text{ erro total e erro sistemático} = \frac{1}{2} \text{ erro total}$$

As investigações das causas de erros (imprecisão ou inexatidão) devem abranger uma rastreabilidade completa, desde quem efetuou as análises, preparo das fases móveis, calibradores, controles; quais os lotes e a validade dos reagentes utilizados, a análise das áreas obtidas para controles, calibradores e calibradores internos, o tempo de retenção do analito na coluna, a validade e o desempenho da coluna cromatográfica, análise do formato dos cromatogramas obtidos.

Em métodos cromatográficos, devem-se tomar as precauções necessárias para garantir a pureza dos picos cromatográficos. A utilização de testes de pureza de pico com auxílio de detector de espectrometria de massas é interessante para demonstrar que o pico cromatográfico é atribuído a um único componente.

A análise do desempenho dos calibradores internos acrescentados a cada amostra, controles e calibradores deve ser acompanhada diariamente e representa maior segurança para obtenção de resultados confiáveis.

A correta operação e manutenção dos equipamentos e o treinamento dos colaboradores contribuem para a redução de erros e do custo das análises.

Se dois ou mais equipamentos realizam as mesmas análises, recomenda-se a comparabilidade entre eles, duas vezes ao ano, para garantir que estão harmonizados quanto aos seus resultados.

Com a garantia da qualidade estabelecida para o processo, pode-se fornecer resultados laboratoriais clinicamente válidos, que possam contribuir para as decisões médicas.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

CAULCUTT R, BODDY R. Statistics for analytical chemists. Londres: Chapman and Hall; 1983.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Criteria for evaluating acceptable methods of analysis for Codex purposes, Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, Documento CX/MAS 98/5, 1998.

COLLINS CH, BRAGA GL, BONATO PS. Introdução a métodos cromatográficos. 6. ed. Campinas: Unicamp; 1995.

ENGELHARDT H. High performance liquid chromatography. Saarbrücken: Springer Verlag; 1979.

- HORWITZ W. Protocol for the design, conduct and interpretation of collaborative studies. *Pure Appl Chem*. 1988;60:855-67.
- INTERNATIONAL STANDARDIZATION ORGANIZATION (ISO). Accreditation of laboratories, ISO Guide 25. Genebra: ISO; 1990.
- POOLE CF, POOLE SK. *Chromatography today*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1991.
- OLIVEIRA CA, MENDES ME. Gestão da fase analítica do laboratório – como assegurar a qualidade na prática. Volume I. Rio de Janeiro: Controllab; 2011. Disponível em: <[http://www.controllab.com.br/pdf/gestaofaseanalitica vol1.pdf](http://www.controllab.com.br/pdf/gestaofaseanalitica%20vol1.pdf)>. Acesso em: 1 out. 2019.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Methods; Approved guideline. CLSI document EP62-A. 2014. Disponível em: <www.clsi.org>. Acesso em: 1 out. 2019.
- SUMITA NM, MENDES ME, ROMANO P, ET AL. The benefits of the implementation of the Six Sigma methodology in a clinical chemistry laboratory process of a public medical school hospital. *Clinical Chemistry*. 2008;54(6):A51-A51.

INTRODUÇÃO

A padronização morfológica depende, fundamentalmente, da qualidade dos corantes, das lâminas de vidro, da qualidade das distensões coradas, dos microscópios e dos microscopistas. O ponto mais sensível dessa padronização é o microscopista, pois é nele que se eleva o nível de subjetividade, em virtude dos componentes pessoais da interpretação. O treinamento em microscopia, com avaliação das leituras, é o melhor meio de atingir os objetivos de padronização, habilidade e experiência. Essas avaliações devem ser analisadas e guardadas em pastas específicas para apresentação, quando solicitadas (garantia da consistência). Neste capítulo, serão apresentados os principais testes estatísticos que podem ser usados na comparabilidade entre microscopistas. O laboratório deve escolher os testes que melhor se adaptem à sua realidade e estabelecer o período de comparação entre os microscopistas.

TABELA DE RÜMKE NA CONTAGEM DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS

Essa tabela é usada para dados da contagem diferencial de leucócitos com intervalos de confiança de 95%. A tabela de Rümke (Tabela 1) avalia se o diferencial leucocitário do microscopista é adequado em relação às faixas de contagem esperadas da tabela.

Exemplo

Para avaliação trimestral da contagem diferencial de leucócitos, o gestor da qualidade forneceu a um microscopista da rotina um esfregaço corado para análise (Tabela 2).

ESTATÍSTICA DE CHAUVENET PARA OUTLIERS

A estatística de Chauvenet é usada para dados quantitativos, com *ranges* específicos em relação a um fator interligado ao número de microscopistas. O teste avalia se há leituras deslocadas (*outliers*, valores discrepantes) em um grupo de dados de leituras de dois ou mais microscopistas.

$$\text{Range de Chauvenet} = \text{média} \pm \text{fator} \times \text{desvio-padrão}$$

Na Tabela 3, é apresentada a tabela de Chauvenet que correlaciona o número de participantes com o fator a ser usado.

TABELA 1 Tabela de Rümke resumida com n = 100 e n = 200 células com IC de 95%

A	n = 100	n = 200	A	n = 100	n = 200	A	n = 100	n = 200
0	0,0 – 3,6	0,0 – 1,8	20	12,7 – 29,2	14,7 – 26,2	80	70,8 – 87,3	73,8 – 85,3
1	0,0 – 5,4	0,1 – 3,6	25	16,9 – 34,7	19,2 – 31,6	85	76,5 – 91,4	79,3 – 89,6
2	0,0 – 7,0	0,6 – 5,0	30	21,2 – 40,0	23,7 – 36,9	90	82,4 – 95,1	85,0 – 93,8
3	0,6 – 8,5	1,1 – 6,4	35	25,7 – 45,2	28,4 – 42,0	91	83,6 – 95,8	86,1 – 94,6
4	1,1 – 9,9	1,7 – 7,7	40	30,3 – 50,3	33,2 – 47,1	92	84,8 – 96,5	87,3 – 95,4
5	1,6 – 11,3	2,4 – 9,0	45	35,0 – 55,3	38,0 – 52,2	93	86,1 – 97,1	88,5 – 96,1
6	2,2 – 12,6	3,1 – 10,2	50	39,8 – 60,2	42,9 – 57,1	94	87,4 – 97,8	89,8 – 96,9
7	2,9 – 13,9	3,9 – 11,5	55	44,7 – 65,0	47,8 – 62,0	95	88,7 – 98,4	91,0 – 97,6
8	3,5 – 15,2	4,6 – 12,7	60	49,7 – 69,7	52,9 – 66,8	96	90,1 – 98,9	92,3 – 98,3
9	4,2 – 16,4	5,4 – 13,9	65	54,8 – 74,3	58,0 – 71,6	97	91,5 – 99,4	93,6 – 98,9
10	4,9 – 17,6	6,2 – 15,0	70	60,0 – 78,8	63,1 – 76,3	98	93,0 – 99,9	95,0 – 99,4
15	8,6 – 23,5	10,4 – 20,7	75	65,3 – 83,1	68,4 – 80,8	100	96,4 – 100,0	98,2 – 100,0

A = percentual observado de determinado tipo de leucócitos; n = número de leucócitos contados.

Fonte: adaptada de Henry, 2008.

TABELA 2 Avaliação da contagem diferencial do microscopista pela tabela de Rümke

Sistema de contagem	Número de células analisadas (n)	Neutrófilos bastonetes (%)	Neutrófilos segmentados (%)	Eosinófilos (%)	Basófilos (%)	Linfócitos (%)	Monócitos (%)
Contador celular calibrado (A)	Cerca de 10.000	0	25	1	1	70	3
Tabela de Rümke	100	0,0 a 3,6	16,9 a 34,7	0,0 a 5,4	0,0 a 5,4	60,0 a 78,8	0,6 a 8,5
Microscopista	100	0	27	2	0	66	5

Fonte: adaptada de Controllab, 2010.

Comentário: as contagens do microscopista foram adequadas para cada tipo celular em comparação com a tabela de Rümke (IC 95%).

TABELA 3 Tabela de Chauvenet

Número de participantes	Fator
2	1,15
3	1,38
4	1,54
5	1,65
6	1,73
7	1,80
8	1,86
9	1,91
10	1,96
12	2,04
15	2,13
20	2,14

Fonte: adaptada de Controllab, 2010; Raphael, 1983.

Exemplo

Para cinco microscopistas independentes (não se comunicam entre si), o gestor da qualidade entregou uma lâmina corada e solicitou as contagens diferenciais de leucócitos. O resultado das leituras está apresentado na Tabela 4.

TABELA 4 Contagens diferenciais de leucócitos de cinco microscopistas independentes

Sistema de contagem	Número de células analisadas	Neutrófilos bastonetes (%)	Neutrófilos segmentados (%)	Eosinófilos (%)	Basófilos (%)	Linfócitos (%)	Monócitos (%)
Contador celular calibrado	Cerca de 10.000	3	61	2	1	27	6
Microscopista 1	100	4	60	2	2	25	7
Microscopista 2	100	2	62	2	2	27	5
Microscopista 3	100	3	66	0	1	24	6
Microscopista 4	100	1	54	1	0	(40)	4
Microscopista 5	100	3	62	2	1	26	6
Média		2,6	60,8	1,4	1,2	28,4	5,6
Desvio-padrão		1,14	4,38	0,89	0,83	6,58	1,14
Range de Chauvenet	F = 1,65	0,7 a 4,4	53,5 a 68,0	0,0 a 2,8	0,0 a 2,5	17,5 a 39,2	3,7 a 7,4

Fonte: adaptada de Controllab, 2010.

Comentário: a contagem de linfócitos (40%) do microscopista 4, ficou deslocada (*outlier*) do grupo (17,5 a 39,2). O gestor da qualidade, nesse caso, deve conversar com o microscopista, solicitar nova contagem, rever a necessidade de novo treinamento ou outra ação, para entender o ocorrido.

ESTATÍSTICA KAPPA DE COHEN

A estatística kappa de Cohen é utilizada para dados nominais ou qualitativos ($n > 5$), que, usados em uma matriz de comparação e fórmulas específicas, gera o coeficiente kappa (varia de 0 a 1). Esse teste avalia o grau de concordância entre leituras de dados qualitativos de dois microscopistas independentes, através do coeficiente kappa.

Na Tabela 5, observam-se o valor de kappa e o grau de concordância entre as leituras.

TABELA 5 Classificação da concordância frente ao valor de kappa

Valor de kappa	Concordância
< 0,00	Sem concordância
0,00 a 0,19	Mínima
0,20 a 0,39	Discreta
0,40 a 0,59	Moderada
0,60 a 0,79	Boa
0,80 a 1,00	Ótima

Fonte: adaptada de Controllab, 2010.

Na Tabela 6, observa-se a matriz de concordância usada na estatística kappa de Cohen.

TABELA 6 Estatística kappa de Cohen. Matriz de concordância para dados qualitativos

Matriz de concordância				
		Microscopista 2		
	Característica	Característica 1	Característica 2	Total
Microscopista 1	Característica 1	A	B	A + B = M ₁
Microscopista 1	Característica 2	C	D	C + D = M ₀
	Total	A + C = N ₁	B + D = N ₀	N

Fórmulas para cálculo do coeficiente kappa

Concordância observada (CO) = $(A + D)/N$

Concordância esperada (CE) = $[(N_1/N) \times (M_1/N)] + [(N_0/N) \times (M_0/M)]$

Kappa (k) = $(CO - CE)/(1 - CE)$

Fonte: adaptada de Controllab, 2010; Vieira e Garrett, 2005.

O gestor da qualidade entregou a dois microscopistas independentes 20 lâminas coradas para a avaliação trimestral da pesquisa de *Plasmodium* sp. A Tabela 7 mostra a matriz de concordância com os resultados da avaliação e o resultado kappa (0,615).

TABELA 7 Matriz de concordância com resultados e valor do kappa (k) obtido

Matriz de concordância				
k = 0,615	Característica	Microscopista 2	Microscopista 2	
		Presença de <i>Plasmodium</i> sp.	Ausência de <i>Plasmodium</i> sp.	
Microscopista 1	Presença de <i>Plasmodium</i> sp.	16	0	16
Microscopista 1	Ausência de <i>Plasmodium</i> sp.	2	2	4
	Total	18	2	20

Fonte: adaptada de Controllab, 2010; Vieira e Garrett, 2005.

Comentário: O valor de kappa igual a 0,615 mostra que houve uma concordância boa entre os dois microscopistas.

CORRELAÇÃO E REGRESSÃO LINEAR

Correlação e regressão linear é um teste de hipóteses para dados quantitativos de dois microscopistas, que fornecem um coeficiente de correlação (r), uma equação de 1º grau ($y = ax + b$) e um gráfico de dispersão XY (regressão linear), que descrevem esse relacionamento. Para ver se há correlação, é preciso calcular o coeficiente de correlação (r) de Pearson e analisar o valor de p encontrado (p -value: probabilidade entre 0 e 1, de se encontrar na pesquisa, somente ao acaso, um resultado igual ou maior que um resultado já observado). O nível de significância (α) é a probabilidade (p) escolhida no início da investigação, que levará a rejeitar a hipótese de nulidade (H_0), se o valor de p estiver abaixo dela. Frequentemente, o valor de α é escolhido como $p = 0,05$ (5%), de forma arbitrária. O uso de testes de hipóteses pressupõe que os dados a serem analisados apresentem distribuição gaussiana (normal).

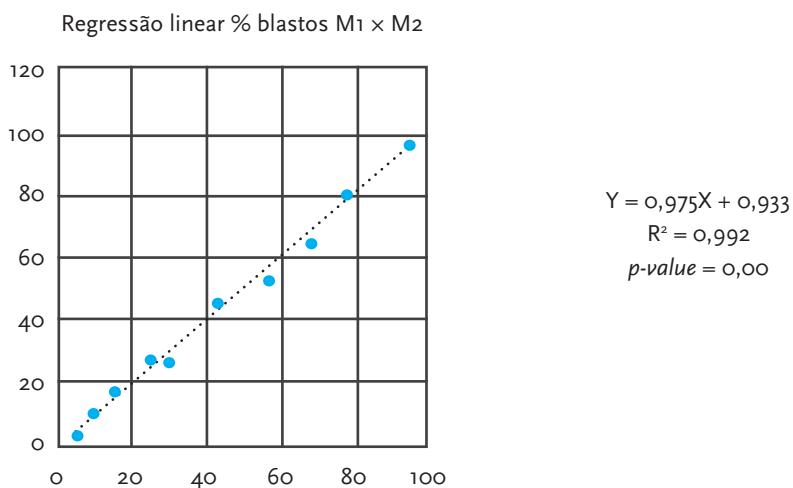
Exemplo

O gestor da qualidade quer saber a correlação e a regressão linear entre as leituras de dois microscopistas independentes (M1 e M2) em relação às porcentagens de blastos encontrados em 10 casos de leucemias. Critérios para análise: $\alpha = 0,05$. H_0 : não existe correlação ($r = 0$) entre as leituras dos microscopistas na contagem de blastos. H_a : existe correlação ($r \neq 0$) entre as leituras dos microscopistas na contagem de blastos. Na Tabela 8, observam-se os resultados das leituras das 10 lâminas por dois microscopistas (M1 e M2). A Figura 1 mostra a correlação e a regressão linear entre as leituras dos blastos.

TABELA 8 Resultados das leituras de 10 lâminas com blastos

Lâmina	M1 % blastos	M2 % blastos
1	78	80
2	30	27
3	25	28
4	15	18
5	43	46
6	5	4
7	95	96
8	10	11
9	57	53
10	68	65
Coeficiente de correlação (r)	0,996	
Coeficiente de determinação ($r^2 \times 100$)	99,2%	
Inclinação	0,975	
Intercepção	0,933	
Regressão linear	$Y = 0,975X + 0,933$	
<i>p-value</i>	0,00	

Fonte: adaptada de Doria, 1999; Controllab, 2010.

**FIGURA 1** Correlação e regressão linear entre M1 e M2 na leitura de blastos.

Fonte: adaptada de Doria, 1999; Campos, 2003.

Comentário: $r \neq 0$; p -value = 0,00: rejeito H_0 e aceito H_a . Houve uma excelente correlação linear positiva entre os dois microscopistas. O coeficiente de determinação (99,2%) indica o quanto da variação de Y pode ser explicada pela variação de X.

TESTE T (STUDENT) PARA AMOSTRAS PAREADAS

O teste t pareado é um teste de hipóteses para dados quantitativos pareados recomendado para pequenas amostragens ($n \leq 30$). As amostras são pareadas quando o objeto da análise fornece o material (lâminas coradas) para a mensuração de duas variáveis em condições padronizadas. O teste t avalia a média das diferenças entre duas populações de dados de dois microscopistas, quando as populações forem pareadas ou dependentes entre si. O gestor da qualidade selecionou nos arquivos do laboratório 10 lâminas com a presença de células de Sézary e solicitou a dois microscopistas independentes que analisassem a porcentagem dessas células em cada lâmina. Dados: $\alpha = 0,05$; H_0 : não existe variação significativa na contagem de células de Sézary entre os dois microscopistas; H_a : existe variação significativa na contagem de células de Sézary entre os dois microscopistas. Na Tabela 9, são apresentados os resultados das contagens de células de Sézary pelos dois microscopistas independentes.

TABELA 9 Análise e resultados das leituras para células de Sézary pelo teste t pareado

Lâmina	M1 % células de Sézary	M2 % células de Sézary
1	5	7
2	13	12
3	20	21
4	2	1
5	7	6
6	9	9
7	11	12
8	14	15
9	2	2
10	15	16
Média	9,8	10,1
Desvio-padrão	5,9	6,33
Teste t pareado (p -value)	0,394	

Fonte: adaptada de Controllab, 2010.

Comentário: O p -value encontrado foi 0,394, maior que 0,05. Assim, foi aceita a hipótese nula e rejeitada a hipótese alternativa. Não existe variação significativa na contagem de células de Sézary entre os dois microscopistas independentes.

TESTE F-SNEDECOR: IGUALDADE ENTRE DUAS VARIÂNCIAS

O teste F-Snedecor é um teste de hipóteses para dados quantitativos e pareados. O teste avalia se há igualdade entre as variâncias (desvio-padrão²) das leituras de dois microscopistas independentes.

Exemplo

O gestor da qualidade, querendo analisar a variância na contagem manual de reticulócitos de seus dois microscopistas plantonistas (M1 e M2), entregou a eles cinco lâminas de casos com anemia. Dados: $\alpha = 0,05$; H_0 : não existe variação significativa nas variâncias das contagens de reticulócitos entre os dois microscopistas; H_a : existe variação significativa nas variâncias das contagens de reticulócitos entre os dois microscopistas. Na Tabela 10, constam os resultados das leituras para reticulócitos analisadas pelo teste F-Snedecor.

TABELA 10 Resultados das leituras para reticulócitos avaliados pelo teste F-Snedecor

Lâminas	M1 % reticulócitos	M2 % reticulócitos
1	0,8	1,0
2	4,5	4
3	12,6	11,9
4	0,2	0,1
5	7,5	7,7
Média	5,12	4,96
Desvio-padrão	5,120	4,891
Variância	26,217	23,928
Teste F-Snedecor (<i>p-value</i>)	0,931	

Fonte: adaptada de Controllab, 2010.

Comentário: O *p-value* encontrado foi 0,931, maior que 0,05. Assim, foi aceita a hipótese nula e rejeitada a hipótese alternativa. Não existe variação significativa nas variâncias das contagens de reticulócitos entre os microscopistas.

REPETITIVIDADE E REPRODUTIBILIDADE (R&R)

A repetitividade mostra o quanto são concordantes as leituras repetidas, em condições idênticas, pelo mesmo microscopista. A reprodutibilidade reflete o quanto as mesmas leituras podem ser concordantes quando obtidas em condições não idênticas (diferentes microscopistas ou tempos diferentes). O teste avalia por meio da análise de variância Gage RR a repetitividade e a reprodutibilidade (R&R) de leituras de dois ou mais microscopistas independentes. O teste permite o uso de dados quantitativos e qualitativos (atributos) nas avaliações estatísticas. É o método mais eficiente para o estudo da variação do sistema de medição (no caso, microscopistas), verificando a sua adequação. É recomendado para

o uso desse teste que o produto entre o número de amostras e de microscopista seja maior ou igual a 15, para evitar uma restrição matemática que invalide o estudo.

Exemplo

O gestor da qualidade avaliou três novos microscopistas (M) que passaram por treinamento morfológico, a fim de liberá-los para o trabalho na rotina hematológica. Ele forneceu cinco lâminas com linfócitos atípicos e solicitou que cada uma delas fosse avaliada em duplicata, de maneira independente, em 2 dias consecutivos. Na Tabela 11, são mostrados os resultados das leituras dos três microscopistas para linfócitos atípicos.

TABELA 11 Resultados das leituras para linfócitos atípicos (LA)

Lâmina	M	1º dia		2º dia	
		1ª leitura % LA	2ª leitura % LA	1ª leitura % LA	2ª leitura % LA
1	M1	15	12	17	14
2	M1	36	34	35	38
3	M1	7	4	6	8
4	M1	13	15	12	14
5	M1	25	22	28	24
1	M2	13	11	15	13
2	M2	38	35	32	37
3	M2	9	8	10	9
4	M2	12	11	13	12
5	M2	23	22	24	21
1	M3	11	9	12	10
2	M3	34	31	34	33
3	M3	6	5	7	7
4	M3	15	14	16	17
5	M3	27	28	26	25

Fonte: adaptada de Controllab, 2010; Campos, 2003.

O gestor da qualidade analisou os resultados no *software* Minitab 17 (Gage R&R Study Crossed). Na Figura 2, estão os gráficos gerados pelo *software*, avaliação e interpretação.

Avaliação e interpretação estatística

ANOVA	Valor de p	Interpretação
ANOVA com interação		
• Diferença entre lâminas	0,000	Significativa
• Diferença entre microscopistas	0,869	Não significativa
• Diferença da interação microscopista-lâmina	0,000	Significativa

Varição	Resultado
• Contribuição da variação R&R	4,59%
• Contribuição da variação da repetitividade	2,04%
• Contribuição da variação da reprodutibilidade	2,55%
• Microscopista	0,00%
• Microscopista – lâmina	2,55%
• Contribuição da variação da lâmina	95,41%

Porcentagem de variação total (desvio-padrão)	
• R&R	21,44%
• Repetitividade	14,29%
• Reprodutibilidade	15,98%
• Microscopista	00,00%
• Microscopista – lâmina	15,98%
• Lâmina	97,68%

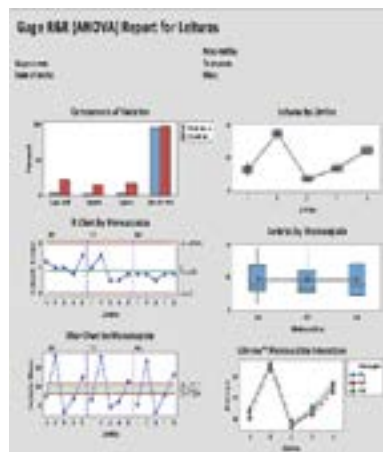


FIGURA 2 Gráficos R&R, avaliação e interpretação estatística para linfócitos atípicos.

Fonte: adaptada de Campos, 2003.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- CAMPOS MS. Desvendando o Minitab. Rio de Janeiro: Qualitymark; 2003.
- CONTROLLAB. Controle de Qualidade para Laboratórios Ltda. Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática. Rio de Janeiro: Controllab; 2010.
- DORIA FILHO U. Introdução à Bioestatística. São Paulo: Negócio; 1999.
- HENRY JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20. ed. Barueri: Manole; 2008.
- RAPHAEL SS. Lynch's Medical Laboratory Technology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1983.
- VIEIRA AJ, GARRETT JM. Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. Farm Med. 2005;37(5):360-3.

João Carlos de Campos Guerra, Valdir Fernandes de Aranda,
Andreza Oliveira dos Santos

A AVALIAÇÃO LABORATORIAL do paciente com manifestação hemorrágica inicia-se por testes de triagem que detectam alterações tanto da hemostasia primária quanto da secundária.

A fase pré-analítica depende de variáveis relacionadas com o paciente e com o laboratório, que podem comprometer a integridade da amostra e produzir um resultado de exame inconsistente. O paciente deve ser orientado a evitar atividade física intensa nas 24 horas que antecedem o exame e a descansar de 15 a 20 minutos antes da coleta. Os medicamentos que o paciente está fazendo uso durante a investigação laboratorial devem ser reportados. No dia da coleta, o paciente tabagista não deve fumar, recomendando-se o jejum mínimo de 4 horas para adultos e crianças, e jejum de 2 horas para lactantes, considerando que a concentração de lipídeos pode interferir nos tempos de coagulação no sistema de detecção do coágulo quando se utilizam equipamentos de coagulação de leitura óptica.

As amostras devem ser coletadas em tubos contendo 3,2% de citrato de sódio (109 mM) na proporção de 9 partes de sangue e 1 parte de anticoagulante. O profissional da coleta deve atentar-se quanto ao preenchimento adequado do tubo de coleta, pois a falha em encher o tubo faz com que a concentração final de citrato seja muito alta. Se a amostra contém excesso de citrato, a adição de cálcio pode ser inadequada e o baixo cálcio plasmático levará a um falso prolongamento do tempo de protrombina (TP) e/ou do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA). A coleta deverá ser realizada preferencialmente por sistema a vácuo, o que permite uma coleta rápida, sempre em tubos de vidro silicinizados ou tubos de poliestireno. O garroteamento deverá ser o menos traumático possível, não ultrapassando 1 minuto. Deve-se evitar ao máximo a contaminação de um tubo para o outro com os aditivos neles contidos, durante a troca de tubos, no momento da coleta de sangue. Por isso, a Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) estabeleceu uma ordem de tubos, na qual aqueles que contêm ativador de coágulo em seu interior devem ser colhidos depois do tubo para coagulação.

Outro fator crítico é o hematócrito do paciente, caso este seja $\geq 55\%$. Em amostras com hematócrito elevado, a relação sangue/anticoagulante (9:1) não é mantida, podendo causar excesso de citrato para o volume de sangue presente no tubo. Isso pode levar a uma falsa elevação do tempo de coagulação. Deve-se, por isso, ajustar o volume de citrato através da fórmula: $C = (1,85 \times 10^{-3}) (100 - HCT) (V \text{ sangue})$; onde: C = volume de citrato; HCT = hematócrito do paciente; V = volume de sangue adicionado.

É recomendável o uso de centrífuga refrigerada, com temperatura entre 18 e 20°C. Para a obtenção de plasma pobre em plaquetas (PPP), a rotação 3.500 rpm por 15 minutos é suficiente, garantindo um plasma contendo uma contagem plaquetária abaixo de 10.000/mm³.

O transporte, o processamento e o armazenamento não devem comprometer a integridade da amostra (Tabela 1). Devem-se evitar tempos prolongados de processamento para sangue total, para não ocorrer hemólise. O descongelamento dos plasmas, eventualmente congelados, deve ser realizado rapidamente em banho-maria a 37°C por 4 a 5 minutos.

TABELA 1 Tempo de estocagem de amostras para exames de coagulação

Exame	Sangue total		Plasma		
	Ambiente	Refrigerado	Ambiente	Refrigerado	Congelado
TP	Até 24 h	Não recomendado	Até 24 h	Não recomendado	Nitrogênio (6 anos)
TTPA	Até 4 h	Até 4 h	Até 4 h	Até 4 h	-20°C (semanas)
FIB	Até 24 h	Até 24 h	Até 24 h	Até 24 h	-70°C (1 ano)

Fonte: adaptada de CLSI, 2008.

TEMPO DE PROTROMBINA E TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA

Ainda que fisiologicamente a ativação da coagulação não ocorra pelas vias intrínseca, extrínseca e comum, essa designação continua a ser um conceito útil para interpretar os resultados de investigações laboratoriais.

O TP mede a atividade das chamadas vias extrínsecas e comuns da coagulação e, portanto, depende da atividade funcional dos fatores VII, X, V, II e do fibrinogênio. O PPP é misturado com o fator tecidual (TF) contendo fosfolípidos a 37°C e um excesso de cloreto de cálcio é adicionado para iniciar a coagulação. O tempo decorrido entre a adição de cálcio e a formação do coágulo de fibrina é conhecido como TP. O fator tecidual ativa o fator VII, ativando a via extrínseca, formando o complexo protrombinase, ancorado pela tromboplastina, que resulta na geração de trombina. Esta atua na molécula do fibrinogênio, formando a fibrina, que será estabilizada pelo fator XIII.

Existem no mercado vários tipos de tromboplastina; por isso, os resultados de um TP do mesmo paciente na mesma amostra podem variar de um laboratório para outro. Em função disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) criou a Relação Normalizada Internacional (RNI) para padronizar as diferenças de resultados de TP entre os vários laboratórios. Todos os fabricantes de tromboplastina devem determinar o índice de sensibilidade internacional (ISI), mediante a padronização de sua tromboplastina diante de uma tromboplastina de referência internacional, que define a sensibilidade do reagente. Quanto mais próximo de 1,0 for o ISI, mais sensível é a tromboplastina. O cálculo do RNI é feito de acordo com a seguinte fórmula:

$$RNI = [TP \text{ do paciente} / TP \text{ normal (média do valor de referência)}]^{ISI}$$

Os resultados do TP podem ser reportados em tempo de protrombina, atividade enzimática (%) e RNI. O valor de referência para o TP varia de acordo com o reagente utilizado e deve ser estabelecido em cada laboratório.

Um exame de TP encontra-se isoladamente prolongado na deficiência do fator VII; prolonga-se também quando associado a outras anormalidades da coagulação, como na deficiência de vitamina K, uso de varfarina, fenindiona, raticidas, em doenças hepáticas, doenças de má-absorção, concentrações elevadas de heparina não fracionada, inibidores do fator Xa, na afibrinogenemia e disfibrinogenemia, em transfusões maciças e em anormalidades de mutações do ciclo de vitamina K. Resultados encurtados relacionam-se com amostras pré-ativadas e após tratamento com rVIIa.

O TTPA é o teste de triagem para a avaliação dos fatores das vias intrínseca e comum da coagulação. Detecta deficiências dos fatores VIII, IX, XI e XII, pré-caliceína e cininogênio de alto peso molecular, presença de inibidores e para monitorar o uso da heparina não fracionada. Nele, o PPP é incubado a 37°C e, em seguida, são adicionados fosfolípido (cefalina) e um ativador de contato (caulim, sílica, sílica micronizada ou ácido elágico). Isso acarreta a conversão do fator XI em XIa, mas o restante do caminho não é ativado, pois não há cálcio presente. A adição de cálcio (pré-aquecido a 37°C) inicia a coagulação, e o tempo decorrido desde a adição de cálcio até a formação de um coágulo de fibrina é quantificado.

As deficiências dos fatores XII, XI, IX e VIII cursam com um prolongamento isolado do TTPA. No entanto, o TTPA pode ser normal com deficiências leves desses fatores de coagulação. Na deficiência do fator de contato, deficiência de pré-caliceína, cininogênio de alto peso molecular, deficiências múltiplas dos fatores de coagulação, o TTPA prolonga-se com reduções menos graves nos níveis dos fatores. A presença de inibidores do fator de coagulação adquiridos ou aloanticorpos e de anticoagulante lúpico também pode prolongar isoladamente os valores do TTPA.

É observado um prolongamento do TTPA associado a um TP também prolongado na deficiência e/ou na má-absorção de vitamina K, na síntese diminuída dos fatores de coagulação e na disfibrinogenemia adquirida, medicamentos inibidores diretos da trombina, coagulação intravascular disseminada (DIC) e transfusão maciça de sangue, ocasionando uma coagulopatia dilucional. Em pacientes recebendo terapia trombolítica, o TTPA pode ser prolongado em razão de uma redução nos níveis de fibrinogênio. E, nas deficiências de múltiplos fatores de coagulação, o TTPA se prolonga com reduções menos graves nos níveis de fatores.

Pacientes com presença de inibidores adquiridos (inibidores de FV e FX) e em uso de heparina não fracionada (HNF) apresentam um prolongamento significativo do TTPA, mas o TP geralmente mostra pouco prolongamento. Nos casos de anticoagulação significativa com HNF, o TP será prolongado. Na presença de anticorpos antifosfolípidos, o TP pode ser prolongado, embora isso seja incomum em virtude da alta concentração de PL nos reagentes de TP, mas o TTPA está na maioria das vezes aumentado.

Os tempos encurtados de TTPA refletem uma resposta de fase aguda, que acarreta altos níveis de FVIII, e quando há dificuldades na coleta de amostras, que ocasionam a ativação da coagulação dentro do tubo de coleta.

Em casos nos quais há um TP ou TTPA prolongados, sem motivos conhecidos, como o uso de anticoagulantes, o estudo do teste de mistura é indicado para diferenciar entre a

presença de um inibidor e a deficiência de fator. O teste consiste em adicionar ao plasma do paciente um *pool* de plasma normal na proporção de 1:1 e repetir o teste. Se a mistura falhar na correção do TP ou do TTPA, isso é altamente sugestivo da presença de um inibidor. Se houver correção dos tempos, trata-se de uma deficiência de fator daquela via.

TEMPO DE TROMBINA E FIBRINOGÊNIO

O tempo de trombina (TT) mede a conversão do fibrinogênio em fibrina, que é a fase final da coagulação. A trombina humana (ou trombina bovina) é adicionada ao PPP a 37°C, e o tempo necessário para a formação de um coágulo de fibrina é registrado. A recalcificação do plasma não é necessária.

A heparina produz um prolongamento no TT dependente da dose. Em uma amostra em que o TT é prolongado, um tempo normal de reptilase seria (na maioria dos casos) consistente com a presença de heparina não fracionada. No entanto, o TT costuma ser sensível demais para monitorar a anticoagulação da heparina e o ensaio não é padronizado para esse fim, sendo recomendado usar o TTPA para monitorar a HNF.

Esse teste mostra uma resposta de concentração linear ao dabigatrana mas os resultados são altamente dependentes dos reagentes empregados no teste e a maioria dos ensaios de TT é muito sensível ao medicamento. No entanto, um teste normal em um paciente que toma dabigatrana indica a ausência do medicamento.

O TT encontra-se prolongado em: deficiências congênicas de fibrinogênio; deficiência adquirida de fibrinogênio (CIVD) – decorrente de terapia com trombolíticos, doenças hepáticas, malignidade; uso de heparina não fracionada; pacientes usando dabigatrana – nos quais o tempo de trombina prolonga-se nos níveis de pico e o TT normal exclui a presença de níveis clinicamente relevantes da medicação; níveis elevados de produtos de degradação da fibrina (PDF) e fibrinogênio interferindo na polimerização da fibrina; presença de paraproteínas, pois inteferem na polimerização da trombina; amiloidose, em razão da inibição da conversão do fibrinogênio em fibrina; pacientes expostos à trombina bovina (pois os pacientes podem desenvolver inibidores); presença de fibrinogênio fetal no recém-nascido (devendo ser utilizado um intervalo de referência apropriado).

Conhecido também como fator I, o fibrinogênio é uma proteína essencial para a formação de coágulos sanguíneos, é produzida no fígado e fundamental para uma variedade de processos além da coagulação, como cicatrização de feridas, inflamação e crescimento de vasos sanguíneos. Circula através da corrente sanguínea em concentrações de 200 a 400 mg/dL.

Existem algumas metodologias para sua dosagem. A metodologia de Clauss é baseada no tempo para formação de coágulo de fibrina. O plasma de teste é diluído, diminuindo o efeito de substâncias inibidoras no plasma, por exemplo, heparina e níveis elevados de PDF. O teste requer um plasma de referência com uma concentração conhecida de fibrinogênio, que foi calibrado com um padrão de referência internacional conhecido. Uma curva de calibração é construída usando esse plasma de referência, preparando uma série de diluições em salina tamponada para fornecer uma faixa de concentrações de fibrinogênio. O tempo de coagulação de cada uma dessas diluições é estabelecido (usando amostras duplicadas) e os resultados [tempo(s) de coagulação/concentração de fibrinogênio (mg/dL)] são plotados. O PPP diluído é incubado a 37°C e a trombina é adicionada (todas pré-aquecidas a 37°C). O tempo necessário para a formação do coágulo é comparado à

curva de calibração e deduzida a concentração de fibrinogênio. A maioria dos laboratórios utiliza um método automatizado, no qual se considera que ocorreu a formação de coágulos quando a densidade óptica da mistura excedeu certo limite.

Outra metodologia é o fibrinogênio derivado do TP. O TP é determinado por alteração da densidade óptica para uma série de diluições no plasma com níveis conhecidos de fibrinogênio e essa metodologia é plotada como uma curva de calibração. O fibrinogênio derivado é um teste simples e barato e é amplamente utilizado, no entanto o teste pode oferecer resultados enganosos em alguns distúrbios e não é recomendado para uso laboratorial de rotina. É altamente dependente dos reagentes e dos analisadores utilizados e, portanto, os resultados não são facilmente comparáveis entre laboratórios ou ao longo do tempo se um laboratório atualizar seus instrumentos ou trocar reagentes. A literatura sugere que esse método também pode superestimar os níveis de fibrinogênio em certas circunstâncias, como insuficiência hepática ou DIC.

O fibrinogênio também pode ser dosado por testes feitos com base em ensaios imunoenzimáticos (ELISA), imunodifusão radial e eletroforese, que medem a concentração de proteínas em vez da atividade funcional. São importantes na investigação de disfibrinogemias congênitas, nas quais há discrepância entre a atividade funcional e o nível de antígeno. Quando são realizados ensaios imunológicos e funcionais de fibrinogênio, o mesmo padrão deve ser usado para calibrá-los para garantir a comparabilidade dos resultados.

Os defeitos do fibrinogênio podem ser quantitativos (hipo ou hiperfibrinogenemia) ou qualitativos (disfibrinogenemia). A disfibrinogenemia herdada é rara, mas um defeito adquirido da função do fibrinogênio é mais comum, especialmente nas doenças hepáticas, quando a molécula de fibrinogênio é excessivamente glicosilada, prejudicando sua atividade. Os níveis de fibrinogênio também podem ser reduzidos na doença hepática em virtude da síntese reduzida. Níveis elevados de PDF também prejudicam a conversão de fibrinogênio em fibrina.

Níveis elevados de fibrinogênio podem se correlacionar com um risco aumentado de trombose em estudos epidemiológicos, embora a significância em pacientes individuais não seja clara.

Observam-se níveis reduzidos de fibrinogênio na DIC (em razão do consumo de fatores de coagulação), na doença hepática (em razão da diminuição da síntese), na transfusão maciça, nas deficiências herdadas (hipofibrinogenemia, afibrinogenemia e disfibrinogenemia, esta última é frequentemente associada a níveis reduzidos de fibrinogênio e atividade), após o uso de agentes fibrinolíticos e, em alguns pacientes, após o tratamento com asparaginase. Altas concentrações de heparina não fracionada ($> 0,8$ UI/mL) podem ocasionar uma subestimação do verdadeiro nível de fibrinogênio. Podem ocorrer níveis significativamente baixos de fibrinogênio com TP e TTPA normais. Os ensaios de fibrinogênio em pacientes que tomam dabigatrana podem apresentar resultados falsamente baixos, mas são muito dependentes dos reagentes utilizados no teste. Ensaios que utilizam altas concentrações de trombina e/ou altas diluições do plasma de teste são menos afetados. Aumentos nos níveis de fibrinogênio são encontrados em idosos, na gravidez, em pacientes usando anticoncepcionais, pacientes na pós-menopausa, em reações de fase aguda e nas neoplasias.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline. CLSI document H21-A5. 5. ed. Wayne, PA: CLSI; 2008.
- GOSSELIN RC, ADCKOCK D, DORGALALEH A, ET AL. International council for standardization in haematology recommendations for hemostasis critical values, tests, and reporting. *Semin Thromb Hemost.* 2019.
- KRAMMER B, ANDERS O, NAGEL HR, ET AL. Screening of dysfibrinogenemia using the fibrinogen function versus antigen concentration ratio. *Thromb Res.* 1994;76(6):577-9.
- MACKIE I, COOPER P, LAWRIE A, ET AL. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol.* 2013;35(1):1-13.
- MACKIE IJ, KITCHEN S, MACHIN SJ, ET AL. Guidelines on fibrinogen assays. *Br J Haematol.* 2003;121(3):396-404.
- MCCRAW A, HILLARP A, ECHENAGUCIA M. Considerations in the laboratory assessment of haemostasis. *Haemophilia.* 2010;16(Suppl 5):74-8.
- PERRY DJ. A practical guide to haemostasis. Disponível em: <<https://practical-haemostasis.com>>. Acesso em: 30 abr. 2020.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso. 2. ed. Barueri: Minha Editora; 2010. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320090814145042.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

37 O papel da citometria de fluxo nas doenças hematológicas

Alex Freire Sandes, Matheus Vescovi Gonçalves,
Marçal Cavalcante de Andrade Silva

INTRODUÇÃO

A citometria de fluxo é uma técnica que estuda células dispersas em suspensão líquida e analisa a expressão de antígenos em células individuais através da marcação com um ou mais anticorpos conjugados a fluorocromos. Quando comparada a outras técnicas de imunofenotipagem, a citometria de fluxo é mais sensível e simples e oferece uma melhor opção para a quantificação simultânea de múltiplos antígenos em um elevado número de células.

De acordo com o tipo de tecido a ser analisado, três categorias são consideradas: suspensões de células contendo hemácias (medula óssea e sangue periférico); suspensões de células livres de hemácias (liquor); e tecidos sólidos, através de processo de desagregação mecânica para criação de suspensão artificial de células. Os anticorpos monoclonais são adicionados diretamente à alíquotas das amostras a serem testadas e, depois, lisadas e lavadas. Após o término do processo de marcação com os anticorpos, a amostra é levada para o citômetro de fluxo, onde será analisada (aquisição).

O citômetro de fluxo é composto por quatro componentes: o sistema de fluidos, o *laser*, o sistema óptico e o eletrônico. O sistema de fluidos é responsável pela aspiração da amostra no citômetro e conduzirá as células individualmente em fila indiana até a câmara de fluxo, onde as células passarão através de um *laser*. O feixe de raio *laser*, ao entrar em contato com cada célula individual, sofrerá dispersão de luz (refração e reflexão). A refração de luz é detectada através de um sensor localizado na frente do feixe luminoso, motivo pelo qual se denomina *forward light scatter* (FSC), e, quanto maior a refração, maior será o tamanho da célula. A reflexão de luz é medida por meio de um detector localizado a 90° da câmara de fluxo, chamada de *side light scatter* (SSC), que avalia a granularidade e a complexidade interna das células. Ao passarem pela câmara de fluxo, os fluorocromos dos anticorpos que estiverem ligados às células estudadas serão estimulados pelo *laser* e emitirão ondas de luz de comprimentos e cores diferentes para cada fluorocromo avaliado. As ondas de luz emitidas são filtradas e direcionadas pelo sistema óptico do citômetro até o seu respectivo detector de fluorescência, que mede a quantidade de luz emitida. A quantidade de emissão de fluorescência associada a um anticorpo é comumente proporcional ao número de moléculas do anticorpo ligados às células, especialmente se o reagente utilizado tem uma razão fluorocromo/proteína estável e uniforme. A depender do número de *lasers* e detectores de fluorescência de cada equipamento, os citômetros de fluxo podem avaliar de 2 a 13 antígenos distintos por cada célula (4 a 15 parâmetros, incluindo o FSC e SSC), sendo este o motivo do termo “citometria de fluxo multiparamétrica”.

O sistema eletrônico do citômetro transformará os sinais de dispersão de luz e fluorescência de cada célula individual analisada em um arquivo informatizado (analogico ou digital, denominado arquivo FCS), que será analisado e interpretado utilizando-se *softwares* específicos. Os dados captados serão analisados por meio da representação gráfica dos parâmetros adquiridos em histogramas (um parâmetro), gráficos de pontos (*dot plots*) e de contorno (dois parâmetros) e até mesmo em três dimensões (três parâmetros). *Dot plots* com as combinações de SSC versus FSC e SSC versus CD45 permitem uma rápida visualização e quantificação das populações hematopoéticas presentes no sangue periférico e na medula óssea (Figura 1).

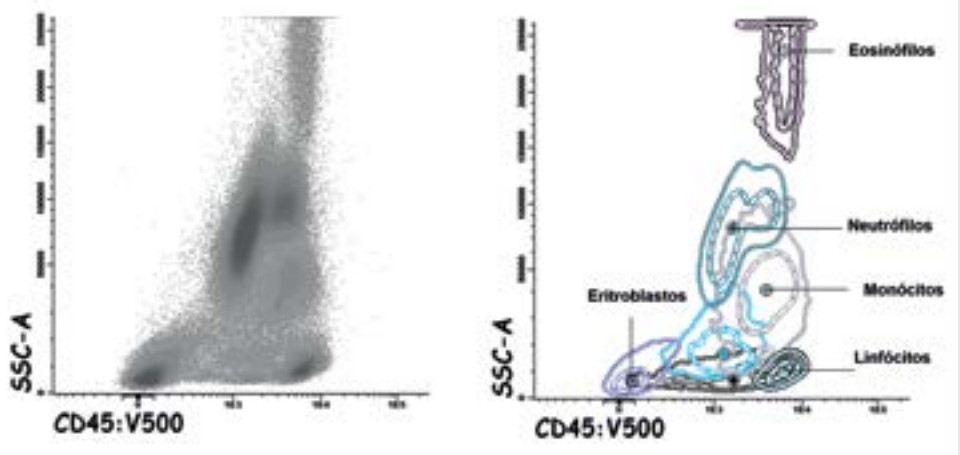


FIGURA 1 Gráficos de citometria de fluxo (*dot plots*) de uma medula óssea normal, mostrando a utilidade do antígeno CD45 na identificação de populações celulares.

Fonte: acervo dos autores.

APLICAÇÕES DA CITOMETRIA DE FLUXO

Nas últimas duas décadas, muitas das aplicações de imunofenotipagem têm sido de grande utilidade clínica na área de hematologia e imunologia. Em geral, a marcação de células com anticorpos monoclonais pode ser usada para identificar, quantificar e caracterizar qualquer tipo de célula ou componente celular. Imunofenotipagem de neoplasias hematológicas é uma das mais relevantes aplicações clínicas da citometria de fluxo, podendo ser aplicada no diagnóstico, na classificação, no prognóstico e na avaliação da efetividade do tratamento (doença residual mínima) de neoplasias hematológicas (Tabela 1).

A possibilidade de diferenciar células hematopoéticas normais de células neoplásicas tem progressivamente lançado o uso da citometria de fluxo como uma ferramenta diagnóstica de primeira linha para a avaliação diagnóstica de neoplasias hematológicas. Nessa linha, tem-se mostrado que a imunofenotipagem é de grande valor para o estabelecimento da natureza clonal da expansão de linfócitos. Em geral, o diagnóstico de clonalidade B e T baseia-se na identificação específica de uma população de linfócitos expressando fenótipos anormais, claramente diferentes daqueles presentes em células normais.

TABELA 1 Indicações clínicas da imunofenotipagem por citometria de fluxo

Doença	Diagnóstico	Classificação	Prognóstico/ estadiamento	Monitoramento
Leucemias agudas	Sim	Sim	Sim	Sim
Doença linfoproliferativa crônica	Sim	Sim	Sim	Sim
Mielodisplasia	A ser estabelecido	Não	A ser estabelecido	A ser estabelecido
Mieloma múltiplo	Sim	Não	Sim	Sim
Mastocitose	Sim	Sim	Não	Sim
HPN	Sim	Sim	Não	Sim
Leucemia mieloide crônica	A ser estabelecido	Não	Não	Sim
Linfoma de Hodgkin	A ser estabelecido	Não	Não	Não

Fonte: elaborada pelos autores.

Além disso, fenótipos aberrantes têm se provado refletir modelos desregulados de expressão gênica. Dentro de uma doença, sua detecção permite a identificação de casos portadores de anormalidades genéticas específicas, nas quais estudos moleculares confirmatórios podem ser rapidamente realizados, com custo-eficácia. Tais modelos de expressão antigênica aberrante podem também contribuir para o desenvolvimento de novos anticorpos monoclonais direcionados à terapia. Por sua vez, as similaridades entre leucemia/linfoma e células hematopoéticas normais têm expandido a utilidade da citometria de fluxo para a identificação de novos subtipos de leucemias agudas, como é o caso da leucemia de células dendríticas plasmocitoides blásticas.

A depender da suspeita clínica e morfológica (leucemia aguda, linfoma) e do tipo de estudo a ser realizado (diagnóstico, doença residual mínima), é realizado um painel de anticorpos monoclonais contendo marcadores específicos para detectar e quantificar a presença de células neoplásicas, determinar a linhagem celular acometida e identificar a presença de fenótipos aberrantes. Sugestões atuais de painéis imunofenotípicos podem ser encontradas nas recomendações do LeukemiaNet, do consórcio Euroflow e nas recomendações nacionais do Grupo Brasileiro de Citometria de Fluxo (<www.gbcflux.com.br>).

Leucemias agudas

Leucemias agudas são neoplasias heterogêneas de células hematopoéticas precursoras, caracterizadas pela presença de número igual ou superior a 20% de blastos em sangue periférico e medula óssea. A classificação das leucemias agudas é realizada por meio de critérios morfológicos, imunofenotípicos, citogenéticos e moleculares, de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS). Apesar de a análise morfológica ser considerada o padrão de referência para a quantificação de blastos, a combinação de mais de um marcador de células imaturas (p. ex., CD34, CD117, HLA-DR e CD45 para células mieloides; e CD34,

CD45 e nTdT para células linfoides) permite identificar e quantificar os blastos por citometria de fluxo com alta reprodutibilidade e correlação morfológica.

O acometimento da linhagem mieloide nas leucemias mieloídes agudas (LMA) é confirmado pela detecção de mieloperoxidase intracitoplasmática (MPO) e marcadores monocíticos nos blastos (CD64, CD11c e CD14), com exceção de casos de LMA com diferenciação mínima, que podem apresentar expressão negativa de MPO e expressam pelo menos dois marcadores mieloídes, como CD117, CD13 e CD33. Os casos de LMA são classificados de acordo com o estágio maturativo, com comprometimento das linhagens neutrofílica (CD117, CD15, CD65, CD13 e CD33), monocítica (CD64, CD36, CD14 e CD11c), megacariocítica (CD61, CD41, CD42), eritroide (CD71, CD36, CD235a), e, menos frequentemente, das linhagens dendrítica plasmocitoide (CD123, CD303 e TCL1), basofílica (CD203c e CD123) e mastocitária (CD117, CD203c). Vale ressaltar o papel da citometria no diagnóstico da leucemia promielocítica aguda, que identifica promielócitos anômalos com elevados FSC e SSC e que expressam os antígenos CD117, CD13 heterogêneo, CD33 e MPO homogêneos, em associação à ausência de expressão dos antígenos CD34, HLA-DR e CD15 (Figura 2).

Para a definição de linhagem B, os blastos devem expressar o antígeno CD19 em associação a um ou mais marcadores de linhagem B, como CD79a intracitoplasmático, CD10 e CD22. De acordo com o European Group for Immunological Classification of Acute Leukemias (EGIL), as leucemias linfoides agudas de células B (LLA-B) são classificadas em quatro grupos, levando-se em conta os diferentes estágios de diferenciação do precursor de células B, por meio da expressão dos antígenos CD10 e da imunoglobulina de cadeia pesada IgM: LLA pró-B (BI; CD10⁻; κ IgM⁻); LLA comum (BII; CD10⁺; κ IgM⁻); LLA pré-B (BIII; κ IgM⁺) e LLA-B de células maduras (BIV; λ IgM⁺).

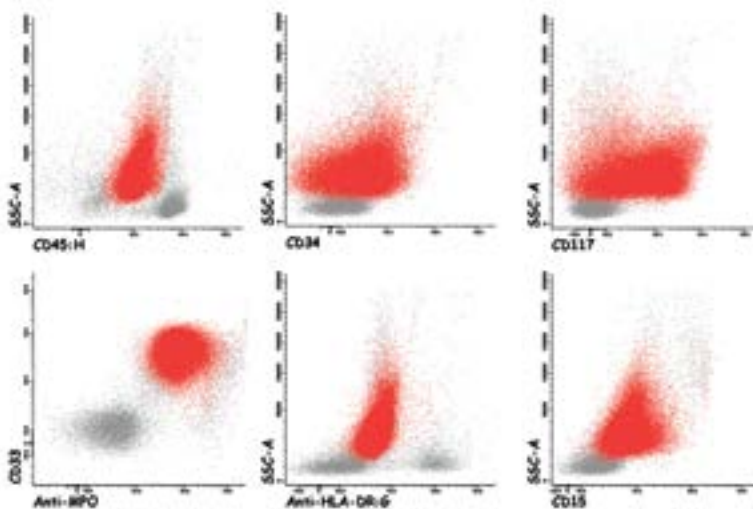


FIGURA 2 Gráficos de citometria de fluxo (*dot plots*) de um caso de leucemia promielocítica aguda. Os promielócitos anômalos (em vermelho) apresentam elevado tamanho celular e expressam os marcadores CD117, CD33 e mieloperoxidase intracitoplasmática, com ausência de CD34, HLA-DR e CD15.

Fonte: acervo dos autores.

A leucemia linfóide aguda de células T (LLA-T) é confirmada pela expressão de CD3 na superfície ou no citoplasma dos blastos e os casos também são classificados de acordo com o estágio maturativo dos precursores T. Casos de LLA-T que apresentam apenas expressão de cCD3 e CD7 são denominados LLA pró-T, enquanto a classificação pré-T é reservada para casos em que CD2 é expresso, associado ou não a CD5. A expressão de CD1a e a coexpressão de CD4 e CD8 são os principais achados da LLA-T cortical, enquanto a expressão de CD3 de superfície e ausência de CD1a caracteriza a LLA-T medular.

Alguns casos de LLA-T têm um fenótipo mais primitivo, possivelmente refletindo tímócitos em estágios iniciais de diferenciação. Casos desse subtipo, denominados recentemente de LLA de células T precursoras iniciais (*early T-cell ALL precursor*), podem ser identificados por seu imunofenótipo característico, composto por CD5 de baixa intensidade, CD1a⁻, CD8⁻ e coexpressão de um ou mais antígenos de células precursoras (CD34 e HLA-DR) ou mieloides (CD117, CD13, CD33, CD65 e CD11b). Esse subtipo de LLA-T é extremamente agressivo e sua identificação é crítica para decisão terapêutica, uma vez que esses pacientes se beneficiam de protocolos de tratamento mais agressivos.

Neoplasias de células B maduras

Imunofenotipagem por citometria de fluxo é indispensável para o diagnóstico e a classificação de neoplasias de células B maduras por meio da identificação de células maduras e anômalas da linhagem B e do reconhecimento de perfis imunofenotípicos característicos de diferentes entidades.

A natureza neoplásica dos linfócitos B pode ser demonstrada de duas maneiras: restrição de cadeia leve de imunoglobulina e expressão antigênica aberrante. Diferentemente dos linfócitos B normais/reacionais, que apresentam uma relação kappa:lambda de 2:1 a 3:1, neoplasias de células B maduras geralmente representam um clone de células que expressam apenas uma classe de cadeia leve (kappa ou lambda). No entanto, restrição de cadeia leve não deve ser isoladamente considerada um *surrogate* de processo neoplásico e seu resultado deve ser interpretado em conjunto com dados clínicos e morfológicos e por meio da presença de expressão antigênica aberrante.

A semelhança imunofenotípica para um dado estágio de diferenciação de células B é uma característica relevante na classificação dessas neoplasias, ressaltando o papel essencial da citometria de fluxo na classificação dos linfomas B. Nesse contexto, a identificação de CD5 e CD10 na superfície das células neoplásicas restringe as possibilidades diagnósticas entre os vários subtipos de linfomas de células B, auxiliando na seleção de métodos diagnósticos subsequentes para o diagnóstico definitivo.

As associações mais frequentes são CD5⁺/CD10⁻, cujas principais hipóteses são leucemia linfocítica crônica (LLC) e linfoma de células do manto (LCM); CD5⁻/CD10⁺, representada pelo linfoma folicular, linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) e linfoma de Burkitt; e linfomas CD5⁻/CD10⁻, exemplificados pelo linfoma de zona marginal, linfoma linfoplasmocítico, LDGCB e linfomas com células vilosas e tricocitoleucócitos.

Os casos de LLC tipicamente expressam os antígenos CD23, CD200 e CD43, associados à baixa intensidade de CD20 e imunoglobulina de cadeia leve e pesada de baixa intensidade e ausência de expressão de CD79b (Figura 3). Já o LCM apresenta um perfil imunofenotípico oposto, com ausência de expressão de CD23, CD200 e CD43 (Tabela 2).

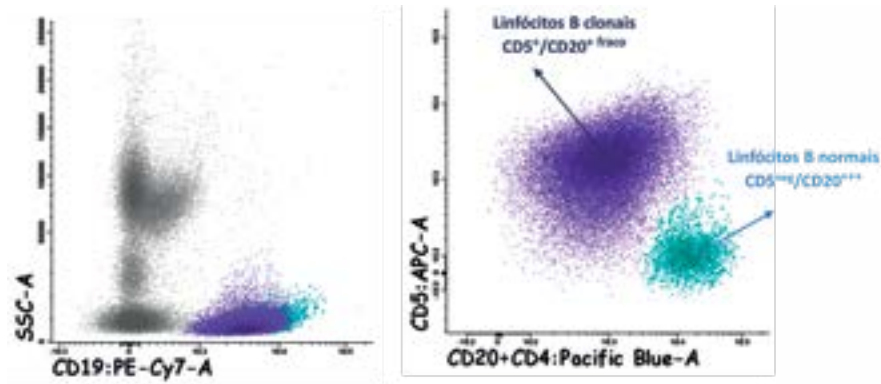


FIGURA 3 Gráficos de citometria de fluxo (*dot plots*) de um caso de leucemia linfocítica crônica. Os linfócitos B clonais (violeta) apresentam restrição clonal de imunoglobulina de cadeia leve kappa de baixa intensidade, em associação à expressão de CD5 e CD20 de baixa intensidade.

Fonte: acervo dos autores.

TABELA 2 Perfil imunofenotípico dos principais subtipos de neoplasias de células B maduras

Neoplasia de células B maduras	Imunofenótipo
CD5⁺/CD10⁻	
Leucemia linfocítica crônica	Fenótipo típico: CD20 ^{fraco} , CD22 ^{fraco} , sIg ^{fraca} , CD23 ⁺ , FMC-7, CD79b ^{-/fraco} , CD200 ⁺
Linfoma de células do manto	CD20 ⁺⁺ , CD23 ⁻ , sIg ⁺⁺ , FMC-7 ⁺ , CD79b ⁺ , CD200 ⁻
Leucemia prolinfocítica B	Fenótipo variável
Linfoma de zona marginal	Fenótipo variável
CD5⁻/CD10⁺	
Linfoma folicular	CD19 ^{fraco} , CD44 ⁺ , bcl-2 ⁺⁺
Linfoma difuso de grandes células B	Fenótipo variável, CD44 ⁺ , bcl-2 ⁺
Linfoma de Burkitt	CD38 ⁺⁺ , CD81 ⁺⁺ , CD44 ⁻ , bcl-2 ⁻
CD5⁻/CD10⁻	
Tricocitoleucemia clássica	CD103 ⁺ , CD123 ⁺ , CD11c ⁺⁺ , CD25 ⁺ , CD305 ⁺ , CD200 ⁺⁺
Tricocitoleucemia variante	CD103 ⁺ , CD123 ⁻ , CD11c ⁺⁺ , CD25 ⁻ , CD305 ⁺ , CD200 ⁻
Linfoma esplênico de zona marginal com vilos	CD11c ⁺ , CD25 ⁺ , CD103 ⁻ , CD123 ⁻ , CD200 ^{-/+}
Linfoma de zona marginal	Fenótipo variável
Linfoma linfoplasmocítico	Fenótipo variável. Plasmócitos clonais
Linfoma difuso de grandes células B	Fenótipo variável, bcl-2 ⁺
CD5⁺/CD10⁺	
Variantes de linfoma do manto, linfoma folicular, linfoma difuso e linfoma de Burkitt	Mesmo fenótipo anterior

Fonte: elaborada pelos autores.

Os casos de linfoma folicular e LDGCB CD10⁺ apresentam sobreposição fenotípica importante, que, muitas vezes, não permite distinção entre as duas entidades com a utilização da citometria de fluxo isoladamente. No entanto, casos de linfoma folicular podem ser reconhecidos por baixa expressão de CD19, associado à elevada expressão de BCL2 intracitoplasmático. Casos de linfoma de Burkitt apresentam restrição de cadeia leve, com elevada expressão dos antígenos CD20, CD38 e CD81, ausência de expressão de CD44 e ausência de expressão de marcadores de células precursoras, como TdT nuclear e CD34.

Entre os linfomas de células vilosas, a tricocitoleucemia clássica é facilmente caracterizada pela presença de elevado tamanho celular e expressão dos antígenos CD11c, CD25, CD103, CD123, CD305 e CD200 de elevada intensidade, enquanto o linfoma esplênico de células vilosas expressam apenas os antígenos CD11c e CD25, com ausência de expressão de CD103 e CD123. Casos de tricocitoleucemia variante apresentam expressão de CD11c e CD103, com ausência de expressão dos antígenos CD25, CD200 e CD123.

Os linfócitos do linfoma de zona marginal, linfoma linfoplasmocítico e LDGCB CD10⁻ também apresentam elevada sobreposição fenotípica, necessitando de exames complementares adicionais para o diagnóstico final. No entanto, a presença de plasmócitos clonais com a mesma restrição de cadeia leve dos linfócitos clonais e fenótipo CD19⁺/CD45⁺/CD56⁻ é altamente sugestiva de linfoma linfoplasmocítico.

Neoplasias de células T maduras

Neoplasias de células T maduras podem ser identificadas por citometria de fluxo por meio da restrição de subpopulações de células T (linfocitose com predomínio de células CD4⁺ ou CD8⁺ e alteração da relação CD4:CD8) e por meio da expressão antigênica aberrante, como deficiência ou ausência de antígenos pan-T (CD2, CD5 e CD7) e expressão de antígenos não expressos em células T normais, como antígenos mieloides (CD13 e CD33). No entanto, deficiências de antígenos pan-T também podem ser encontradas em linfócitos T reacionais ou pequenas subpopulações de células T e o diagnóstico definitivo deve ser realizado em conjunto com o quadro clínico e morfológico.

Clonalidade de células T pode ser estabelecida por biologia molecular por meio do estudo do receptor de células T (TCR), ou por citometria de fluxo pelo estudo das famílias da região variável da cadeia beta do TCR. Casos clonais apresentam restrição de expressão de uma das famílias (identificação direta) ou ausência de expressão das famílias de TCRVbeta (identificação indireta) na população de linfócitos T suspeita.

De maneira geral, a expressão de CD4 e CD8 pode ser utilizada para formular uma lista de possibilidades diagnósticas e determinar os exames adicionais necessários para o diagnóstico definitivo (Tabela 3).

Casos CD4⁺/CD8⁻ incluem leucemia prolinfocítica T (LPT), micose fungoide e síndrome de Sézary (MF/SS), leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL), linfoma angioimunoblástico, linfoma anaplásico de grandes células e raros tipos de leucemia de linfócitos grandes granulares CD4⁺.

TABELA 3 Perfil imunofenotípico dos principais subtipos de neoplasias de células T maduras

Neoplasia de células T maduras	Imunofenótipo
CD4⁺/CD8⁻	
Micose fungoide/síndrome de Sézary	CD7 ⁻ , CD26 ⁻ , CD25 ^{-/fraco} , CD28 ⁺
Leucemia prolinfocítica T	CD7 ⁺ , CD26 ⁺ , CD25 ⁻ , TCL1 ⁺
Leucemia/linfoma de células T do adulto	CD7 ⁻ , CD26 ⁻ , CD25 ⁺⁺
Linfoma anaplásico de grandes células	CD30 ⁺ , CD7 ^{-/+} , CD5 ^{-/+} , CD13 ^{+/-}
Linfoma angioimunoblástico	CD3 ^{fraco} , CD7 ^{fraco} , CD279 ⁺ , CD10 ⁺
Linfoma de células T periférico NOS	Fenótipo variável
CD4⁻/CD8⁺	
Linfoma de linfócitos grandes granulares	CD5 ^{fraco} , CD7 ^{fraco} , CD16 ⁺ , CD57 ⁺ , CD56 ⁺ , CD94 ⁺ , granzima B ⁺ , perforina ⁺
CD4⁺/CD8⁺	
PLT e ATLL	O mesmo
CD4⁻/CD8⁻	
Linfoma de células T hepatoesplênico gama-delta	CD5 ⁻ , CD7 ⁺ , TCR gama-delta ⁺

Fonte: elaborada pelos autores.

A combinação dos antígenos CD7, CD26 e CD25 é útil no diagnóstico diferencial entre LPT, MF/SS e ATLL. LPT é caracterizada por linfocitose absoluta, ausência de perda de antígenos pan-T (CD3, CD2, CD7 e CD5) e expressão de CD26. Além disso, esse subtipo é frequentemente associado a t(7;14)(q35;q32.1), que ocasiona hiperexpressão da proteína TCL1. Por sua vez, os casos de MF/SS e ATLL apresentam, frequentemente, perda de expressão dos antígenos CD7 e CD26. Nesses casos, o antígeno CD25 é fundamental no diagnóstico diferencial, uma vez que é expresso com elevada intensidade nos casos de ATLL e negativo na MF/SS.

O linfoma anaplásico de grandes células é uma doença nodal e cutânea de linfócitos CD4⁺ e CD2⁺, mas que, frequentemente, apresenta ausência de expressão de outros antígenos pan-T, como CD5 e CD7. Esse subtipo de linfoma caracteristicamente apresenta expressão do antígeno CD30 e a expressão de antígenos mieloides costuma estar associada a casos ALK⁺.

O linfoma angioimunoblástico geralmente apresenta expressão do antígeno CD3 de baixa intensidade, associada à expressão dos antígenos CD10 e CD279.

Entre os linfomas CD4⁻/CD8⁺, o subtipo mais predominante é a leucemia de linfócitos grandes granulares CD8⁺, caracterizado por diminuição de expressão de CD5 e CD7 e expressão de antígenos de células *natural-killers* (NK) e citotóxicos, como CD16, CD56, CD57, CD94, perforina e granzima-A. O diagnóstico de LGL é realizado por meio de

achados clínicos, morfológicos e imunofenotípicos e geralmente é associado a doenças autoimunes, como artrite reumatoide.

Entre os linfomas CD4⁻/CD8⁻, o principal representante é o linfoma hepatoesplênico gama/delta⁺, que geralmente apresenta expressão de CD56 e ausência de CD5.

Hemoglobinúria paroxística noturna

A análise da expressão de proteínas ligadas a glicosilfosfatidilinositol (PA-GPI) em hemácias e leucócitos de sangue periférico por citometria de fluxo (CF) é a técnica de escolha para o diagnóstico da hemoglobinúria paroxística noturna (HPN). Para avaliação inicial, recomenda-se a análise de pelo menos dois antígenos ancorados a GPI, com a finalidade de excluir deficiência hereditária e isolada de uma única PA-GPI ou erro técnico.

Um amplo número de anticorpos monoclonais para PA-GPI encontra-se disponível. Para uma melhor avaliação, recomenda-se uma estratégia combinada de três ou mais AcMo, utilizando anticorpos linhagem-específicas não ancorados a GPI (p. ex., glicoforina A para eritrócitos, CD15 e CD33 para granulócitos e monócitos) associados aos anticorpos PA-GPI. Os principais marcadores para a identificação de clones HPN são: CD59 para hemácias, CD24, CD157 e FLAER para neutrófilos e CD14, CD157 e FLAER para monócitos.

A análise por CF, além de identificar a população de células deficientes de PA-GPI, pode quantificar células anormais, permitindo identificar discretas populações com graus diferentes de deficiência, especialmente em eritrócitos. Hemácias com deficiência completa de PA-GPI são chamadas HPN tipo III, aquelas com deficiência parcial são HPN tipo II e aquelas com expressão normal, HPN tipo I. O conhecimento da porcentagem e do tipo de eritrócitos deficientes pode auxiliar no tratamento da anemia da HPN, uma vez que ajuda a determinar o quanto da anemia é consequência de hemólise e o quanto é de falência medular. A transfusão de concentrado de hemácias não interfere no diagnóstico da HPN, mas provoca aumento da proporção de eritrócitos com expressão normal de CD59. Dessa maneira, para obter informações precisas sobre a porcentagem de hemácias deficientes em PA-GPI, o exame deve ser realizado antes ou 2 meses após uma transfusão.

Ao contrário dos eritrócitos, a vida média dos granulócitos da HPN é normal e a análise da expressão de PA-GPI em granulócitos reflete acuradamente o tamanho do clone HPN, que não é afetado por transfusões de hemocomponentes.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

IKOMA MR, SANDES AF, THIAGO LS, ET AL. First proposed panels on acute leukemia for four-color immunophenotyping by flow cytometry from the Brazilian group of flow cytometry-GBCFLUX. *Cytometry B Clin Cytom.* 2015;88(3):194-203.

SALES MM, FERREIRA SIACP, IKOMA MRV, ET AL. Diagnosis of chronic lymphoproliferative disorders by flow cytometry using four-color combinations for immunophenotyping: a proposal of the Brazilian group of flow cytometry (GBCFLUX). *Cytometry B Clin Cytom.* 2017;92(5):398-410.

VAN DONGEN JJ, LHERMITTE L, BÖTTCHER S, ET AL. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia.* 2012;26(9):1908-75.

Nilcéia Maria Viviani, Érico Bandeira Veríssimo, Maria Elizabete Mendes, Nairo Massakazu Sumita

A **MOLÉCULA DE** hemoglobina é uma proteína globular composta por quatro globinas associadas a um grupo heme, complexo formado por um átomo de ferro em uma estrutura porfirínica. Está presente em grandes quantidades no interior dos eritrócitos, como uma solução condensada, sendo sintetizada durante o processo de maturação dos eritrócitos e responsável pelo transporte do oxigênio aos tecidos.

As globinas protegem o ferro da oxidação, tornam a molécula solúvel e permitem variações da afinidade com o oxigênio. A sua síntese é um processo complexo com diferentes etapas, que ocorrem tanto na mitocôndria quanto no citoplasma, controladas por um pequeno grupo de genes (alfa e beta) expressos sequencialmente. Os genes do *cluster* alfa estão agrupados no braço curto do cromossomo 16, enquanto os do *cluster* beta estão agrupados no braço curto do cromossomo 11.¹

A hemoglobina A (HbA) é formada por duas cadeias alfa e duas cadeias beta ($\alpha_2\beta_2$), representando cerca 96% da hemoglobina total do indivíduo adulto normal. A HbA₂ (hemoglobina A₂) representa entre 2,5 e 3% da hemoglobina presente no organismo, sendo sintetizada no primeiro trimestre após o nascimento. Por sua vez, a HbF (hemoglobina fetal) é constituída por duas cadeias alfa e duas cadeias gama ($\alpha_2\gamma_2$), mantendo-se em baixas concentrações durante toda a vida adulta. A presença da HbF na vida adulta pode ajudar no diagnóstico e também melhorar significativamente o curso clínico das hemoglobinopatias.

As hemoglobinopatias são as doenças mais frequentes em nível mundial. Estima-se que existam cerca de 270 milhões de portadores de hemoglobinopatias e de 300 a 500 mil casos de nascimentos de crianças com anemia falciforme e formas graves de talassemias. Em geral, essas patologias são herdadas como padrões autossômicos recessivos. No entanto, algumas hemoglobinopatias podem derivar da herança de um gene autossômico dominante, que dará origem à doença hemolítica no estado heterozigoto. Já as patologias associadas a genes autossômicos recessivos precisam de um estado homozigoto para desenvolver um padrão clínico de doença.²⁻⁴

Quando ocorre uma troca de aminoácidos que acarreta a formação de uma molécula com características bioquímicas alteradas em relação à molécula normal, são denominadas “hemoglobinas variantes”. Quando a mutação afeta o controle dos genes para a síntese equilibrada entre as globinas, são denominadas “talassemia”.⁵

No Brasil, as hemoglobinopatias foram introduzidas com a vinda dos escravos negros africanos, o que teve grande influência na dispersão dos genes anormais. Ao longo da história da colonização e do desenvolvimento econômico do Brasil, outros fluxos migra-

tórios trouxeram imigrantes europeus, judeus, japoneses etc. Atualmente, entre as hemoglobinas variantes, as mais frequentes na população brasileira são a hemoglobina S (HbS), de origem africana, e as talassemias, mais frequentes em regiões que tiveram uma maior colonização de italianos. Estima-se que existam 6 milhões de portadores do traço falcêmico e pelo menos 40 mil doentes. Em virtude de sua alta frequência, diferentes defeitos das hemoglobinas podem ser co-herdados, dando origem a uma série de genótipos complexos e manifestações clínicas muito variadas, cabendo ressaltar a importância do diagnóstico laboratorial precoce dessas patologias, evitando as consequências deletérias da doença, além de direcionar tratamentos mais adequados e possibilidade de aconselhamento genético.^{6,7}

As talassemias do tipo alfa podem ter causas hereditárias e adquiridas. As formas hereditárias são as mais comuns e atingem pelo menos 4% da população brasileira. Envolvem genes da cadeia alfa (α) e podem ser classificadas em quatro tipos:

- O traço talassêmico α^+ heterozigoto ($-\alpha/\alpha$), também denominado portador silencioso, resulta em uma forma de talassemia praticamente assintomática e com alterações laboratoriais mínimas ou ausentes, o que dificulta o seu diagnóstico por técnicas laboratoriais convencionais;
- O traço talassêmico α^+ homozigoto e o traço talassêmico α^0 heterozigoto, que correspondem à perda de dois genes alfa, ou seja ($-\alpha/-\alpha$ e $--/\alpha$), respectivamente, caracterizam-se por apresentarem anemia (Hb geralmente entre 11 e 13 g/dL), hemácias hipocrômicas e microcíticas (volume corpuscular médio – VCM entre 75 e 80 fL), anisopoiquilocitose discreta e pela presença de Hb-Barts (5 a 10%) ao nascimento. A HbH formada na vida adulta é rapidamente proteolisada pela própria hemácia, o que dificulta a sua detecção;
- A interação das formas α^0 e α^+ ($--/-\alpha$) resulta na doença da HbH. Os pacientes portadores dessa forma apresentam 25 a 50% de Hb-Barts ao nascimento e 5 a 30% de HbH na vida adulta. Os quadros clínico e laboratorial caracterizam-se por anemia (Hb entre 8 e 11 g/dL), microcitose (VCM entre 55 e 65 fL), hipocromia e poiquilocitose, hemácias em alvo, icterícia e esplenomegalia;^{8,9}
- A homozigose da talassemia α^0 ($--/--$), denominada hidropsia fetal, é a forma mais grave das síndromes talassêmicas, sendo causa de morte intrauterina ou morte logo após o nascimento. Nesses casos, a eletroforese de hemoglobina mostra a presença de quase 100% de Hb-Barts e, no sangue periférico, observam-se hipocromia, microcitose e anisopoiquilocitose intensas, além do aumento significativo da porcentagem de eritroblastos.

As talassemias beta são mais heterogêneas que as do tipo alfa. Caracterizam-se por uma alteração quantitativa da síntese das globinas beta e são classificadas laboratorialmente como talassemias beta zero (ou talassemia β^0), quando não há síntese de globinas; e talassemias beta mais (ou talassemia β^+), quando existe alguma taxa de síntese. Conseqüentemente, as globinas alfa, que são sintetizadas normalmente, acumulam-se nos eritrócitos, durante a eritropoiese, causando agregação e precipitação. Os precipitados, formados em quantidades variáveis, danificam a membrana e destroem prematuramente essas células provocando a anemia.

A doença tem diferentes graus, a depender de sua herança genética. A mutação decorrente no cromossomo 11 afeta a produção das cadeias beta e também das cadeias: delta

e gama, e as supressões, parcial e total das globinas beta, bem como das globinas delta e gama originam os diferentes genótipos de talassemias beta, delta e gama.

- Talassemia beta *minor*: conhecida também como traço talassêmico, ocorre quando a pessoa recebe um gene normal de um genitor e um gene da talassemia do outro. Pessoas com talassemia beta *minor* podem ter anemia leve e provavelmente não vão precisar de tratamento;
- Talassemia beta *major*: pode ser chamada de anemia de Cooley ou anemia mediterrânea. A talassemia beta *major* ocorre quando ambos os genes são danificados. Isso significa que há um gene de talassemia de cada genitor. A pessoa com talassemia beta *major* tem o tipo mais grave da doença e normalmente precisa fazer transfusões de sangue;
- Talassemia beta intermédia: como o próprio nome sugere, esse tipo de talassemia fica entre a *minor* e a *major*. Em alguns casos, esses pacientes apresentam uma anemia discreta, mas, diferentemente de pacientes com o traço talassêmico, podem requerer terapia transfusional. A talassemia intermédia é causada por uma mutação que pode ter sido herdada apenas do pai ou da mãe – não de ambos. No entanto, diferentemente da talassemia *minor*, esse paciente precisará de tratamento para ter uma vida saudável, ainda que não envolva transfusões de sangue.

Em 90% dos portadores de talassemia beta *minor*, a concentração da HbA₂ apresenta-se elevada (4 a 7%), com eritrograma composto por eritrocitose em relação ao hematócrito, índices de VCM e hemoglobina corpuscular média (HCM) reduzidos, morfologia eritrocitária com presença de micrócitos esquizócitos, dacriócitos, hipocromia e pontilhados basófilos. A principal dificuldade ocorre pela concentração “normal” de HbA₂ decorrente da associação com anemia ferropênica – a baixa concentração de ferro interfere na síntese de globina delta, diminuindo a síntese da HbA₂.

A anemia falciforme é caracterizada por uma mutação genética representada pela substituição de uma base no códon 6 do gene da globina beta, com a substituição de uma adenina por timina (GAG → GTG). Essa mutação resulta na permuta do resíduo glutamílo pelo valil ($\beta 6\text{Glu} \rightarrow \text{Val}$), surgindo uma estrutura hemoglobínica, denominada hemoglobina S (na qual a letra S deriva da palavra inglesa *sickle*, que, em português, traduz-se como foice), com propriedades físico-químicas bastante diferentes das da hemoglobina normal em virtude da perda de duas cargas elétricas por molécula de hemoglobina. Já o grupo da doença falciforme se caracteriza por diferentes genótipos, interação de HbS com outras variantes, como talassemias, bem como com deficiência de enzimas eritrocitárias, notadamente a G-6PD. Essas interações dificultam muito o diagnóstico laboratorial e necessitam de métodos laboratoriais complementares para um correto diagnóstico. As hemoglobinas instáveis, por sua vez, podem ter várias origens genéticas, várias evidências clínicas; e, portanto, esse grupo de hemoglobinas, composto por variantes de globinas alfa e beta, com mutações em regiões sensíveis do tetrâmero molecular, é o que apresenta maior grau de complicação no diagnóstico laboratorial. As hemoglobinas variantes com alterações funcionais são aquelas que interferem no processo fisiológico da afinidade pelo oxigênio. Essas hemoglobinopatias se devem a trocas de aminoácidos em regiões que permitem a movimentação do tetrâmero durante a oxigenação, quais sejam, os contatos intermoleculares $\alpha 1 \beta 2$, $\alpha 2 \beta 1$ e $\beta 1 \beta 2$, principalmente.

Muitos laboratórios de rotina não estão preparados para realizar a correta identificação das hemoglobinopatias, pois elas não podem ser identificadas apenas pelos métodos eletroforéticos usuais, uma vez que a comigração de isoformas de hemoglobinas em eletroforese em pH alcalino sugere pesquisa mais detalhada, e esse procedimento é o mais rotineiramente utilizado em laboratório, além da falta de conhecimento científico e técnico, falta de informações sobre a suspeita clínica do paciente e possibilidade de realizar exames nos pais do paciente.¹⁰

Em 1975, o Comitê Internacional de Padronização em Hematologia lançou um painel de recomendações visando ao diagnóstico e à investigação laboratorial das hemoglobinas variantes e talassemias. Os testes recomendados envolvem uma combinação de métodos diagnósticos.

Nos procedimentos laboratoriais, são normalmente usadas amostras de sangue venoso, colhidas em tubos com anticoagulante (EDTA). Em recém-nascidos, além de amostras de sangue venoso, podem ser utilizadas amostras de sangue do cordão umbilical ou de sangue capilar obtidas por punção subcutânea, caso em que as amostras são colhidas em capilares com heparina. As amostras devem ser conservadas a 4°C, e processadas o mais rapidamente possível, nunca excedendo 1 semana desde a coleta da amostra, pois o armazenamento prolongado permite a geração de meta-hemoglobina e as hemoglobinas mutantes existentes na amostra podem ser seletivamente perdidas.¹¹

Os exames laboratoriais para diagnóstico das hemoglobinopatias podem ser divididos em: testes de triagem, de confirmação, de direcionamento e diagnóstico. Devem incluir amostras do paciente, dos pais ou dos familiares mais próximos possíveis. Os testes de triagem incluem investigação das hemoglobinas do paciente por meio de eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, análise morfológica das hemácias através de esfregaço a fresco, índices hematimétricos (RDW, CHCM, VCM) e teste de falcização, que consiste em observar a presença de células em foice. Porém, há muitas variáveis que podem interferir no resultado (falso-positivo e falso-negativo), como a execução correta da técnica, a experiência na interpretação dos resultados, a conservação do reagente etc. O teste de solubilidade consiste em avaliar a solubilidade da hemoglobina. A HbS é insolúvel e nesse teste é visualizada através da opacidade que confere ao filtro de papel. Esse exame não é recomendado para neonatos, pois pode apresentar um falso-negativo.¹² A contagem de reticulócitos pode ser feita manualmente por meio da microscopia óptica ou por aparelho automatizado. Após a realização dos exames de triagem, recomenda-se a realização de testes confirmatórios e direcionamento como eletroforese em pH ácido (pH 6,2), específica para diferenciar alguns tipos de hemoglobinas, por exemplo, HbS da HbD e a HbC da HbE, que, em pH alcalino, apresentam comigração; dosagem das hemoglobinas fetal e A2 por meio de focalização isoelétrica ou cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), que apresenta maior acurácia do que os procedimentos eletroforéticos. O sistema automatizado é de fácil manuseio e os resultados são apresentados rapidamente. O equipamento Variant com o programa “Beta-Thalassemia Short” (Bio-Rad Laboratories) é utilizado para a quantificação das HbA₂ e HbF, além da identificação das HbA, HbS, HbD e HbC. O tempo de retenção das frações normais permite padronizar o tempo de eluição das variantes, sendo este um critério adicional para identificação. Entretanto, pequenas variações no tempo de eluição da coluna cromatográfica podem levar a hemoglobina variante a ser eluída em outra “janela”. Além disso, algumas variantes não são eluídas em “janelas” próprias, como

as Hb-Lepore ou HbE. Dessa maneira, é necessária a averiguação dos dados por meio de procedimentos eletroforéticos. Outras variantes, como a Hb-Korle-Bu, apresentam comportamento eletroforético idêntico ao da HbD, além de serem eluídas na mesma “janela” (HbD), diferindo apenas no tempo de retenção e no perfil cromatográfico, com desvio da linha de base. A combinação desses resultados laboratoriais define condutas metodológicas pré-moleculares e afasta as interações com as hemoglobinas similares à HbS.¹³⁻¹⁵ O estudo de todo o perfil do ferro é importante para identificar interação com anemia ferropriva, patologia também de alta prevalência no Brasil, pois, na anemia presente na talassemia, seja ela beta ou alfa, os eritrócitos apresentam-se microcíticos e hipocrômicos, como na anemia por deficiência de ferro. A importância de diferenciar o caráter talassêmico da deficiência de ferro deve-se ao fato de que esta última se beneficia da terapia com ferro, enquanto a primeira pode ser agravada por esse tratamento.¹⁶

Finalmente, para o diagnóstico deve ser realizado estudo molecular do ácido desoxirribonucleico (DNA), com sequenciamento ou com enzimas de restrição. Os polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) são definidos pela existência de fragmentos de restrição que diferem em tamanho após a ação dessas enzimas. Sua presença pode ser utilizada como um marcador genético ou para confirmação da mutação que acarreta na formação da hemoglobina variante. Os alelos mutantes também podem ser identificados por meio da metodologia ASO, na qual uma sonda é sintetizada, com comprimento ideal para permitir uma hibridação específica e diferencial, baseada na substituição de um único nucleotídeo. A hibridação ocorrerá apenas se a sonda e o DNA-alvo forem totalmente complementares. A metodologia PCR-ASO é um teste rápido e específico, tornando-se útil para a análise genética.¹⁷

O correto diagnóstico laboratorial tem grande importância para as formas interativas de hemoglobinas no Brasil, onde a heterogeneidade genética é muito diversificada, além de variantes que apresentam comigração e da ocorrência de associações. Isso exige que todos os recursos disponíveis, em nível laboratorial, sejam utilizados.

REFERÊNCIAS

1. ANTONARAKIS ES, KAZAZIAN HH, ORKIN SH. DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene cluster. *Human Genetics*. 1985;69:1-14.
2. DAVIES SC, CRONIN E, GILL M, ET AL. Screening for sickle cell disease and thalassaemia: a systematic review with supplementary research. *Health Technol Assess*. 2000; 4:i-v, 1-99.
3. SANTOS JL, CHIN CM. Anemia falciforme: desafios e avanços na busca de novos fármacos. *Quím Nova*. 2012;35(4):783-90.
4. FORGET BG, BUNN HF. Classification of the disorders of hemoglobin. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(2):a011684.
5. HUISMAN T. The structure and function of normal and abnormal haemoglobins. In: Higgs D, Weatherall D, editors. *The haemoglobinopathies*. London: Baillière Tindall; 1993. p. 1-30.
6. CANÇADO RD, JESUS JA. A doença falciforme no Brasil. *Rev Bras Hematol. Hemoter*. 2007;29(3):203-6.
7. WEATHERALL DJ. The molecular basis of phenotypic variability of common thalassaemias. *Mol Med Today*. 1995;1(1):15-20.
8. WEATHERALL DJ. Thalassaemia: the long road from bedside to genome. *Nat Rev Genet*. 2004;5(8):625-31.
9. SONATI ME, COSTA FF. Talassemias alfa. In: Lopes AC. *Tratado de Clínica Médica*. São Paulo: Roca; 2006. p. 1932-8.

10. BONINI-DOMINGOS CR, NAOUM PC. Dificuldades no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29(3):226-8.
11. LEONELI GG, IMPERIAL RE, MARCHI-SALVADOR DP, ET AL. Hemoglobinas anormais e dificuldade diagnóstica. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2000;22:396-403.
12. BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília: Anvisa; 2002.
13. CHINELATO-FERNANDES AR. Diferenciação molecular de mutantes de hemoglobinas humanas na população brasileira [tese de doutorado em Genética]. São José do Rio Preto: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Universidade Estadual Paulista; 2003.
14. LEONELI GG. Hemoglobina D. Caracterização eletroforética e molecular [dissertação de mestrado em Genética]. São José do Rio Preto: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Universidade Estadual Paulista; 2001.
15. BONINI-DOMINGOS CR, ONDEI LS, ZAMARO PJA. Hemoglobinas similares a S: um guia prático de identificação. São José do Rio Preto: HN; 2006.
16. WAGNER SC, SILVESTRI MC, BITTAR CM, ET AL. Prevalência de talassemia e hemoglobinas variantes em pacientes com anemia não-ferropênica. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2005;27(1):37-42.
17. CHINELATO-FERNANDES AR, BONINI-DOMINGOS CR. Metodologias laboratoriais para o diagnóstico de hemoglobinas variantes. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2006;28(1):65-70.

39 A utilidade e os cuidados na medida e interpretação dos resultados de marcadores tumorais bioquímicos circulantes

Adagmar Andriolo

INTRODUÇÃO

Marcador tumoral bioquímico circulante é qualquer substância presente no sangue ou em outros fluidos biológicos, produzida primariamente pelo tumor ou, secundariamente, por algum órgão ou tecido, em resposta à sua presença. É característica importante do marcador tumoral que sua concentração no sangue guarde alguma relação não apenas com a presença, mas também com a atividade do processo neoplásico.

Eles são importantes ferramentas em oncologia, ainda que, em sua maioria, não tenha poder diagnóstico primário da doença, mas a capacidade de auxiliar na detecção precoce de recidiva e servir como indicador da efetividade do tratamento.

Em tese, os marcadores tumorais circulantes podem ser utilizados para o diagnóstico, o estabelecimento de prognóstico, o monitoramento da eficiência da terapêutica e a detecção precoce de recorrência. Características do marcador e da população na qual será aplicado condicionam ou não o seu uso para determinada finalidade. Por exemplo, a medida de alfafetoproteína é desaconselhada como triagem populacional de hepatocarcinoma para a população geral, mas é adequada em áreas de alta incidência do tumor, como algumas regiões da África, na China e no Japão e em grupos específicos de pacientes, como os portadores de doenças hepáticas predisponentes a essa neoplasia (p. ex., hepatites virais crônicas, cirrose e hemocromatose).

Outra característica importante dos marcadores tumorais diz respeito à meia-vida, cujo conceito diz respeito ao tempo necessário para que a concentração de determinada substância se reduza à metade, a partir do momento que sua produção tenha sido completamente interrompida. Por exemplo, para a alfafetoproteína, a meia-vida é de 5 dias; para o antígeno prostático específico total, é de 3 dias; e, para a gonadotrofina coriônica, de 12 a 20 horas. Se, em um caso particular, a meia-vida observada for significativamente maior do que a esperada, pode-se assumir que o tratamento não foi efetivo o suficiente para remover totalmente a massa tumoral.

O conceito de meia-vida deve ser lembrado quando da interpretação dos resultados em um paciente que esteja sendo monitorado após a instituição de um tratamento, mas também é fundamental ter em mente eventuais alterações nos mecanismos fisiológicos de depuração do marcador. Por exemplo, a fração livre do antígeno prostático específico (PSA, do inglês *prostate specific antigen*), também identificado como PSA livre, apresenta excreção renal. Pacientes com algum grau de insuficiência renal terão redução da capacidade de depuração dessa fração e, portanto, a meia-vida do marcador estará ampliada.

O bom uso dos marcadores tumorais, assim como de quaisquer outros parâmetros avaliados pelo laboratório clínico, depende do cumprimento de certos requisitos estabelecidos pelas boas práticas laboratoriais.

REQUISITOS PRÉ-ANALÍTICOS

De maneira geral, para a medida da maioria dos marcadores tumorais circulantes, não há necessidade de requisitos pré-analíticos, mas, algumas vezes, a não observância de determinadas condições pode propiciar interpretações equivocadas, como exemplificado a seguir:

- Dieta: muito raramente é necessário que o paciente modifique sua dieta antes da coleta da amostra. Um exemplo de marcador que condiciona um regime prévio é o ácido 5-hidroxi-indoleacético;
- Tipo de amostra: para alguns marcadores, a medida em soro ou plasma, as condições de transporte e de armazenamento podem ser importantes. Para a medida de citocinas, por exemplo, deve-se utilizar plasma e rápida separação das células para minimizar a liberação espúria pelos elementos figurados do sangue. Para a medida do PSA livre ou da enolase neurônio-específica (NSE, do inglês *neuron-specific enolase*), é necessário que o soro seja separado do coágulo em, no máximo, 3 horas e a amostra armazenada a 4°C, por períodos de armazenamento curtos ou abaixo de -30°C, para períodos mais longos.^{1,2}

Ocorre elevação discreta de CA125 durante a fase menstrual, não sendo indicada a coleta de amostra nesse período, especialmente se os resultados forem comparados com os obtidos em outra fase do ciclo menstrual. Igualmente, devem ser evitadas as coletas de amostras para a medida do PSA total, por exemplo, imediatamente após ejaculação, a realização de procedimentos como exame digital retal ou na vigência de processo infeccioso de vias urinárias.³⁻⁵

REQUISITOS ANALÍTICOS

Os requisitos analíticos para a medida dos marcadores tumorais são os mesmos utilizados para outros parâmetros, com a utilização de controles de qualidade internos e externos. Os métodos utilizados devem ter desempenho avaliado periodicamente e é desejável que os coeficientes de variação intraensaio e interensaio sejam menores que 5% e 10%, respectivamente. Eventualmente, será necessária a medida seriada dos marcadores tumorais, motivo pelo qual as diluições devem ser muito precisas e reprodutíveis.

Como alguns marcadores podem estar presentes em concentrações extremamente elevadas, o laboratório deve considerar a ocorrência do “efeito gancho”, principalmente nas técnicas que utilizam o mesmo anticorpo para captura e detecção. Para a detecção do “efeito gancho”, a medida deve ser repetida com duas diluições diferentes da amostra.⁶⁻⁸ Outra questão técnica é a possibilidade de ocorrência de “carregamento” ou “*carry-over*”. Ainda que os equipamentos automatizados atualmente disponíveis tenham mecanismos protetores para essa eventualidade, é uma situação que deve ser considerada, quando da ocorrência de rotinas com resultados muito elevados em sequência.

REQUISITOS PÓS-ANALÍTICOS

Muitos marcadores tumorais podem apresentar elevações discretas ou moderadas em várias doenças benignas, pelo que, cabe ao laboratório clínico, procurar manter estreito con-

tato com o médico solicitante, auxiliando-o na interpretação dos resultados, lembrando, por exemplo, que uma elevação discreta pode ser decorrente de insuficiência renal crônica ou doença hepática. De maneira ideal, o laboratório deve ter conhecimento de alguns dados clínicos do paciente, trabalhar em equipe com outros especialistas e com o médico solicitante. Como em outras áreas do laboratório, um resultado correto não é apenas aquele tecnicamente correto, mas que também tenha uma interpretação correta.

Os conjuntos diagnósticos atualmente disponíveis no mercado são produzidos por diferentes fabricantes. Ainda que alguns deles utilizem anticorpos obtidos a partir das mesmas fontes, não há nenhuma garantia que os resultados sejam equivalentes. A repetição da medida em uma mesma amostra, utilizando diferentes métodos, pode gerar resultados muito diferentes e, se não levados em consideração, podem induzir o médico a tomar uma decisão inadequada.^{2,6} O European Group on Tumour Markers (EGTM) recomenda a inclusão do nome da técnica utilizada e do fabricante no laudo do exame.^{6,9} Quando estiver programada mudança de metodologia, recomenda-se utilizar os dois métodos por um tempo. Qualquer mudança de método deve ser claramente indicada no laudo por um período de, pelo menos, 6 meses.

ESTRATÉGIAS PARA UM BOM USO DA MEDIDA DE MARCADORES TUMORAIS

Considerando a baixa especificidade da maioria dos marcadores tumorais em relação às causas de sua produção, em algumas situações há dificuldade em se discriminar entre origem benigna ou maligna de níveis elevados. Basicamente, há três critérios que podem auxiliar nessa diferenciação e na interpretação dos resultados das medidas de marcadores tumorais.

Concentração

A concentração da maioria dos marcadores tumorais observados na ausência de tumor é, em geral, moderada. Quanto maior a concentração do marcador, maior a probabilidade de presença de tumor maligno. Por exemplo, níveis de enolase neurônio-específica abaixo de 40 ng/mL podem ser detectados em várias condições benignas, mas, acima desse valor, indicam presença de câncer ou amostra hemolisada. Da mesma maneira, concentrações de CA125 e CA19-9 acima de 1.000 UI/mL ou de antígeno carcinoembrionário (CEA, do inglês *carcino embryonic antigen*) acima de 25 ng/mL sugerem a existência de processo neoplásico, com probabilidade superior a 95%.

Exclusão de doença benigna

Algumas doenças não neoplásicas podem causar elevação de concentração de substâncias utilizadas como marcadores tumorais. Os mecanismos pelos quais ocorre essa elevação dependem do marcador e podem ser classificados em dois grupos principais: mudanças na produção da substância em especial ou em seu catabolismo. A maioria dos marcadores tumorais é catabolizada no fígado e excretada via renal. Mudanças funcionais nesses órgãos poderão causar redução no catabolismo ou na eliminação, resultando em acúmulo no organismo. Dessa maneira, é comum o encontro de aumento moderado, em torno de 2 a 4 vezes o limite superior de referência em pacientes com cirrose hepática ou insuficiência renal crônica. Podem ser referidos os seguintes marcadores que sofrem essa elevação: CEA, CA-125, ProGRP, Cyfra 21-1.^{8,10} Em pacientes com insuficiência renal crônica, em

especial, as concentrações séricas de antígeno do carcinoma de células escamosas (SCCA – do inglês *scamous cell carcinoma antigen*), S-100 ou proteína epididimal humana (HE4, do inglês *human epididymal protein 4*)^{7,11} podem atingir níveis compatíveis aos encontrados em pacientes com doenças malignas. Na vigência dessa condição, a medida desses marcadores não deve ser realizada.

Agressões não neoplásicas afetando alguns tecidos podem causar elevações de substâncias consideradas marcadores tumorais. Em geral, as elevações são moderadas. São exemplos de elevações de PSA total na prostatite e na hiperplasia prostática benigna; de CEA na colite ulcerativa e na doença de Crohn. Em algumas doenças, a elevação pode ser tão marcante que valores de referência específicos devem ser adotados, como é o caso do CA125 na presença de derrame pleural ou peritoneal.

Medidas seriadas

Um resultado isolado evidenciando níveis elevados de qualquer marcador tumoral tem um valor muito limitado e deve ser interpretado com muito cuidado. O diagnóstico de presença de processo neoplásico exige que sejam feitas, pelo menos, duas ou até mesmo, três medidas sequenciais, em intervalos maiores do que a meia-vida do marcador. Os intervalos de 15 ou 20 dias podem ser utilizados para a maioria dos marcadores tumorais. Resultados sequenciais evidenciando tendência à elevação acima do coeficiente de variação interensaio são fortemente sugestivos da presença de neoplasia. Se os níveis séricos não se alterarem significativamente ou mostrarem tendência de queda, a causa da elevação, com elevado grau de segurança, não é de doença maligna.

É importante ressaltar que resultados obtidos por diferentes conjuntos diagnósticos, mesmo com base em um mesmo princípio metodológico, em geral, não se correlacionam bem entre si, fazendo com que uma atenção especial deva ser tomada ao se interpretar resultados seriados obtidos por diferentes ensaios. Uma das causas prováveis para resultados discordantes inclui a diversidade de anticorpos utilizados nos diferentes testes.

REFERÊNCIAS

1. RIESEN WF, KELLER H. Definition of the performance of tumor marker tests, principal considerations. *J Tumor Marker Oncol.* 1993;8:15-20.
2. STURGEON CM, SETH J. Why do immunoassays for tumor markers give differing results? A view from the UK National External Quality Assessment Schemes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1996;34:755-9.
3. COLLINS GN, MARTIN PJ, WYNN DA, ET AL. The effect of digital rectal examination, flexible cystoscopy and prostatic biopsy on free and total prostate specific antigen, and the free-to-total prostate specific antigen ratio in clinical practice. *J Urol.* 1997;157:1744-7.
4. HERSCHMAN JD, SMITH DS, CATALONA WJ. Effect of ejaculation on serum total and free prostate-specific antigen concentrations. *Urology.* 1997;50:239-43.
5. KLEIN LT, LOWE FC. The effects of prostatic manipulation on prostate-specific antigens levels. *Urol Clin North America.* 1997;24:293-7.
6. DAVELAAR EM, VAN KAMP GJ, VERSTRAETEN RA, KENEMANS P. Comparison of seven immunoassays for the quantification of CA125 antigen in serum. *Clin Chem.* 1998;44:1417.
7. ESCUDERO JM, AUGÉ JM, FILELLA X, ET AL. Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem.* 2011;57(11):1534-44.

8. CASES A, FILELLA X, MOLINA R, ET AL. Tumor markers in chronic renal failure and hemodialysis patients. *Nephron*. 1999;57:183-6.
9. STURGEON CM. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. *Clin Chem*. 2002;48:1151-9.
10. FILELLA X, CASES A, MOLINA R, ET AL. Tumor markers in patients with chronic renal failure. *Int J Biol Markers*. 1990;5:85-8.
11. MOLINA R, NAVARRO J, FILELLA X, ET AL. S-100 protein serum levels in patients with benign and malignant diseases. *Tum Biol*. 2002;23:39-44.

40 Novos marcadores no diagnóstico e acompanhamento do câncer de próstata

Adagmar Andriolo

INTRODUÇÃO

O antígeno prostático específico (PSA) tem sido utilizado como auxiliar laboratorial para o rastreamento, o diagnóstico e o monitoramento do câncer de próstata (PCa) há 40 anos. Após a euforia inicial, por se constituir o primeiro marcador precoce dessa doença, substituindo com inúmeras vantagens a medida da atividade da isoenzima prostática da fosfatase ácida, sua utilização indiscriminada para rastreamento populacional passou por revisões e análises críticas.

Os resultados do *European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer*,¹ publicado em 2014, após 13 anos de utilização do PSA como ferramenta de triagem para câncer de próstata, mostraram redução da mortalidade por PCa em longo prazo. Entretanto, esse mesmo estudo evidenciou que, em termos populacionais, as vantagens do rastreamento não teriam um custo-benefício justificável. Uma limitação adicional da medida de PSA total se refere à baixa especificidade desse marcador, uma vez que níveis elevados induzem ao aumento de solicitação de biópsias prostáticas, procedimento invasivo e de elevado custo e que, com frequência, fornece resultado negativo ou diagnóstico de doença clinicamente insignificante,² o qual, por sua vez, condiciona ao supertratamento, em geral, com prostectomias radicais.³

Do ponto de vista laboratorial, uma restrição importante em relação ao PSA é o fato de não haver um intervalo de referência aplicável a todos os indivíduos. O resultado deve ser sempre interpretado levando-se em conta vários fatores, como idade do paciente, história clínica, volume prostático, uso de determinadas medicações e resultados anteriores. Como regra geral, é considerado adequado um valor abaixo de 2,5 ng/mL. Além da sua inespecificidade em relação à existência de um processo neoplásico, a medida do PSA total não fornece nenhuma informação sobre o grau de agressividade do tumor. Essa característica do tumor, até recentemente, era obtida somente com a realização de biópsia prostática. Resultados positivos, com valores iguais ou superiores a 7 na escala de Gleason, indicam tumores de maior agressividade.

CARACTERÍSTICAS DO PSA

Inicialmente, considerava-se que o PSA fosse uma proteína específica produzida pelo tecido prostático, mas, a partir do emprego de metodologias mais sensíveis e da realização de estudos imuno-histoquímicos, ficou evidente sua presença em células de glândulas anais

e em outros tecidos, como glândulas periuretrais, mamárias, salivares, pancreáticas e nos demais líquidos corporais além do soro, como leite, líquido amniótico e urina.

Utilizando os ensaios com limite de detecção da ordem de 0,001 ng/mL, é possível a detecção de PSA em cerca de 50% das mulheres normais, mas, até o momento, são restritas as evidências que justifiquem sua medida.

Cerca de 85 a 90% do PSA total detectado no soro de indivíduos normais estão complexados com proteínas inibidoras de proteases, principalmente alfa-1-antiquimiotripsina e, em menor quantidade, com alfa-1-antitripsina. Os 10 a 15% restantes permanecem livres, em circulação. Uma quantidade de PSA não detectável pelos métodos utilizados nos laboratórios clínicos circula ligada à alfa-2-macroglobulina, de tal forma que PSA total, na prática, refere-se à soma do PSA livre e do PSA complexado à alfa-1-antiquimiotripsina.

A probabilidade da presença de câncer varia com o grau de elevação do PSA total. Para níveis entre 4 e 10 ng/mL, o valor preditivo positivo é de 25 a 35%, o que significa que em 65 a 75% dos casos trata-se de resultado falso-positivo para esse diagnóstico. Mesmo quando o PSA total estiver acima de 10 ng/mL, a probabilidade de câncer estará entre 42 e 64%.

Com o objetivo de melhorar a acurácia diagnóstica para o câncer prostático, de reduzir biópsias desnecessárias e discriminar entre cânceres agressivos e de crescimento lento, evitando o tratamento excessivo, outros parâmetros derivados do PSA total e novos biomarcadores foram desenvolvidos.

Devem ser referidos os cálculos da densidade do PSA, da velocidade do PSA, da relação entre a fração livre e o PSA total e a medida isolada do PSA complexado e a medida do PCA3. Também foi preconizada a adoção de valores de referência específicos para diferentes faixas etárias e etnias.⁴

A densidade do PSA é obtida pela relação entre o valor absoluto da concentração do PSA total, em ng/mL, e o volume prostático, em cm³, calculado pelo exame ultrassonográfico transretal da próstata. Ainda que tenha limitações para o diagnóstico, a densidade do PSA demonstrou ter capacidade prognóstica superior à do PSA total, tendo sido adotado como um bom indicador para definição de conduta, inclusive indicação de biópsia.^{5,6}

A medida da fração do PSA ligado à alfa-1-antiquimiotripsina, identificada como PSA complexado, foi sugerida como melhor parâmetro diferencial entre neoplasia e hiperplasia benigna da próstata, mas as evidências demonstraram que sua eficiência diagnóstica é semelhante à obtida pela relação do PSA livre sobre o PSA total. As possíveis vantagens seriam a maior estabilidade *in vivo* dessa fração do PSA e a menor interferência da manipulação prostática sobre seus níveis circulantes. É importante ressaltar que não existe correspondência numérica entre o PSA complexado dosado e o calculado pela diferença entre o PSA total e a fração livre. Essa inconsistência pode ser decorrente das limitações metodológicas.

Uma vez que os processos prostáticos não neoplásicos, em geral, condicionam a níveis mais elevados de PSA livre, o cálculo da relação entre essa fração e o PSA total pode auxiliar na diferenciação de níveis elevados causados por câncer daqueles níveis elevados resultantes de hiperplasia prostática benigna, por exemplo. Essa relação, geralmente, é empregada como um fator adicional para indicação de biópsia, especialmente quando o PSA total está entre 4 e 10 ng/mL.

Quanto menor essa relação, maior é a probabilidade de câncer. Por exemplo, apenas 8% dos pacientes que apresentam essa relação acima de 25% têm câncer da próstata e mais de

50% dos pacientes terão câncer detectado na biópsia, quando a relação for menor que 10%. Diferentes pontos de corte podem ser utilizados, e 15% é o mais comumente aplicado.

Além desses recursos, outros biomarcadores no soro e na urina foram apresentados para uso clínico, com resultados variados.⁷

Estudos desenvolvidos a partir de 2010 evidenciaram que a fração do PSA livre circulante é composta por diferentes estruturas moleculares dessa proteína, contendo diferentes números de aminoácidos.

Em 2012, uma dessas frações, denominada [-2] proPSA (p2PSA), foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) para a indicação ou não de biópsia prostática em homens com concentrações de PSA total entre 4 e 10 ng/mL e exame digital retal negativo.⁸ Além do valor absoluto do p2PSA, a literatura consagrou o uso do percentual dessa fração em relação ao total de PSA livre presente na amostra (%p2PSA).

Adicionalmente ao p2PSA e ao %p2PSA, recentemente foi introduzido o índice de saúde da próstata (PHI, do inglês *prostate health index*), que combina os valores de PSA total, PSA livre e p2PSA em uma fórmula matemática. Os percentuais de p2PSA e PHI são os parâmetros que demonstraram melhor desempenho para o diagnóstico de PCa e para a indicação de biópsias, cujos resultados serão positivos,^{9,10} particularmente nos pacientes com exame digital retal negativo e PSA total entre 2 e 10 ng/mL.

De maneira semelhante ao proposto para o cálculo da densidade do PSA, alguns autores descreveram a densidade do PHI, que corresponde à relação entre o valor numérico de PHI e o volume prostático avaliado pela ultrassonografia transretal,¹¹ melhorando ainda mais sua capacidade diagnóstica.

Existem trabalhos recentes indicando que tanto o p2PSA% quanto o PHI se correlacionam bem com a escala de Gleason, de tal modo que, com os resultados desses exames, é possível prever qual será o grau de agressividade do tumor, antes mesmo da realização de biópsia prostática. As análises dos resultados de %p2PSA e de PHI permitem a redução de solicitações de biópsias em cerca de 30%, pois estas, com elevado grau de certeza, forneceriam resultados negativos.

Na biópsia, considera-se que valores da escala de Gleason igual ou superior a sete indicam maior agressividade do tumor. Em relação ao PHI, os autores ainda divergem sobre um valor de corte adequado, mas é considerado que, quanto maior o seu valor, maior será a agressividade do tumor. Quaisquer valores acima de 43,5 pg/mL de p2PSA e acima de 35,9 de PHI devem ser considerados um risco aumentado da presença de PCa.

PCA3

Esse parâmetro não se enquadra no grupo de marcadores tumorais circulantes, por ser pesquisado exclusivamente na urina ou em tecido prostático, foi incluído neste capítulo em razão de sua relevância clínica e por ter sua eficácia frequentemente comparada aos marcadores circulantes.

Bussemaker e colaboradores,¹² comparando padrões de expressão de mRNA do tecido normal com o tecido neoplásico, identificaram um cDNA superexpresso em 53 de 56 tumores prostáticos, em comparação ao tecido prostático não neoplásico dos mesmos pacientes. O gene *DD3*, também identificado como *PCA3*, foi mapeado para o cromossomo 9q21-22 e se revelou como um dos genes mais específicos de câncer de próstata já descritos, passando

a ser considerado um bom marcador para o diagnóstico precoce do câncer de próstata. Ainda não foi identificada a eventual proteína codificada pelo gene *PCA3*.

Em 2012, o *PCA3* foi aprovado pela FDA para uso em pacientes com concentrações de PSA entre 4 e 10 ng/mL, com exame digital retal negativo e que precisavam repetir a biópsia prostática, tendo em vista a forte suspeita clínica de presença de processo neoplásico.

Em uma análise comparativa, Scattoni e colaboradores¹³ relataram que o PHI teve um desempenho melhor que o *PCA3* como preditor de resultado, tanto em casos de primeira biópsia quanto em situações nas quais foram necessárias a realização de novas biópsias.¹³

No trabalho desenvolvido por Ferro e colaboradores,¹⁴ observa-se que *PCA3* e PHI tiveram desempenho comparável em uma coorte incluindo 300 indivíduos com valores de PSA total entre 2 e 10 ng/mL, mas, diferentemente, de estudos anteriores,^{13,15} a combinação dos dois biomarcadores não forneceu vantagem adicional ao poder de diagnóstico de cada um dos marcadores isoladamente.

É entendimento atual que as medidas de PSA total, de seus derivados e do *PCA3* devem ser utilizadas com critério, principalmente após conscientização do paciente sobre suas vantagens e limitações.

REFERÊNCIAS

1. SCHRÖDER FH, HUGOSSON J, ROOBOL MJ, ET AL. Screening and prostate cancer mortality: results of the european randomised study of screening for prostate cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet*. 2014;6736:1-9.
2. LOEB S, BJURLIN MA, NICHOLSON J, ET AL. Overdiagnosis and overtreatment of prostate cancer. *Eur Urol*. 2014;65:1046-55.
3. LOEB S, GONZALEZ CM, ROEHL KA, ET AL. Pathological characteristics of prostate cancer detected through prostate specific antigen based screening. *J Urol*. 2006;175:902-6.
4. NIXON RG, BRAWER MK. Enhancing the specificity of prostate-specific antigen (PSA): an overview of PSA density, velocity and age-specific reference ranges. *Br J Urol*. 1997;79:61-7.
5. TOSOIAN JJ, CARTER HB, LEPOR A, ET AL. Active surveillance for prostate cancer: current evidence and contemporary state of practice. *Nat Rev Urol*. 2016;13:205-15.
6. VERMA A, ST ONGE J, DHILLON K, ET AL. PSA density improves prediction of prostate cancer. *Can J Urol*. 2014;21:7312-21.
7. DIJKSTRA S, MULDER PFA, SCHALKEN JÁ. Clinical use of novel urine and blood based prostate cancer biomarkers: a review. *Clin Biochem*. 2014;47:889-96.
8. GUAZZONI G, NAVA L, LAZZERI M, ET AL. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA significantly improves the prediction of prostate cancer at initial extended prostate biopsies in patients with total PSA between 2.0 and 10 ng/mL: results of a prospective study in a clinical setting. *Eur Urol*. 2011;60:214-22.
9. LEPOR A, CATALONA WJ, LOEB S. The prostate health index: its utility in prostate cancer detection. *Urol Clin North Am*. 2016;43:1-6.
10. STEPHAN C, VINCEDEAU S, HOULGATTE A, ET AL. Multicenter evaluation of [2]prostate-specific antigen and the prostate health index for detecting prostate cancer. *Clin Chem*. 2013;59:306-14.
11. TOSOIAN JJ, DRUSKIN SC, ANDREAS D, ET AL. Prostate Health Index density improves detection of clinically significant prostate cancer. *BJU Int*. 2017;120:793-8.
12. BUSSEMAKERS MJ, VAN BOKHOVEN A, VERHAEGH GW, ET AL. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Research*. 1999;59(23):5975-9.

13. SCATTONI V, LAZZERI M, LUGHEZZANI G, ET AL. Head-to-head comparison of prostate health index and urinary prostate cancer antigen 3 in predicting the presence of cancer at initial or repeat biopsy. *J Urol*. 2013.
14. FERRO M, BRUZZESE D, PERDONÀ S, ET AL. Prostate health index (Phi) and prostate cancer antigen 3 (PCA3) significantly improve prostate cancer detection at initial biopsy in a total PSA range of 2-10 ng/mL. *PLoS One*. 2013;8(7):e67687.
15. PERDONA S, BRUZZESE D, FERRO M, ET AL. Prostate health index (PHI) and prostate cancer antigen 3 (PCA3) significantly improve diagnostic accuracy in patients undergoing prostate biopsy. *Prostate*. 2013;73:227-35.

41 **Como implementar as normas do BrCAST no laboratório clínico**

André Mario Doi, Antonia Maria de Oliveira Machado, Cássia Maria Zoccoli, Jorge Luiz Mello Sampaio, Marinês Dalla Valle Martino, Paula Célia Mariko Koga

INTRODUÇÃO

O Brazilian Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST – Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos) é designado conjuntamente pelas Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC), Sociedade Brasileira de Infectologia (SBI), Sociedade Brasileira de Microbiologia (SBM) e Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), cujo termo de cooperação técnico entre as quatro sociedades foi assinado inicialmente em agosto de 2013 e ratificado em outubro de 2018, que visa, entre outras atividades, a padronizar a leitura e a interpretação do teste de sensibilidade aos antimicrobianos.

A Portaria n. 64, de 11 de dezembro de 2018, publicada pelo Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde, determina aos laboratórios da rede pública e privada, de todas as unidades federadas, a utilização das normas de interpretação para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), tendo como base os documentos do BrCAST.

PASSO A PASSO PARA IMPLEMENTAÇÃO DO BrCAST

A implementação da padronização, conforme os documentos do BrCAST nos laboratórios, é uma tarefa desafiadora; porém, extremamente importante, pois, além de ser a primeira iniciativa de padronização oficial nacional para realização e interpretação do teste de sensibilidade aos antimicrobianos, é um momento em que o laboratório de microbiologia pode rever e aprimorar seus processos.

Neste capítulo, é apresentado um guia de como realizar essa implementação de maneira prática e objetiva, destacando os pontos primordiais e críticos a serem considerados.

1. Escolher um líder e planejar as mudanças

O planejamento para realizar a implementação do BrCAST no laboratório de microbiologia deve ser iniciado com pelo menos 3 meses antes da data inicial escolhida como “dia da implementação”.

É essencial, já na fase de planejamento, destacar um líder dentre o grupo que participará da mudança, que deverá ser capaz de promover a integração de pessoas, capacitação e divisão de tarefas, assim como acompanhar o cronograma das atividades programadas. O envolvimento de toda a equipe é essencial para o sucesso da implementação.

2. Identificar os testes de sensibilidade utilizados no seu laboratório

Como se sabe, existem diversas maneiras de realizar o teste de sensibilidade aos antimicrobianos no laboratório. Alguns utilizam disco-difusão, outros métodos automatizados e, ainda, há quem utilize em suas rotinas os dois métodos simultaneamente, além de microdiluição em caldo e difusão por gradiente de concentração.

É importante identificar qual ou quais métodos estão sendo utilizados, pois existem diferenças importantes quando há troca de padronização, desde os insumos utilizados, os procedimentos, as instruções de leitura até a interpretação do TSA. Apesar de muitos pontos em comum com outras padronizações utilizadas mundialmente, existem diferenças importantes a serem consideradas quando da implementação das normas do BrCAST.

3. Identificar e notificar os fornecedores de insumos

Quando se muda para o BrCAST, é importante lembrar que alguns insumos utilizados deverão ser adequados para atender à nova padronização. Isso pode incluir discos de antibióticos, meios de cultura e cartões/painéis automatizados para o TSA. No site do BrCAST (<<http://brcast.org.br/>>), é possível encontrar no documento “Lista de verificação para implementação do BrCAST” a listagem dos discos e meios de cultura diferenciados para aquisição, bem como considerações técnicas a serem seguidas pelo laboratório.

É fundamental fazer um planejamento para que a aquisição de novos materiais e consumo de antigos sejam realizados em tempo hábil e sincronizados. Por isso, é necessário realizar o controle do estoque atual do laboratório e garantir a descontinuidade do insumo anterior, evitando o desperdício.

Diversas empresas nacionais e internacionais já estão aptas para fornecer os insumos recomendados pelo BrCAST. Entretanto, as empresas devem ser comunicadas com antecedência para o planejamento da produção e a entrega desses insumos.

Com relação aos cartões e aos painéis de teste de sensibilidade automatizados disponíveis no mercado, é necessário discutir com as empresas fornecedoras e verificar se a abrangência das concentrações e o conteúdo dos antimicrobianos atendem às recomendações e aos pontos de corte do BrCAST. Muitas empresas já adequaram seus painéis/cartões de acordo com a norma brasileira atual.

4. Identificar e notificar clientes e usuários: corpo clínico, farmácia e serviços de controle de infecção hospitalar (SCIH)

Nessa etapa, o laboratório deve identificar quem são os clientes e usuários, que precisam ser informados sobre as mudanças. Em geral, esse grupo compreende: médicos que assistem os pacientes, prescritores de antibióticos (médicos e odontologistas), enfermeiros da assistência, farmácia clínica e o grupo que compõe os SCIH. Entretanto, é fundamental que essa notificação seja acompanhada de um programa educativo que explique os conceitos do BrCAST, a importância e a necessidade da nova padronização, as diferenças com documentos anteriormente adotados e os impactos na interpretação do TSA e na assistência ao paciente. A execução desse processo educativo e trabalho em grupo garante maior adesão dos envolvidos, melhor entendimento das mudanças e mais chance de sucesso na implementação.

Os serviços devem entender que as taxas de resistência aos antimicrobianos ao longo do tempo podem mudar, principalmente quando houver diferenças nos pontos de corte conforme o BrCAST em relação aos documentos anteriormente utilizados.

5. Revisar os documentos dos laboratórios de microbiologia (procedimentos, operacionais, manuais, instruções etc.)

Diversas normativas recomendam que a revisão de todos os documentos utilizados no laboratório, como procedimentos operacionais, manuais, instruções de trabalho, formulários/planilhas de registros, entre outros, seja realizada a cada mudança ou anualmente (norma PALC 2016, item 3.2). Desse modo, todos os documentos pertinentes ou relacionados com o TSA devem ser revisados ao se implementar o BrCAST.

6. Notificar e adequar os sistemas de informação

Ao realizar a mudança, é necessário notificar e adequar os sistemas de informação. Isso ocorrerá não somente para os métodos manuais, mas principalmente para os métodos automatizados.

Os sistemas de informática do laboratório devem ser alimentados com os novos pontos de corte, para que ocorra a interpretação dos halos de inibição ou concentração inibitória mínima (CIM) de acordo com a nova padronização. Tanto os sistemas de interface como os sistemas dos equipamentos devem ser preparados para essas mudanças com antecedência. Reuniões com as equipes de informática devem ser realizadas para o alinhamento e o planejamento das atividades, prevendo os possíveis impactos no sistema de gestão da informação utilizado no laboratório.

7. Informar os organizadores dos programas de controle de qualidade externos e órgãos de certificação de qualidade do laboratório

As mudanças e adequações das normas de realização e interpretação do TSA devem ser informadas aos programas de controle de qualidade externo (CQE) dos quais o laboratório participa antes do dia da implementação. Isso é importante, pois os testes de proficiência são comparativos a um padrão de referência e pode ocorrer mudança categórica na interpretação do TSA, de acordo com a padronização utilizada. Assim, para que não haja inadequações nesses testes, os organizadores precisam ser notificados com antecedência.

Todos os órgãos de acreditação, como os organizadores de programas de controle de qualidade externos, aceitam a utilização do BrCAST como normativa de referência para o TSA. Isso inclui o Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), Controllab, Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) e College of American Pathologists (CAP), entre outros.

8. Estabelecer um programa de educação continuada com a equipe

Tanto na fase de planejamento como na de implementação e manutenção do processo, é necessário estabelecer um programa de educação continuada durante 3 a 6 meses. O intuito desse programa é garantir que todos estejam integrados e entendam as mudanças que ocorrerão. No site do BrCAST, existem diversos documentos didáticos e que poderão auxiliar todos os envolvidos, destacando-se:

- Lista de verificação para implementação do BrCAST – 2016;
- Manual de disco-difusão do BrCAST – 2020;
- Guia de leitura do método de disco-difusão do BrCAST – 2020;
- Redefinição das categorias dos testes de sensibilidade S, I e R – 2019;

- Orientações do EUCAST para a detecção de mecanismos de resistência e resistências específicas – 2017;
- Tabela de pontos de corte clínicos do BrCAST – 2020;
- Tabelas de controle de qualidade de rotina e estendido do BrCAST – 2020.

No *site*, também estão disponíveis diversas aulas ministradas durante as oficinas de capacitação para implementação do BrCAST e também ministradas durante eventos científicos. É uma oportunidade para o grupo de reforçar e adquirir novos conhecimentos e se atualizar sobre os temas: teste de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos. Esse programa de educação pode também se estender a outros setores fora do laboratório de microbiologia, como farmácia clínica, grupo do SCIH e demais profissionais que atuam na área.

9. Realizar a verificação e a validação dos novos insumos

De acordo com o que já foi exposto anteriormente, ao realizar a mudança da padronização, alguns insumos diferentes deverão ser adquiridos e utilizados. De acordo com as recomendações nacionais e internacionais de controle de qualidade, toda mudança de novo produto deve passar por um processo rigoroso de verificação/validação antes de ser colocado na rotina.

A fim de reforçar alguns conceitos importantes nesse tópico, de acordo com o Cumitech 31 (2009), definiram-se:

- Verificação: processo que determina ou confirma o desempenho esperado do teste antes de sua implementação na rotina clínica. A pergunta a ser respondida é: “O teste funciona?”;
- Validação: processo de monitoramento desse teste, procedimento ou método que garante a continuidade do desempenho esperado. A pergunta a ser respondida é: “O teste continua funcionando?”.

Portanto, para novos discos, meios de cultura e cartões/painéis, deve ser realizada verificação antes da implementação para garantir que o teste funcionará. O passo a passo para o processo de verificação como de validação pode ser encontrado no site do BrCAST no documento “Manual de disco-difusão do BrCAST”, item 9. Esse documento também apresenta outros pontos importantes relacionados com o controle de qualidade, como quais cepas de referência a serem utilizadas, como realizar, interpretar e a frequência/periodicidade dos testes a serem realizados.

10. Analisar todas as combinações de agentes/antimicrobianos

Durante essa etapa, talvez a mais árdua durante o processo, é necessário identificar quais antimicrobianos estão sendo testados de acordo com cada microrganismo e/ou sítio de infecção.

Cada grupo deve ser analisado e estudado de acordo com o documento “Tabela de pontos de corte clínicos BrCAST – 2020”, disponível no site do BrCAST. Nas tabelas, além dos pontos de corte de acordo com halo de inibição ou concentração inibitória mínima, também é possível observar em notas, recomendações importantes a serem consideradas de acordo com cada grupo de antimicrobiano/microrganismo e informações sobre o regime terapêutico para o qual o ponto de corte foi estabelecido. Algumas recomenda-

ções para leitura de halos ou concentração inibitória mínima, detecção de mecanismos de resistência específicos e notas, que devem constar nos laudos do teste de sensibilidade, também são apresentadas ao longo desse documento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visto que a resistência aos antimicrobianos é um problema de saúde pública, a padronização nacional para leitura e interpretação do teste de sensibilidade aos antimicrobianos em todos os laboratórios brasileiros é uma das iniciativas do Plano Nacional de Combate à Resistência Bacteriana no Brasil (PAN-BR). Com essa finalidade, o BrCAST foi reconhecido, em dezembro de 2018, pelo Ministério da Saúde, por meio da Portaria n. 64, como a normativa a ser seguida por todos os laboratórios clínicos.

Em um país de dimensões continentais, há grande número e diversidade de laboratórios de microbiologia. Por isso, é essencial que esses serviços estejam preparados para fornecer resultados e dados acurados, uniformes e atualizados para a vigilância epidemiológica e ações de saúde pública relacionadas com a resistência microbiana.

Toda mudança exige dedicação e esforço. Contudo, também é uma oportunidade de reforçar e atualizar o conhecimento nesse campo tão importante da área da saúde. Ainda, trata-se de um momento para o laboratório rever e aprimorar seus processos.

O objetivo deste capítulo foi auxiliar os laboratórios a encontrar o caminho para a implementação das normas do BrCAST. As informações e documentos contidos no site do BrCAST e indicados para leitura também auxiliarão os profissionais nesse projeto.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. Disponível em: <www.brcast.org/>. Acesso em: 20 maio 2019.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST). Disponível em: <<https://eucast.org/>>. Acesso em: 20 maio 2020.

RODRÍGUEZ-BAÑO J, PICÓN E, NAVARRO MD, ET AL.; ESBL-REIPI Group. Impact of changes in CLSI and EUCAST breakpoints for susceptibility in bloodstream infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(9):894-900.

SÁNCHEZ-BAUTISTA A, COY J, GARCÍA-SHIMIZU P, RODRÍGUEZ JC. From CLSI to EUCAST guidelines in the interpretation of antimicrobial susceptibility: what is the effect in our setting? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;36(4):229-32.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Comissão de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CALC) – Norma do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) – versão 2016. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/norma_palc_2016_web.pdf>. Acesso em: 20 maio 2020.

AS INFECÇÕES FÚNGICAS podem ser divididas objetivamente em dermatomicoses, ou micoses superficiais, e em micoses profundas ou invasivas.

As dermatomicoses são limitadas aos extratos superficiais da pele e são representadas principalmente pelas dermatofitoses ou por doenças causadas por espécies de dermatófitos, pertencentes aos gêneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*.¹ O diagnóstico laboratorial das dermatofitoses baseia-se sobretudo no exame direto de raspados de lesões através da visualização de estruturas fúngicas, como hifas e arthroconídios, e também por meio da cultura e do microcultivo.¹

Contudo, as infecções fúngicas invasivas (IFI) são causadas por uma grande diversidade de patógenos, incluindo leveduras como *Candida* e *Cryptococcus*, fungos filamentosos como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucorales* e *Scedosporium*,² e fungos endêmicos como *Histoplasma capsulatum* e *Paracoccidioides brasiliensis*.³

Embora o número de pacientes com IFI seja menor que aqueles que sofrem de dermatomicoses, as formas invasivas têm elevada mortalidade e exigem diagnóstico rápido e preciso pelos laboratórios clínicos. As infecções de corrente sanguínea por *Candida*, ou candidemia, são as IFI mais comuns em ambiente hospitalar, e o tratamento precoce guiado por fatores de risco ou por testes diagnósticos pode reduzir a mortalidade dos pacientes infectados.⁴ Estima-se que cerca de 30 mil brasileiros desenvolvam candidemia anualmente e a mortalidade associada a tais infecções é superior a 40%, o dobro das taxas reportadas em países do hemisfério Norte.^{5,6} Entre as causas da elevada mortalidade observada no casos de candidemia no Brasil, o diagnóstico tardio pode ser um dos principais fatores contribuintes. Assim, o diagnóstico ágil é um dos principais desafios para o laboratório de micologia.

Hemocultura é o principal método diagnóstico para as candidemias, e a coleta adequada das amostras é essencial para o bom desempenho do método. O inóculo fúngico na corrente sanguínea pode ser pequeno, e a coleta de volumes maiores de sangue, entre 40 e 60 mL, é necessária para a positividade de hemocultura. Não menos relevante, é a orientação da coleta de hemoculturas antes da introdução do antimicrobiano. Nesse contexto, entre os desafios do laboratório clínico para melhor desempenho das hemoculturas, estão a disponibilização de manuais de coleta e treinamentos relacionados, assim como o monitoramento do número de frascos coletados por episódio de sepse. As diretrizes recomendam a coleta de 2 a 3 pares de hemocultura, com 10 mL de sangue por frasco.⁷

Outra modalidade de candidíase invasiva é a forma intra-abdominal da doença, principalmente após cirurgia do trato digestório e pancreatite necrosante.⁸ Nesse contexto, as hemoculturas têm baixa sensibilidade, pois poucos pacientes nessa situação evoluem com candidemia detectável por meio de cultivos. No entanto, outros métodos laboratoriais podem ser úteis para o diagnóstico, como o teste de detecção sérica de beta-D-glucana (BDG).⁹ Porém, o teste comercial para realização da dosagem sérica de BDG tem custos excessivos de importação, e somando-se a alta taxa de falso-positivos inerentes ao método, torna-o pouco custo-efetivo para a realidade brasileira. Testes moleculares podem ser úteis para o diagnóstico de candidíase invasiva, e alguns métodos comerciais são utilizados em alguns laboratórios clínicos privados, principalmente em países desenvolvidos. Recentemente, técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, aliadas à nanotecnologia e à ressonância magnética, foram desenvolvidas para o diagnóstico de candidemia. O método T2Candida® (T2Biosystems) é capaz de identificar *Candida* diretamente de amostras sanguíneas, sem necessidade de cultivo, em apenas 4 horas.^{10,11} No entanto, cada análise custa cerca de U\$ 250, o que torna o método pouco custo-efetivo, principalmente em cenários de baixa prevalência de candidemia. Assim, a aplicação de métodos rápidos não dependentes de cultura para diagnóstico de candidemia é outro desafio para os laboratórios clínicos brasileiros. O desenvolvimento de técnicas *in-house* validados é um possível horizonte para tal desafio.

A correta identificação de espécies de *Candida* tem relevância clínica, pois o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos varia de acordo com a espécie. Vale lembrar que cerca de 5% dos episódios de candidemia são causados por mais de uma espécie e o uso de meio de cultura cromogênico deve ser rotineiro nos laboratórios, já que ajuda a identificar infecções com mais de uma espécie.¹⁰ Após o cultivo em placa, a identificação final pode ser realizada por meio de diferentes métodos, muitos deles baseados em auxonogramas manuais ou automatizados, que podem levar mais de 24 horas para o resultado final. A espectrometria de massas por ionização e dessorção a laser auxiliada por matriz tempo de voo (MALDI-TOF – *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*) é uma técnica revolucionária para identificação de microrganismos e foi adaptada aos laboratórios clínicos.¹² A análise das proteínas ribossomais permite uma identificação precisa do patógeno, incluindo leveduras e fungos filamentosos. A aquisição de tal tecnologia permite diminuir o tempo de identificação dos microrganismos entre 12 e 24 horas, quando cultivados em placa, e entre 24 e 48 horas, quando a análise é realizada diretamente de hemoculturas positivas.¹² Apesar dos elevados custos de aquisição e manutenção do equipamento, os insumos para a realização da análise custam cerca de cinco vezes menos que os painéis de identificação fenotípicos (p. ex., cartões Vitek 2®), o que torna a tecnologia custo-efetiva em locais com elevado número de amostras processadas diariamente. Muitos laboratórios da iniciativa privada já têm tal tecnologia, ao contrário dos hospitais do Sistema Único de Saúde (SUS). Principalmente em serviços de referência para pacientes imunodeprimidos, o diagnóstico preciso e precoce das infecções, incluindo candidemia, pode melhorar o prognóstico dos pacientes, além de diminuir o tempo de internação.⁴ Em um estudo-piloto realizado no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), fungemias em pacientes imunodeprimidos causadas por

fungos raros e com perfis peculiares de suscetibilidade aos antifúngicos foram rapidamente diagnosticadas por meio da análise direta (antes do cultivo em placa) de frascos de hemoculturas positivas através da espectrometria de massas MALDI-TOF.¹³ Porém, a realidade do HCFMUSP ainda é uma exceção dentro do SUS. O aumento dos hospitais do SUS que realizam transplantes e que oferecem tratamento a pacientes com imunodepressão deveria ser acompanhado da melhoria estrutural e tecnológica dos laboratórios de microbiologia. Entre as tecnologias a serem incorporadas ao laboratório de microbiologia, sem dúvida a espectrometria de massas MALDI-TOF seria a principal.

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos em micologia tem indicação menos abrangente quando comparado à bacteriologia. Na micologia clínica, o teste é padronizado, sobretudo para *Candida* spp., no qual há pontos de corte interpretativos dos resultados de concentração inibitória mínima e halo de inibição obtido por disco-difusão dos antifúngicos para as principais espécies.¹⁴ As taxas de resistência ao fluconazol em espécies não *Candida albicans* estão em ascensão em diferentes centros do país.^{2,15} Surto de infecção por clones persistentes de *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* resistentes ao fluconazol foram documentados nos últimos anos em diferentes hospitais brasileiros e são ainda mais preocupantes.^{16,17} No entanto, poucos são os laboratórios públicos que realizam os testes de suscetibilidade aos antifúngicos. O teste de suscetibilidade ao fluconazol por disco-difusão seria uma solução não onerosa factível para o SUS.

A doença criptocócica invasiva é uma infecção oportunista que acomete cerca de 7 mil brasileiros anualmente, principalmente naqueles infectados pelo vírus HIV e com menos de 100 células T CD4⁺ por mm³. O diagnóstico se faz principalmente pela análise microscópica e pela cultura do líquido cefalorraquidiano, hemocultura e detecção do antígeno criptocócico em liquor e amostra sanguínea. A detecção de antígeno glucuronoxilomana da parede fúngica se mostra mais sensível para pacientes com baixo inóculo infeccioso, e o aprimoramento do método com anticorpo monoclonal em teste imunocromatográfico do tipo *point-of-care* (*lateral flow assay* – LFA) tem auxiliado no diagnóstico de infecções oligossintomáticas e vem melhorando o prognóstico dos pacientes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o rastreamento de doença criptocócica assintomática pelo LFA em pacientes soropositivos ao HIV com menos de 200 células T CD4⁺/mm³.¹⁸

A aspergilose invasiva é outra doença de grande impacto em hospitais de referência que cuidam de pacientes onco-hematológicos.⁶ Entre as ferramentas diagnósticas, a dosagem do antígeno galactomanana em amostras de soro ou lavado broncoalveolar é essencial para o manejo da aspergilose invasiva.² A galactomanana é um antígeno encontrado principalmente na parede celular de *Aspergillus* quando o fungo está em filamentação. Em fases iniciais da doença, pacientes com neutropenia prolongada podem ter o antígeno detectado em amostras séricas e receber tratamento precoce, o que se relaciona a um melhor prognóstico.²

Na Tabela 1, estão elencados alguns desafios para os laboratórios de micologia clínica localizados em hospitais de referência com pacientes críticos e/ou imunodeprimidos sujeitos às IFI. Não diferente das outras áreas do laboratório clínico, o controle de qualidade é essencial para a garantia da confiabilidade do resultado em micologia. O uso rotineiro de cepas de referência para o controle de qualidade externo deve ser a norma nos laboratórios de micologia e auditado pelas competências cabíveis.

TABELA 1 Principais desafios para o laboratório de micologia clínica em hospitais de referência com pacientes críticos e/ou imunodeprimidos

Desafio	Metodologia	Comentário
Diagnóstico da candidemia	Hemocultura automatizada	Estabelecer protocolos de coleta, treinamentos, participar de comissões de uso racional de antimicrobiano, tentar comunicar o resultado positivo para o médico responsável
Diagnóstico microscópico de micoses invasivas	Microscopia direta com microscopia de fluorescência (p. ex., corante calcoflúor)	Biópsias e amostras do trato respiratório podem ter escasso inóculo fúngico, e a microscopia de fluorescência pode aumentar a sensibilidade do método
Identificação rápida e precisa de fungos leveduriformes e filamentosos em placas de cultura	Espectrometria de massas MALDI-TOF	Permite identificação de leveduras e, mais recentemente, de fungos filamentosos, possibilitando substituir auxonogramas e microcultivos que exigem tempo prolongado para identificação
Identificação rápida e precisa de fungos leveduriformes em hemocultura	Espectrometria de massas MALDI-TOF	Protocolos de extração baseados em técnicas de lise-centrifugação podem ser aplicados para o diagnóstico precoce do agente causador da fungemia. Há <i>kits</i> comerciais disponíveis
Diagnóstico precoce de doença criptocócica oligossintomática em pacientes HIV+ e com células T CD4 < 100 células/mm ³	Teste imunocromatográfico LFA	Apesar de recomendado pela OMS, muitos laboratórios brasileiros ainda não fazem o uso de LFA para o diagnóstico da doença criptocócica. O diagnóstico precoce da doença pode mudar o prognóstico do paciente
Dosagem de galactomanana sérica ou em lavado broncoalveolar	Teste imunoenzimático quantitativo	Dosagem sérica pelo menos duas vezes por semana em pacientes com neutropenia prolongada

Fonte: elaborada pelo autor.

REFERÊNCIAS

1. GUPTA AK, MACLEOD MA, FOLEY KA, ET AL. Fungal skin infections. *Pediatr Rev.* 2017;38(1):8-22.
2. COLOMBO AL, DE ALMEIDA JÚNIOR JN, SLAVIN MA, ET AL. Candida and invasive mould diseases in non-neutropenic critically ill patients and patients with haematological cancer. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(11):e344-56.

3. QUEIROZ-TELLES F, FAHAL AH, FALCI DR, ET AL. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):e367-77.
4. HUANG AM, NEWTON D, KUNAPULI A, ET AL. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2013;57(9):1237-45.
5. COLOMBO AL, GUIMARÃES T, SUKIENIK T, ET AL. Prognostic factors and historical trends in the epidemiology of candidemia in critically ill patients: an analysis of five multicenter studies sequentially conducted over a 9-year period. *Intensive Care Med*. 2014;40(10):1489-98.
6. GIACOMAZZI J, BAETHGEN L, CARNEIRO LC, ET AL. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses*. 2016;59(3):145-50.
7. LAMY B, DARGÈRE S, ARENDRUP MC, ET AL. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art. *Front Microbiol*. 2016;7:697.
8. BASSETTI M, MARCHETTI M, CHAKRABARTI A, ET AL. A research agenda on the management of intra-abdominal candidiasis: results from a consensus of multinational experts. *Intensive Care Med*. 2013;39(12):2092-106.
9. NGUYEN MH, WISSEL MC, SHIELDS RK, ET AL. Performance of *Candida* real-time polymerase chain reaction, β -D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2012;54(9):1240-8.
10. KULBERG BJ, ARENDRUP MC. Invasive candidiasis. *N Engl J Med*. 2015;373(15):1445-56.
11. PFALLER MA, WOLK DM, LOWERY TJ. T2MR and T2Candida: novel technology for the rapid diagnosis of candidemia and invasive candidiasis. *Future Microbiol*. 2016;11(1):103-17.
12. POSTERARO B, DE CAROLIS E, VELLA A, SANGUINETTI M. MALDI-TOF mass spectrometry in the clinical mycology laboratory: identification of fungi and beyond. *Expert Rev Proteomics*. 2013;10(2):151-64.
13. DE ALMEIDA JN, SZTAJNBOK J, DA SILVA AR, ET AL. Rapid identification of moulds and arthroconidial yeasts from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry. *Med Mycol*. 2016;54(8):885-9.
14. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts. CLSI supplement M60. Wayne, PA: CLSI; 2017.
15. SOUZA ACR, FUCHS BB, PINHATI HMS, ET AL. *Candida* parapsilosis resistance to fluconazole: molecular mechanisms and in vivo impact in infected *Galleria mellonella* Larvae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(10):6581-7.
16. XISTO MIDS, CARAMALHO RDE, ROCHA DAS, ET AL. Pan-azole-resistant *Candida tropicalis* carrying homozygous *erg11* mutations at position K143R: a new emerging superbug? *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(4):988-92.
17. THOMAZ DY, DE ALMEIDA JN, LIMA GME, ET AL. An azole-resistant *Candida parapsilosis* outbreak: clonal persistence in the intensive care unit of a brazilian teaching hospital. *Front Microbiol*. 2018;9:2997.
18. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Geneva: WHO; 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531449/>>. Acesso em: 28 abr. 2020.

43 Interferentes na análise bioquímica da urina com tiras reagentes

Kaline Maria Nogueira de Lucena Fonseca

O EXAME DE urina foi o primeiro teste laboratorial realizado na medicina e continua um dos mais solicitados, servindo como ferramenta de rastreamento (*screening*) para o diagnóstico de infecção do trato urinário, nefropatias, hepatopatias, diabetes melito e outras doenças metabólicas. Sua popularidade decorre também do fato de se constituir um método não invasivo, de baixo custo, simples e rápido.

O exame de urina de rotina inclui quatro etapas: avaliação macroscópica, física, química e análise dos elementos presentes no sedimento urinário.

A análise química é realizada por meio do uso de fitas reagentes, que são constituídas de testes químicos específicos (normalmente em número de 10), que, em contato com a urina, apresentam uma reação com formação de cor específica para cada substância analisada.

A cor formada pode ser avaliada manualmente ou por meio de instrumentos semiautomatizados ou totalmente automatizados, o que minimiza a interferência da luz utilizada no ambiente e da acuidade visual do analista. A intensidade da cor é geralmente proporcional à quantidade de substância presente. Alguns resultados são reportados como positivo ou negativo e outros em valores numéricos.

Como um método de *screening*, o exame de urina deveria ter um forte valor preditivo negativo. Um estudo recente de análise de risco de Miler e colaboradores (2018) demonstrou que o estudo microscópico da urina poderia ser excluído se o teste com a fita reagente mostrasse negatividade para proteína, hemoglobina, esterase de leucócitos e nitrito. Apesar disso, é importante ter em mente que os resultados obtidos por fitas reagentes são semiquantitativos e com sensibilidade analítica limitada, que existe uma grande heterogeneidade entre as fitas reagentes disponíveis no mercado e que há interferentes que afetam a sensibilidade e a especificidade do teste.

pH

Vários fatores podem interferir no pH urinário, como o estado de saúde do paciente, a dieta, o estado prandial e o uso de drogas.

Em geral, há uma variação do pH urinário ao longo do dia, com diminuição dos valores durante a noite até o amanhecer e aumento após a alimentação. Importante lembrar que, dependendo do tipo de dieta, haverá uma urina mais ácida (aumento do consumo de proteína) ou mais alcalina (dietas vegetarianas).

A avaliação do pH urinário auxilia no diagnóstico e no acompanhamento de distúrbios eletrolíticos sistêmicos de origem metabólica ou respiratória, assim como no monitoramento do tratamento que necessite do pH em determinado intervalo.

Os fatores pré-analíticos que interferem no pH são o tempo e a temperatura, em caso de armazenamento. A urina obtida por jato médio sofre contaminação por bactérias presentes na mucosa uretral. O metabolismo dessas bactérias, sobretudo daquelas que metabolizam a ureia, tende a elevar o pH urinário com o tempo. Em temperatura ambiente, o ideal é fazer a leitura até 2 horas depois da coleta. Essa alteração é minimizada pelo resfriamento a 4°C; porém, em caso de estocagem por vários dias, a estabilidade é obtida com uma temperatura de -20°C.

Não existem interferentes conhecidos na verificação do pH por fita reagente. Um erro analítico pode decorrer da contaminação da almofada do pH por reagentes da almofada adjacente, sobretudo se for um reagente proteico muito ácido.

A leitura da fita após o exame deve ser imediata, pois a coloração sofre alterações com o tempo. Para o pH, observa-se uma tendência a um aumento do valor obtido, principalmente quando a urina tem um pH entre 6 e 8.

Na comparação de valores de pH obtidos por fita reagentes e pHmetros (método de referência), tem-se observado um erro sistemático: nas urinas com pH maior que 6,5, existe uma tendência de as fitas apresentarem valores mais baixos do que nos pHmetros; já nas urinas com pH menor que 5,5, as fitas reagentes tendem a apresentar valores mais elevados do que no pHmetro.

PROTEÍNAS

As proteínas em baixas concentrações são constituintes normais da urina, um terço tem origem plasmática e dois terços provêm de secreções renais e do trato urogenital. Em situações como atividade física extenuante e estados febris, pode ocorrer uma elevação do nível de excreção urinária de proteínas.

No entanto, níveis elevados de excreção de proteínas na urina podem ser um indicador de lesão renal, necessitando de uma investigação mais ampla.

Nas fitas reagentes, geralmente a metodologia utilizada para a detecção de proteínas é baseada em um mesmo princípio, denominado “erro proteico dos indicadores”, descrito por Sorenson em 1909. Ela é mais sensível à presença de albumina, não costumando detectar globulinas e outras proteínas. Desse modo, a presença de imunoglobulinas, mioglobina, hemoglobina, proteínas de Bence-Jones e mucoproteínas pode não ser detectada por esse método.

Mesmo para a albumina, esse método não é muito sensível, não conseguindo detectar pequenas concentrações, embora apresente uma boa especificidade (93 a 98%). Desse modo, em situações nas quais é importante a detecção de baixas concentrações de albumina, como em pacientes diabéticos e hipertensos, é necessária a utilização de métodos mais sensíveis.

Em virtude dessa reduzida sensibilidade, as causas de falso-negativo são urina muito diluída e a presença de proteínas não albumina.

Resultados falso-positivos podem ser decorrentes de urinas muito concentradas, urinas muito alcalinas (pH 9), fita reagente deixada submersa na amostra por período prolongado, paciente em uso de fenazopiridina ou polivinilpirrolidona, contaminação dos coletores com resíduos de desinfetantes com amônio quaternário, uso

de clorexidina para limpeza da pele e contaminação por sangue, secreção vaginal, secreção purulenta ou sêmen.

Quando utilizada a leitura manual, podem ocorrer variações interobservadores. Inconsistências foram observadas em 33 a 93%, a depender da experiência técnica.

GLICOSE

São considerados níveis normais de glicemia os valores até 99 mg/dL. Após a alimentação, esses valores aumentam até cerca de 160 mg/dL. Ao passar nos rins, essa glicose é filtrada, mas costuma ser reabsorvida através de um mecanismo de transporte ativo em um nível do túbulo renal proximal. A presença de glicose na urina, ou glicosúria, ocorre quando a quantidade ultrapassa a capacidade de reabsorção (acima de 160 a 180 mg/dL) ou quando esta é impedida. A glicosúria pode ser causada por condições pré-renais (diabetes, doença hepática, pancreatite, uso de drogas, doenças do sistema nervoso central) ou renais, quando há defeito tubular na reabsorção da glicose (síndrome de Fanconi, cistinose, intoxicações por metais pesados, gravidez).

Nas fitas reagentes, a detecção de glicose na urina baseia-se na atividade da enzima glicose oxidase, que é específica para esse açúcar, não reagindo com outros açúcares, como galactose, lactose, frutose, entre outros. No entanto, resultados falso-positivos podem resultar da contaminação por agentes de limpeza fortemente oxidantes, como o peróxido de hidrogênio ou hipoclorito de sódio. Utilizando-se métodos automatizados, algumas marcas de fitas reagentes apresentaram resultados falsamente elevados de glicose, que parecem ser causados por concentrações elevadas de urobilinogênio. Fitas reagentes expostas ao ar ambiente, em virtude de estocagem inadequada, têm mostrado que podem determinar resultado falso-positivo.

Quanto ao uso de medicamentos, o uso de levodopa tem sido associado a resultados falsos-positivos.

Resultados falso-negativos podem decorrer de condições que reduzam a sensibilidade da glicose oxidase. Isso pode ocorrer em urinas resfriadas, com pH alcalino, densidade muito elevada ou infecção do trato urinário. Em algumas marcas de fitas reagentes, têm sido relatados resultados falso-negativos na presença de concentrações moderadamente elevadas (40 mg/dL) de corpos cetônicos.

Outra reconhecida causa de redução da sensibilidade da glicose nas fitas reagentes é o ácido ascórbico. Embora alguns fabricantes afirmem que em seus produtos a inibição ocorra apenas em concentrações elevadas, estudos recentes têm demonstrado interferência mesmo em concentrações mais baixas nesses produtos.

SANGUE

A hematúria é definida como presença de sangue na urina, é um achado comum da prática clínica na atenção primária, classificada como macroscópica, quando causa alteração no aspecto da urina sendo percebida a olho nu, ou microscópica, quando só é percebida ao microscópio. Por definição, considera-se hematúria microscópica a presença de três ou mais hemácias por campo. Embora, em muitos casos, uma causa específica não seja encontrada, mesmo com uma investigação, ela se faz necessária, pois pode ser indício de malignidades (rins, bexiga, próstata), infecção do trato urinário (ITU), calculose, nefropatias e doenças hemolíticas.

Na avaliação com fitas reagentes, o teste é específico para pesquisa de hemoglobina presente nas hemácias íntegras (hematúria) ou em forma de hemoglobina livre (hemoglobinúria). Em virtude disso, a positividade desse exame implica a necessidade de realização da avaliação microscópica do sedimento urinário para fazer essa diferenciação.

Quando a positividade na fita reagente não tem a confirmação da microscopia do sedimento, hemoglobinúria decorrente de hemólise ou mioglobinúria devem ser consideradas. Outras causas de falsa positividade são contaminação por sangue menstrual; agentes oxidantes, como água sanitária; e atividade das peroxidases microbianas (p. ex., *Escherichia coli*) em pacientes com ITU.

A presença de ácido ascórbico, geralmente acima de 25 mg/dia, pode causar resultados falso-negativos ou reduzir o grau de positividade do teste. Embora alguns fabricantes utilizem metodologias que afirmam reduzir a interferência da vitamina C, essa interferência continua a ser notada em estudos recentes.

Outras causas de falso-negativo são urinas com densidade elevada ou com níveis aumentados de proteínas na urina, ocasionando dificuldades de lise das hemácias, urinas preservadas com formalina, grande quantidade de nitrito (maior que 19 mg/dL) e pacientes que fazem uso de captopril.

ESTERASES LEUCOCITÁRIAS

As esterases leucocitárias estão presentes nos grânulos azurófilos dos leucócitos granulócitos (neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos). Linfócitos e células epiteliais não contêm essas enzimas.

A presença de leucocitúria tem como causa mais comum processos infecciosos de causa bacteriana, que podem ocorrer em nível renal ou no trato urinário inferior. Esse aumento também pode ser observado em outras condições, como infecções por clamídia, tricomonas, tuberculose e quadros febris, não havendo, nesses casos, presença de bactérias no sedimento.

As fitas reagentes apresentam uma área impregnada pelas substâncias denominadas sal diazônio e éster de aminoácido pirrol. As esterases reagem com esses produtos produzindo um composto de cor violeta. O limite de detecção varia de 5.000 a 15.000 leucócitos granulócitos por mL de urina.

Resultados falso-positivos podem decorrer de urinas mal acondicionadas, em que há crescimento bacteriano, e da contaminação por secreções vaginais. Outras causas de testes falso-positivos são drogas ou alimentos que alteram a cor da urina (nitrofurantoína, fenazopiridina, beterraba) e a contaminação com agentes oxidantes (formaldeído, hipoclorito de sódio).

Redução da sensibilidade e consequentes resultados falso-negativos ou subestimados do teste podem decorrer de urinas com densidade muito elevada, com glicosúria acima 2 g/dL e proteinúria acima de 0,5 g/dL. Outras causas de redução da sensibilidade são níveis de ácido ascórbico, ácido bórico 1%, inibidor de tripsina e sais de oxalato ou de mercúrio.

NITRITO

O nitrato é um constituinte urinário que provém da ingestão de vegetais na dieta. Na presença de certas bactérias (principalmente as Gram-negativas), haverá a conversão em

nitrito, sendo este um importante indicador de infecção urinária, principalmente nas bacteriúrias assintomáticas. No entanto, é necessário um período suficiente de estase urinária para que o processo ocorra, o que muitas vezes não é possível pela urgência miccional presente nas ITU, assim como bactérias que façam a conversão e a própria concentração de nitrato, importante para o processo.

Urinas coletadas de maneira inadequada, com mal acondicionamento, são causas de resultados falso-positivos por determinarem contaminação bacteriana, assim como certas medicações, como a fenazopiridina ou outros compostos contendo azo, ou corantes de urina que se tornam vermelhos quando em meio ácido.

Resultados falso-negativos podem ocorrer em casos em que não há tempo suficiente de incubação na bexiga para a conversão de nitrato a nitrito; quando falta substrato pela ingestão diminuída de alimentos ricos em nitrato ou em pacientes em nutrição parenteral; em urinas concentradas e com pH menor que 6, que é uma condição rara em pacientes com ITU. Urinas que apresentam uma concentração de urobilinogênio alta ou pacientes com uma concentração de ácido ascórbico maior que 25 mg/dL reduzem a sensibilidade do teste, determinando resultado falso-negativo ou reduzindo a intensidade de positividade do teste.

CORPOS CETÔNICOS

Os principais corpos cetônicos presentes na urina são o ácido hidroxibutírico (78%), o acetoacetato (20%) e a acetona (2%), produzidos quando gorduras são metabolizadas para produção de energia. A presença dessas substâncias na urina pode decorrer de condições benignas, como jejum prolongado, dieta para perda de peso, estado febril, exercícios extenuantes ou por processos críticos, como o diabetes descompensado ou doenças metabólicas hereditárias.

As fitas reagentes se baseiam na reação do nitroprussiato. Em um meio alcalino, o acetoacetato reage com o nitroprussiato de sódio, produzindo uma mudança da cor bege para roxa. Se glicina é adicionada, a acetona também é detectada. O ácido hidroxibutírico não é detectado em fitas reagentes.

A presença de pigmentos, drogas ou outras substâncias que provoquem alteração forte da cor da urina pode causar problema na leitura do resultado dos corpos cetônicos. Ele pode tanto ser falsamente interpretado como positivo quanto mascarar uma reação verdadeiramente positiva, que seria interpretada como negativa.

Resultado levemente positivo pode ser observado em urinas muito concentradas ou com grandes quantidades de metabólitos de levodopa.

Componentes contendo grupos sulfidrilas, como o mesna (ácido 2-mercaptoetanosulfônico), acetilcisteína e d-penicilamina, pode dar uma intensa cor vermelha, mas que reduz de intensidade ou desaparece em pouco tempo. Isso faz com que essa interferência seja mais marcante na automatização, na qual a leitura é mais rápida.

Reação colorimétrica semelhante à das cetonas pode ser vista em urinas contendo ftalinas (bromossufaleína, vermelho de fenol), grandes quantidades de fenilcetonas ou 8-hidroquinolina.

As principais causas para um teste de corpos cetônicos falso-negativo são coleta e manuseio impróprios da amostra ou armazenamento inadequado das fitas reagentes.

Como o acetoacetato pode ser quebrado por bactérias e a acetona evapora rapidamente na temperatura ambiente, as amostras devem ser testadas logo após a coleta ou refrigeradas. Como o nitroprussiato é muito sensível, pode sofrer deterioração com consequente não reatividade da fita reagente, caso ela seja exposta a calor, luz ou umidade.

BILIRRUBINA E UROBILINOGÊNIO

Ao final de 120 dias, os eritrócitos são destruídos no sistema reticuloendotelial, com liberação da hemoglobina, que, por sua vez, transforma-se em três componentes. Um desses componentes, a protoporfirina, é convertida em bilirrubina indireta, ligando-se principalmente à albumina e é insolúvel em água. Ao chegar no fígado, ela se conjuga com o ácido glicurônico e se converte em bilirrubina direta, que é solúvel em água. Através das vias biliares, a bilirrubina direta chega ao intestino, onde é metabolizada em três produtos, entre eles o urobilinogênio.

Alterações nos níveis de excreção urinária da bilirrubina e urobilinogênio se devem a dois grandes grupos de doenças:

- Doenças hepáticas: há aumento dos níveis de bilirrubina direta no sangue, com consequente aumento de sua excreção renal. Quando há obstrução biliar, pouca bilirrubina chega ao intestino, com consequente diminuição da excreção urinária de urobilinogênio;
- Doenças hemolíticas: cursam com aumento da bilirrubina indireta, com consequentes aumento da conjugação no fígado e aumento da formação de urobilinogênio no intestino, posteriormente excretado pela urina em níveis elevados.

Para a identificação da bilirrubina, as fitas reagentes se baseiam na diazorreação: a bilirrubina se acopla ao sal de diazônio no meio ácido para formar azobilirrubina, um composto colorido. A cor produzida depende do sal de diazônio utilizado, podendo variar em fitas de fabricantes diferentes.

Resultados falso-positivos para bilirrubina na urina podem decorrer de drogas que alteram a coloração da urina, como fenazopiridina (Pyridium®) ou doses elevadas de clopromazina; da indicana (indoxil sulfato) e metabólitos do etodolaco.

Resultados mais baixos ou mesmo falso-negativos podem decorrer da exposição à luz, especialmente ultravioleta, pela oxidação da bilirrubina em biliverdina; pela hidrolização do diglucuronido de bilirrubina em bilirrubina livre que ocorre *in vitro*; por níveis elevados de nitrito, que podem ocorrer nas infecções do trato urinário; e por níveis de ácido ascórbico maiores que 25 mg/dL, que interferem na diazorreação.

O urobilinogênio nas fitas reagentes, a depender do fabricante, é detectado pela reação de Ehrlich ou por diazorreação. As fitas baseadas em diazorreação mostram as mesmas interferências observadas nas reações de bilirrubina.

Substâncias Ehrlich-reativas, como as sulfonamidas, o ácido 4-aminosalicílico (PAS), procaína e o ácido 5-hidroxi-indolacético, podem reagir com as fitas que usam a reação de Erlich. Metildopa também determina uma forte reação colorida nessas fitas.

Pigmentos fortes e seus metabólitos, como etoxazeno, drogas contendo corantes azo (fenazopiridina), nitrofurantoina, riboflavina e ácido 5-hidroxi-indolacético, podem causar reações positivas com todos os tipos de fita.

Reações mais fracas ou até mesmo falso-negativas podem ocorrer em decorrência de amostras expostas a luz ou deixadas em temperatura ambiente por mais de 1 hora pela conversão de urobilinogênio em urobilina. O uso de formalina como preservativo pode causar reação falso-negativa. Essas ações independem do tipo de fita reagente.

Nos testes baseados em diazorreação, a presença de nitrito e de ácido ascórbico reduz a sensibilidade do teste, determinando resultados mais fracos ou falso-negativos. Por não detectarem porfobilinogênio, ao contrário das fitas baseadas na reação de Ehrlich, esses tipos de fita não permitem a detecção de porfíria.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- BRERETON DM, SONTROP ME, FRASER CG. Timing of urinalysis when reagent strips are used. *Clin Chem.* 1978;24(8):1420-1.
- BRUNZEL NA. *Fundamentals of Urine & Body Fluid Analysis.* 3. ed. St. Louis: Elsevier; 2013.
- COOK JD, STRAUSS KA, CAPLAN YH, LODICO CP, BUSH DM. Urine pH: effects of time and temperature after collection. *J Analytical Toxicology.* 2007;31:486-96.
- DELANGHE J, SPEECKAERT M. Prenalytical requirements of urinalysis. *Biochemia Medica.* 2014;24(1):89-104.
- FURA A, HARPER TW, ZHANG H, ET AL. Shift in pH of biological fluids during storage and processing: effect on bioanalysis. *J Pharm Biomed Anal.* 2003;32(3):513-22.
- JAMES GP, BEE DE, FULLER JB. Proteinuria: accuracy and precision of laboratory diagnosis by dip-stick analysis. *Clin Chem.* 1978;24:1934-9.
- LEE W, KIM Y, CHANG S, LEE A, JEON C. The influence of vitamin C on urine dipstick test in the clinical specimens: a multicenter study. *J Clin Lab Anal.* 2017;31:e22080.
- MILER M, NICOLAK N. Patient safety is not compromised by excluding microscopic examination of negative urine dipstick. *Ann Clin Biochem.* 2018;55:77-83.
- RINGSRUD, KM, LINNÉ JJ. *Urinalysis and body fluids. A color text and atlas.* St. Louis: Mosby; 1995.
- SIMERVILLE JA, MAXTED WC, PAHIRA JJ. Urinalysis: A comprehensive review. *Am Fam Physician.* 2005;71:1153-62.
- UNIC A, GABAJ NN, MILER M, ET AL. Ascorbic acid – A black hole of chemistry screening. *J Clin Lab Anal.* 2018;32(5):22390.
- VISWANATHAN G, UPADHYAY A. Assessment of proteinuria. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2011;18(4):243-8.

44 Controle da qualidade no exame de urina de rotina

Maria Elizabete Mendes, Cyntia Giovanini Candido do Nascimento Freire, Bianca Verrastro Antunes, Nairo Massakazu Sumita

O **EXAME DE** urina de rotina compreende o estudo dos aspectos físicos, químicos e o exame do sedimento urinário. O laboratório clínico deve assegurar que os resultados produzidos reflitam, de maneira adequada e consistente, a situação clínica apresentada pelos pacientes, assegurando que não representem o resultado de alguma interferência no processo. A informação produzida pelo exame de urina de rotina deve possibilitar a determinação e a realização correta de diagnóstico, tratamento e prognóstico das afecções do aparelho geniturinário.

A garantia da qualidade auxilia a redução da variabilidade, analisando o processo de confecção do exame em todas as etapas (pré-analítica, analítica e pós-analítica), desde o pedido até a liberação e a interpretação do laudo de exame.

O objetivo deste capítulo é discutir o controle do processo na fase analítica do exame de urina de rotina.

RECOMENDAÇÕES PARA GARANTIR O DESEMPENHO DAS TIRAS REAGENTES

- As tiras reativas devem ser armazenadas com dessecante em um recipiente opaco e bem fechado (frasco original do fabricante), em local fresco, não refrigerado. Deve-se evitar exposição a vapores e substâncias voláteis;
- Não devem ser utilizadas após a expiração do período de validade;
- Recomenda-se utilizar as tiras em um período de 6 meses após a abertura do frasco e não utilizar aquelas que apresentarem sinais de deterioração, como a perda da cor original da área reagente;
- A sílica presente nos frascos de tiras reativas evita a perda da precisão da leitura, por retirar a umidade presente no frasco;
- Durante o uso, recomenda-se retirar apenas uma tira reagente por vez do recipiente, que deve ser fechado imediatamente;
- Deve-se evitar misturar tiras de diferentes recipientes e tocar com as mãos a parte de reação química das tiras.

QUALIDADE DO MATERIAL DE CONTROLE

No exame de urina, empregam-se substâncias que mimetizam a constituição da urina como material de controle, nos níveis normal e patológico. Esse material pode ser confeccionado no laboratório ou adquirido comercialmente. As formulações comerciais podem

ser ensaiadas ou não ensaiadas. Aplicando-se esse material de controle concomitantemente à execução da rotina diagnóstica para monitorar o desempenho analítico.

Muitos materiais de controle do exame de urina requerem hidratação antes do uso. Essa etapa demorada beneficia o fabricante, pois reduz custos e prolonga a vida útil, mas pode gastar tempo e recursos do laboratório. O manuseio inadequado, como a pré-diluição, também pode acarretar resultados errôneos ou chamadas de serviço caras e desnecessárias.

Os analisadores de urina são ajustados para detectar e classificar materiais celulares em uma ampla variação biológica. Cada alvo de interesse pode levar a diferentes indicações clinicamente relevantes e ser processado de maneira diferente pela instrumentação. Os materiais de controle compostos por partículas de látex em substituição às células, visando a diminuir custos, podem mascarar falhas em uma eventual queda de desempenho dos equipamentos, os quais apresentam melhor resposta com material celular. Entre as falhas que podem ser mais bem detectadas por material de controle composto por células, destacam-se a falta de um ou mais componentes do corante e reagentes líticos ineficazes.

O material de controle cumpre o seu papel de avaliar na plenitude as capacidades do instrumento, quando consegue desafiá-lo, pois, quando bem utilizado, permite identificar antecipadamente problemas, evitando-se o retrabalho, a produção de relatórios imprecisos e longos períodos de inatividade do equipamento.

Os materiais de controle da qualidade devem testar todos os aspectos da avaliação de uma amostra de paciente para validar o desempenho do instrumento e garantir resultados precisos. A equipe do laboratório deve estar consciente da necessidade de adquirir materiais de controle de alta qualidade, exigindo dos fornecedores a produção de controles confiáveis de urina, com semelhança física com as amostras reais dos pacientes.

CONTROLE DE QUALIDADE DO USO DE TIRAS REAGENTES

A mecanização da leitura da tira de teste por refratometria e a padronização do tempo de reação foram fatores que trouxeram maior confiabilidade. Uma gama de dispositivos está disponível no mercado partindo-se do instrumento semiautomatizado até os dispositivos multiparamétricos totalmente automatizados.

Os objetivos do controle de urina consistem em provar a prontidão do sistema analítico e alertar a equipe técnica sobre a necessidade de fazer a manutenção desse instrumento, a fim de preservar a precisão das interpretações de diagnóstico feitas a partir das leituras do analisador de urina.

A orientação do documento GP16-A3 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) é utilizar, no mínimo, dois níveis de controle que tenham concentrações clinicamente relevantes para refletir a realidade dos pacientes. O uso de níveis paralelos ajuda também a identificar o tipo de erro presente e pode alertar antecipadamente ao laboratório quanto a um eventual problema em sua rotina.

O laboratório deve instituir métodos de confirmação que empreguem princípios químicos diferentes para as substâncias que estão sendo testadas na tira reativa. Esses testes são úteis para avaliar o funcionamento da tira, quando os resultados forem questionáveis ou até mesmo para confirmar resultados de pacientes.

Para equipamentos automatizados ou semiautomatizados, deve-se realizar as leituras de controles após a calibração e a manutenção diárias. Toda vez que ocorrer troca de tiras reativas, com lote diferente ao de uso, o analisador deverá ser recalibrado, com calibrador

específico para o equipamento, e os controles reanalisados. Novas análises do controle também devem ser feitas quando se abre um novo frasco de tiras reativas ao longo da rotina, mesmo sem troca de lote.

Quando há mudança de lote das tiras reativas, o novo lote deve ser validado, testando pelo menos cinco ($n = 5$) amostras de urina com resultados normais e alterados com o lote de tira em uso e o novo lote. Para avaliar resultados negativos, podem-se adotar controles comerciais negativos ou utilizar o cloreto de sódio a 0,9%. Para aprovar a nova tira para uso na rotina, os resultados devem ser compatíveis aos obtidos com as tiras em uso. O critério de compatibilidade deve ser definido pelo laboratório, considerando a qualidade da tira usada e a forma de leitura (visual ou por leitor de tira).

Resultados incompatíveis, muito discrepantes, podem ser avaliados comparando-os a testes químicos (quantitativos automatizados) e testes confirmatórios para confirmação. Se um leitor de tiras for usado, um resultado incompatível pode requerer nova calibração do leitor e a repetição do controle interno, para repetir os testes.

CONTROLE DE QUALIDADE DA MICROSCOPIA DO SEDIMENTO URINÁRIO

Os analisadores de urina modernos são projetados para detectar diversos parâmetros de sedimentos além de simplesmente glóbulos brancos e vermelhos. Infelizmente, muitos materiais de controle de urina disponíveis no mercado não testam todos os parâmetros relatados pelos equipamentos. Isso decorre do fato de não utilizarem material biológico na confecção desses materiais de controle, mas materiais artificiais.

Existem parâmetros que podem ser contados na automação e pelos microscopistas, o que possibilita a comparação entre eles, especialmente útil para verificar a qualidade da contagem feita pelo analisador de sedimento urinário. Essa é uma maneira de avaliação de tais contagens, que pode complementar outras formas de controle adotadas.

Para reduzir a variabilidade interobservadores, dois ou mais técnicos realizam as análises microscópicas com o mesmo microscópio, avaliando o mesmo material. Os resultados são anotados e o tratamento estatístico, efetuado. O objetivo é minimizar as possíveis tendências subjetivas inerentes ao observador (erro sistemático para contar diferenças entre os dois observadores) que excede o erro aleatório com base na distribuição de Poisson (erro inerente ao fato de que as partículas são distribuídas aleatoriamente).

O exame duplo-cego é uma forma de controle interno *in house*, realizado com amostras frescas de pacientes, que pode ser utilizado para estabelecer a reprodutibilidade das análises microscópicas. Para a análise dos resultados, pode-se adotar um critério simples de avaliação, quando realizados frequentemente com poucas amostras. Por exemplo, definir intervalos dentro dos quais os resultados podem variar, diferenças máximas entre resultados de diferentes observadores e estruturas que devem ser identificadas por todos os observadores. Se ocorrerem discrepâncias entre os resultados, quanto à presença ou quantidade de um elemento, a análise deve ser repetida. Se necessário, um supervisor ou profissional qualificado deve realizar uma nova análise do material.

Ao avaliar a discrepância entre os resultados, é preciso analisar se a falha não se deve ao caso simulado para um material específico ou a uma falha sistêmica que tende a se repetir em todos os materiais. Por exemplo, em uma identificação morfológica, a falha pode estar relacionada com a complexidade da célula.

Análises estatísticas periódicas podem ser adotadas após o acúmulo de dados ou imediatamente quando o duplo-cego é realizado periodicamente com várias amostras. Para esse fim, pode-se citar a estatística Kappa para dados qualitativos e a estatística de Chauvenet ou estudo de repetitividade e reprodutibilidade (R&R), para dados quantitativos. A estatística Kappa deve ser usada a partir de cinco amostras. O teste Kappa de Cohen mensura a confiabilidade entre dois observadores. O teste Kappa de Fleiss aplica-se à comparação com múltiplos observadores.

CONTROLE DE QUALIDADE DA AUTOMAÇÃO DO SEDIMENTO URINÁRIO

Os ensaios de proficiência são apenas uma das ferramentas de controle do laboratório. O controle de qualidade é um dos elementos básicos para a qualidade analítica, usado para monitorar e detectar erros no processo analítico, como um passo para estabelecimento de ações corretivas. Ele é composto por ensaio de proficiência e controle interno e tem o propósito de controlar duas fontes de erro: aleatório e sistemático.

O controle interno é gerido pelo próprio laboratório, valorado internamente, em múltiplos níveis (no mínimo dois) e de uso frequente, e o ensaio de proficiência é gerido pelo provedor, possibilitando uma comparação com o mercado ao ser valorado por múltiplos laboratórios, mas com menor frequência e, preferencialmente, via painéis múltiplos. Essas características conferem maior capacidade de monitoramento do erro aleatório ao controle interno e do erro sistemático ao ensaio de proficiência.

A microscopia é considerada padrão de referência na avaliação do sedimento urinário. Assim, na introdução da automação do sedimento, é necessário um estudo de equivalência e correlação. Zaman e colaboradores (2010) consideram que a interpretação clínica da contagem de leucócitos e hemácias por microscopia é categórica e analisam os resultados a partir de *box-plot* e correlação de Spearman (análise não paramétrica). Van den Broek e colaboradores (2008) utilizam também o *box-plot* para a comparação de resultados obtidos por automação frente à microscopia e às tiras reativas. Nessa análise, esperam-se resultados visualmente similares. Um coeficiente de correlação de Spearman próximo a 1 indica uma alta associação entre as variáveis (forte grau de concordância entre os sistemas, ou seja, em que resultados dos sistemas são muito próximos), e o valor p menor que 0,05 indica que a relação entre as variáveis é significativa.

Um sistema eficaz para gerenciar a qualidade analítica pode ser desenvolvido com base no conceito de erro analítico total (ETA), uma métrica útil tanto para avaliar a qualidade do ensaio laboratorial quanto para estabelecer metas de qualidade para ensaios. Atualmente, a Food and Drug Administration (FDA) recomenda que os fabricantes avaliem o ETA como a combinação de erros de todas as fontes, de maneira sistemática e aleatória, muitas vezes expressa em termos de um intervalo que contém uma proporção especificada (p. ex., 95%) das diferenças observadas entre o método de trabalho e o método comparativo.

Os profissionais de laboratório podem encontrar recomendações para ETA em muitos programas nacionais e internacionais de ensaios de proficiência (EP) e avaliação externa da qualidade. Além disso, Ricos e colaboradores (1999), na Espanha, desenvolveram um banco de dados de metas biológicas, encontra-se disponível em <www.westgard.com> e inclui mais de 300 mensurandos com base em estudos publicados de

variação biológica. Ele também fornece recomendações para desvios-padrões permitidos, *bias* e erros totais biológicos, de acordo com as diretrizes da Fraser para combinar desvios-padrões e *bias* permitidos.

ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA PARA O EXAME DE URINA DE ROTINA

Os ensaios de proficiência aplicados à urinálise apresentam como benefícios: o aumento da segurança do paciente pela melhoria da prática laboratorial, caracterizam a tendência e a imprecisão dos ensaios, correlacionam variáveis específicas do método com a tendência e a imprecisão, identificam interferentes e quantificam seus efeitos, providenciam aos laboratórios informação confiável para substituição de metodologias com desempenho insatisfatório, identificam laboratórios com risco de desempenho insatisfatório, satisfazem requisitos de acreditação e de órgãos reguladores, possibilitam a tomada de ações corretivas e/ou preventivas, padronizam as atividades no âmbito do mercado e o reconhecimento de resultados de ensaios, em nível nacional e internacional.

Os relatórios disponibilizados pelos provedores de EP fornecem todos os dados necessários para a análise do laboratório e o entendimento dos critérios adotados. Além da avaliação formal, que já demonstra o atendimento ou não a tais critérios, identificam claramente o resultado aceito (para ensaio qualitativo), o valor designado e o intervalo de resultados aceitos (para ensaios quantitativos).

Índices relacionados com a avaliação individual (de cada material) ou conjunta (todos os materiais de uma rodada) disponibilizados são especialmente úteis e facilitadores para uma análise mais direta de resultados quantitativos. Contudo, o laboratório deve ter bastante clareza quanto à forma como são calculados para interpretá-los corretamente. Os índices relacionados com o desempenho acumulado em cada ensaio são comuns em programas contínuos e ajudam o laboratório na análise de longo prazo, também são empregados quando determinado período de participação gera algum tipo de certificado (como Brasil, em que é comum a emissão de um certificado de proficiência anual da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial – SBPC/ML e Controllab) ou quando há alguma regra de desempenho ao longo do tempo (como nos Estados Unidos, onde a Lei CLIA88 determina requisitos de desempenho acumulados pelos laboratórios clínicos).

O programa de ensaio de proficiência brasileiro denominado “Urinálise EA” da Controllab oferece materiais para avaliação das tiras reagentes (bilirrubina, corpos cetônicos, densidade, glicose, hemoglobina, leucócitos, nitrito, pH, proteínas, urobilinogênio), sedimentoscopia manual ou por automação (por campo e/ou por mL) e, também, a análise qualitativa do sedimento. O programa oferece três rodadas por ano e com 1.341 participantes no ano de 2020.

No programa dos ensaios de proficiência fornecidos pelo College of American Pathologists (CAP) *Automated Urine Microscopy* (UAA – 2020), dentre os 751 participantes para sistemas automatizados, 727 utilizam análise de imagens com IQ200 Iris e 17 o sistema Cobas u701 Roche. Nesse programa, são avaliados dentro da sedimentoscopia: leucócitos, hemácias, cilindros e cristais. Para avaliação das tiras reagentes e identificação de elementos urinários por imagens, o programa ofertado é o *Clinical Microscopy* (CM), com duas rodadas por ano.

O controle do processo na urinálise será mais eficiente quando se conseguir assegurar a rastreabilidade em todas as fases do exame laboratorial, analisando as conformidades e não conformidades, tomando-se a decisão para corrigir desvios ou tendências e otimizando a correlação clínico-laboratorial.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011. Rio de Janeiro: ABNT; 2011. Versão corrigida: 2017.
- BECKER GJ, GARIGALI G, FOGAZZI GB. Advances in urine microscopy. *Am J Kidney Dis.* 2016;67:954-64.
- BEN-EZRA J, BORK L, MCPHERSON RA. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clin Chem.* 1998;44:92-5.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Urinalysis and collection, transportation, and preservation of urine specimens; approved guideline. 3. ed. NCCLS document GP16-A3. Wayne, PA: CLSI; 2016.
- CONTROLLAB. Manual do participante. Ensaios de proficiência para laboratórios clínicos, de hemoterapia, veterinários, microbiológicos e leite humano (2013). Disponível em: <https://controllab.com/pdf/Manual_do_Participante_201304.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2020.
- DEINDOERFER FH, GANGWER JR, LAIRD CW, RINGOLD RR. The Yellow IRIS Workstation – the first commercial application of “automated intelligent microscopy”. *Clin Chem.* 1985;31:1491-9.
- DELANGHE JR, KOURI TT, HUBER AR, ET AL. The role of automated urine particles flow cytometry in clinical practice. *Clin Chim Acta.* 2000;301:1-18.
- DIAS VC, MOSCHOPEDIS T, PROSSER C, YATSCOFF RW. Evaluation of the Cliniteks Atlas TM for routine macroscopic urinalysis. *Clin Biochem.* 1996; 29:217-23.
- DORIZZI RM, CAPUTO M. Measurement of urine relative density using refractometer and reagent strips. *Clin Chem Lab Med.* 1998;36:925-8.
- EISINGER SW, SCHWARTZ M, DAM L, RIEDEL S. Evaluation of the BD vacutainer plus urine C&S preservative tubes compared with nonpreservative urine samples stored at 40C and room temperature. *Am J Clin Pathol.* 2013;140:306-13.
- EUROPEAN CONFEDERATION OF LABORATORY MEDICINE. European urinalysis guidelines. *Scand J Clin Lab Invest.* 2000;60:1-96.
- FENILI D, PIROVANO B. The Automation of sediment urinalysis using a new Urine Flow Cytometer (UF-100). *Clin Chem Lab Med.* 1998;36:909-17.
- FOGAZZI GB, PONTICELLI C, RITZ E. The urinary sediment: an integrated view. 2. ed. Milan: Masson, 1999; Oxford: Oxford University Press; 1999.
- FOGAZZI GB, VERDESCA S, GARIGALI G. Urinalysis: core curriculum 2008. *Am J Kidney Dis.* 2008;51:1052-67.
- FRASER CG. Biological variation: From principles to practice. Washington, DC: AACC Press; 2001.
- GADEHOLT H. Estimation of urinary sediment, with special regard to sources of error. *Brit Med J.* 1964;1:1547-9.
- HENRY JB. Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods. 21. ed. Philadelphia: Saunders; 2007.
- KOURI T, GYORY A, ROWAN RM. ISLH recommended reference procedure for the enumeration of particles in urine. *Lab Haematol.* 2003;9:58-63.
- LANGLOIS MR, DELANGHE JR, STEYAERT RS, ET AL. Automated flow cytometry compared with an automated dipstick reader for urinalysis. *Clin Chem.* 1999; 45:118-22.
- PENDERS J, FIERS T, DELANGUE JR. Quantitative evaluation of urinalysis test strip. *Clin Chem.* 2002;48:2236-41.
- POLKINGHORNE KR. Detection and measurement of urinary protein. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006;15:625-30.
- RICOS C, ALVAREZ F, CAVA JV, ET AL. Current databases on biological variation. Pros, cons, and progress. *Scand J Clin Lab Invest.* 1999;59:491-500.

SANT ANNA A, MENDES ME, SUMITA NM, ROMANO P. Controle de processo em urinálise. In: Oliveira CA, Mendes ME (orgs.). Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática. Controllab: Rio de Janeiro; 2012. p. 97-121. Disponível em: <https://controllab.com/pdf/GestaoDaFase-AnaliticaV3_PDF.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Realização de exames em urina (2017). Disponível em: <<http://www.bibliotecasbpc.org.br>>. Acesso em: 22 abr. 2020.

VAN DEN BROEK D, KEULARTS IM, WIELDERS JP, KRAAIJENHAGEN RJ. Benefits of the iQ200 automated urine microscopy analyser in routine urinalysis. Clin Chem Lab Med. 2008;46(11):1635-1640.

WESTGARD, JO, WESTGARD SA. Total analytic error from concept to application. Disponível em: <<https://www.aacc.org/publications/cln/articles/2013/september/total-analytic-error>>. Acesso em: 24 abr. 2020.

ZAMAN Z, FOGAZZI GB, GARIGALI G, ET AL. Urine sediment analysis: analytical and diagnostic performance of sediMax®: a new automated microscopy image-based urine sediment analyser. Clinica Chimica Acta. 2010;411(3-4):147-54.

45 **Análise microscópica manual e automatizada do sedimento urinário**

Maria Elizabete Mendes, Cyntia Giovanini Candido do Nascimento Freire, Bianca Verrastro Antunes, Nairo Massakazu Sumita

INTRODUÇÃO

O exame de urina de rotina é útil na avaliação de doenças que acometem os rins e as vias urinárias. A análise do sedimento urinário permite a detecção e a quantificação dos elementos figurados presentes na urina, e os achados auxiliam no diagnóstico de processos patológicos dos rins e das vias urinárias, como as doenças inflamatórias e infecciosas, bem como alguns distúrbios de origem metabólica, quando associados aos achados da análise físico-química. A qualidade da amostra é um quesito fundamental para obtenção de um resultado que permita ao médico estabelecer um diagnóstico clínico acurado. Nesse contexto, é importante ressaltar a facilidade com que contaminantes podem alterar a composição da amostra. Procedimentos padronizados para garantir a qualidade da amostra desde a orientação do paciente, coleta cuidadosa até a análise laboratorial são fundamentais para a obtenção de um resultado exato.

ANÁLISE MICROSCÓPICA MANUAL DO SEDIMENTO URINÁRIO

Centrifugação

A etapa da centrifugação, realizada dentro das boas práticas, permite a obtenção de sedimento adequado para a análise. O tempo de centrifugação e a velocidade de rotação mantêm relação com a força centrífuga relativa (g). Recomenda-se a centrifugação por cerca de 10 minutos com rotação de 400 g (ou 1.500 a 2.000 rpm). O balanceamento dos tubos é importante para que o processo de centrifugação atinja seus objetivos.

Para assegurar a qualidade do processo de centrifugação, é imprescindível a verificação periódica da rotação utilizando-se um tacômetro calibrado, bem como a temperatura de centrífugas refrigeradas com termômetro calibrado.

Microscopia manual

As diretrizes internacionais recomendam o uso de microscopia de contraste de fase para melhorar a identificação de partículas. Comparado ao microscópio óptico de campo claro tradicional, o contraste de fase tem uma sensibilidade muito maior para cilindros hialinos e eritrócitos com baixo teor de hemoglobina (as chamadas “células fantasmas”). Além disso, permite o melhor exame de detalhes morfológicos, uma característica importante para a diferenciação de células.

Os filtros para polarizar a luz também são obrigatórios para a correlação de lipídios e cristais com aparência duvidosa.

Inicialmente, no aumento de 10 vezes observam-se cerca de 20 campos microscópicos em áreas diferentes, de maneira aleatória. Então, passa-se para a ampliação de 400 vezes para uma análise cuidadosa das partículas mostradas pela visão geral com baixa ampliação. Para condições especiais, como a hematúria microscópica isolada de origem desconhecida, examinam-se cerca de 50 campos microscópicos na ampliação original para avaliar se os cilindros eritrocitários estão presentes.

Para uma interpretação correta dos achados, tanto o pH quanto a gravidade específica da amostra devem ser conhecidos. O pH alcalino e a baixa gravidade específica, sobretudo inferior a 10, favorecem a lise de eritrócitos e leucócitos. O conhecimento do pH também é útil para a identificação correta dos cristais.

A análise do sedimento consiste na contagem dos elementos do sedimento urinário, como hemácias e leucócitos, bem como no relato da presença de cilindros, cristais, fungos, bactérias, parasitas, muco, células, espermatozoides, gorduras etc.

O uso de câmaras de contagem, que permitem a quantificação precisa de partículas (número/mililitro), é recomendado por diretrizes internacionais. O método semiquantitativo (número médio de células/campo de alta potência) também é aceito na rotina laboratorial. Habitualmente, conta-se o número total encontrado em 10 a 20 campos microscópicos na ampliação de 400 vezes.

HEMÁCIAS GLOMERULARES E NÃO GLOMERULARES NA MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

Do ponto de vista clínico, é útil para distinguir os chamados eritrócitos isomórficos, que são semelhantes aos eritrócitos encontrados na corrente sanguínea, dos dismórficos, que se caracterizam por formas e contornos irregulares. Os primeiros são sugestivos de hematúria de origem urológica, enquanto os últimos são comumente observados em pacientes portadores de doença glomerular. A morfologia dos eritrócitos pode se alterar em decorrência das características físico-químicas da urina.

O exame da morfologia eritrocitária da urina por microscopia de contraste de fase é o método-padrão para diferenciar hemácias glomerulares de não glomerulares.

Há uma diversidade morfológica de hemácias dismórficas. Algumas hemácias dismórficas se apresentam à análise microscópica com a aparência de membrana celular rompida e perda do conteúdo citoplasmático (*ghost cell*), outras apresentam a ruptura da membrana, mas preservam resíduos de hemoglobina que são exibidos como corpos mais densos na microscopia de contraste de fase. Podem também ser observadas hemácias com depósito granular de material denso em forma de anel achatado com membrana densa (anulócitos).

Outros tipos que podem ser observados são os codócitos com aparência de hemácias em alvo e as células com protruções vesiculares ou bolhas da membrana citoplasmática, também denominadas *blebs* na língua inglesa.

Um tipo especial e característico é o acantócito ou célula G1, que são eritrócitos caracterizados com forma de anéis (como uma rosca doce) com uma ou mais protruções vesiculares, de diferentes tamanhos e formas em sua membrana. A identificação de células do tipo G1 é um marcador de hematúria glomerular, que parece ser mais sensível e eficiente

que a determinação de porcentagem das outras categorias de eritrócitos. A presença de acantócitos em quantidade superior a 5% do total de hemácias sugere doença glomerular, com níveis de sensibilidade de 52 a 99% e especificidade de 98 a 100%.

Quando a hematúria glomerular era definida com base em percentuais superiores a 30% de hemácias dismórficas pela microscopia de fase, a sensibilidade, a especificidade e a eficiência eram, respectivamente, 71%, 100% e 85%. Ao se definir a hematúria glomerular com base no percentual de 5% de acantócitos, a sensibilidade, a especificidade e a eficiência passaram a ser todas de 100%.

AUTOMAÇÃO DO SEDIMENTO DO EXAME DE URINA DE ROTINA

A automação do exame de urina permite a padronização da análise de partículas. Os analisadores automatizados para a análise das partículas presentes na urina reduzem a carga de trabalho em laboratórios. No entanto, esses equipamentos não dispensam a necessidade de um microscopista experiente nos casos considerados duvidosos. Os analisadores automatizados de sedimento urinário comumente estão acoplados às leitoras de tiras reagentes, formando um sistema analítico integrado.

Os princípios metodológicos utilizados são:

- Citometria de fluxo: princípio semelhante ao dos analisadores hematológicos. A classificação dos diversos elementos baseia-se em impedância (volume do elemento), dispersão de luz (tamanho) e características tintoriais nucleares e citoplasmáticas (fluorescência);
- Análise digital de imagens: utiliza o tamanho e a forma dos elementos para classificá-los;
- Microscopia automatizada com imagem digitalizada: corresponde à automação da microscopia manual, na qual todas as etapas da análise (homogeneização, centrifugação e análise microscópica) são feitas automaticamente.

A qualidade da amostra é um item crítico na análise automatizada do sedimento urinário. Amostras contaminadas com excesso de muco e células epiteliais descamativas, bem como amostras muito espessas, podem dificultar a análise.

A maioria dos equipamentos exige o estabelecimento de novos valores de referência para contagens de hemácias e leucócitos.

É imprescindível rever as amostras que apresentem discrepâncias entre os resultados da análise físico-química e do sedimento. Os métodos apresentam bons níveis de correlação com a microscopia manual, mas não reconhecem lipoides birrefringentes e podem produzir falso-negativos para cilindros (cerca de 15 a 40% na citometria de fluxo e de cerca de 60% no analisador de imagens digitalizadas). A presença de leveduras deve ser reavaliada na microscopia manual, uma vez que os analisadores podem confundir-las com hemácias, e vice-versa. De maneira geral, os equipamentos não têm dificuldades na classificação dos cristais mais comumente observados na urina, como é o caso dos cristais de oxalato de cálcio, ácido úrico e fosfato triplo. Os cristais amorfos, quando em grande quantidade, podem ser erroneamente classificados como bactérias pelos analisadores.

Equipamentos baseados em microscopia automatizada com imagem digitalizada para caracterização de hemácias dismórficas já estão disponíveis, sendo esta uma alternativa promissora em substituição à microscopia de contraste de fase para esse tipo de análise.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- BECKER GJ, GARIGALI G, FOGAZZI GB. Advances in urine microscopy. *Am J Kidney Dis.* 2016;67(6):954-64.
- BOTTINI PV, ANDREGUETTO BD, KREMPSE K, ET AL. UriSed as an alternative to phase-contrast microscopy in the differentiation between glomerular and non-glomerular hematuria. *Clin Lab.* 2015;61(5-6):643-6.
- CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Urinalysis; approved guideline. 3. ed. CLSI document GP16-A3. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2009.
- DELANGHE JR, KOURI TT, HUBER AR, ET AL. The role of automated urine particles flow cytometry in clinical practice. *Clin Chim Acta.* 2000;301:1-18.
- GADEHOLT H. Estimation of urinary sediment, with special regard to sources of error. *Brit Med J.* 1964;1:1547-9.
- HENRY JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 21. ed. Philadelphia: Saunders; 2007.
- LANGLOIS MR, DELANGHE JR, STEYAERT RS, ET AL. Automated flow cytometry compared with an automated dipstick reader for urinalysis. *Clin Chem.* 1999;45:118-22.
- LEE W, HA JS, RYOO NH. Comparison of the automated cobas u 701 urine microscopy and UF-1000i flow cytometry systems and manual microscopy in the examination of urine sediments. *J Clin Lab Anal.* 2016;30(5):663-71.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): realização de exames em urina. Disponível em: <<http://www.bibliotecasbpc.org.br>>. Acesso em: 22 abr. 2020.
- XIANG D, CONG Y, WANG C, ET AL. Development of microscopic review criteria by comparison urine flow cytometer, strip and manual microscopic examination. *Clin Lab.* 2012;58(9-10):979-85.

46 Quando aplicar a espectrometria de massas nas análises hormonais

William Pedrosa

O PRINCÍPIO DA mensuração da razão massa carga (m/z) foi introduzido há cerca de 100 anos e, desde então, tem sido utilizado em inúmeras aplicações na ciência moderna. Em 1897, Joseph J. Thompson (prêmio Nobel de Física, em 1906) publicou seu trabalho com raios catódicos, constituindo a fundação da espectrometria de massa (MS, do inglês *mass spectrometry*) como um campo de estudo. É assim considerado o pai da MS. No início do século XX, F.W. Aston e A.J. Dempster produziram versões mais sofisticadas dos espectrômetros de massa.

A MS foi extensivamente utilizada durante a Segunda Guerra Mundial para o enriquecimento de material nuclear e, posteriormente, teve aplicações na indústria do petróleo. Nos anos 1950, observou-se o surgimento do analisador quadrupolo e, pela primeira vez, a combinação de um sistema cromatográfico a um espectrômetro de massa. No fim da década de 1980, a introdução da ionização *eletrospray* (ESI, do inglês *electrospray ionization*) permitiu a interface da cromatografia líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) com a MS. O nascimento dessa composição (LC-MS) permitiu uma rápida expansão das aplicações clínicas da MS. Rapidamente, esse método passou a ganhar notoriedade na avaliação de drogas em indústrias farmacêuticas, quantificação de hormônios esteroides e avaliação de erros inatos do metabolismo.

Paralelamente, em 1960 R.S Yalow e S.A Berson descreviam o primeiro imunoensaio – um radioimunoensaio –, destinado a dosar a concentração de insulina plasmática. A utilização de anticorpos para a medição da concentração de proteínas e pequenas moléculas em amostras clínicas transformou a medicina na ocasião, tornando a endocrinologia uma ciência quantitativa. O radioimunoensaio (RIE) manteve-se importante ao longo dos anos, também para a quantificação dos esteroides, quando em combinação com etapas prévias de extração para eliminação de interferentes. No entanto, o preparo dedicado das amostras, a necessidade de reagentes radioativos e dificuldades inerentes para a automação, limitaram sua maior aplicação ao longo dos anos seguintes. Nos anos 1970, o desenvolvimento de ensaios não competitivos, sistema de dois anticorpos, marcadores quimioluminescentes e fluorescentes, bem como a geração de anticorpos monoclonais, resultou em uma nova geração de imunoensaios. Essas novas técnicas foram, com sucesso, adaptadas em *kits* comerciais para uso em plataformas automatizadas. O baixo custo, a simplicidade e a velocidade conduziram os laboratórios à sua utilização e justificaram o seu uso praticamente universal. Naquela ocasião, o método de imunoensaio ganhou facilmente a adesão de médicos e gestores da saúde, permitindo a execução rápida, barata e efetiva dos diversos testes laboratoriais na endocrinologia e em outras especialidades médicas.

No entanto, com o passar do tempo, percebeu-se que os imunoenaios apresentavam, em maior ou menor extensão, resultados não acurados. Notadamente para os esteroides, o pior desempenho desses ensaios poderia ser explicado pela limitada especificidade do anticorpo, uma situação frequente para moléculas pequenas. Mesmo para hormônios peptídicos, limitações tornaram-se cada vez mais evidentes. Às reações cruzadas, somaram-se a falta de concordância entre ensaios de fabricantes diferentes, a interferência por autoanticorpos e anticorpos heterofílicos, e o efeito gancho.

Nesse cenário, a MS se apresentou como um método alternativo e promissor aos imunoenaios para a endocrinologia. Isso se deve ao seu método de identificação e quantificação, que consiste na avaliação de espécies iônicas, derivadas do mensurado de interesse, a partir da sua massa/carga (m/z). Esse processo é capaz de garantir maior especificidade à análise de determinado hormônio, evitando as já conhecidas reações cruzadas e interferências dos imunoenaios.

Em geral, a endocrinologia moderna mantém estreita interface com a MS na dosagem dos hormônios esteroides, hormônios proteicos e derivados de aminoácidos. A LC acoplada a espectrômetros de massa *in tandem* (em conjunto; LC-MS/MS) é considerada, atualmente, o método de maior aplicação na endocrinologia. A utilização de espectrômetros *in tandem* confere maior seletividade à análise. Ele caracteriza um composto por duas propriedades físicas, a massa do íon precursor e a massa do seu produto, mais do que uma única propriedade. Se combinado com a separação cromatográfica, o tempo de retenção é adicionado à caracterização. Essa alta seletividade elimina a maioria dos potenciais interferentes.

De maneira similar, o espectrômetro de massa acoplado à cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*; GC-MS) tem sido utilizado para análise de compostos biológicos por várias décadas. O GC-MS tem muitas aplicações: rastreamento de drogas com implicações clínicas ou forenses, detecção de esteroides anabólicos, pesticidas, poluentes e pesquisa de erros inatos do metabolismo. Apresenta excelente resolução, permitindo a separação de moléculas com estruturas muito similares. É mais útil para moléculas com baixo peso molecular (< 500 Da). Contudo, apresenta limitações, dependendo do composto a ser avaliado. No caso dos hormônios, há a necessidade da derivatização para a sua separação, o que aumenta o tempo de análise. Já o LC-MS/MS não necessita usualmente de derivatização (mas há exceções) e é útil para a análise de um número maior de esteroides (conjugados e não conjugados). A comparação entre o LC-MS/MS e GC-MS para a avaliação dos hormônios esteroides pode ser visualizada na Tabela 1. Alguns autores ainda consideram a GC-MS o padrão de referência para a análise de esteroides, sendo ainda muito importante para estudos de vias metabólicas em maior abrangência.

TABELA 1 Comparação entre LC-MS/MS e GC-MS para dosagem de esteroides

Características	LC-MS/MS	GC-MS
Derivatização	Não	Necessária para compostos não voláteis
Tempo de análise (velocidade)	< 30 minutos	30 minutos
Resolução	Excelente	Boa
Aplicações	Pesquisa e clínica	Pesquisa

Fonte: adaptada de Zendjabil et al., 2016.

ESTEROIDES

Em geral, a grande vantagem na determinação da concentração de esteroides pela LC-MS/MS, além da esperada especificidade analítica do ensaio, é a possibilidade de se avaliar vários hormônios simultaneamente. Uma característica definida como multiplexação, ou *multiplexing*, em inglês. Embora bem estabelecida, a instituição da LC-MS/MS na avaliação dos esteroides é, ainda, desafiadora. Um dos complicadores é a presença de interferência isobárica, sobretudo no caso de isômeros, como testosterona e epitestosterona, cortisona e prednisolona e 17-hidroxiprogesterona e 11-desoxicorticosterona.

Cortisol

Apesar de ser facilmente dosado no soro por sua relativa abundância, sua mensuração nessa matriz por LC-MS/MS é ainda incomum no Brasil. A justificativa pode residir no elevado número de solicitações e na melhor disponibilidade para essa demanda por plataformas automatizadas ou, ainda, na razoável comparabilidade entre os imunoenaios. Ainda assim, há informações adicionais quando o cortisol sérico é mensurado por LC-MS/MS: em pacientes em uso de metirapona ou prednisolona (interferência em imunoenaios) ou na mensuração simultânea do cortisol e da dexametasona, durante testes de supressão. Contudo, sua aplicação para a forma livre, na saliva e na urina, tem sido mais observada. A coleta e a análise na saliva vêm sendo utilizadas para investigações de estresse, síndrome de Cushing e, pontualmente, em testes de estímulo com cortrosina para avaliação de insuficiência adrenal. Via de regra, deve ser preferido aos imunoenaios nesses contextos. A contaminação na dosagem do cortisol salivar pode ser percebida pela demonstração da concentração normal de cortisona e elevada razão cortisol/cortisona utilizando LC-MS/MS. A dosagem em urina de 24 horas é classicamente utilizada para investigação de síndrome de Cushing. Apresenta razoável paralelismo com imunoenaios, mas, como esperado, trata-se de um método de maior especificidade. Circunstancialmente, a dosagem do cortisol por imunoensaio tem sido considerada mais sensível para a detecção da síndrome de Cushing, tendo em vista a possibilidade de reação cruzada de metabólitos de cortisol com os anticorpos dos imunoenaios.

Hiperplasia adrenal congênita (17-hidroxiprogesterona e outros marcadores)

Vários metabólitos são investigados em casos clínicos de hiperplasia adrenal congênita (HAC). O defeito mais comum se deve à deficiência da 21-alfa-hidroxilase com o acúmulo do precursor 17-alfa-hidroxilase (17OHP). Outros defeitos enzimáticos acarretam no acúmulo de outros metabólitos, incluindo 11-desoxicortisol, 21-desoxicortisol, androstenediona, corticosterona e 11-desoxicorticosterona. Consequentemente, a utilização da LC-MS/MS é muito útil, pois permite a quantificação simultânea de múltiplos metabólitos intermediários. Essa característica vai de encontro à possibilidade de utilização da razão precursor/produto, que tem se mostrado mais útil do que a avaliação da concentração do metabólito somente. A HAC é caracterizada pela razão 17OHP/11-desoxicortisol elevada. A razão 17OHP/androstenediona é um marcador de excesso androgênico via atividade da 17,20-liase. Nos casos de rastreio neonatal para HAC, a utilização da LC-MS/MS é capaz de reduzir o número de resultados falso-positivos, não apenas pelas

dosagens diretas da 17OHP, bem como pelo uso da razão (17OHP+androstenediona/cortisol) ou (17OHP+21-desoxicortisol/cortisol). A dosagem de 17OHP por LC-MS/MS garante especificidade muito superior a esse mensurado quando comparado a qualquer outro imunoensaio.

Estradiol

O intervalo útil de medição do estradiol é muito extenso, englobando uma concentração tão baixa quanto < 5 pg/mL até cerca de 2.000 pg/mL. Os imunoensaios são classicamente úteis para avaliação de concentrações elevadas de estradiol, mas inadequados para concentrações baixas. Imunoensaios diretos apresentam desempenho limitado para mensuração do estradiol em homens, crianças, mulheres na pós-menopausa e naquelas em tratamento com inibidor de aromatase. O desempenho para a dosagem do estradiol é mais bem executado quando por LC-MS/MS. Ainda assim, apresenta desafios, mesmo para esse método. Métodos incluindo derivatização são mais utilizados, apesar de que o emprego de analisadores de massa mais sensíveis tem permitido a análise de estrogênios, mesmo sem esse dispositivo. Contudo, a transposição em um laboratório clínico de um método automatizado para LC-MS/MS demandaria um cuidadoso estudo para sua implementação, haja vista o tempo ainda maior para preparação e execução da amostra.

Androgênios

Ainda que alguns imunoensaios bem validados mantenham sua utilidade para avaliação da concentração de testosterona total no sexo masculino adulto, eles carecem de sensibilidade para avaliar esse mesmo mensurado em mulheres e crianças. A determinação da testosterona total por LC-MS/MS é capaz de oferecer maior especificidade analítica quando comparada aos imunoensaios. Não obstante, resultados de testosterona executados por LC-MS/MS, quando comparados ao RIE, apresentaram desempenho similar em alguns estudos.

Vitamina D

A dosagem da vitamina D (25-hidroxivitamina D), quando realizada por LC-MS/MS, permite a maior especificidade na sua quantificação, além da identificação das duas principais fontes de vitamina D, a endógena (D3) e a exógena (D2), respectivamente colecalciferol e ergocalciferol. A identificação dessas fontes em imunoensaios é variável e, ocasionalmente, divergente daquela informada pelo fabricante do *kit*.

HORMÔNIOS DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS

Hormônios tireoidianos

A determinação direta das frações livres dos hormônios tireoidianos T3 e T4 (tri-iodotironina e tetraiodotironina, respectivamente) é extremamente difícil, pois estão presentes em uma baixa concentração no sangue. Os analisadores do tipo triplo quadrupolos têm se mostrado com adequada sensibilidade para atingir a acurácia necessária para essa dosagem. Outro desafio tem sido obter a separação física entre a fração livre e a ligada às proteínas. Em geral, são utilizados os métodos de diálise de equilíbrio ou ultrafiltração.

Até o momento, esse método tem sido ofertado para padronização de outros ensaios com restrita disponibilidade clínica, haja vista sua alta complexidade.

Catecolaminas e metabólitos

Há algum tempo, o diagnóstico do feocromocitoma e paraganglioma tem sido feito com base na dosagem dos metabólitos metanefrina e normetanefrina, em vez de seus precursores epinefrina e norepinefrina. Tumores que secretam somente dopamina são mais raros. Dosagens de catecolaminas na urina pelo método de *high-performance liquid chromatography* (HPLC) estão sujeitas à interferência por drogas, como o acetoaminofeno. Além disso, há limitações na sensibilidade e na especificidade dos detectores eletroquímicos e extensa preparação da amostra. A utilização da LC-MS/MS reduz consideravelmente o tempo de execução do ensaio (tempo de aquisição) em 4 a 5 vezes, e a sensibilidade pode melhorar em até 10 vezes. A preparação da amostra é dramaticamente simplificada com a introdução da extração *on-line* de fase sólida. Essas vantagens se estendem para outros metabólitos, como ácido vanilmandélico e ácido homovanílico. Metanefrina e normetanefrina são mais estáveis, quando comparadas às catecolaminas na urina. Além disso, a coleta para dosagem no plasma é mais similar a outras mais rotineiras. Meta e normetanefrina são mais acessíveis à dosagem por LC-MS/MS que as catecolaminas. Em estudos clínicos, os metabólitos têm sido referidos como de maior acurácia diagnóstica que seus precursores. A dosagem do metabólito 3-metoxitiramina (3-MT) deve ser realizada, sendo útil para detecção de metástases em paragangliomas.

PEPTÍDEOS E HORMÔNIOS PROTEICOS

Uma das mais promissoras aplicações da MS, não apenas para a endocrinologia, mas também para outras especialidades na medicina laboratorial, é a quantificação dos peptídeos e proteínas. O anticorpo empregado no imunoenensaio reconhece somente uma pequena porção do antígeno e, conseqüentemente, pode não detectar variações estruturais que ocorrem em outras regiões da molécula (antígeno), como modificações pós-translaçionais. Além disso, como observado anteriormente, várias são as interferências analíticas passíveis de ocorrência na interação antígeno/anticorpo. Em virtude do grande intervalo de concentrações das proteínas no plasma, com hormônios peptídicos e proteicos sendo encontrados em concentração final muito baixa, torna-se necessário um passo de enriquecimento (aumento de concentração do mensurado a ser analisado). A purificação por imunoafinidade representa o processo mais eficiente para enriquecimento do hormônio e pode ser realizado antes ou após a digestão de proteínas. Para algumas dosagens, a falta de proteínas isotopicamente marcadas para serem utilizadas como padrão interno pode ser um impedimento para a implantação dos ensaios quantitativos com uso clínico.

Tireoglobulina

A principal indicação para realização da dosagem de tireoglobulina por MS seria como teste reflexo em indivíduos portadores de anticorpos antitireoglobulina e com suspeita de interferência. A digestão das proteínas inclui as imunoglobulinas responsáveis pela interferência na dosagem de tireoglobulina. Atualmente, o ensaio para determinação da tireoglobulina por LC-MS/MS está disponível em poucos laboratórios.

IGF-1

O IGF-1 (do inglês, *insulin like growth factor 1*), um hormônio peptídico de 84 aminoácidos, é o principal mediador das ações somáticas do hormônio do crescimento. A quantificação do IGF-1 é realizada após digestão proteica e/ou após enriquecimento por imunoafinidade seguida por execução por MALDI-TOF (do inglês, *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight* – processo de ionização por dessorção a laser assistida por matriz em um analisador por tempo de voo). A avaliação do IGF-1 pela MS confere maior especificidade e evita as interferências comuns dos imunoenaios.

Atividade de renina plasmática

Vários métodos já foram desenvolvidos para a avaliação da atividade de renina plasmática (ARP). O ensaio de LC-MS/MS utiliza os mesmos passos para geração de angiotensina I que o RIE tradicional, exceto pela eliminação da radioatividade. Padrões isotopicamente marcados estão disponíveis comercialmente. A ARP por LC-MS/MS oferece uma alternativa à trabalhosa execução por RIE, elimina o uso da radioatividade e oferece um intervalo de mensuração analítica mais extenso.

PERSPECTIVAS

Mais recentemente, a espectrometria de massa de alta resolução acoplada à cromatografia líquida (LC-HARMS), capaz de alcançar uma análise de massa/carga com erro no intervalo de uma parte por milhão, tem possibilitado a quantificação de um perfil com vários esteroides e biomarcadores intactos proteicos. Essa área emergente permitirá a análise de proteínas maiores, como as imunoglobulinas. Atualmente, o processamento da amostra é um impedimento à maior expansão da MS no laboratório clínico. Não obstante, a possibilidade de automação ou, pelo menos, de maior agilidade na execução dos testes por MS não é uma realidade tão distante. A maior padronização dos ensaios é também desejável, reduzindo a variabilidade entre ensaios e permitindo maior comparabilidade de centros diferentes, além de maior uniformização dos intervalos de referência.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ADAWAY JE, KEEVIL BG, OWEN LJ. Liquid chromatography tandem mass spectrometry in the clinical laboratory. *Ann Clin Biochem.* 2015;52(1):18-38.
- ANNESLEY TM, ROCKWOOD AL, SHERMAN NE. Mass spectrometry. In: Burtis ZA, et al. *Tietz fundamentals of clinical chemistry.* 6. ed. Missouri: Saunders Elsevier; 2008. p. 128-39.
- CARVALHO VM. The coming of age of liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry in the endocrinology laboratory. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012;883-884:50-8.
- GROS JH. *Mass spectrometry: a textbook.* Cham, Switzerland: Springer; 2017.
- HOOFNAGLE AN, WENER MH. The fundamental flaws of immunoassay and potential solutions using tandem mass spectrometry. *J Immunol Methods.* 2009;347(1-2):3-11.
- KEEVIL BG. LC-MS/MS analysis of steroids in the clinical laboratory. *Clin Biochem.* 2016;49(13-14):989-97.
- KETHA SS, SINGH RJ, KETHA H. Role of mass spectrometry in clinical endocrinology. *Endocrinol Metab Clin N Am.* 2017;46(3):593-613.
- YALOW RS, BERSON SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest.* 1960;39(7):1157-75.
- ZENDJABIL M, CHELLOUAI Z, ABBOU O. Role of mass spectrometry in steroid assays. *Ann Endocrinol (Paris).* 2016;77(1):43-8.

INTRODUÇÃO

A tireoide é uma glândula endócrina única localizada no pescoço. Sua principal função consiste em secretar os hormônios tri-iodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) em resposta ao hormônio tireoestimulante ou tireotrofina (TSH), produzido na hipófise anterior. O TSH, por sua vez, está sob a regulação do hormônio liberador da tireotrofina (TRH), secretado pelo núcleo paraventricular do hipotálamo. Todo o T_4 é produzido na tireoide, ao passo que apenas 20% do T_3 advém da secreção tireoidiana, e os 80% restantes provenientes da conversão periférica de T_4 em T_3 via deiodinação. Ambos os hormônios exercem efeito de retroalimentação (*feedback*) negativo ou positivo sobre o hipotálamo-hipófise, inibindo ou estimulando a secreção de TRH/TSH e, conseqüentemente, de T_4 e T_3 . Na circulação, mais de 99% dos hormônios tireoidianos estão ligados a proteínas, principalmente à globulina ligadora da tiroxina (TBG), mas também à transtirretina e albumina. Apenas 0,03% do T_4 e 0,3% do T_3 circulante encontram-se sob a forma livre. O T_4 representa o principal reservatório de hormônio tireoidiano, mas precisa ser convertido em T_3 para se tornar metabolicamente ativo. Nas células-alvo, o T_3 liga-se ao seu receptor intranuclear, estimulando a secreção de RNA mensageiro e a síntese proteica. As principais funções dos hormônios tireoidianos incluem a regulação do metabolismo e funcionamento de múltiplos órgãos (sistema nervoso central, coração, intestino etc.).¹

As disfunções tireoidianas incluem o hipo ou hipertireoidismo primário (causado por distúrbio da própria tireoide) ou central (distúrbio hipotalâmico/hipofisário). Na doença primária, os níveis de TSH se alteram, saindo da faixa da normalidade, muito antes de o T_4 livre se modificar.² Isso ocorre porque, em condições fisiológicas, existe uma relação inversa logarítmica-linear entre os níveis de TSH e T_4 livre, de modo que pequenas flutuações do T_4 livre provocam alterações proporcionalmente maiores do TSH. Por essas razões, em pacientes ambulatoriais, o melhor teste individual para avaliar a função tireoidiana é a dosagem sérica do TSH, conforme o algoritmo proposto a seguir:³

- TSH normal: nenhum teste adicional é necessário;
- TSH alto: dosar o T_4 livre para diferenciar entre hipotireoidismo primário subclínico (T_4 livre normal baixo) ou clínico (T_4 livre baixo);
- TSH baixo: dosar o T_4 livre para diferenciar entre hipertireoidismo primário subclínico (T_4 livre normal alto) ou clínico (T_4 livre alto). No caso de T_4 livre normal, dosar também o T_3 total ou livre para detectar T_3 -toxicose (T_4 livre normal e T_3 alto).

Essa estratégia, no entanto, não permite excluir completamente o diagnóstico de hiper ou hipotireoidismo central, doenças mais raras nas quais o TSH pode ser normal e o T_4 livre aumentado ou diminuído, respectivamente. Por isso, diversos especialistas recomendam a dosagem conjunta de TSH e T_4 livre na avaliação inicial de pacientes com suspeita de disfunção tireoidiana.³

Em pacientes internados em estado grave, é útil também dosar o T_4 total, pois, nessas condições, a presença de toxinas e o uso de múltiplos medicamentos podem inibir a ligação do T_4 às suas proteínas ligadoras, interferindo na dosagem do T_4 livre e/ou inibir a secreção de TSH. Mesmo sem apresentar doença tireoidiana orgânica, esses pacientes frequentemente exibem alterações transitórias dos testes tireoidianos, incluindo T_3 total baixo, T_3 reverso alto, T_4 livre normal, baixo ou alto (dependendo do ensaio utilizado e da fase da doença) e TSH normal ou baixo (podendo se elevar na fase de recuperação). O T_4 total, por sua vez, permanece normal na maioria desses pacientes, sendo útil para confirmar a ausência de disfunção tireoidiana orgânica.³

METODOLOGIA

Todos os testes tireoidianos anteriormente descritos são, em geral, dosados em soro por imunoenaios competitivos ou imunométricos. Na maioria dos laboratórios clínicos, esses ensaios são totalmente automatizados e utilizam traçadores químico ou eletroquímio-luminescentes.³

TSH

O TSH é dosado por ensaio imunométrico, técnica de sanduíche, com dois ou mais anticorpos, em geral, monoclonais, dirigidos contra epítopos diferentes da molécula de TSH. Nesse método (Figura 1), a amostra é incubada em um único passo com anticorpos anti-TSH, fixados à fase sólida (anticorpos de captura) e anticorpos anti-TSH conjugados ao traçador (anticorpos de sinal). Forma-se, então, o complexo sanduíche, constituído por uma molécula de TSH ligada a ambos anticorpos; desse modo, quanto maior a concentração de TSH da amostra, maior a formação dos complexos sanduíche e, conseqüentemente, maior o sinal gerado no final da reação. Segue-se a lavagem da reação para eliminar os reagentes livres e, no final, a excitação do traçador retido na fase sólida.

T_4 e T_3 livre

Os melhores métodos para dosar o T_4 e o T_3 livre envolvem a separação física entre hormônio livre e ligado por meio da diálise de equilíbrio ou ultrafiltração, seguida da medida do hormônio presente no dialisado ou ultrafiltrado por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas *in tandem* (LC-MS/MS). Entretanto, por serem muito trabalhosos, demorados e de alto custo, esses ensaios, em geral, só estão disponíveis em laboratórios de referência ou pesquisa.

Na maioria dos laboratórios clínicos, o T_4 e T_3 livre são dosados por imunoenaios, classificados em três tipos:^{4,5}

1. Imunoensaio de dois passos com titulação reversa (Figura 2A). Em um primeiro passo, a amostra é incubada com anticorpos anti- T_4/T_3 fixados à fase sólida, seguida da lavagem da reação para eliminar as proteínas ligadoras e os respectivos hormônios ligados. Em um segundo passo, o T_4/T_3 conjugado ao traçador é adicionado à reação, de modo

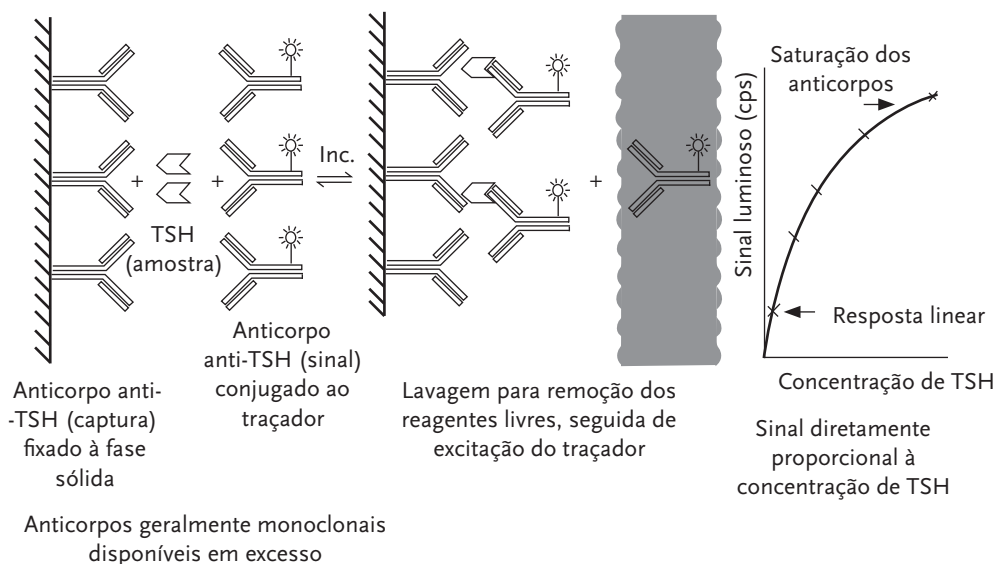


FIGURA 1 Formato do ensaio imunométrico de TSH.

Fonte: adaptada de Wild, 2013.

a interagir apenas com os sítios de ligação dos anticorpos não previamente ocupados pelo T_4/T_3 endógeno. Uma nova lavagem é realizada para eliminar os reagentes livres, seguida da excitação do traçador retido na fase sólida. A vantagem desse ensaio é que o traçador interage apenas com os anticorpos anti- T_4/T_3 , não tendo contato com a TBG. Em contrapartida, as duas incubações tornam o ensaio mais prolongado. Além disso, o traçador pode deslocar o T_4/T_3 endógeno previamente ligado aos anticorpos, com eventual perda dessa fração na segunda lavagem da reação, gerando resultados falsamente alterados. Apesar dessas supostas desvantagens, esse tipo de ensaio parece ser o que oferece melhores resultados em comparação aos métodos de referência;

2. Imunoensaio de um único passo com análogo conjugado ao traçador (Figura 2B). A amostra é incubada em um único passo com anticorpos anti- T_4/T_3 fixados à fase sólida e com análogo do T_4/T_3 conjugado ao traçador. Em teoria, esse análogo modificado deveria se comportar como o T_4/T_3 endógeno, porém apresenta baixa ou nenhuma afinidade pela TBG, interagindo apenas com os anticorpos do ensaio. Dessa maneira, o análogo conjugado ao traçador competiria de modo equitativo com o T_4/T_3 endógeno pelos mesmos sítios de ligação dos anticorpos, não sofrendo interferência da TBG. Segue-se a lavagem da reação para eliminar os reagentes livres e, no final, a excitação do traçador retido na fase sólida. A vantagem desse ensaio é a simplicidade e a rapidez da reação, já que envolve apenas uma incubação. Entretanto, na prática, o análogo não se liga apenas aos anticorpos do ensaio, interagindo também, em maior ou menor grau; com a TBG. Nesse caso, pode ocorrer o sequestro parcial do traçador pela TBG, com eliminação dessa fração na lavagem da reação, gerando resultados falsamente alterados;
3. Imunoensaio de um ou dois passos com anticorpos conjugados ao traçador (Figura 2C). A amostra é incubada, em um único passo ou em sequência de dois passos, primeiro com

anticorpos anti-T₄/T₃ conjugados ao traçador e, depois, com análogo do T₄/T₃ fixado à fase sólida. Nesse formato, o anticorpo traçador liga-se ao análogo, ficando retido na fase sólida, ou, então, ao T₄/T₃ endógeno, permanecendo livre na reação. Segue-se a lavagem para remover os reagentes livres (incluindo o anticorpo traçador ligado ao T₄/T₃ endógeno) e, no final, a excitação do anticorpo traçador ligado ao análogo fixado à fase sólida. Apesar de também empregar um análogo do T₄/T₃, esse tipo de ensaio parece fornecer resultados mais fidedignos que os do análogo conjugado ao traçador.

Apesar de práticos, automatizados e de baixo custo, os ensaios de T₄/T₃ livre têm sofrido inúmeras críticas desde seu advento na década de 1980, incluindo a impossibilidade de diluir amostras para confirmar a linearidade do método e a falta de correlação/equivalência dos resultados com os métodos de referência. Além disso, alguns ensaios sofrem a influência da TBG e da albumina, não fornecendo resultados fidedignos quando há alterações importantes dessas proteínas, como nos casos de gravidez, síndrome da doença não tireoidiana, insuficiência renal ou disalbuminemia. Estratégias propostas para mitigar esses problemas incluem uma maior uniformidade nos componentes dos ensaios e na diluição das amostras durante a reação. Alguns fabricantes sugerem também a definição da chamada “janela de validade” para cada ensaio, que corresponde ao intervalo de concentrações de TBG e albumina, no qual os ensaios fornecem resultados acurados.

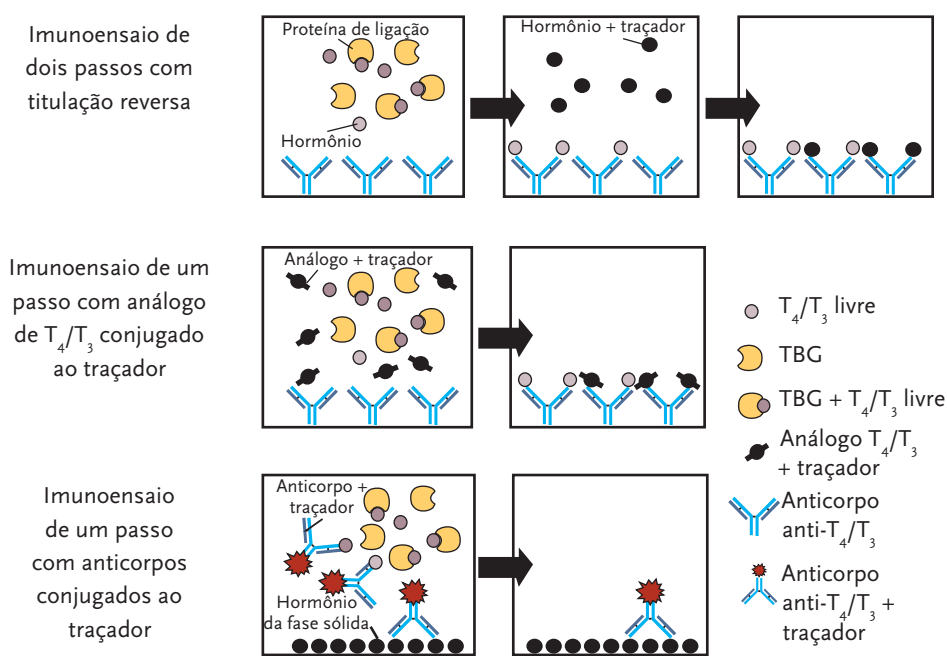


FIGURA 2 Formato dos diversos tipos de imunoensaios de T₄/T₃ livre: imunoensaio de dois passos com titulação reversa (A); imunoensaio de um passo com análogo conjugado ao traçador (B); imunoensaio de um passo com anticorpos conjugados ao traçador (C).

Fonte: adaptada de Faix, 2013.

T₄ e T₃ total

O T₄ e T₃ total são dosados por imunoenaios competitivos. Nesse método (Figura 3), a amostra, anticorpos anti-T₄/T₃ fixados à fase sólida e T₄/T₃ conjugados ao traçador são incubados em um único passo em tampão contendo agentes que promovem a liberação dos hormônios tireoidianos de suas proteínas ligadoras (ácido 8-anilino-1-naftaleno sulfônico, timerosal, salicilatos, fenitoína e/ou barbital). Outra alternativa é a incubação em um único passo da amostra, T₄/T₃ fixados à fase sólida e anticorpos anti-T₄/T₃ conjugados ao traçador. Nos dois formatos, o T₄/T₃ endógeno liberado das proteínas ligadoras, liga-se, em maior ou menor grau, aos anticorpos anti-T₄/T₃; desse modo, quanto maior a concentração de T₄/T₃ da amostra, menor a fixação do traçador na fase sólida, e, conseqüentemente, menor o sinal gerado no final da reação. Segue-se a lavagem da reação para eliminar os reagentes livres e, no final, a excitação do traçador retido na fase sólida.

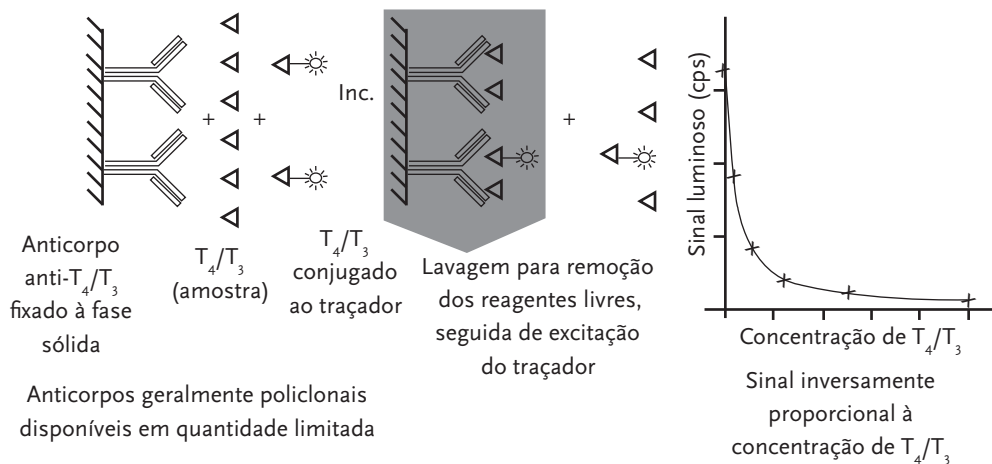


FIGURA 3 Formato do imunoenensaio competitivo de T₄/T₃ total.

Fonte: adaptada de Wild, 2013.

PADRONIZAÇÃO

A padronização dos testes de função tireoidiana vem sendo gradativamente implementada pelo Working Committee for Standardization of Thyroid Function Tests (C-STFT), uma força-tarefa criada pela International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), em 2005. Os principais objetivos dessa iniciativa são: (i) desenvolver métodos de referência para os hormônios TSH, T₄/T₃ livre e T₄/T₃ total; (ii) avaliar a comparabilidade dos resultados e o desempenho analítico dos diversos ensaios comerciais disponíveis no mercado; (iii) criar uma rede de laboratórios competentes de referência. Em parceria com a indústria de diagnóstico *in vitro*, o C-STFT pretende fomentar a padronização e a rastreabilidade dos diversos ensaios comerciais a um método de referência de nível hierárquico superior, de modo a garantir a equivalência dos resultados e permitir a definição de valores de referência e limites de decisão clínica comuns, facilitando, desse modo, a elaboração de diretrizes mais sólidas de conduta clínica.⁶

Os métodos de referência estabelecidos pelo C-STFT são:

- TSH: não há no presente momento método de referência estabelecido; por isso, o C-STFT optou, na impossibilidade de padronização, pela harmonização dos resultados com base na média APTM (*all procedure trimmed mean*) de um painel de soros nativos dosados nos diversos ensaios comerciais participantes do programa;⁷
- T_4/T_3 livre: diálise de equilíbrio seguida da medida do T_4/T_3 no dialisado por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de diluição isotópica *in tandem* (ID-LC-MS/MS). Esses métodos foram desenvolvidos na Universidade de Ghent, sendo reconhecidos como de referência pelo Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM).⁸ A diálise é realizada em pH 7,4, a 37°C por 4 horas, utilizando membrana regenerada com *cutoff* de 5 kDa;^{9,10}
- T_4/T_3 total: ID-LC-MS/MS. Esses métodos foram desenvolvidos na Universidade de Ghent (Bélgica), sendo também reconhecidos como de referência pelo JCTLM.^{8,11}

Vários estudos foram realizados pelo C-STFT em parceria com a indústria de diagnóstico *in vitro* para avaliar a comparabilidade e o desempenho analítico de diversos ensaios comerciais de TSH, T_4/T_3 total ou livre, utilizando painéis de amostras nativas de doadores aparentemente normais. Na maioria dos ensaios, o desempenho analítico foi considerado adequado, embora várias oportunidades de melhoria fossem identificadas. Os resultados foram:

- TSH: a imprecisão total ficou abaixo do limite estabelecido pela variação biológica (9,9%) em todos os ensaios avaliados. Em alguns métodos, foram detectados instabilidade intraensaio (diferenças sistemáticas entre replicatas dosadas em pontos diferentes do ensaio) e desvios dos controles internos fora do intervalo de $\pm 10\%$ em relação aos valores-alvo. Apenas três dos 16 ensaios avaliados apresentaram *bias* médio fora do intervalo de $\pm 10\%$ em relação à média APTM. A recalibração matemática dos ensaios baseada em análise de regressão reversa eliminou o *bias* médio.⁷ Em dois estudos posteriores, após dosagem inicial do TSH em um painel de amostras nativas de indivíduos normais, pacientes com disfunção tireoidiana e também calibradores máster de *kits*, os ensaios de TSH foram recalibrados pelos fabricantes dos *kits* com os calibradores ajustados pela média APTM e as amostras redosadas. O *bias* médio foi corrigido; porém, na maioria dos ensaios, o impacto da recalibração foi pequeno, com diferenças pouco significativas em relação aos resultados originais (Figura 4);^{6,7}
- T_4/T_3 livre: a maioria dos ensaios apresentou imprecisão total acima dos limites estabelecidos pela variação biológica (3,8% para o T_4 livre e 4,0% para o T_3 livre) e instabilidade intraensaio. Em alguns ensaios, foram também detectados inconsistência entre calibrações/corridas e desvios dos controles internos fora do intervalo de $\pm 5\%$ em relação aos valores-alvo. Quinze dos 17 ensaios de T_4 livre apresentaram *bias* negativo excedendo -10% (máximo -42%), ao passo que 10 dos 14 ensaios de T_3 livre apresentaram *bias* médio fora do intervalo de $\pm 10\%$ em relação ao método de referência (nove com *bias* negativo chegando até -30% e um com *bias* positivo de $+22\%$). A recalibração matemática dos ensaios comerciais baseada em análise de regressão reversa eliminou o *bias* médio.¹² Em dois estudos posteriores, após dosagem inicial do T_4 livre em um painel de amostras nativas de indivíduos normais, pacientes com disfunção tireoidiana e também calibradores máster de *kits*, o *bias* negativo dos ensaios comerciais foi confirmado e, por isso, eles foram recalibrados pelos fabricantes dos *kits* utilizando seus cali-

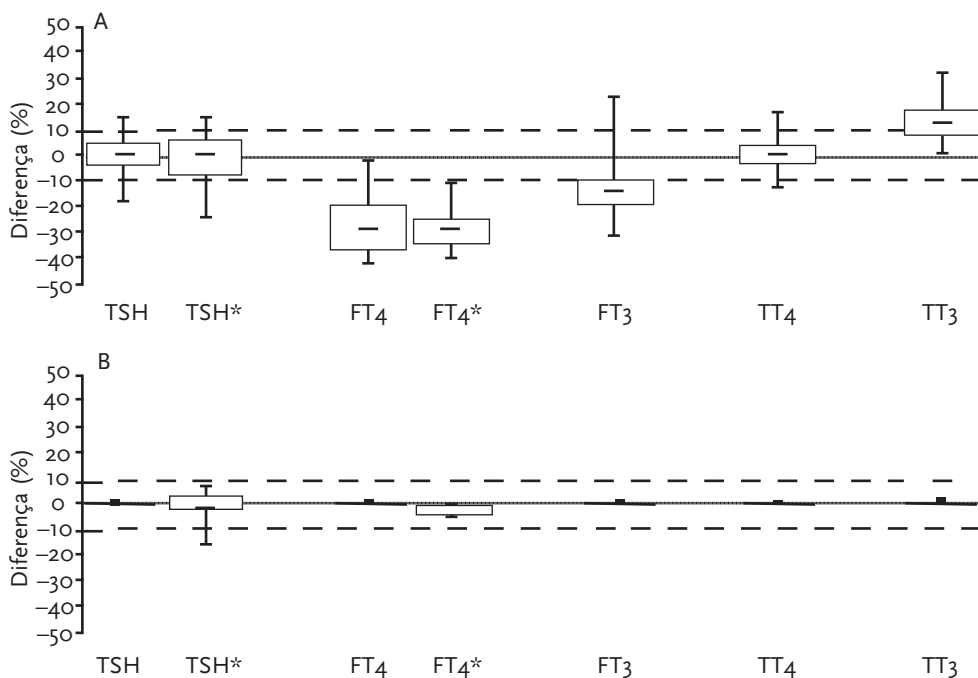


FIGURA 4 Gráfico Box & Whisker mostrando o *bias* médio dos ensaios comerciais de TSH em relação à média APTM (*all procedure trimmed mean*); do T_4/T_3 livre em relação aos métodos de referência (diálise de equilíbrio seguida de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (ID-LC-MS/MS)); e do T_4/T_3 total em relação ao padrão de referência (ID-LC-MS/MS). O *bias* médio inicialmente detectado (painel A) foi corrigido após recalibração matemática dos ensaios por análise de regressão reversa (painel B). No caso do TSH e do T_4 livre, um segundo estudo foi realizado (assinalado com *), no qual os ensaios foram recalibrados pelos fabricantes dos kits utilizando calibradores máster com valores ajustados pela média APTM (TSH) ou por diálise de equilíbrio seguida de ID-LC-MS/MS (T_4 livre).

Fonte: adaptada de Thienpont, 2010.

- bradores com valores ajustados pelo método de referência. A redosagem das amostras pós-calibração mostrou que o *bias* negativo foi corrigido; ao contrário do TSH, houve impacto significativo nos resultados do T_4 livre, que ficaram 30 a 50% mais altos que os originais, principalmente na faixa de concentrações normais e elevadas (Figura 4);⁶
- T_4/T_3 total: a maioria dos ensaios apresentou imprecisão total acima dos limites estabelecidos pela variação biológica (2,5% para o T_4 e 4,4% para o T_3) e vários mostraram instabilidade intraensaio, falta de consistência entre calibrações/corridas e desvios dos controles internos fora do intervalo de $\pm 5\%$ em relação aos valores-alvo. Quatro dos 11 ensaios de T_4 apresentaram *bias* médio fora do intervalo de $\pm 10\%$ em relação ao ID-LC-MS/MS (dois com *bias* positivo e dois com *bias* negativo). Contudo, todos os 12 ensaios de T_3 apresentaram *bias* médio positivo, e, em oito ensaios, o *bias* excedeu +10% em re-

lação ao ID-LC-MS/MS. A recalibração matemática dos ensaios comerciais baseada em análise de regressão reversa eliminou o *bias* médio. Entretanto, na maioria dos ensaios de T_4 , não houve impacto significativo em relação aos resultados originais, ao contrário do T_3 , em que as diferenças foram mais acentuadas (Figura 4).¹³

A partir desses resultados, o C-STFT concluiu que a calibração/harmonização dos ensaios com base nos métodos de referência ou na média APTM de soros nativos é capaz de corrigir o *bias* médio dos ensaios comerciais, reduzindo as diferenças entre os métodos. Entretanto, mesmo após essa correção, ainda permanece dispersão considerável entre os resultados, atribuída a componentes de erro randômico (imprecisão, instabilidade intra-ensaio, inconsistência entre calibrações/corridas, efeito matriz etc.). Assim, a equivalência total dos resultados requer não apenas a padronização/harmonização dos ensaios, mas também a implementação de melhorias no desempenho analítico dos métodos.⁶

Em um estudo mais recente realizado pelo C-STFT, também em parceria com a indústria de diagnóstico *in vitro*, o T_4 livre foi inicialmente dosado em um painel de 91 amostras com valores clinicamente relevantes, incluindo calibradores máster das empresas participantes (painel utilizado para recalibração dos ensaios comerciais) e, posteriormente, em outro painel de 120 indivíduos saudáveis (utilizado para definição dos intervalos de referência). As dosagens foram realizadas por diálise de equilíbrio seguida de ID-LC-MS/MS (padrão de referência) e por 13 imunoenaios comerciais, cujos valores originais foram recalculados após a recalibração desses ensaios com base no padrão de referência.¹⁴ O intervalo de referência definido pelo padrão de referência foi de 1,05 a 1,89 ng/dL (média, 1,47 ng/dL). Em oito de 13 ensaios comerciais, o limite inferior desse intervalo, calculado após a recalibração, caiu dentro de $\pm 12,5\%$ do valor equivalente estabelecido pelo padrão de referência, o mesmo ocorrendo em 12 de 13 ensaios para o limite superior. Em outro estudo análogo, o TSH foi dosado nos mesmos painéis de amostras em 14 ensaios comerciais, os quais foram harmonizados de acordo com a média APTM dos valores originais do primeiro grupo de amostras.¹⁵ O intervalo de referência, com base nos resultados de todos os 14 ensaios harmonizados, foi de 0,56 a 4,27 mIU/L (média, 1,76 mIU/L). Os limites inferior e superior desse intervalo, calculado para cada ensaio antes da harmonização, mostraram dispersão máxima de 53% e 51%, respectivamente, valores que, após a harmonização, caíram para 21% e 18%. Com base nesses dados, os autores concluíram que, na maioria dos ensaios de T_4 livre e TSH, a recalibração/harmonização permite a adoção de intervalos de referência mais uniformes.

INTERFERENTES ANALÍTICOS

Diversos fatores podem interferir nos testes de função tireoidiana, gerando resultados falsamente alterados.¹⁶

Alterações das proteínas ligadoras dos hormônios tireoidianos

Aumentos da TBG podem ser causados por: (i) maior exposição a estrógeno (gravidez, uso de anticoncepcionais, terapêutica de reposição hormonal pós-menopausa); (ii) drogas (5-fluouracil, heroína, metadona, clofibrato, tamoxifeno, raloxifeno, perfenazina, mitotano); (iii) doenças (hepatite viral, hepatite crônica ativa, tumor produtor de estrógeno, HIV, porfiria intermitente aguda); (iv) excesso congênito de TBG.

Diminuições da TBG podem ser decorrentes de: (i) maior exposição a andrógenos ou anabolizantes; (ii) drogas (glicocorticoides, L-asparaginase, ácido nicotínico); (iii) doenças (síndrome de Cushing, síndrome da doença não tireoidiana, cirrose hepática, síndrome nefrótica); e (iv) deficiência congênita de TBG.

Níveis altos ou baixos de TBG podem aumentar ou diminuir, respectivamente, os níveis de T_4/T_3 total. Em geral, o T_4/T_3 livre permanecem normais nessas condições; porém, podem se alterar em alguns ensaios mediante flutuações extremas da TBG.

A diminuição da albumina observada na gravidez, na síndrome da doença não tireoidiana e na desnutrição pode estar relacionada aos valores baixos de T_4/T_3 livre frequentemente detectados nessas condições. Por essa razão, é importante definir valores de referência específicos para esses hormônios na gravidez e interpretar com muita cautela os resultados de T_4/T_3 livre em pacientes desnutridos ou em estado grave, que podem apresentar a síndrome da doença não tireoidiana.

Algumas doenças genéticas raras estão associadas a mutações da albumina (hipertiroxinemia ou hipertri-iodotironinemia disalbuminêmica familiar) ou da transtirretina, que alteram a afinidade dessas proteínas pelos hormônios tireoidianos. Na hipertiroxinemia disalbuminêmica familiar, o T_4 total está aumentado, enquanto a fração livre encontra-se normal (dosada por diálise de equilíbrio, seguida de LC-MS/MS) ou elevada (medida em alguns imunoenaios comerciais). A hipertri-iodotironinemia disalbuminêmica familiar (doença muito rara) apresenta padrão semelhante, com T_3 total aumentado e T_3 livre normal ou alto, dependendo do ensaio. A eletroforese de proteínas pode revelar uma migração anormal da albumina ou transtirretina; porém, o diagnóstico deve ser confirmado pelo sequenciamento genético dessas proteínas.

Autoanticorpos anti- T_4 e anti- T_3

Os autoanticorpos anti- T_4 e anti- T_3 acometem 1,8% da população, sendo mais prevalentes em pacientes com doença tireoidiana autoimune. No tipo de interferência mais comum, esses autoanticorpos interagem com o traçador do ensaio, sequestrando parte desse reagente, com consequente perda de sinal; nesse caso, podem levar a resultados falsamente aumentados de T_4/T_3 total ou livre, principalmente em ensaios de um único passo. Outra possível interferência menos frequente é a interação dos autoanticorpos com o próprio T_4/T_3 da amostra, reduzindo a massa de hormônio disponível para mensuração e levando a valores falsamente baixos de T_4/T_3 total ou livre. Para minimizar os efeitos dos autoanticorpos, as amostras podem ser incubadas com partículas de Sepharose revestidas com proteína G ou A, que adsorvem IgG. Outra alternativa é redosar o analito em outro ensaio ou método, se possível por diálise de equilíbrio seguida de LC-MS/MS, no caso do T_4/T_3 livre.

Macro-TSH

O macro-TSH corresponde a um complexo de alto peso molecular, constituído por uma molécula de TSH ligada a uma IgG anti-TSH. De maneira análoga à macroprolactina, esse complexo tem clearance plasmático lento e baixa atividade biológica; porém, imunorreatividade preservada, levando a valores falsamente elevados de TSH, em geral acima de 10 mUI/L. O macro-TSH acomete 0,6 a 1,6% da população; porém, não afeta ensaios

de diferentes plataformas de maneira uniforme, algumas (Cobas, Roche) sendo mais afetadas que outras (Architect, Abbott). Assim, diante de uma amostra suspeita com TSH aumentado e T_4/T_3 livre normais, o laboratório pode optar pela redosagem do TSH em outro ensaio ou, então, efetuar o teste de precipitação com polietilenoglicol, que, em geral, mostra uma recuperação inferior a 25% na presença do macro-TSH. A confirmação é feita pela cromatografia em gel filtração, que exibe um pico de imunorreatividade eluindo na região das gamaglobulinas (150 kDa).

Anticorpos heterofílicos e antianimais

Ambos os tipos de anticorpos interferem em 0,05 a 6,0% das dosagens, principalmente em ensaios imunométricos que utilizam pares de anticorpos da mesma espécie animal. Em um estudo com mais de 5 mil pacientes, esses anticorpos foram detectados em 0,4% das dosagens de TSH.¹⁷ Eles podem se ligar simultaneamente aos anticorpos de captura e sinal do ensaio, formando um complexo tipo sanduíche na ausência do TSH; isso gera um falso sinal, acarretando resultados falsamente elevados. Mais raramente, eles se ligam apenas aos anticorpos de captura ou de sinal do ensaio, impedindo a formação do complexo sanduíche e gerando valores falsamente baixos. Para mitigar os efeitos dos anticorpos interferentes, as amostras suspeitas podem ser incubadas em soro nativo obtido de animais não imunes, da mesma espécie que gerou os anticorpos do ensaio. Outra alternativa mais custosa; porém, mais eficiente é incubar as amostras em tubos bloqueadores de anticorpos heterofílicos/antianimais (Scantibodies Laboratories), que contêm ligantes específicos para inativar esses anticorpos.

Biotina

A biotina é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B, também denominada B_7 , B_8 ou H, é empregada em mais de 50% dos imunoenaios comerciais, como parte integrante do sistema biotina-estreptavidina. Sua principal função é fixar na fase sólida imunocomplexos formados pela reação antígeno-anticorpo, facilitando a separação entre reagentes livres e ligados no processo de lavagem da reação.

Recentemente, a biotina tem sido utilizada para tratamento médico de esclerose múltipla progressiva e também por leigos, para queda de cabelos, fortalecimento de unhas e ganho de energia. O uso exógeno de biotina pode interferir nos imunoenaios que utilizam o sistema biotina-estreptavidina, por inibir a fixação de imunocomplexos à fase sólida. Esses complexos permanecem livres e são eventualmente eliminados no processo de lavagem da reação, provocando perda de parte do traçador, com consequente diminuição do sinal gerado no final da reação. Em imunoenaios competitivos (T_4/T_3 total ou livre), nos quais a intensidade do sinal é inversamente proporcional à concentração do analito, o menor sinal gerado resulta em valores falsamente elevados. Em ensaios imunométricos (TSH), nos quais a intensidade do sinal é diretamente proporcional à concentração do analito, ocorre o contrário, isto é, o menor sinal gerado leva a valores falsamente baixos. Alterações semelhantes ocorrem em pacientes com anticorpos antiestreptavidina (muito mais raros), pois esses também interferem na fixação de imunocomplexos biotinilados à estreptavidina imobilizada na fase sólida.¹⁸

Para mitigar a interferência da biotina, os laboratórios devem questionar pacientes especificamente sobre o uso dessa vitamina e recomendar sua suspensão por 2 a 3 dias antes da

coleta de exames suscetíveis. Em amostras com resultados suspeitos, o laboratório pode repetir a dosagem em ensaios que não utilizam o sistema biotina-estreptavidina ou, então, neutralizar o efeito da biotina incubando as amostras com partículas revestidas de estreptavidina.¹⁸

Outros interferentes

Anticorpos antirrútenio (Ru) podem interferir em ensaios eletroquimioluminescentes (Roche) que utilizam o Ru como traçador, em geral, gerando valores falsamente elevados de T_4/T_3 livre e baixos de TSH. Entretanto, em raros casos, alterações inversas foram relatadas, ou seja, valores falsamente baixos de T_4/T_3 livre e altos de TSH.

Algumas variantes de TSH, decorrentes de mutações na subunidade beta, e também a presença de paraproteínas podem induzir valores baixos ou, excepcionalmente, altos de TSH, associados a níveis normais de T_4/T_3 livre. Mecanismos propostos para explicar esses achados incluem a inibição da ligação do TSH aos anticorpos do ensaio, em virtude de modificação do epítipo do TSH provocada pelas mutações, ou, então, impedimento estérico causado pelas paraproteínas.

DROGAS

Várias drogas podem alterar os testes de função tireoidiana em indivíduos sem disfunção tireoidiana.¹⁹

- Amiodarona: inibe a conversão de T_4 para T_3 , podendo levar a T_3 total/livre normal baixo, T_4 total/livre alto e TSH normal alto ou pouco elevado. Em alguns pacientes, a amiodarona pode causar disfunção tireoidiana verdadeira, incluindo tireotoxicose ou tireoidite destrutiva, evoluindo para hipotireoidismo. Outras drogas que também inibem a conversão de T_4 para T_3 incluem propiltiouracil, propranolol, glicocorticoides e contrastes radiológicos (hipodato e ácido iopanoico);
- Heparina/enoxaparina: ativam a lipase lipoproteica, liberando ácidos graxos livres que deslocam o T_4/T_3 de suas proteínas ligadoras. Esse efeito pode ocasionar valores falsamente aumentados de T_4/T_3 livre, principalmente em ensaios com incubação longa ou em amostras armazenadas a temperatura ambiente por tempo prolongado;
- Fenitoína, fenobarbital, carbamazepina, oxcarbazepina e anti-inflamatórios não hormonais: inibem a ligação do T_4/T_3 às suas proteínas ligadoras, ocasionando alterações transitórias como T_4/T_3 livre alto e TSH baixo. Outras drogas que podem induzir efeito semelhante são a furosemida e os salicilatos em altas doses;
- Glicocorticoides, dopamina, agonistas dopaminérgicos, análogos da somatostatina, opioides: inibem a secreção e os níveis de TSH, mas, em geral, não causam alterações significativas do T_4/T_3 .

RESUMO

O principal teste laboratorial de função tireoidiana é a dosagem sérica de TSH, frequentemente acompanhada do T_4 livre. O T_3 total/livre é útil na detecção de T_3 -toxicose, principalmente quando o TSH está suprimido e o T_4 livre normal. O T_4 total, por sua vez, pode ser importante para confirmar a ausência de disfunção tireoidiana orgânica em pacientes internados em estado grave, que frequentemente apresentam alterações funcionais e transitórias do TSH e T_4/T_3 livre. Os métodos de referência para os testes de função tireoidiana foram desenvolvidos na Universidade de Ghent e incluem a cromatografia líquida acopla-

da à espectrometria de massas de diluição isotópica *in tandem* (ID-LC-MS/MS) para o T_4/T_3 total, e a diálise de equilíbrio seguida de ID-LC-MS/MS para o T_4/T_3 livre. Até o momento, não há método de referência para o TSH. Em laboratórios clínicos, esses hormônios são, em geral, dosados por imunoenaios automatizados químico ou eletroquímio-luminescentes do tipo competitivo (T_4/T_3 total ou livre) ou imunométrico (TSH). A padronização/harmonização desses ensaios vem sendo gradativamente implementada pelo C-STFT, uma força-tarefa criada pela IFCC, em 2005. Entretanto, os resultados obtidos nos diferentes ensaios comerciais ainda revelam diferenças consideráveis, principalmente no caso do T_4 livre, cujos níveis apresentam *bias* consistentemente negativos em relação ao método de referência. Diversos fatores podem interferir nos testes de função tireoidiana e ocasionar resultados falsamente alterados, incluindo flutuações da TBG e albumina, autoanticorpos anti- T_4/T_3 , macro-TSH, anticorpos heterofílicos ou antianimais, biotina e anticorpos antirreagentes. Várias drogas também podem alterar os resultados desses testes em pacientes sem disfunção tireoidiana orgânica, incluindo amiodarona, heparina, fenitoína, fenobarbital, carbamazepina, oxcarbazepina, anti-inflamatórios não hormonais, glicocorticoides, dopamina, agonistas dopaminérgicos, análogos da somatostatina e opióides. Todos esses fatores devem ser levados em consideração na seleção do método e na interpretação dos resultados dos testes de função tireoidiana para evitar o diagnóstico equivocado e o tratamento inadequado dos pacientes.

REFERÊNCIAS

1. ROSS DS. Thyroid hormone synthesis and physiology. Uptodate. Disponível em: <www.uptodate.com>. Acesso em: 29 abr. 2020.
2. COOPER DS, BIONDI B. Subclinical thyroid disease. Lancet. 2012;379:1142-54.
3. ROSS DS. Laboratory assessment of thyroid function. Uptodate. Disponível em: <www.uptodate.com>. Acesso em: 29 abr. 2020.
4. FAIX JD. Principles and pitfalls of free hormone measurements. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2013;27:631-45.
5. THIENPONT LM, VAN UYTFANGHE K, POPPE K, ET AL. Determination of free thyroid hormones. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2013;27:689-700.
6. THIENPONT LM, VAN UYTFANGHE K, VAN HOUCKE S. Standardization activities in the field of thyroid function tests: a status report. Clin Chem Lab Med. 2010;48:1577-83.
7. THIENPONT LM, VAN UYTFANGHE K, BEASTALL G, ET AL. Report of the IFCC working group for standardization of thyroid function tests; Part 1: thyroid-stimulating hormone. Clin Chem. 2010;56:902-11.
8. JCTLM. Database of higher-order reference materials, measurement methods/procedures and services. Disponível em: <http://www.bipm.org/jctlm/>. Acesso em: 29 abr. 2020.
9. VAN UYTFANGHE K, STÖCKL D, ROSS HA, ET AL. Use of frozen sera for FT4 standardization: investigation by equilibrium dialysis combined with isotope dilution-mass spectrometry and immunoassay. Clin Chem. 2006;52:1817-21.
10. VAN HOUCKE SK, VAN UYTFANGHE K, SHIMIZU E, ET AL. IFCC international conventional reference procedure for the measurement of free thyroxine in serum. Clin Chem Lab Med. 2011;49:1275-81.
11. THIENPONT LM, VAN UYTFANGHE K, MARRIOTT J, ET AL. Feasibility study of the use of frozen human sera in split-sample comparison of immunoassays with candidate measurement procedures for total thyroxine and total triiodothyronine measurement. Clin Chem. 2005;51:2303-11.

12. THIENPONT LM, VAN UYTFANGHE K, GEASTALL G, ET AL. Report of the IFCC working group for standardization of thyroid function tests; Part 2: free thyroxine and free triiodothyronine. *Clin Chem.* 2010;56:912-20.
13. THIENPONT LM, VAN UYTFANGHE K, GEASTALL G, ET AL. Report of the IFCC working group for standardization of thyroid function tests; Part 3: total thyroxine and total triiodothyronine. *Clin Chem.* 2010;56:921-9.
14. DE GRANDE LAC, VAN UYTFANGHE K, REYNDERS D, ET AL. Standardization of free thyroxine measurements allows the adoption of a more uniform reference interval. *Clin Chem.* 2017;63:1642-52.
15. THIENPONT LM, VAN UYTFANGHE K, DE GRANDE LAC, ET AL. Harmonization of serum thyroid-stimulating hormone measurements paves the way for the adoption of a more uniform reference interval. *Clin Chem.* 2017;63:1248-60.
16. FAVRESSE J, BURLACU MC, MAITER D, ET AL. Interferences with thyroid function immunoassays: clinical implications and detection algorithm. *Endocrine Reviews.* 2018;39:830-50.
17. ISMAIL AA, WALKER PL, BARTH JH, ET AL. Wrong biochemistry results: two case reports and observational study of 5310 patients on potentially misleading thyroid-stimulating hormone and gonadotropin immunoassay results. *Clin Chem.* 2002;48:2023-9.
18. BATISTA MC. Interferência da biotina nos imunoensaios. In: *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais.* Barueri: Manole; 2018. p. 135-54.
19. BURCH HB. Drug effects on the thyroid. *N Engl J Med.* 2019;381:749-61.
20. WILD D. Immunoassay for beginners. In: Wild D (ed.). *The immunoassay handbook.* 4. ed. Oxford: Elsevier; 2013. p. 7-10.

INTRODUÇÃO

A avaliação hormonal na mulher durante a idade reprodutiva é um dos desafios clínicos que se colocam aos profissionais de saúde. As variações decorrentes do ciclo menstrual, do período gravídico e de outros fatores transformam a interpretação dos resultados em um delicado equilíbrio entre o conhecimento da fisiologia hormonal e das técnicas laboratoriais. Somados às oscilações mensais e circadianas, fatores pré-analíticos e analíticos podem adicionar ainda mais complexidade à avaliação dos resultados.¹

O ciclo menstrual é classicamente dividido em três fases: fase folicular (ou proliferativa), fase lútea (ou secretória) e fase menstrual (ou descamativa). Na fase folicular, que dura cerca de 12 a 14 dias, há um aumento gradual de gonadotrofinas, principalmente hormônio folículo-estimulante (FSH), bem como de estradiol e hormônio luteinizante (LH). A fase lútea dura, em média, 14 dias e é desencadeada pela ovulação, que ocorre em decorrência de uma elevação súbita de LH (pico de LH). É caracterizada pela produção de progesterona e queda das gonadotrofinas. Após a fase lútea, há uma queda dos níveis de progesterona, que induz a descamação endometrial resultando na menstruação.

Outras situações, como gravidez, lactação, distúrbios alimentares, uso de anticoncepcionais hormonais e amenorreia, podem ocasionar alterações hormonais características.^{2,3}

ESTROGÊNIOS

A determinação laboratorial dos estrogênios, principalmente o estradiol, tem importância nas avaliações do potencial reprodutivo da mulher, na reserva ovariana e no monitoramento de tratamentos de infertilidade. Outra aplicação da dosagem de estradiol se dá no controle de tratamento de câncer de mama em pacientes em uso de inibidores de aromatase. Nesses casos, o alvo terapêutico é a supressão da produção estrogênica ao mínimo possível e, segundo as recomendações internacionais, o estradiol deve estar menor que 10 pmol/L (2,7 pg/mL).⁴ É importante ressaltar que, nesses casos, deve-se evitar ensaios imunométricos diretos, uma vez que alguns inibidores de aromatase podem apresentar reação cruzada com os anticorpos antiestradiol e elevar falsamente os níveis desse esteroide. Assim, nos casos de controle de tratamento, a determinação de estradiol deve ser feita por radioimunoensaio (RIE) convencional ou por cromatografia a gás (ou líquida), seguidos de espectrometria de massas (GC-MS ou LC-MS e MS).³

GONADOTROFINAS

Entre os hormônios solicitados na prática clínica, as gonadotrofinas estão entre os mais comumente usados. Sua interpretação, no entanto, pode apresentar vários desafios e detalhes que mudam a conduta. Em termos de métodos, sabe-se que o RIE tem baixa especificidade e sensibilidade para as gonadotrofinas e os feitos com base em ELISA, além de menos sensíveis, apresentam altas taxas de reatividade cruzada. Assim, os métodos de escolha devem ser os imunométricos.

O hormônio folículo-estimulante (FSH) é a gonadotrofina responsável pelo crescimento folicular e pela proliferação das células da granulosa. Tem papel essencial na dominância e na produção de esteroides sexuais, especificamente na produção de estrogênios, por meio da modulação da enzima aromatase (CYP19). É secretado pela hipófise anterior em pulsos e sofre retrocontrole (*feedback*) do estradiol e da inibina e esse padrão variável de secreção durante o ciclo é um dos fatores que dificultam sua interpretação. Na prática, é usado para identificar insuficiência ovariana prematura (IOP), investigar amenorreia, avaliar reserva ovariana e, eventualmente, auxiliar em ciclos de estimulação ovariana controlada. Deve ser avaliado na fase folicular precoce (1 a 3 dias do ciclo) sem uso concomitante de medicação. Na IOP, concentrações acima de 25 mUI/mL, medidas em duas ocasiões, em um intervalo de 4 semanas, confirmam o diagnóstico. Nas amenorrias primárias ou secundárias, FSH elevado (> 30 mUI/mL) sugere causa gonadal de alguma natureza. Na avaliação laboratorial de reserva ovariana, FSH de 10 a 15 mUI/mL parece indicar mau prognóstico reprodutivo, em se tratando de reprodução assistida. Quanto mais elevado o FSH, menores são as chances de gravidez natural ou estimulada. O FSH também é útil no diagnóstico de menopausa ou transição menopausal em pacientes histerectomizadas e assintomáticas ou oligossintomáticas.

O LH é essencial no desencadeamento da ovulação, na maturação oocitária final e, também, na esteroidogênese, sendo o regulador principal da síntese de androgênios e tendo participação na produção de progesterona. Antes do período da puberdade, os níveis de gonadotrofina são muito baixos e a relação LH/FSH em geral é menor que 1. A determinação de LH está indicada no diagnóstico do pico ovulatório e na investigação de hipogonadismo primário e puberdade precoce. Durante o pico ovulatório, seus valores variam entre 15 e 100 mUI/mL. Referente à classificação de puberdade precoce como dependente de gonadotrofinas, o LH é o teste com maior sensibilidade e os valores de corte são 0,6 mUI/mL (ensaios fluorimétricos) ou 0,3 mUI/mL (eletroquimioluminescência). Um dos problemas dos testes de LH é a reatividade cruzada com gonadotrofina coriônica humana (hCG), mas métodos mais recentes conseguiram maior especificidade e isso, em geral, não ocorre. É também usado no planejamento do momento de administração de medicamentos que desencadeiam a ovulação (gonadotrofina coriônica e análogos de GnRH).⁵

Gonadotrofina coriônica humana

O hCG é um hormônio glicoproteico que tem um papel fundamental na fase inicial da gestação. Sua determinação laboratorial é uma das mais comumente utilizadas, mas não raramente apresenta uma série de desafios que podem influenciar no cuidado médico e acarretar condutas errôneas ou equivocadas. Ele é utilizado no diagnóstico de gravidez, no controle de doença trofoblástica e como marcador tumoral. O hCG é produzido em grande quantidade pela placenta, pelo trofoblasto, mas também por outras estruturas

como a hipófise. O hCG hipofisário é secretado de modo pulsátil e, de maneira semelhante ao LH, é mais comumente detectado em baixas concentrações em mulheres no período menopausal.

O que se conhece genericamente por hCG, na verdade, refere-se a várias frações diferentes: o hCG produzido pelo sinciotrofoblasto; o hCG hiperglicosilado, produzido pelo citotrofoblasto; a subunidade livre, produzida comumente por tumores; o hCG hipofisário, entre outros. Os ensaios podem apresentar reações cruzadas com essas frações e confundir a interpretação clínica.

Durante a gestação, é possível identificar níveis detectáveis após a implantação, que na prática é de cerca de 10 dias após a fertilização (entre 6 e 12 dias). Nessa fase, o hCG aumenta rapidamente e dobra a cada 48 horas, aproximadamente. Após o terceiro mês, cai discretamente e permanece em um platô até o final da gestação. Há uma grande variabilidade nas concentrações do hCG de pessoa para pessoa e não se devem utilizar tabelas com valores desse analito para estimar a idade gestacional.⁶ Nos casos de gravidez ectópica, é comum haver uma subida irregular. Contudo, nos casos de doença trofoblástica, os níveis são, em geral, muito elevados.

Na prática

- O diagnóstico de gravidez por meio do hCG sérico pode ser feito de 10 a 12 dias após a fertilização;
- O hCG sobe rapidamente durante o início da gestação e dobra a cada 48 horas. Situações que não repliquem esse padrão devem ser investigadas.

PROLACTINA

A prolactina (PRL) é um hormônio proteico produzido principalmente pelos lactotrofos e secretado pela hipófise anterior.² É medida, em geral, por quimiluminescência e suas concentrações normais variam entre 15 e 20 ng/mL em homens e 20 e 25 ng/mL em mulheres. Os valores séricos podem ser influenciados por tumores hipofisários ou de origem central, estrogênios, medicamentos, gravidez, estresse, estimulação da mama, alimentação etc. A PRL pode ter várias formas moleculares identificadas pelos testes e que podem confundir a interpretação clínica. Em mulheres normais, 95% da PRL circulante é composta pela isoforma monomérica (23 kDa). O restante é formado por outras formas (a dimérica, a macroprolactina etc.), que não têm ação biológica, mas que são detectadas pelo método. A macroprolactina é uma forma de peso molecular maior que 100 kDa, formada por uma molécula de PRL monomérica associada a uma molécula de IgG ou IgA – autoanticorpo para PRL. Nos casos de suspeita de presença de macroprolactina, deve-se adotar métodos para separar as diferentes isoformas. O modo mais simples é a adição de polietilenoglicol (PEG). O método mais acurado de separação é a cromatografia em gel seguida de detecção por espectrometria de massas, que consegue discernir as três isoformas e quantificá-las. No entanto, é um método caro e bastante trabalhoso, sendo restrito a casos mais complexos, em que as demais estratégias de identificação falharam. Durante a investigação de quadros de irregularidade menstrual, síndrome dos ovários policísticos, infertilidade ou galactorreia, deve-se solicitar a dosagem de prolactina.

Na prática

- Indicações mais comuns de dosagem de PRL: investigação de irregularidade menstrual, síndrome dos ovários policísticos, infertilidade ou galactorreia;
- Deve-se solicitar pesquisa de macroprolactina nas seguintes situações:
 - » prolactina sérica elevada em pacientes assintomáticas;
 - » mulheres com suspeita de síndrome dos ovários policísticos.

HORMÔNIO ANTI-MÜLLERIANO

O hormônio anti-Mülleriano (AMH) é uma glicoproteína homodimérica da superfamília dos fatores de crescimento e transformação beta (TGF-beta). No sexo masculino, é produzido pelas células de Sertoli no testículo e tem papel essencial na diferenciação sexual masculina, promovendo a reabsorção das estruturas de Müller. Na mulher, é produzido no ovário pelas células da granulosa de folículos pré-antrais e antrais pequenos e suas funções têm sido extensivamente estudadas nos últimos anos. Sabe-se que o AMH tem um papel fundamental na manutenção da quiescência dos folículos primordiais (ou seja, impedindo-os de entrar em fase de crescimento), modula a ação do receptor de FSH e parece inibir a ação da enzima aromatase. Atualmente, é medido por eletroquimioluminescência e por ELISA e, na mulher, apresenta valores muito baixos ao nascimento, aumentando gradualmente até a puberdade e, assim, permanecendo até o início do período reprodutivo. Atinge seu pico por volta da segunda década de vida e, após os 30 anos, declina paulatinamente até ficar muito baixo durante a transição menopausal.² Em razão dessa característica, é considerado o marcador mais fidedigno de reserva ovariana e guarda excelente relação com o padrão de referência, que é a contagem de folículos antrais (CFA). É utilizado também para prever resposta ao estímulo ovariano em ciclos de reprodução assistida. Na síndrome dos ovários policísticos, os valores são de 2 a 3 vezes mais elevados que nas mulheres sem a síndrome.⁶

Na prática

- O AMH é, com a CFA, o marcador mais fidedigno da reserva ovariana, pois reflete o número de folículos pré-antrais e antrais pequenos;
- É também indicado na predição de resposta ovariana à estimulação controlada em ciclos de reprodução assistida.

PROGESTERONA

A progesterona é um esteroide secretado pelo ovário, suprarrenais e pela placenta. Atinge, durante a fase lútea do ciclo menstrual, valores cerca de 10 a 20 vezes mais elevados que os da fase folicular. Durante a gestação, a placenta produz grandes quantidades desse hormônio. Sua determinação tem como principal aplicação clínica o diagnóstico de ciclos anovulatórios, nos quais não há formação de corpo lúteo e, portanto, os níveis de progesterona permanecem baixos durante todo o ciclo. O encontro de níveis elevados do hormônio na segunda metade do ciclo indica que houve ovulação.⁶ As concentrações de progesterona são muito variáveis durante a gestação, motivo pelo qual não deve ser usada para estimar a idade gestacional.

TESTOSTERONA E OUTROS ANDROGÊNIOS

Os testes foram desenhados originalmente para medir a testosterona em concentrações mais elevadas (sexo masculino), e nesses casos apresentam boa sensibilidade e acurácia. A dosagem de testosterona na mulher apresenta muitos desafios. Em virtude do tamanho da molécula desse esteroide sexual, muitos testes imunométricos apresentam sensibilidade menor em baixas concentrações. Os métodos mais acurados são a espectrometria de massas e, algumas vezes, o RIE. Além disso, muitas vezes, não há uma clara relação clínica entre baixos níveis de testosterona e a sintomatologia. Frequentemente, mulheres procuram os médicos ginecologistas com queixas de baixa libido, em busca de uma causa hormonal. No entanto, muitos estudos mostram fraca correlação entre esse achado e as concentrações de androgênios. Assim, a dosagem de androgênios, em especial a testosterona total e livre, está indicada em casos de hiperandrogenismo clínico, suspeita de tumor produtor de hormônios e na investigação da síndrome dos ovários policísticos (que pode, em uma parcela dos casos, cursar sem hiperandrogenismo).

FUNÇÃO SUPRARRENAL

Na prática clínica, a avaliação da suprarrenal envolve a avaliação da produção de glicocorticoides, mineralocorticoides e esteroides sexuais. No entanto, neste capítulo serão discutidas apenas disfunções relacionadas com os esteroides sexuais. A condição mais frequente dos distúrbios de produção dos hormônios sexuais é a deficiência enzimática da suprarrenal, também conhecida como hiperplasia adrenal congênita, formas clássica e não clássica (tardia). A deficiência mais comum é a da enzima 21-hidroxilase, codificada pelo gene *CYP21A*. Mutações e deleções nesse gene são responsáveis por mais de 90% das deficiências congênitas da suprarrenal. A investigação dessas condições que afetam a esteroidogênese dessa glândula faz parte do fluxo propedêutico dos quadros de hiperandrogenismo clínico e laboratorial. O rastreamento é feito por meio da determinação da 17-hidroxiprogesterona em fase inicial do ciclo menstrual.

A segunda condição a ser investigada em casos de excesso de androgênio importante e/ou virilização é o carcinoma de suprarrenal. A dosagem de sulfato de deidroepiandrosterona (SDHEA) com níveis muito elevados (> 700 a 800 mcg/dL) pode indicar a necessidade de fazer exames de imagem para avaliar a origem da produção androgênica.

DESAFIOS E ARMADILHAS NA INTERPRETAÇÃO DOS TESTES LABORATORIAIS

Vários fatores pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos podem prejudicar a correta interpretação dos testes laboratoriais. O médico deve estar ciente desses fatores e, em caso de dúvida, entrar em contato com o laboratório de sua confiança. É sempre importante ressaltar que os exames são ferramentas subsidiárias e não devem substituir a anamnese, o exame físico e ginecológico e o raciocínio clínico.

Uso de anticoncepcional hormonal e outros medicamentos

A maioria dos anticoncepcionais hormonais (ACOH) (sistêmicos) exerce sua ação anovulatória por inibição do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. Esse princípio faz com que qualquer avaliação do eixo e dos hormônios sexuais na vigência de ACOH seja prejudicada. Assim, em geral, há supressão das gonadotrofinas e diminuição do estradiol,

progesterona e testosterona. Caso haja necessidade de se avaliar esses hormônios, deve-se interromper essas medicações por cerca de 3 meses e realizar as dosagens.

Macroprolactina

Em casos de elevação da prolactina sem quadro clínico compatível, a presença de macroprolactina deve ser investigada. Os sintomas que mais frequentemente estão associados à hiperprolactinemia verdadeira são irregularidade menstrual, galactorreia, amenorreia, infertilidade e cefaleia.

Biotina

Biotina, ou vitamina B₇, é uma vitamina hidrossolúvel envolvida em várias atividades enzimáticas do metabolismo de gorduras, carboidratos e aminoácidos. É encontrada em várias fontes alimentares e a ingestão diária recomendada é de cerca de 300 mcg. Recentemente, a biotina tem sido utilizada em megadoses (3 a 10 mg) em compostos vitamínicos com o objetivo de melhorar a qualidade da pele, dos cabelos e das unhas.⁷ Embora não haja comprovação de tal benefício, sabe-se que biotina em altas doses pode interferir nos imunoenaios, podendo ocasionar resultados mais baixos (ensaios sanduíche) ou mais elevados (ensaios competitivos) do que o real. A interferência é particularmente marcante em ensaios de hormônios tireoidianos,^{7,8} mas se deve orientar as pacientes a interromperem o uso de complementos vitamínicos cerca de 48 horas antes das coletas de sangue.

Ciclo menstrual

A maioria dos hormônios é secretada obedecendo a ciclos circadianos, menstruais e secreção pulsátil. Algumas dessas variações são importantes e, por isso, a época do ciclo em que o hormônio foi colhido é muito importante para a interpretação. Por exemplo, marcadores de reserva ovariana como FSH e estradiol devem ser colhidos durante a fase folicular precoce entre os dias 1 e 4 do ciclo menstrual. O AMH sofre pequenas variações intraciclo e pode ser pedido em qualquer época. Por sua vez, a dosagem de progesterona, para finalidade de comprovação da ovulação, deve ser feita após o 21º dia do ciclo.⁵

Reatividade cruzada de hormônios

Em algumas situações clínicas, hormônios com semelhança estrutural podem interferir nos ensaios. Por exemplo, nas hiperplasias congênitas de suprarrenal, esteroides intermediários como 11-desoxicortisol ou 17-hidroxiprogesterona podem estar elevados e falsear as dosagens de cortisol. Já a progesterona de origem do corpo lúteo pode interferir nas dosagens de 17-hidroxiprogesterona, usado no rastreamento de deficiência de 21-hidroxilase.⁴ Assim, deve-se, inicialmente, solicitar que esses testes de avaliação da função suprarrenal sejam feitos na fase folicular do ciclo menstrual e se atentar para dosagens de cortisol que não estejam de acordo com a clínica.

Unidades de medida e outros

Um problema muito comum na interpretação são as unidades de medida adotadas pelos diferentes laboratórios e sociedades. A depender do laboratório, as concentrações séricas dos hormônios são expressas pelo sistema métrico, pelo sistema internacional, entre outros. Mesmo dentro de um sistema, às vezes os analitos são expressos em nanogramas

por mililitros (ng/mL), nanogramas por decilitro (ng/dL), picomol por litro (pmol/L), e assim por diante. Desse modo, é importante que o médico se atente para as unidades e as referências laboratoriais utilizadas para evitar equívocos.

Outras possibilidades de fatores que atrapalham a correta determinação dos hormônios incluem hemólise, má-conservação das amostras, anticorpos heterófilos, efeito gancho por excesso do analito, interferência de substâncias desconhecidas, entre outras.

REFERÊNCIAS

1. VIEIRA JGH. Exames e testes diagnósticos úteis em endocrinologia. In: Saad M, Maciel RMG, Mendonça BB. Endocrinologia. Princípios e Prática. São Paulo: Atheneu; 2016. p. 1329.
2. CARMINA E, STANCZYK FZ, LOBO RA. Laboratory Assessment. In: YEN & JAFFE'S reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management. 7. ed. Philadelphia: Elsevier; 2014. p. 822.
3. HADDAD RA, GIACHERIO D, BARKAN AL. Interpretation of common endocrine laboratory tests: technical pitfalls, their mechanisms and practical considerations. Clin Diabetes Endocrinol. 2019;5:12.
4. SMITH IE, DOWSETT M, YAP YS, ET AL. Adjuvant aromatase inhibitors for early breast cancer after chemotherapy-induced amenorrhoea: caution and suggested guidelines. J Clin Oncol. 2006;24(16):2444-7.
5. TAYLOR HS, PAL L, SELI E. Speroff's clinical gynecologic endocrinology and infertility. 9. ed. Philadelphia: LWW; 2020.
6. MACIEL GAR, SILVA IDCG. Manual diagnóstico em saúde da mulher. Barueri: Manole; 2015
7. LI D, RADULESCU A, SHRESTHA RT, ET AL. Association of biotin ingestion with performance of hormone and nonhormone assays in healthy adults. JAMA. 2017;318(12):1150-60.
8. BISCOLLA RPM, CHIAMOLERA MI, KANASHIRO I, ET AL. A single 10 mg oral dose of biotin interferes with thyroid function tests. Thyroid. 2017;27(8):1099-100.
9. COLE LA. hCG, five independent molecules. Clin Chim Acta. 2012;413(1-2):48-65.

49 A interferência das variantes de hemoglobina e das talassemias na dosagem de hemoglobina glicada

Edson Martins Ferraz Júnior, Gedson Humberto Novais Pinto

DIABETES MELITO

O diabetes melito é uma doença ou condição metabólica caracterizada pela hiperglicemia, causada por defeitos na secreção e/ou na ação da insulina. O diagnóstico do diabetes geralmente não é feito em um único tipo de teste, e sim quando a hiperglicemia crônica é identificada por glicemia em jejum persistentemente elevada, associada a glicose elevada após teste oral de tolerância à glicose ou hemoglobina glicada (HbA1c ou A1C) elevada acima do valor de corte clínico.

Tipos de diabetes

Existem vários tipos diferentes de diabetes melito, os dois principais, responsáveis por 98% dos casos, são o diabetes tipos 1 e 2.

O diabetes tipo 1 representa cerca de 5 a 10% dos casos, é de origem autoimune e resulta da destruição autoimune mediada pelas células beta do pâncreas, o que gera deficiência de insulina de gravidade variável. Ocorre geralmente em crianças, levando o paciente à dependência de insulina.

O diabetes tipo 2 é uma doença crônica comum e predominantemente responsável pela epidemia global de diabetes. A doença é heterogênea e envolve secreção insuficiente de insulina (em grande parte determinada geneticamente) pela sensibilidade à insulina reduzida ou resistência à insulina aumentada. A hiperglicemia se desenvolve gradualmente no diabetes tipo 2, e, frequentemente, seu diagnóstico é tardio até que se torne grave o suficiente, dando início ao desenvolvimento dos sintomas e expondo os pacientes diabéticos ao risco de complicações micro e macrovasculares.

Diagnóstico do diabetes

Os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) consideram apenas os valores de jejum e os valores após 2 horas do teste oral de tolerância à glicose (TOTG) para o diagnóstico de diabetes. Em virtude da baixa reprodutibilidade do TOTG e da difícil implementação do teste, tanto para o médico quanto para o paciente, houve um movimento no sentido de usar níveis de glicemia em jejum ou, mais recentemente, a hemoglobina glicada.

A hemoglobina glicada (HbA1c ou A1C) é mais robusta, tanto analítica quanto funcionalmente, pois não são necessários jejum nem carga de glicose. A HbA1c também apresenta um alto valor preditivo positivo para diabetes, com o valor de corte acima de 6,5% (ou 48 mmol/mol, conforme recomendado pela Internacional Federation of Clinical

Chemistry and Laboratory Medicine – IFCC). As pessoas podem ter diabetes por outros critérios e com níveis mais baixos de HbA_{1c}, mas, certamente, um nível de HbA_{1c} de 6,0% (IFCC: 42 mmol/mol) ou superior é geralmente considerado anormal e merece uma investigação mais aprofundada.

HbA_{1c}

A HbA_{1c} ou A_{1C} é um importante marcador bioquímico para o monitoramento de pacientes com diabetes melito e reflete a concentração média da glicose no sangue em um período que compreende a vida útil dos eritrócitos (90 a 120 dias em indivíduos saudáveis). A HbA_{1c} é formada pela ligação estável e irreversível da glicose ao aminoácido valina na porção N-terminal da cadeia beta da hemoglobina, sendo a taxa de glicação proporcional à concentração da glicose circulante no sangue. Os pacientes que mantêm níveis de HbA_{1c} próximos do normal atrasam o início e diminuem a progressão das complicações decorrentes do diabetes. A validação da HbA_{1c} como ferramenta de prognóstico para as complicações crônicas do diabetes (HbA_{1c} inferior a 7%) deu-se inicialmente pelo grupo de estudo Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), e, posteriormente, foram padronizados de acordo com a IFCC, que serve como âncora analítica para a padronização de todos os métodos comerciais de HbA_{1c}. Recentemente, a American Diabetes Association (ADA) também incluiu a HbA_{1c} como diagnóstico do diabetes, juntamente com o teste de glicemia de jejum e do TOTG, o que torna o HbA_{1c} um biomarcador cada vez mais importante para controle e diagnóstico do diabetes. Para garantir a padronização dos resultados utilizados pelo grupo de estudo do DCCT e a correta interpretação dos níveis de A_{1C} pelos diversos métodos laboratoriais, foi criado o National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), que tem por finalidade harmonizar os métodos para dosagem da HbA_{1c}. Métodos certificados pelo NGSP que apresentam valores acima ou iguais a 6,5%, quando confirmados em uma segunda ocasião, fazem o diagnóstico de diabetes melito (Figura 1).

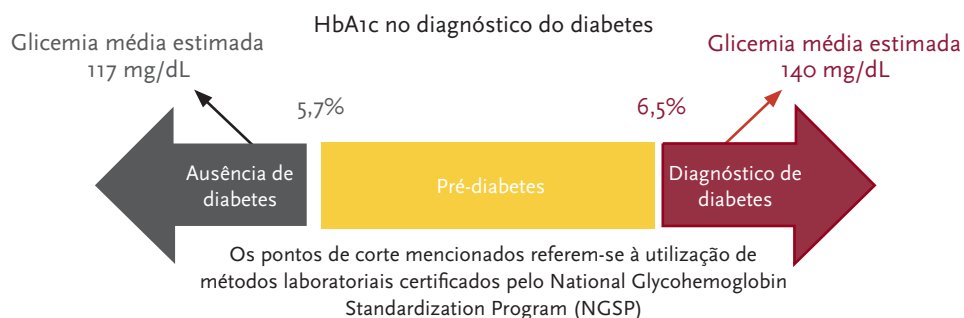
Metodologias para o ensaio HbA_{1c}

Existem dois principais métodos analíticos para dosagem da HbA_{1c}, com base na separação e na quantificação das frações (cromatografia de troca iônica, eletroforese capilar e cromatografia por afinidade) e com base em reações químicas (imunoensaios e imunoenzimáticos) (Figura 2).

Métodos por separação

Electroforese capilar

A electroforese capilar (EC) utiliza diferenças de cargas. O campo elétrico de alta tensão (10.000 volts) e o fluxo eletroosmótico são responsáveis por uma excelente separação em alta resolução. As HbA_{1c} e HbA₀ são completamente separadas uma da outra, bem como a Hb fetal (HbF) e as Hbs A_{1a}/b. A EC tem um alto rendimento em virtude da separação que acontece simultaneamente no sistema multicanal. Na EC, as variantes de hemoglobina são identificadas e quantificadas, ressaltando que a EC é a única técnica capaz de separar e quantificar a fração HbA₂, que pode indicar anemias, talassemias e outras situações que envolvam a diminuição da vida útil dos eritrócitos.



Normal	Pré-diabetes	Diabetes
GJ < 100 mg/dL	GJ entre 100 e 125 mg/dL (GJA)	GJ ≥ 126 mg/dL
2 h GJ < 140 mg/dL	2h PG ≥ 140 a 199 mg/dL (IAG)	2h PG ≥ 200 mg/dL ao acaso ≥ 200 + sintomas
A1C ≤ 5,6%	A1C entre 5,7% e 6,4%	A1C ≥ 6,5%

GJ: glicemia de jejum; GJA: glicemia de jejum alterada; IAG: intolerância à glicose.

FIGURA 1 Critérios diagnósticos para diabetes melito, segundo a American Diabetes Association.

Fonte: adaptada de American Diabetes Association, 2017.

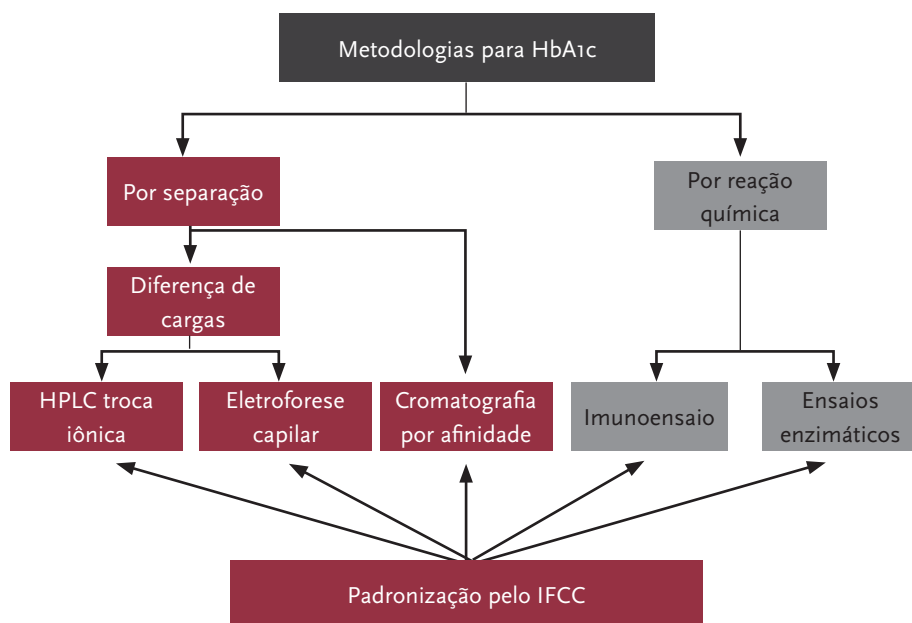


FIGURA 2 Metodologias para dosagem da hemoglobina glicada.

Fonte: adaptada de Abbott Learning Guide: Diabetes – HbA1c.

Cromatografia de troca iônica

Na cromatografia de troca iônica (HPLC), as amostras são analisadas individualmente, o que força os fabricantes a buscarem o equilíbrio entre a produtividade e a qualidade da separação. Além da HbA0 e da HbA1c, outras frações de hemoglobina, como HbF, Hb A1a/b e hemoglobina carbamylada, bem como variantes da hemoglobina, são visíveis no cromatograma. Um controle rigoroso das condições de separação (coluna e eluentes) e do *software* (calibração, corte e configuração da linha de base) é necessário para um bom desempenho.

Cromatografia de afinidade

A cromatografia de afinidade avalia frações de eluição de hemoglobina glicada (GHb) e hemoglobina não glicada (NGHb). A glicose na GHb tem uma afinidade pelo ácido borônico, enquanto a NGHb, não. Apenas duas frações são observadas: hemoglobina glicada e não glicada, que eluem independentemente da estrutura molecular das cadeias de proteínas. A implicação disso é que as variantes não podem ser distinguidas: variantes glicadas eluem na GHb e variantes não glicadas na fração NGHb. A glicação não se limita apenas ao terminal N-valina da cadeia beta, mas também a outros resíduos de lisina das cadeias alfa e beta.

Métodos químicos

Os métodos químicos requerem dois ensaios independentes: de HbA1c e hemoglobina total, respectivamente. O fato de a HbA1c ser derivada de dois ensaios pode ter um impacto negativo na precisão. A vantagem dos métodos químicos é que eles podem ser realizados em analisadores de química geral.

Impacto das variantes de hemoglobinas, talassemias e anemia na dosagem da HbA1c

As hemoglobinopatias são um distúrbio hematológico determinado por uma alteração genética na estrutura primária da hemoglobina (cadeias alfa, beta, gama e delta), podendo ou não causar anemia. Elas são herdadas de maneira autossômica e a mais comum é a HbS (doença falciforme). As talassemias são mutações que alteram a produção da cadeia da globina, sendo as talassemias alfa e beta as mais comuns. Os potenciais impactos das variantes de Hb no ensaio HbA1c se dão pelo efeito que a variante pode ter na fisiologia normal dos eritrócitos e pela interferência analítica de algumas variantes de hemoglobinas, que podem comprometer a determinação da HbA1c, dependendo se houver sobreposições parciais ou totais com os picos de HbA1c ou HbA0. É importante ressaltar que, em situações de homozigose ou dupla heterozigose para uma variante de hemoglobina, a determinação de HbA1c não é possível pela ausência da HbA; nesses casos, outros indicadores de controle glicêmico devem ser utilizados, como a determinação de proteínas plasmáticas glicadas ou glicemia em jejum. As condições clínicas que interferem na vida útil dos eritrócitos podem comprometer a interpretação do valor da HbA1c e métodos alternativos são recomendados para a correta interpretação clínica. As interferências podem causar efeitos diferentes, a depender da variante da hemoglobina. Em geral, a HbA1c é expressa em relação à hemoglobina total, ou seja, se a variante da hemoglobina (HbX) e sua porção glicada (HbX1c) migrarem separadamente da HbA e da HbA1c, respectivamente, os efeitos na quantificação de HbA1c são insignificantes. A maioria dos sistemas atuais de HPLC e EC calcula a quantidade relativa de HbA1c de acordo com a fórmula:

$$(\text{HbA1c}) \text{ ajustado, \%} = [(\text{HbA1c}) \times 100] / [(\text{Hb total}) - (\text{HbX})] \text{ b}$$

Em contrapartida, as variantes HbX e/ou HbX1c, que não se separam perfeitamente das HbA e HbA1c, podem interferir na determinação da HbA1c, fornecendo falsos valores de HbA1c. As variantes de hemoglobina mais comuns (HbS e HbC) geralmente se apresentam bem separadas e não interferem na determinação da HbA. Alguns estudos demonstraram que indivíduos portadores de variantes em heterozigose podem ter resultados diminuídos de HbA1c, mesmo com a dosagem de glicose indicando diabetes. Lacy e colaboradores (2017) realizaram um estudo com 4.620 afro-americanos, no qual dosaram a HbA1c em dois grandes grupos bem estabelecidos, um de indivíduos portadores de traço falciforme e outro de indivíduos sem traço falciforme, em condições de glicemia de jejum e após 2 horas do TOTG; os participantes com traço falciforme apresentaram níveis mais baixos de HbA1c em qualquer concentração de jejum ou após o TOTG em comparação àqueles sem traço falciforme. Esses achados sugerem que a HbA1c pode subestimar sistematicamente a glicemia pregressa em pacientes negros com traço falciforme e exigir avaliação adicional.

Importância da separação e quantificação da HbA2 nos ensaios de HbA1c

Qualquer condição capaz de alterar a sobrevida dos eritrócitos pode comprometer a interpretação da HbA1c, e algumas condições que alteram a vida útil dos eritrócitos podem alterar a dosagem da HbA2, como anemia por deficiência de ferro, deficiência da vitamina B₁₂, tratamento com antirretrovirais, hipertireoidismo, anemias hemolíticas e talassemias. Em portadores de talassemia beta, há uma redução comprovada da sobrevida dos eritrócitos, comprometendo, assim, a dosagem de HbA1c. A Tabela 1 ilustra algumas das condições citadas anteriormente e o efeito delas na HbA2 e, conseqüentemente, na HbA1c.

TABELA 1 Efeitos de algumas condições clínicas nos níveis de HbA2 e HbA1c

Patologia	Efeito na HbA2	Efeito na HbA1c
Talassemia beta	Elevação de A2	Diminuição da A1c
Anemia por deficiência de ferro	Diminuição da A2	Elevação da A1c
Deficiência da vitamina B ₁₂	Elevação da A2	Elevação da A1c
Tratamento com antirretroviral	Elevação da A2	Diminuição da A1c
Hipertireoidismo	Elevação da A2	Elevação da A1c

Fonte: adaptada de Sebia, 2020.

Em resumo, os métodos utilizados para a dosagem da HbA1c devem ser capazes de identificar situações que comprometam a vida útil do eritrócito (variantes de Hb, talassemias, anemias hemolíticas, anemia ferropriva, deficiência da vitamina B₁₂, hipertireoidismo, tratamento com antirretrovirais) e detectar as variantes mais comuns das hemoglobinas, a fim de alertar o clínico sobre uma condição fisiopatológica que pode ocasionar uma má interpretação do valor da HbA1c, pois o valor-alvo escolhido para decisão terapêutica e diagnóstica pode não ser aplicável nessas situações.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

ENGLISH E, IDRIS I, SMITH G, ET AL. The effect os anaemia and abnormalities of erythrocyte indices on HA1c analysis: a sistematic review. *Diabetologia*. 2015;58(7):1409-21.

LACY ME, WELLENIUS GA, SUMNER AE, ET AL. Association of sickle cell trait with hemoglobin A1c in african americans. *JAMA*. 2017;317:507-15.

LESLIE D, WEYKAMP C, MOSCA A, ET AL. Abbott. Diabetes learning guide series. Disponível em: <https://www.corelaboratory.abbott/sal/learningGuide/ADD-00061643_Diabetes_Learning_Guide.pdf>. Acesso em: 12 maio 2020.

LI SH, HARRO D, ALFSEN J, ET AL. Effect of diabetes mellitus on sickle hemoglobin quantitation in sickle cell trait. *Am J Clin Pathol*. 2018;150(2):105-15.

LORENZO MM, IGLESIA DLS, ROPERO P, ET AL. Effects of hemoglobin variants on hemoglobin A1c values measured using a high-performance method. *J Diabetes Sci Technol*. 2014;8(6):1168-76.

RHEA JM, KOCH D, RITCHIE J, ET AL. Unintended reporting of misleading HbA1c values when using assays incapable of detecting hemoglobin variants. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137:1788-91.

STRICKLAND SW, CAMPBELL ST, LITTLE RR, ET AL. Recognition of rare hemoglobin variants by hemoglobin A1c measurement procedures. *Clin Chim Acta*. 2018;476:67-74.

50 **Dúvidas e dificuldades na interpretação do fator antinúcleo**

Cristóvão Luis Pitangueira Mangueira

HÁ MAIS DE 70 anos, desde a descrição das células LE por Hargraves, em 1948, a detecção de anticorpos antinucleares está no centro do diagnóstico de várias doenças autoimunes sistêmicas. A pesquisa de anticorpos antinucleares, ainda popularmente denominada fator antinúcleo (FAN), mantém até os dias atuais o *status* de exame mais solicitado na prática clínica durante a investigação diagnóstica de condições autoimunes.

O FAN, como conhecido hoje, que representa a pesquisa de anticorpos antinucleares pelo método de imunofluorescência indireta (IFI) utilizando células HEp-2 como substrato, tornou-se predominante em laboratórios clínicos em todo o mundo no início dos anos 1990, quando substituiu rapidamente os antigos métodos de pesquisa de autoanticorpos em substratos de tecidos animais. A adoção das células HEp-2 tornou o exame mais sensível e capaz de detectar um amplo conjunto de autoanticorpos antes não reconhecidos pelos métodos mais antigos.

Apesar de ser um exame muito popular entre clínicos de diversas especialidades (e talvez exatamente por isso), o FAN suscita, ainda, frequentes erros de interpretação e valorização de seus resultados. A complexidade da nomenclatura dos laudos descritivos, a miríade de padrões de fluorescência caracterizados, além da variabilidade interlaboratorial são alguns dos fatores que levam a essa dificuldade de entendimento de resultados por clínicos não habituados a técnicas laboratoriais.

COMO ENTENDER OS PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA

A célula HEp-2, substrato mais comumente utilizado na pesquisa de anticorpos antinucleares, é uma linhagem celular tumoral humana de origem epitelial, capaz de ser cultivada em laboratórios acadêmicos, clínicos e de fabricantes de conjuntos diagnósticos e transferida para lâminas de vidro utilizadas em microscopia de fluorescência. Essa linhagem é ideal para a pesquisa de autoanticorpos em testes diagnósticos, pois expressa uma grande quantidade de diferentes antígenos, potenciais alvos para autoanticorpos presentes no soro de pacientes com doenças autoimunes. Dessa maneira, qualquer anticorpo que reconheça e se ligue a qualquer estrutura da célula HEp-2 determinará, após a etapa de “revelação” do ensaio, com a adição de anticorpos conjugados à fluoresceína, um padrão de fluorescência diferente, dependente de onde o anticorpo original do indivíduo testado se ligou. Assim, diferentes autoanticorpos, dirigidos contra diferentes regiões da célula, determinam padrões de fluorescência nucleares, citoplasmáticos, nucleolares, dirigidos contra membranas ou contra constituintes do aparelho mitótico; e, dentro de cada um

desses compartimentos celulares, múltiplos padrões de fluorescência podem ser observados, associados a múltiplos autoanticorpos distintos (Figuras 1 a 4).

Uma analogia possível é entender o teste de FAN como um *array* ou um teste de triagem para detectar inúmeros autoanticorpos na amostra biológica, desde que estes se liguem a alguma estrutura celular da HEp-2; nesse raciocínio, o FAN não é um método para detecção e caracterização específica de quase nenhum autoanticorpo. Por sua vez, representa o método ideal para triar pacientes com possível condição autoimune e direcionar investigações posteriores por métodos específicos para autoanticorpos individuais.

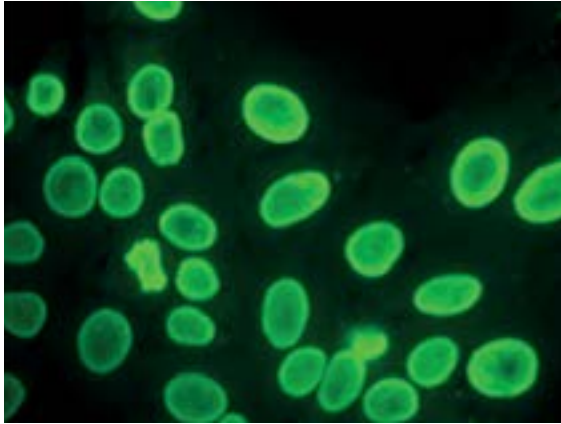


FIGURA 1 FAN positivo em células HEp-2, padrão homogêneo, em amostra de indivíduo com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica e anti-dsDNA positivo por ELISA.

Fonte: acervo do autor.

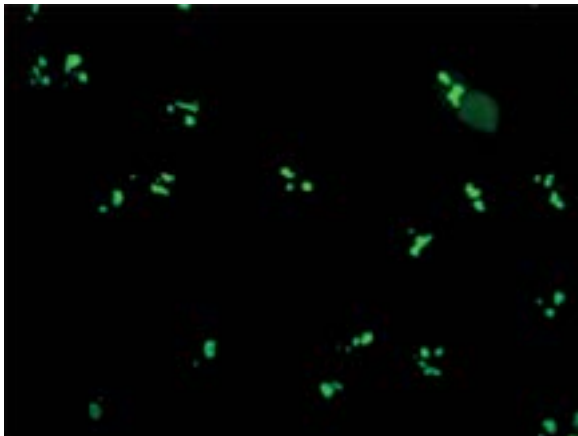


FIGURA 2 FAN positivo em células HEp-2, padrão nucleolar.

Fonte: acervo do autor.

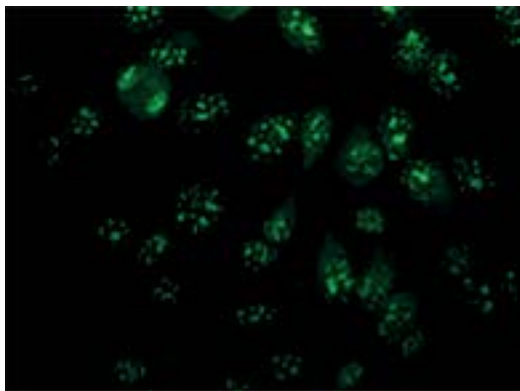


FIGURA 3 FAN positivo em células HEP-2, padrão centromérico, em amostra de indivíduo com diagnóstico de esclerodermia (forma limitada) e anticentrômero positivo.

Fonte: acervo do autor.

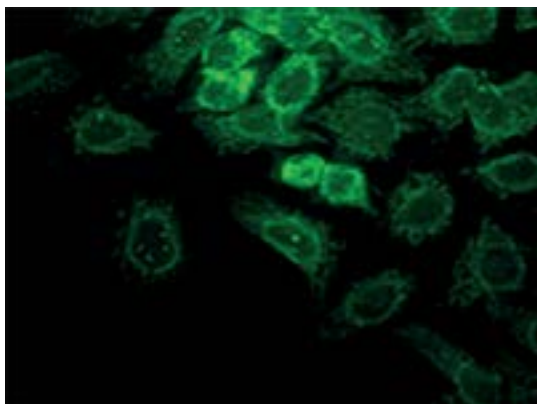


FIGURA 4 FAN positivo em células HEP-2, padrão citoplasmático reticular, em amostra de indivíduo com diagnóstico de cirrose biliar primária e anticorpo antimitocôndria positivo por ELISA.

Fonte: acervo do autor.

Os múltiplos padrões de fluorescência podem, assim, influenciar nos próximos exames a serem solicitados, a depender da estrutura celular reconhecida. A Tabela 1 descreve a correlação entre alguns padrões de fluorescência observados na prática clínica e seus possíveis autoanticorpos específicos, determinados comumente por outros métodos imunológicos, como o ELISA ou a quimioluminescência.

Entender o conceito do teste de FAN em HEP-2 como um teste de triagem para vários autoanticorpos, e não como um teste diagnóstico definitivo, é fundamental para evitar a supervalorização do exame. Um teste de FAN (como vários outros testes laboratoriais) raramente define isoladamente um diagnóstico de síndrome autoimune. É fundamental usá-lo como um triador e direcionador dos exames a serem solicitados na sequência da investigação clínica.

TABELA 1 Correlação entre padrões de fluorescência e seus possíveis autoanticorpos específicos

Autoanticorpo	Padrão de fluorescência (HEp-2)	Associação clínica
Anti-DNA nativo	Homogêneo	Lúpus eritematoso (LES)
Anti-histona	Homogêneo	LES, síndrome lúpus-like
Antinucleossomo	Homogêneo	LES
Anti-Sm	Pontilhado grosso	LES
Anti-U ₁ RNP	Pontilhado grosso	Doença mista do tecido conjuntivo (DMTC)
Anti-SS-A (Ro)	Pontilhado fino	LES, síndrome de Sjögren, lúpus neonatal
Anti-SS-B (La)	Pontilhado fino	LES, síndrome de Sjögren, lúpus neonatal
Antitopoisomerase I (SCL-70)	Nucleolar, hom/nucleolar	Esclerose sistêmica
Anticentrômetro	Centromérico	Esclerose sistêmica

Fonte: elaborada pelo autor.

POR QUE O TESTE DE FAN PODE SER POSITIVO EM PESSOAS QUE NÃO TÊM DOENÇA AUTOIMUNE?

Uma das reclamações mais comuns feitas a laboratórios clínicos de autoimunidade é a alegação de que um teste de FAN foi positivo em um paciente no qual não deveria ser, pois não tem evidência clínica de doença autoimune. Outra situação, infelizmente ainda muito comum, é a de pacientes com condições crônicas de saúde de natureza não autoimune, como osteoartrose, fibromialgia ou osteoporose, com resultados positivos no teste de FAN, sendo inadequadamente tratados como se tivessem uma doença autoimune ou submetidos a epeias de investigações desnecessárias, que resultam em gastos inúteis e até mesmo iatrogenia.

Vários estudos realizados com diferentes populações ao redor do mundo encontraram positividade de FAN em 10 a 20% dos indivíduos saudáveis. Para compreensão dessa situação, é importante diferenciar dois conceitos, frequentemente confundidos: autoimunidade e doença autoimune.

- Autoimunidade: é a produção de autoanticorpos pelo sistema imunológico de mamíferos; a espécie humana produz autoanticorpos por toda a vida, em maior ou menor quantidade, não necessariamente causadores de doença. A esses autoanticorpos não patogênicos, produzidos fisiologicamente, dá-se o nome de autoanticorpos naturais. São essas imunoglobulinas que são detectadas em ensaios imunológicos muito sensíveis, como a pesquisa de FAN por IFI em células HEp-2 e autoanticorpos abaixo do limiar de doença, com características e comportamento biológico não patogênicos;
- Doenças autoimunes: são condições clínicas em que os autoanticorpos assumem características deletérias e passam a ser produzidos em grande quantidade, descontroladamente e com grande afinidade por órgãos e tecidos específicos do organismo, diferentemente dos autoanticorpos naturais. Esses são os autoanticorpos patogênicos.

Assim, explica-se facilmente a ocorrência de resultados positivos nos testes de FAN, uma metodologia de alta sensibilidade, em pessoas saudáveis ou com enfermidades de etiologia não autoimune, confundindo a prática clínica. Nessas situações, geralmente os títulos de autoanticorpos são menores que os encontrados em indivíduos com doenças autoimunes. Entretanto, há situações de exceção, como a ocorrência de anticorpos anti-DFS70 em altos títulos em indivíduos saudáveis, associados ao padrão de fluorescência pontilhado fino denso em células HEp-2.

COMO AS VÁRIAS ESPECIFICIDADES DOS AUTOANTICORPOS NORTEIAM A PRÁTICA CLÍNICA?

A identificação e a quantificação de autoanticorpos específicos são a pedra angular do diagnóstico de diversas síndromes autoimunes sistêmicas, incluindo o lúpus eritematoso sistêmico (LES), a esclerodermia, entre outras. Foge ao escopo deste capítulo a descrição extensiva dessas associações, mas, na Tabela 2, são apresentados alguns exemplos.

TABELA 2 Principais autoanticorpos de relevância clínica

Anticorpo	Associação clínica	Prevalência
Anti-dsDNA	LES, nefrite	60 a 70%
Anti-Sm	LES	30 a 35%
Anti-U1 RNP	LES, DMTC	LES: 40% DMTC: 100%
Anti-SS-A/Ro	SS, LES	SS: 70% LES: 40%
Anti-SS-B/La	SS, LES	SS: 40% LES: 15%
Anti-Scl-70	Esclerose sistêmica difusa	40%
Anticentrômero	Esclerose sistêmica limitada	80%
Anti-PCNA	LES	3 a 5%
Anti-Jo-1	Polimiosite	30%

LES: lúpus eritematoso sistêmico; RNP: ribonucleoproteína; DMTC: doença mista do tecido conjuntivo; SS: síndrome de Sjögren; PCNA: antígeno nuclear de células em proliferação.

Fonte: elaborada pelo autor.

Anticorpos antinucleares ocorrem em mais de 98% dos indivíduos com LES, quando pesquisados por IFI em células HEp-2. As especificidades de maior utilidade clínica no LES são anti-dsDNA, anti-Sm e antinucleossomo (anticromatina). Outros autoanticorpos também podem ser úteis, como anti-RNP ribossomal, anti-PCNA, anti-U1 RNP, anti-SS-A/Ro e SS-B/La.

Anticorpos anti-dsDNA (anti-DNA nativo) são, talvez, a mais importante ferramenta diagnóstica laboratorial para o LES. Estão diretamente envolvidos na patogênese da doença

renal, por meio da formação de imunocomplexos na membrana basal glomerular. Seus níveis séricos podem ser utilizados para acompanhamento do grau de atividade da doença renal, em conjunto com os níveis de complemento sérico; níveis altos de anti-dsDNA são encontrados em pacientes lúpicos com doença renal ativa, e esses níveis tendem a cair em resposta ao tratamento imunossupressor eficaz. Isso gera a preferência por métodos laboratoriais quantitativos, em detrimento dos qualitativos para pesquisá-los. Anticorpos anti-dsDNA guardam, ainda, alta especificidade diagnóstica para o lúpus, especialmente quando em altos títulos.

Presentes em cerca de 30 a 35% dos pacientes com LES, os anticorpos anti-Sm são marcadores de alta especificidade para a doença. Entretanto, ao contrário dos anticorpos anti-dsDNA, não são marcadores de lesão em nenhum órgão específico e não sofrem variação como reflexo de atividade da doença.

Anticorpos anti-RNP ribossomal (anti-P) são encontrados em 10 a 15% dos pacientes com LES, com alta especificidade para a doença e associação a manifestações clínicas neuropsiquiátricas.

Anticorpos anti-U1-RNP podem ocorrer em indivíduos com LES em associação a anticorpos anti-Sm. Quando aparecem isoladamente e em altos títulos, anticorpos anti-U1-RNP se associam ao diagnóstico da doença mista do tecido conjuntivo (DMTC). A DMTC é uma síndrome clínica individualizada do LES em 1972, por Sharp e colaboradores, com características clínicas de superposição de sinais e sintomas de LES, esclerodermia e miopatias inflamatórias, mas cujas manifestações mais marcantes são a ocorrência de fenômeno de Raynaud, hipomotilidade esofágica e edema das falanges proximais das mãos, além da presença de altos títulos de anticorpos anti-U1-RNP.

Apesar de extremamente raros (apenas 3 a 5% dos pacientes), os anticorpos anti-PCNA (antígeno nuclear de células em proliferação) são altamente específicos para o diagnóstico do LES.

Anticorpos anti-SS-A/Ro e SS-B/La também podem ser encontrados em indivíduos com LES, mas não têm especificidade diagnóstica. Ambos podem também estar associados à síndrome de Sjögren (síndrome *sicca*). Anticorpos anti-SS-A/Ro, no LES, associam-se a lesões cutâneas características, denominadas lúpus eritematoso cutâneo subagudo, uma dermatite fotossensível de tratamento extremamente difícil. Podem, ainda, atravessar a barreira placentária em grávidas com lúpus ou síndrome de Sjögren e levar ao estabelecimento, no feto, do lúpus eritematoso neonatal (LEN), uma síndrome congênita composta por artrite, lesões cutâneas e, em cerca de metade dos casos, bloqueio atrio-ventricular congênito irreversível. Os outros sinais clínicos tendem a desaparecer após 6 meses do nascimento, período em que as imunoglobulinas maternas são depuradas do organismo da criança.

Anticorpos anticromatina (antinucleossomo) estão fortemente associados ao diagnóstico de LES, com alta especificidade e associação com lesão renal, à semelhança do que ocorre com os anticorpos anti-dsDNA. Tem se proposto cada vez mais o uso rotineiro desse teste, em conjunto com o anti-dsDNA, para o diagnóstico do LES e de sua lesão renal, bem como para acompanhamento de atividade de doença e resposta ao tratamento.

CUIDADO NA ESCOLHA DOS FORNECEDORES

Um restrito segmento de corporações tem se dedicado à produção de conjuntos diagnósticos e reagentes para detecção, caracterização e quantificação de autoanticorpos. Trata-se de um subgrupo altamente especializado de empresas de diagnóstico *in vitro*, com atuação nessa pequena área, quando comparada a outras áreas do laboratório clínico. Apesar disso, a comparabilidade de resultados entre fabricantes diferentes ainda pode ser muito baixa. Resultados divergentes entre laboratórios que usam diferentes *kits* diagnósticos são ainda frequentes, o que torna a avaliação rigorosa dos testes, essencial antes de disponibilizá-los na rotina; em certa medida, essa é a razão pela qual os laboratórios de autoimunidade ainda se mantêm restritos a serviços especializados, de nicho ou grandes laboratórios que mantêm áreas igualmente especializadas. O laboratório de autoimunidade ainda não se popularizou entre laboratórios gerais de médio e pequeno porte.

Protocolos de validação de *kits* diagnósticos embasados em normas internacionais (como a norma do College of American Pathologists – CAP), com número adequado de amostras com informações clínicas e determinação prévia de sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade, valor preditivo positivo e negativo, são críticos para o sucesso.

Frequentemente, o laboratório clínico de autoimunidade não consegue utilizar perfis de autoanticorpos de apenas um fornecedor, tendo que combinar fornecedores diversos para os diferentes testes para alcançar melhores desempenhos diagnósticos.

Igualmente importantes são a escolha e a manutenção adequada do parque de instrumentos, em especial dos microscópios de fluorescência, com contagem de horas de uso das lâmpadas e outros cuidados.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

HARGRAVES MM, RICHMOND H, MORTON R. Presentation of 2 bone marrow elements: “tart” cell and “L.E.” cell. Proc Staff Meet Mayo Clin. 1948;23(21):25-8.

FRANCESCANTONIO PLC, CRUVINEL WM, DELLAVANCE A, ET AL. IV Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2. Rev Bras Reumatol. 2014;54(1):44-50.

FRANCESCANTONIO PLC, ANDRADE LEC, CRUVINEL WM, ET AL. III Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2. J Bras Patol Med Lab. 2009;45(3):185-99.

REICHLIN M, HARLEY JB. Antinuclear antibodies: an overview. In: Dubois’ Lupus Erythematosus. 5. ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. p. 397-405.

51 **Investigação laboratorial das doenças autoimunes e imunodeficiências**

Sandro Félix Perazzio, Alexandre Wagner Silva de Souza,
Luis Eduardo Coelho Andrade

DOENÇAS AUTOIMUNES

As doenças autoimunes (DAI) são condições inflamatórias crônicas nas quais há elementos imunitários autorreativos, representados predominantemente por autoanticorpos (AA) circulantes. Alguns AA participam diretamente da patogênese das DAI, mas boa parte não tem papel patogênico direto. Vários AA são fortemente associados a determinadas DAI, o que os torna biomarcadores úteis para diagnóstico. Alguns preceitos gerais se aplicam aos AA presentes nas diversas DAI: só têm valor diagnóstico quando ocorrem em contexto clínico adequado, tendo pouco significado como achado laboratorial isolado; podem ser marcadores precoces, precedendo por meses ou anos a eclosão clínica da DAI; quando em níveis séricos próximos ao limiar de corte, frequentemente não têm significado clínico conclusivo; métodos muito sensíveis podem dar resultados positivos espúrios em função de detectarem AA com baixa avidéz e em baixa concentração; alguns AA denotam características subfenotípicas das respectivas DAI; alguns AA podem flutuar conforme a atividade inflamatória da respectiva DAI; alguns AA associam-se especificamente a uma única DAI, enquanto outros podem ocorrer em mais de uma DAI.

Doenças reumáticas autoimunes

As doenças reumáticas autoimunes (DRAI) são enfermidades sistêmicas caracteristicamente associadas a AA, que desempenham um papel importante no diagnóstico. O método mais utilizado para o rastreamento inicial desses AA é o teste de imunofluorescência indireta em células HEp-2 (IFI HEp-2). Antigamente conhecido como fator antinúcleo, o termo IFI HEp-2 tem sido preconizado pelo fato de que o teste permite a detecção de AA contra todos os componentes da célula, e não apenas o núcleo (consultar <www.hep-2.com.br> e <www.anapatterns.org>). A sensibilidade da maior parte dos AA observados nas DRAI não é alta; porém, alguns são altamente específicos de determinadas doenças. Outros, embora fortemente associados à autoimunidade em geral, ocorrem em mais de uma enfermidade (Tabela 1). Originalmente descobertos com métodos menos sensíveis (p. ex., imunoprecipitação em gel), hoje os AA podem ser detectados em imunoenaios em fase sólida (ELISA, CLIA, FEIA, ALBIA, Immunodot, Lineblot). Vários desses métodos são passíveis de automação e operação em larga escala, o que representa um atrativo para grandes laboratórios. Porém, é importante destacar que os imunoenaios em fase sólida têm maior propensão a detectar resultados positivos em contexto clínico não apropriado, caracterizando resultados falso-negativos, o que em geral não acontece com a imunoprecipitação em gel. Por sua vez, este último tem sensibilidade um pouco menor

que os ensaios em fase sólida. Vários imunoenaios em fase sólida oferecem informação semiquantitativa que reflete a concentração sérica dos AA, o que contrasta com a imunoprecipitação em gel, que apresenta somente o resultado qualitativo. Nesse sentido, existe a necessidade de adaptar o paradigma vigente para a interpretação dos AA: em vez de meramente se reportar como reagente ou não reagente, a informação do valor obtido para a amostra em questão e do valor de corte do ensaio é de grande valia para a valorização clínica do achado, pois resultados positivos com valores pouco acima do valor de corte têm maior chance de não corresponder ao contexto clínico esperado. Esse fenômeno é formalmente reconhecido para a síndrome antifosfolípide (SAF), em que os anticorpos anticardiolipina, marcadores dessa enfermidade, são considerados critérios de classificação válidos apenas quando em níveis acima de 40 GPL.

Além de biomarcadores diagnósticos, vários AA sinalizam traços fenotípicos específicos nas enfermidades às quais estão associados. Por exemplo, anti-SS-A/Ro relaciona-se fortemente ao lúpus eritematoso cutâneo subagudo (75%) e ao lúpus neonatal (90%). No contexto da esclerose sistêmica, anti-Scl-70 tende a ocorrer em casos com comprometimento cutâneo difuso, maior visceralização e maior chance de neoplasia associada; anti-RNA polimerase III associa-se a envolvimento cutâneo difuso e maior tendência a comprometimento renal e neoplasia subjacente; antifibrilarina indica maior probabilidade de hipertensão pulmonar, envolvimento muscular e do intestino delgado; e anti-Th/To associa-se a envolvimento cutâneo limitado, com maior chance de hipertensão pulmonar e envolvimento renal.

Os anticorpos contra as tRNA sintetases são fortemente associados à síndrome antissintetase (SAS), na qual ocorrem miosite, pneumonite intersticial, hiperqueratose da face radial das palmas e dos dedos (mãos de mecânico), poliartrite não erosiva de pequenas articulações, fenômeno de Raynaud e febre. O mais comum é o anti-Jo-1 (anti-histidil tRNA sintetase), responsável por 80% dos casos de anticorpos anti-tRNA sintetases, mas ocorrem também anticorpos contra outras sintetases: treonil tRNA (PL-7), alanil tRNA (PL-12), glicil tRNA (EJ), isoleucil tRNA (OJ), asparginil tRNA (KS), fenilalanil tRNA (Zo) e tirosil tRNA (Ha).

Para alguns AA, há uma correlação entre seus níveis séricos e a atividade da respectiva doença, como os anticorpos contra DNA nativo, nucleossomo, C1q, PCNA, proteinase 3, mieloperoxidase, Scl-70, membrana basal glomerular e PLA2R. No entanto, essa correlação é relativa, devendo sempre ser apreciada à luz do quadro clínico e dos demais exames laboratoriais.

Em contraste com AA restritos a apenas uma enfermidade, alguns AA ocorrem em um espectro de doenças autoimunes, como FR, anti-SS-A/Ro, anti-Ku e anti-MPO. O sistema SS-A/Ro foi recentemente revisitado, descobrindo-se que corresponde a dois tipos de AA com espectros clínicos distintos. O anti-SS-A/Ro60 está predominantemente associado à síndrome de Sjögren e ao lúpus eritematoso sistêmico (LES), ocorrendo apenas ocasionalmente em outras enfermidades. Por sua vez, o anti-Ro52/TRIM21 associa-se a um amplo espectro de enfermidades autoimunes (Tabela 1).

A SAF se caracteriza pela presença de AA contra fosfolípides, cuja demonstração é necessária para diagnóstico. Embora haja testes para anticorpos contra diversos fosfolípides, apenas aquele contra a cardiolipina consta nos critérios de classificação da doença, ao lado do teste do anticoagulante lúpico (prova funcional que demonstra anticorpos antifosfolípides em geral) e do teste do anticorpo contra a beta-2 glicoproteína I (beta2-GPI). Essa é uma proteína envolvida no controle da coagulação e possui cinco domínios, sendo que, recentemente, tem sido demonstrado que os anticorpos contra o domínio I da beta2-GPI são mais fortemente associados aos episódios tromboembólicos da SAF.

TABELA 1 Autoanticorpos nas doenças reumáticas autoimunes sistêmicas

Autoanticorpo	Associação clínica e sensibilidade	Observações
Fator reumatoide (FR)	AR§ (70 a 80%); SSj (55 a 70%); Crio tipo II (90 a 100%); LES (15 a 35%); ES (20 a 30%); DMTC (50 a 60%); PM (20%); sadios (1 a 10%)	
Peptídeos citrulinados (ACPA)	AR§ (70 a 80%)	Mais precoces e sensíveis que o FR
Peptídeos carbamílicos (CarP)	AR (12 a 40%)	Alguns casos de AR “soronegativa”
DNA nativo	LES§ (40 a 75%)*	Associado à nefrite lúpica
Nucleossomo (cromatina)	LES (60 a 90%)*	Associado à nefrite lúpica
Sm	LES§ (5 a 20%)	Quase sempre coexiste com U1-RNP
P ribossomal	LES (10 a 35%)*	Associação com envolvimento do SNC
C1q	LES (10 a 35%)*	
PCNA	LES (3 a 5%)	Associação com atividade renal
U1-RNP	LES (15 a 40%); DMTC§ (100%); ES (10%); PM (7%)	Títulos mais altos na DMTC
SS-A/Ro 60	SSj§ (60 a 80%); LES (40%);	Ocasionalmente em ES, PM, HAI, CBP, SAS
Ro52/TRIM21	SAS (50 a 70%); SSj (20 a 60%); PM (30%); CBP (28%); LES (23%); ES (20%); HAI (17%); AR (8%)	No contexto de DRAI, sinaliza potencial para pneumonite intersticial
SS-B/La	SSj§ (40%); LES (5 a 15%)	Quase sempre coexiste com SS-A/Ro
Cardiolipina	SAF§ (85%); LES§ (40%); outras DRAI (10 a 30%); sadios (3 a 5%)	Pode ocorrer em sífilis, lepra, tuberculose e outras infecções; a reatividade deve ser confirmada em 12 semanas
Beta-2 glicoproteína I	SAF§ (85%); LES (25%); outras DRAI (< 10%)	Não ocorre em doenças infecciosas; a reatividade deve ser confirmada em 12 semanas
Proteinase 3	GPA§ (50 a 90%)*	Padrão cANCA; ocasionalmente em PAM e PAN

(continua)

TABELA 1 Autoanticorpos nas doenças reumáticas autoimunes sistêmicas (*Continuação*)

Autoanticorpo	Associação clínica e sensibilidade	Observações
Mieloperoxidase	PAM§ (60 a 80%); GNRP (65%); SGP (30 a 40%)	Padrão pANCA; ocasionalmente no LES, em diversas vasculites e por uso de fármacos
Centrômero (CENP-A/B/C)	ES§; ES limitada (60 a 80%); ES difusa (3 a 12%); CBP (10 a 30%)	Ocasionalmente no LES, PM/DM, HAI
Topoisomerase I (Scl-70)	ES§; ES difusa (40 a 65%); ES limitada (10 a 15%)	
RNA polimerase III (RNA pol III)	ES (10 a 25%)	Pode coexistir com RNA polimerase I e polimerase II
Fibrilarina (U3-RNP)	ES limitada (10%); ES difusa (5%)	Maior prevalência na etnia negra
To/Th	ES (4 a 10%)	
PM/Scl (PM-1)	Síndrome de superposição ES/PM (25 a 55%); PM/DM (8 a 12%); ES (5 a 15%)	Enfermidade de prognóstico favorável
Ku	Miosite com superposição (5 a 30%) HAP (23%); LES (2 a 20%); ES (2 a 15%)	Mais frequente no contexto de superposição de traços de PM, ES, LES e fenômeno de Raynaud
tRNA histidil sintetases	SAS§ (50 a 80%); PM (30%); DM (2 a 10%)	Alta probabilidade de pneumopatia intersticial
Mi-2	DM (15 a 30%); PM (1 a 3%)	Bom prognóstico
TIF-1gama	DM (20 a 30%)	Possibilidade de neoplasia
MDA-5 (CADM-140)	DM amiópática	Pneumonite intersticial grave
SRP	Miosite necrosante grave*	
HMGCR	Miosite necrosante grave*	< 1% das miosites idiopáticas
NXP-2 (MJ)	DM infanto-juvenil (25 a 30%)	Calcinose e úlceras cutâneas
cN1A	Miosite por corpos de inclusão (35%)	< 5% das miosites idiopáticas

* A presença de níveis séricos de alguns autoanticorpos correlaciona-se com a atividade de doença;

§ Esse autoanticorpo faz parte dos critérios de classificação ou é necessário para diagnóstico dessa doença;

Legenda: AR: artrite reumatoide; LES: lúpus eritematoso sistêmico; SSj: síndrome de Sjögren; ES: esclerose sistêmica; DMTC: doença mista do tecido conjuntivo; PM: polimiosite; DM: dermatomiosite; HAI: hepatite autoimune; CBP: colangite biliar primária; DRAI: doença reumática autoimune; SAS: síndrome antissintetase; SAF: síndrome antifosfolípide; GPA: granulomatose com poliangiite; ANCA: *anti-neutrophil cytoplasm antibodies*; PAM: poliangiite microscópica; PAN: poliarterite nodosa; GNRP: glomerulonefrite rapidamente progressiva; SGP: síndrome de Goodpasture; PCNA: *proliferating cell nuclear antigen*; SRP: *signal recognition particle*; HMGCR: 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase; MDA-5: *myeloma differentiation associated protein 5*; TIF1gama: *transcriptional intermediary factor 1*; NXP-2: *nuclear matrix protein 2*; cN1A: *cytosolic 5' nucleotidase 1A*.

Fonte: elaborada pelos autores.

Doenças autoimunes hepáticas e gastrintestinais

Processos autoimunes podem comprometer vários tecidos e órgãos do sistema digestório. A doença celíaca é talvez a mais prevalente, acometendo 1 a cada 300 a 600 pessoas, dependendo da geografia e da etnia. Os indivíduos geneticamente predispostos (portadores dos dímeros HLA-DQ2 e/ou HLA-DQ8) desenvolvem um processo inflamatório predominantemente no jejuno por exposição ao glúten da dieta. O alvo molecular é a transglutaminase tecidual, que processa o glúten. Além do quadro intestinal, há um amplo espectro de manifestações envolvendo diversos órgãos e sistemas. Os anticorpos IgA contra a transglutaminase tecidual e o endomísio têm sensibilidade e especificidade acima de 95% e tendem a apresentar queda nos níveis séricos e até mesmo desaparecimento com a dieta sem glúten e remissão da doença. Intrigantemente, a doença é 10 vezes mais frequente em pacientes portadores de deficiência de IgA, situação em que anticorpos IgG contra a transglutaminase/endomísio podem ser úteis no diagnóstico. Anticorpos contra a gliadina deamidada podem ser úteis em situações especiais, sobretudo em crianças. Anticorpos contra a gliadina simples têm pior desempenho diagnóstico e tendem a ser substituídos por aqueles contra a transglutaminase tecidual, endomísio e gliadina deamidada.

Entre as doenças intestinais inflamatórias, a retocolite ulcerativa tem como biomarcador o anticorpo contra o citoplasma de neutrófilos (ANCA), que ocorre em 85% dos pacientes, usualmente apresentando o padrão perinuclear atípico (pANCA atípico). O alvo molecular desses anticorpos não está bem definido, embora tenha sido demonstrada reatividade contra várias enzimas neutrofílicas. Anticorpos contra as células de Globet ocorrem em 15 a 28% dos casos, sendo considerados altamente específicos. Em contrapartida, a doença de Crohn tem como biomarcador o anticorpo contra *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), que ocorre em 40 a 75% dos pacientes. A presença de pANCA atípico e a ausência de ASCA são fortemente sugestivas de retocolite ulcerativa em pacientes com doença inflamatória intestinal. O mesmo se dá quanto à presença de ASCA e à ausência de ANCA em relação à doença de Crohn. Outro importante autoanticorpo na doença de Crohn é o anticorpo contra células acinares do pâncreas, cujo alvo molecular é a glicoproteína 2 (GP-2), ocorrendo em 25 a 40% dos pacientes.

As principais doenças hepáticas autoimunes são a hepatite autoimune, a colangite biliar primária e a colangite esclerosante. Há AA específicos para cada uma delas e também AA compartilhados com outras enfermidades autoimunes (Tabela 2). Alguns pacientes apresentam superposição de duas enfermidades hepáticas autoimunes, coexistindo múltiplos AA. Na hepatite autoimune tipo II, o anticorpo anti-LC1 frequentemente coexiste com anti-LKM-1, quando é eclipsado por este no exame de imunofluorescência indireta. O principal marcador da cirrose biliar primária (CBP) é o anticorpo antimitocôndria (AMA), que pode preceder a eclosão da doença por vários anos. O principal alvo molecular do AMA é a subunidade E2 da piruvato desidrogenase. AMA ocasiona um padrão citoplasmático característico no teste IFI HEp-2, e o encontro fortuito desse padrão enseja a confirmação da reatividade AMA em teste específico. Caso confirmado, deve-se investigar a possibilidade de CBP incipiente.

TABELA 2 Autoanticorpos nas doenças autoimunes hepáticas

Autoanticorpo	Associação clínica e sensibilidade	Observações
Fator antinúcleo (FAN)	HAI tipo I§ (70 a 80%)	Padrão nuclear homogêneo ou pontilhado fino
Antimúsculo liso	HAI tipo I§ (80%); CBP (15%)	Maior especificidade quando corar vasos, muscular mucosa, glomérulo e fibrilas extratubulares do rim
Actina F	HAI tipo I§ (50 a 80%)	Doença mais precoce e grave
pANCA atípico	HAI tipo I (30 a 80%); colangite esclerosante (30 a 90%)	
SLA/LP	HAI tipos I e III (15 a 30%)	Diferenciação entre HAI tipo I e III é controversa
LKM-1 (<i>liver kidney microsome</i>)	HAI tipo II§ (50 a 60%)	
LC-1 (<i>liver cytosol</i>)	HAI tipo II§ * (30 a 50%)	Em 10% das HAI tipo II, é o único marcador
ASGPR	HAI tipos I e II * (80%)	Ocorre em várias doenças em baixos títulos
Mitocôndria (AMA)	CBP§ (95%)	
E2-PDH	CBP§ (90%)	
Gp210	CBP (20 a 40%)	Padrão de envelope nuclear no teste IFA HEp-2; presente em 30% das CBP AMA-negativas
Sp100	CBP (30%); ocasionalmente na HAI e na colangite esclerosante	Padrão de múltiplos pontos nucleares isolados no teste IFA-HEp-2; presente em 30% das CBP AMA-negativas

§ Esse autoanticorpo faz parte dos critérios de classificação ou é necessário para o diagnóstico da doença;

* A presença de níveis séricos de alguns autoanticorpos correlaciona-se com a atividade de doença.

Legenda: HAI: hepatite autoimune; SLA/LP: *soluble liver antigen/liver pancreas*; LKM-1: *liver-kidney microsome type 1*; LC-1: *liver cytosol type 1*; ASGPR: *asialoglycoprotein receptor*; E2-PDH: *E2 subunit of pyruvate dehydrogenase*; CBP: colangite biliar primária; GP210: *glycoprotein 210*.

Fonte: elaborada pelos autores.

Doenças autoimunes endócrinas

São doenças autoimunes órgão-específicas que, em geral, têm AA contra antígenos específicos das glândulas envolvidas, muitos dos quais têm implicação fisiopatológica. A demonstração de AA é importante na definição da natureza autoimune da disfunção endócrina. A tireoidite de Hashimoto é a mais frequente doença autoimune no contexto geral, tendo os anticorpos anti-TPO e anti-TG como marcadores diagnósticos (Tabela 3). Já no hipertireoidismo de Graves, os anticorpos TRAb (*thyrotropin receptor antibody*) exercem papel agonista sobre o receptor de TSH, ocasionando hiperatividade da tireoide. O diabetes melito (DM) tipo 1 caracteriza-se por exuberante resposta humoral com vários AA específicos (Tabela 3), embora os linfócitos T sejam os responsáveis pela destruição das ilhotas beta de Langerhans. Os AA precedem a eclosão do DM tipo 1 por vários anos, têm alta frequência na infância e tendem a desaparecer com a evolução da enfermidade. A demonstração de um único AA na fase pré-clínica tem baixo significado; porém, a presença de três ou mais AA apresenta valor preditivo positivo acima de 90%. A doença de Addison está frequentemente inserida no contexto das síndromes poliglandulares autoimunes (tipos 1 e 2), em que há várias doenças autoimunes comprometendo outras glândulas autoimunes no contexto de imunodeficiências primárias por defeitos em mecanismos de tolerância imunológica central. Entre os vários AA observados, encontram-se aqueles contra enzimas de células produtoras de esteroides, como a 21-hidroxilase (exclusiva de células da adrenal) e a 17-alfa-hidroxilase (na adrenal e nas células gonadais).

TABELA 3 Autoanticorpos nas enfermidades autoimunes endócrinas

Autoanticorpo	Associação clínica e sensibilidade	Observações
Tireoperoxidase (TPO)	Tireoidite de Hashimoto (90%); doença de Graves (80%)	Marcador diagnóstico e prognóstico
Tireoglobulina (TG)	Tireoidite de Hashimoto (60 a 80%); doença de Graves (25%)	Também ocorre em normais, câncer diferenciado de tireoide, anemia perniciosa, doença de Addison, DM tipo 1 e SSj
TRAb (antirreceptor de TSH)	Doença de Graves (> 95%)	Correlação com atividade da doença
Ilhota pancreática	DM tipo 1 (50 a 70%)	Ocorre mais tarde que os demais AA; sinónímia: ICA 512; IA2
Insulina (IAA)	DM tipo 1 (30 a 90%, dependendo da faixa etária)	Ocasionalmente observada no LADA; baixo valor diagnóstico em adultos
GAD65	DM tipo 1 (70 a 90%); síndrome <i>stiff-man</i> (90%);	Presente em 4% de controles e em 40% de LADA; também em doenças límbicas autoimunes

(continua)

TABELA 3 Autoanticorpos nas enfermidades autoimunes endócrinas (*Continuação*)

Autoanticorpo	Associação clínica e sensibilidade	Observações
ZnT8	DM tipo I (70 a 90%)	Pode ser o único AA no DM tipo I
21-hidroxiase	Doença de Addison (65 a 80%); síndrome poliglandular autoimune tipo 1 (90 a 100%)	Precede a eclosão clínica e tende a desaparecer após alguns anos de doença
17-alfa-hidroxiase	Falência ovariana prematura (100%); doença de Addison (10%); síndrome poliglandular autoimune tipo 2 (30%)	Com a 21-hidroxiase, responde pelo anticorpo contra células produtoras de esteroides no teste de imunofluorescência indireta

Legenda: TPO: tireoperoxidase; TG: tireoglobulina; TRAb: *TSH receptor antibody*; DM: diabetes melito; SSj: síndrome de Sjögren; AA: autoanticorpos; ICA: *islet-cell antibody*; IAA: *insulin autoantibody*; LADA: *late onset diabetes of adults*; GAD65: *glutamic acid decarboxylase*; ZnT8: *zinc transporter 8*; AA: autoanticorpos.

Fonte: elaborada pelos autores.

Doenças autoimunes dérmicas

São enfermidades bolhosas raras ocasionadas por AA contra autoantígenos que participam da adesão entre células do epitélio cutâneo e de mucosas. Os principais representantes são o pênfigo vulgar, o penfigoide bolhoso e o pênfigo foliáceo (fogo selvagem). Estão disponíveis testes para AA contra desmogleína I (pênfigo vulgar), desmogleína III (pênfigo foliáceo), BP-180 e BP-230 (pênfigo bolhoso). A dermatite herpertiforme está frequentemente associada à doença celíaca e apresenta AA contra a transglutaminase tecidual. A associação clínica desses AA não é absoluta, havendo necessidade de conjugar os dados clínicos e de exame histológico/imuno-histoquímico.

Autoanticorpos em doenças glomerulares

A glomerulopatia membranosa primária (GMP) é uma importante causa de síndrome nefrótica em adultos. O anticorpo contra o receptor de fosfolipase A2 (PLA2R) é identificado em até 90% dos casos de GMP. Anti-PLA2R liga-se aos podócitos, ocasionando disfunção e resultando em síndrome nefrótica. Pode ser identificado por IFI em células HEK293 transfectadas com PLA2R humano ou por ELISA. Os dois métodos apresentam boa correlação ($R^2 = 0,749$). Além de permitir o diagnóstico diferencial das GMP, a quantificação do anti-PLA2R possibilita o monitoramento da resposta ao tratamento e a predição de atividade, remissão e recaída da doença.

A síndrome de Goodpasture é uma rara doença autoimune órgão-específica, clinicamente expressa por glomerulonefrite crescêntica com deposição linear de IgG na membrana basal glomerular (MBG) e rápida evolução para insuficiência renal, acompanhada ou não de grave hemorragia pulmonar. O diagnóstico se baseia na combinação de achados clínicos e na detecção de IgG anti-MBG por ELISA ou IFI em rim de primata. Entre 20 e

35% dos casos podem apresentar anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA), especialmente contra a mieloperoxidase. Ressalte-se que as vasculites primárias associadas ao ANCA são um dos principais diagnósticos diferenciais para a síndrome de Goodpasture.

O fator C3 nefrítico (C3Nef) é um grupo heterogêneo de AA que estabilizam e previnem a dissociação natural do complexo C3Bb (C3 convertase da via alternativa do sistema complemento), resultando em consumo de C3 e ativação da via alternativa em graus aumentados. A maioria dos C3Nef reconhece um neoepítipo do complexo C3bBb; porém, alguns podem se ligar ao C3b ou ao fator Bb isolados, podendo ou não necessitar da presença da properdina. O C3Nef é relacionado com glomerulopatia associada ao consumo de C3, mas já foi relatado em outras formas de glomerulonefrite, lipodistrofia, LES e raramente em pacientes saudáveis. Não há consenso para a detecção e caracterização do C3Nef, razão pela qual a combinação dos vários métodos laboratoriais pode ser necessária para a sua determinação (Tabela 4). Possíveis interferentes incluem a presença do fator C4 nefrítico, anti-C1q ou mutações no fator H ou fator I.

TABELA 4 Características laboratoriais e metodológicas dos principais autoanticorpos associados a doenças glomerulares autoimunes

Autoanticorpo	Doença associada	Metodologia	Sensibilidade	Especificidade
Anti-PLA2R	Glomerulopatia membranosa primária	ELISA, IFI-CR	77% A	100% A
Anti-MBG	Síndrome de Goodpasture	IFI, ELISA	95% B	97% B
Fator C3 nefrítico	Glomerulopatia associada ao C3 (50%: GNMP I ou III; 80%: GNMP II/DDD)	IH, IFE, ELISA, RPS	78% C	80% C

A Relativo ao teste por ELISA; B Relativo ao teste por IFI; C Relativo ao teste por IH para diagnóstico da GNMP II/DDD.

Legenda: DDD: doença por depósitos densos; ELISA: imunoenensaio adsorvente ligado à enzima; GNMP: glomerulonefrite membranoproliferativa; IFE: imunofixação com eletroforese; IFI: imunofluorescência indireta; IFI-CR: imunofluorescência indireta baseada em células recombinantes; IH: ensaios imuno-hemolíticos; MBG: membrana basal glomerular; NCI-alfa3CIV: domínio 1 não colágeno da cadeia alfa-3 do colágeno tipo IV; PLA2R: receptor de fosfolipase A2; RPS: ressonância plasmônica de superfície.

Fonte: elaborada pelos autores.

Doenças neurológicas autoimunes

A miastenia grave (MG) é um protótipo de doença neurológica autoimune, tendo como principal biomarcador o anticorpo contra o receptor da acetilcolina (AChR), que ocorre em cerca de 85% dos casos, principalmente na forma disseminada da doença. Tem papel patogênico direto, bloqueando a placa mioneural e ocasionando fraqueza muscular. Anticorpos contra o músculo estriado ocorrem na MG associada a timoma. Em 25 a 47% dos casos negativos para AChR, observa-se anticorpo contra a fosfoquinase específica de músculo esquelético (MuSK). Anti-MuSK são da classe IgG4, não fixam

complemento e associam-se a formas graves da doença, envolvendo habitualmente a musculatura facial, respiratória e bulbar. Há relação entre título e gravidade de doença. A detecção é feita por IFI em células HEK-293 transfectadas para a expressão de MuSK. Finalmente, anticorpos anti-LRP4 (*lipoprotein related protein 4*) ocorrem em cerca de 2% de todos os pacientes e em 12 a 50% daqueles negativos para anti-AChR e anti-MuSK. A maioria dos pacientes com anti-LRP4 apresenta formas mais leves da doença.

Nos últimos anos, diversas síndromes neurológicas associadas a AA contra moléculas neuronais têm sido reconhecidas. Podem ocorrer no contexto de neoplasias ou infecções subjacentes, mas também espontaneamente. Podem se apresentar como síndromes cerebelares, movimentos coreoatéticos estereotipados, polineuropatia periférica, epilepsia e distúrbios cognitivos de intensidade variável, desde rebaixamento de consciência até coma. Os AA contra antígenos neuronais intracelulares (citoplasmáticos ou nucleares) não parecem ter papel patogênico direto e sinalizam, via de regra, a natureza paraneoplásica da enfermidade e os possíveis tumores envolvidos, principalmente o câncer de pequenas células do pulmão, de ovário, de mama e teratoma. O tratamento bem-sucedido da neoplasia tende a reverter o quadro neurológico. Em contrapartida, AA contra antígenos de superfície de neurônios (receptores, moléculas de adesão) frequentemente têm papel patogênico direto, causando disfunções neurológicas específicas conforme a distribuição neuroanatômica dos antígenos-alvos. Também podem estar associados a neoplasias; porém, frequentemente ocorrem de forma independente ou como consequência de processos infecciosos. O diagnóstico precoce, possibilitado pela demonstração dos AA específicos, permite o tratamento imunossupressor no caso de anticorpos contra antígenos de superfície, podendo levar a reversão parcial ou integral do quadro neurológico. A Tabela 5 enumera as principais síndromes neurológicas e suas associações com anticorpos contra antígenos neuronais intracelulares (sublinhados) e de superfície (em itálico). Chama a atenção o fato de que um mesmo quadro clínico pode estar associado a distintos AA. Reciprocamente, um mesmo autoanticorpo pode estar associado a síndromes neurológicas distintas. Isso torna a investigação sorológica complexa e requer a elaboração de painéis de grupos de AA para cada tipo de apresentação clínica.

Outro avanço relativamente recente refere-se ao conjunto denominado doenças do espectro da neuromielite óptica, caracterizado principalmente por grave desmielinização dos nervos ópticos e extensos segmentos da medula espinal. O anticorpo antiaquaporina 4 é um marcador específico e sensível, ajudando no diagnóstico diferencial e no tratamento precoce com imunossupressor. Um quadro relacionado é a síndrome MOG (*myelin oligodendrocyte glycoprotein*), que também apresenta desmielinização extensa da medula espinal e neurite óptica, mas está associada a anticorpos anti-MOG.

Quadros neurológicos periféricos também podem ter natureza autoimune, sendo a síndrome de Guillain-Barré (SGB) o representante principal. O anticorpo contra o gangliosídeo GM1 é o mais frequente na SGB e associa-se a forma clássica de desmielinização sensitivo-motora. Alguns pacientes fazem anticorpos contra o gangliosídeo GD1a, associado à neuropatia axonal motora aguda. Um grupo relacionado refere-se à síndrome de Miller-Fisher que compromete predominantemente pares cranianos e está associada a anticorpos anti-GQ1b.

TABELA 5 Autoanticorpos em síndromes neurológicas autoimunes e paraneoplásicas

Quadro síndrômico	Principais autoanticorpos associados
Encefalite límbica	<i>AK5</i> ; <i>Hu/ANNA1</i> ; <i>ANNA-3</i> ; <i>AGNA</i> ; <i>Ma1/Ma2</i> ; <i>AMPA</i> ; <i>CASPR2</i> ; <i>GABA_AR</i> ; <i>mGluR5</i> ; <i>glicina R</i> ; <i>IgLON5</i> ; <i>LGI1</i>
Epilepsia multifocal	<i>GAD65</i> ; <i>GABA_AR</i> ; <i>GABA_BR</i> ; <i>Glicina-R</i> ; <i>LGI1</i> ; <i>NMDAR</i> ; <i>AMPA</i>
Meningoencefalite	<i>GAD65</i> ; <i>GFAP</i> ; <i>VGCC</i> ; <i>dopamina 2R</i> ; <i>mGluR5</i> ; <i>IgLON5</i> ; <i>neurexina 3</i> ; <i>NMDAR</i>
Encefalomielite	<i>ANNA-3</i> ; <i>anffisina</i> ; <i>GAD65</i> ; <i>GFAP</i> ; <i>Ma1/Ma2</i> ; <i>PCA2</i> ; <i>CASPR2</i> ; <i>DPPX</i> ; <i>glicina-R</i> ; <i>MOG</i>
Degeneração cerebelar/ataxia	<i>Ri/ANNA-2</i> ; <i>ANNA-3</i> ; <i>AGNA</i> ; <i>CRMP-5</i> ; <i>GAD65</i> ; <i>GRAF1</i> ; <i>ITPR1</i> ; <i>Ma1/Ma2</i> ; <i>Anti-Yo/PCA1</i> ; <i>ZIC4</i> ; <i>CASPR2</i> ; <i>PCA2</i> ; <i>dopamina 2R</i> ; <i>mGluR1</i> ; <i>glicina-R</i> ; <i>PCA-Tr</i> ; <i>VGCC</i>
Distúrbio de movimento	<i>Anti-Ri/ANNA-2</i> ; <i>anffisina</i> ; <i>CRMP5/CV2</i> ; <i>GAD65</i> ; <i>GFAP</i> ; <i>dopamina 2R</i> ; <i>IgLON5</i> ; <i>LGI1</i>
Neuropatia (sensorial, motora, autonômica)	<i>ANNA-3</i> ; <i>CRMP5/CV2</i> ; <i>GAD65</i> ; <i>ITPR1</i> ; <i>PCA2</i> ; <i>AchR</i> , <i>alfa-3 gangliônico</i> ; <i>DPPX</i> ; <i>NMDAR</i> ; <i>VGCC</i>

Observação: antígenos de superfície estão em itálico e antígenos intracelulares, sublinhados.

Legenda: *AK5*: adenylate kinase 5; *Hu (ANNA-1)*: type 1 antineuronal nuclear antibody; *ANNA-3*: type 3 antineuronal nuclear autoantibody; *AGNA*: anti-glia nuclear antibody; *Ma 1* e *Ma 2*: anti-paraneoplastic Ma antigens (*PNMA1* 37kDa e *PNMA2* 40kDa); *AMPA*: anti-alfa-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor; *CASPR2*: contactin-associated protein-like 2; *GABA_AR*: gamma-aminobutyric acid A receptor; *mGluR5*: metabotropic glutamate receptor 5; *glicina R*: receptor de glicina; *IgLON5*: immunoglobulin-like adhesion protein 5; *LGI1*: leucine-rich glyoma inactivated 1; *NMDAR*: anti-N-methyl-D-aspartate receptor; *GAD65*: glutamic acid decarboxylase; *GABA_BR*: gamma-aminobutyric acid B receptor; *GFAP*: glial fibrillary acidic protein; *VGCC*: voltage-gated calcium channel; *dopamin 2R*: receptor 2 da dopamina; *PCA-1 (Yo)*: anti-Purkinje cell cytoplasm antibody type 1; *DPPX*: dipeptidyl-peptidase-like protein-6; *MOG*: myelin oligodendrocyte glycoprotein; *Ri (ANNA-2)*: type 2 antineuronal nuclear autoantibody; *AGNA*: anti-glia nuclear protein; *CRMP-5/CV2*: anticorpos que reconhecem proteína do cérebro de 66 kDa e que pertencem à família de Ulip/CRMP; *ITPR1*: inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1; *Yo (PCA-1)*: anti-Purkinje cell cytoplasm antibody type 1; *ZIC4*: zinc finger protein of the cerebellum-4; *PCA-2*: anti-Purkinje cell cytoplasm antigen type 2; *DNER (Tr)*: anti-epidermal growth factor-related receptor; *PCA-2*: anti-Purkinje cell cytoplasm antigen type 2; *AchR*, *alfa-3 gangliônico*: acetylcholine receptor alfa-3.

Fonte: elaborada pelos autores.

Erros inatos da imunidade humana

As imunodeficiências primárias (IDP) são causadas por anomalias em um ou mais genes associados a importantes funções do sistema imunitário, motivo pelo qual foram recentemente renomeadas para erros inatos da imunidade humana (EIIH). Originalmente, as IDP foram clinicamente reconhecidas pelo aumento na suscetibilidade a infecções; porém, de modo progressivo surgiram evidências indicando que essas anomalias

lias têm repercussões adicionais, como autoimunidade e predisposição ao câncer. Mais recentemente, verificou-se que, em algumas dessas condições, as disfunções ocorrem predominantemente em mecanismos reguladores da imunidade. Outras enfermidades desse grupo caracterizam-se por quadros inflamatórios agudos recorrentes de origem monogênica, sendo denominadas doenças autoinflamatórias, detalhadas adiante no texto. Esses dois últimos grupos têm sido denominados doenças com imunodesregulação, na tentativa de diferenciá-los daquele das IDP clássicas, clinicamente manifestadas por infecções recorrentes.

O grupo de EIIH compreende um universo heterogêneo de 403 condições clínicas causadas por 430 mutações diferentes, resultando na perda ou no ganho de função da proteína-alvo, as quais, em última análise, acarretam o funcionamento anormal do sistema imunitário (Tabela 6). As variantes genéticas podem ser de herança autossômica (dominante ou recessiva) ou ligadas ao X, com penetrância completa ou incompleta. Defeitos em qualquer compartimento do sistema imunitário (complemento, fagócitos, células B e T) estão associados a diferentes fenótipos clínicos, incluindo suscetibilidade aumentada a infecções, imunodesregulação com autoimunidade, atopia, malignidades e linfoproliferação. Embora individualmente raras, as EIIH como um grupo são mais comuns do que pensado anteriormente. Ademais, novas entidades vêm sendo descritas a cada ano, ampliando progressivamente a abrangência desse grupo nosológico. No conjunto, as deficiências predominantemente de anticorpos respondem por mais 50% de todos os casos de EIIH, sendo a imunodeficiência comum variável e a deficiência seletiva de IgA as mais frequentes.

TABELA 6 Categorias dos EIIH de acordo com a classificação da IUIS 2020 e o número de condições clínicas, genes e frequência por classe

Categoria	Número de condições clínicas	Número de genes identificados	% total de EIIH
IDP que afetam a imunidade celular e humoral	58	59	7
IDP combinadas sindrômicas	68	63	11
Deficiências predominantemente de anticorpos	48	40	57
Imunodesregulação	46	45	6
Defeitos congênitos dos fagócitos	41	41	8
Defeitos da imunidade inata	64	67	2
Doenças autoinflamatórias	43	42	3
Deficiências do complemento	27	33	2
Insuficiência da medula óssea	8	40	3

Legenda: EIIH: erros inatos da imunidade humana; IDP: imunodeficiências primárias; IUIS: International Union of Immunology Societies; SCID: imunodeficiência combinada grave.

Fonte: adaptada de Bousfiha et al., 2020.

Devido ao caráter heterogêneo dos EIIH, as peculiaridades clínicas são ditadas pelo defeito imunológico específico subjacente, o qual, por sua vez, direciona a investigação clínica e laboratorial. Por exemplo, infecções frequentes por bactérias encapsuladas, representadas principalmente por *Neisseria meningitidis*, estão classicamente associadas às deficiências do sistema complemento; infecções bacterianas de repetição em vias aéreas são uma característica dos defeitos de células B; infecções graves por diversos microrganismos (vírus, fungos e bactérias), incluindo oportunistas e de baixa virulência, são emblemáticas das imunodeficiências combinadas de células T e B (p. ex., a SCID, do inglês *severe combined immunodeficiency*). Manifestações autoimunes também são observadas em alguns EIIH. Citopenias autoimunes e autoimunidade órgão-específica (tireoidite, paratireoidite, doença de Addison, diabetes melito tipo 1) são observadas com alta frequência na deficiência do gene *AIRE* (APECED, do inglês *autoimmune polyendocrinopathy candidiasis cutaneous dystrophy*) e na síndrome autoimune linfoproliferativa (ALPS, do inglês *autoimmune lymphoproliferative syndrome*). Quadros mais complexos, como o LES, são frequentemente observados nas deficiências do sistema complemento e nas interferonopatias. Alguns EIIH, como ALPS e a doença linfoproliferativa ligada ao X (XLP), são caracterizados por linfoproliferação, enquanto outros se manifestam por granulomas cutâneos e viscerais, como observado na doença granulomatosa crônica. As neoplasias hematológicas são as mais comumente observadas em pacientes com EIIH, mas outros tumores também são descritos. Manifestações atópicas, como asma, dermatite atópica e alergia alimentar, podem ocorrer em alguns pacientes com defeitos no compartimento de células T. Portanto, os tipos de manifestações clínicas, os microrganismos preferencialmente envolvidos nos processos de infecção recorrente e o envolvimento de outros sistemas podem fornecer pistas para o diagnóstico do EIIH subjacente, bem como para a estratégia de investigação laboratorial.

Investigação laboratorial dos EIIH

A avaliação laboratorial dos EIIH deve ser realizada em três etapas subsequentes: triagem, testes avançados e confirmação molecular (Tabela 7), sempre guiada pelo quadro clínico e por hipóteses diagnósticas. Vale enfatizar que o leucograma com diferencial e esfregaço de sangue periférico fornece informação preliminar relevante, incluindo aspectos quantitativos e morfológicos de neutrófilos, linfócitos e plaquetas.

Uma vez que os testes de triagem revelaram algum indício ou foram incapazes de excluir a hipótese diagnóstica de algum EIIH, lança-se mão de uma bateria de ensaios específicos (investigação avançada), sempre de acordo com as indicações clínicas e laboratoriais (Tabela 7). Alguns testes estão disponíveis na maioria dos laboratórios, enquanto outros são realizados apenas em laboratórios especializados e têm disponibilidade limitada. Esse é um obstáculo para a ampliação do conhecimento dos EIIH pela classe médica em geral. Por fim, o diagnóstico genético definitivo deve ser sempre tentado naqueles casos com evidência consistente de EIIH, o que tem se tornado cada vez mais frequente em virtude da disponibilidade do sequenciamento de nova geração a preços relativamente acessíveis em grandes laboratórios clínicos.

TABELA 7 Testes imunológicos para os erros inatos da imunidade humana, de acordo com o estágio da investigação clínica: rastreamento, painéis avançados e testes moleculares

Rastreamento	
<ul style="list-style-type: none"> • Leucograma com diferencial e esfregaço periférico; imunoglobulinas séricas (IgG, IgA e IgM) • Sorologia pré e pós-vacinal para antígenos polissacarídicos (p. ex., <i>Streptococcus pneumoniae</i>) e proteicos (p. ex., tétano) • Imunofenotipagem básica de células mononucleares periféricas: CD3, CD4, CD8, CD19, CD16/CD56 • Complemento sérico: CH50 e AH50 • Ensaio de proliferação linfocitária induzida por mitógenos ou antígenos • Explosão respiratória de fagócitos: teste de oxidação da di-hidrorrodamina • Número de cópias de TREC (do inglês, <i>T cell rearrangement excision circles</i>) 	
Painéis avançados	
Imunidade inata	Componentes específicos do sistema complemento; ensaio de citotoxicidade de células NK; ensaios funcionais de TLR
Células B	Painel maturativo de imunofenotipagem; ensaios de sinalização
Células T	Testes cutâneos de hipersensibilidade tardia; determinação de oligoclonalidade e repertório de TCR; painel maturativo de imunofenotipagem
Fagócitos	Atividade microbica; avaliação de resposta a agentes quimiotáticos; expressão proteica de marcadores de superfície (CD18, CD11 etc.)
Imunodesregulação	Painel para rastreamento de ALPS; ensaios para determinação de apoptose de linfócitos; autoanticorpos
Doenças autoinflamatórias	IgD sérica; ácido mevalônico urinário
Testes genéticos e moleculares	
<ul style="list-style-type: none"> • Cariótipo, FISH, MLPA, <i>microarray</i> para quantificação do número de cópias de genes • Sequenciamento genético específico (Sanger) • Sequenciamento genético de nova geração (painéis específicos, exoma ou genoma totais) 	

Legenda: AH50: complemento total hemolítico (via alternativa); ALPS: *autoimmune lymphoproliferative syndrome*; CH50: complemento total hemolítico (via clássica); DHR: di-hidrorrodamina; FISH: *fluorescent in situ hybridization*; MLPA: *multiplex ligation-dependent probe amplification*; TCR: receptor de células T; TLR: *toll-like receptors*; TREC: *T cell receptor excision circle*.

Fonte: elaborada pelos autores.

Doenças autoinflamatórias

As doenças autoinflamatórias são condições clínicas raras classificadas no universo dos EIIH e caracterizadas por episódios inflamatórios agudos ou subagudos recorrentes e aparentemente espontâneos, sem associação aos marcadores clássicos de autoimu-

nidade: AA ou células T e B autorreativas. Essas doenças são mediadas pelo sistema imunitário inato, principalmente por desregulação e hiperativação dos receptores reconhedores de padrões (PRR, do inglês *pattern recognition receptors*), que reconhecem vários PAMP (do inglês, *pathogen associated molecular patterns*) e DAMP (*damage associated molecular patterns*). Exemplos de PRR são os TLR (*toll-like receptors*), presentes na superfície celular, e os NLR (*nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein-like receptors*), dispersos no citoplasma. Entre esses últimos, há os inflamassomos, PRR citoplasmáticos multiproteicos responsáveis pela ativação da caspase 1 e pela consequente ativação da IL-1beta e IL-18. Diferentes subtipos de inflamassomos já foram descritos, de acordo com a proteína-chave, a partir da qual eles são formados: criopirina, pirina, NLRC4, AIM2 etc. Alterações gênicas em componentes intrínsecos de inflamassomos, como a pirina e a criopirina (NLRP3), causam doenças autoinflamatórias, como a febre familiar do Mediterrâneo e as criopirinopatias, respectivamente. Os TLR promovem a ativação da via do NF-kappaB e a liberação das citocinas pró-inflamatórias, como TNF-alfa, IL-1beta, IL-18, IL-36 e IL-6. A definição molecular da fisiopatologia das doenças autoinflamatórias permite definir as terapias-alvos bloqueadoras de IL-1beta ou TNF-alfa.

Essas doenças classicamente se desenvolvem durante a infância e se manifestam por episódios febris espontâneos de curta duração acompanhados de diversas manifestações inflamatórias, como erupções cutâneas neutrofílicas, aumento das provas inflamatórias de fase aguda, serosite recidivante, entre outras. As clássicas formas monogênicas incluem, por exemplo, a febre familiar do Mediterrâneo, as criopirinopatias e a deficiência da mevalonato-quinase (Tabela 8). O diagnóstico é realizado por meio da associação de dados clínicos e a identificação de mutações patogênicas por métodos de sequenciamento genético. Entretanto, outros exemplares do grupo apresentam etiologia possivelmente poligênica, como a artrite idiopática juvenil na forma sistêmica e a síndrome PFAPA (*periodic fever with aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenopathy*), cujo diagnóstico molecular, atualmente, não está disponível.

As interferonopatias, recentemente consideradas um espectro alternativo das doenças autoinflamatórias (Tabela 8), consistem em doenças monogênicas associadas à produção excessiva do interferon (IFN) tipo I, principalmente os subtipos alfa, beta e épsilon. Pode haver manifestações autoimunes (lesões cutâneas lúpus-símile, vasculite, poliarterite nodosa, psoríase), autoinflamatórias (episódios febris recorrentes, lesões cutâneas neutrofílicas), dismórficas (condrodisplasias, displasias dentárias, baixa estatura, anomalias esqueléticas, lipodistrofias), atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, organomegalias e calcificações metastáticas. A desregulação persistente da sinalização da via do IFN tipo I pode ser laboratorialmente demonstrada por meio da mensuração *in vitro* da expressão genética dos genes estimulados pelo IFN (qRT-PCR e *microarrays*) em células circulantes no sangue periférico.

TABELA 8 Genes associados às doenças autoinflamatórias monogênicas e interferonopatias

Doenças autoinflamatórias monogênicas	Gene	Interferonopatias	Gene
Febre familiar do Mediterrâneo	MEFV	Síndrome de Aicardi-Goutières	<i>TREX-1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, SAMHD1, ADAR, IFIH1</i>
CAPS	NLRP3		
TRAPS	TNFRSF1A		
Deficiência de MVK	MVK		
Síndrome PAPA	PSTPIP1		
Síndrome de Blau	NOD2	Síndrome trico-hepatoentérica	<i>SKIV2L</i>
Síndrome de Majeed	LPIN2	Espondiloencondrodisplasia	<i>ACP5</i>
PRAAS	PSMB8	Deficiência de ISG15	<i>ISG15</i>
DIRA	IL1RN	Síndrome de Singleton-Merten e sua forma atípica	<i>IFIH1, DDX58</i>
DITRA	IL36RN	SAVI	<i>TMEM173</i>
NLRC4-MAS	NLRC4	Vasculopatia retiniana com leucodistrofia cerebral	<i>TREX-1</i>
HA2o	TNFAIP3	Deficiência de ADA2	<i>ADA2</i>

ADA2: adenosine deaminase 2; CANDLE: chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature; CAPS: cryopyrin-associated periodic syndrome; DIRA: deficiency of interleukin-1 receptor antagonist; DITRA: deficiency of the IL-36 receptor [IL-36R] antagonist; FCAS: familial cold autoinflammatory syndrome; HA2o: haploinsufficiency of A2o; ISG15: IFN-stimulated gene 15; MWS: Muckle-Wells syndrome; MVK: mevalonato quinase; NLRC4-MAS: NLRC4 macrofage associated syndrome; NOMID: neonatal onset multisystem inflammatory disease; PAPA: pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne syndrome; PFAPA: periodic fever with aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenopathy; PRAAS: proteasome-associated autoinflammatory syndromes; SAPHO: synovitis acne pustulosis hyperostosis osteitis; SAVI: stimulator of IFN genes (STING)-associated vasculopathy with onset in infancy; TRAPS: tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome.

Fonte: elaborada pelos autores.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ANDREETTA F, RINALDI E, BARTOCCIONI E, ET AL. Diagnostics of myasthenic syndromes: detection of anti-AChR and anti-MuSK antibodies. *Neurol Sci.* 2017;38(Suppl 2):253-7.
- BOUSFIHA A, JEDDANE L, PICARD C, ET AL. Human inborn errors of immunity: 2019 update of the IUIS phenotypical classification. *J Clin Immunol.* 2020;40:66-81.
- CONFORTI-ANDREONI, RICCIARDI-CASTAGNOLI P, MORTELLARO A. The inflammasomes in health and disease: from genetics to molecular mechanisms of autoinflammation and beyond. *Cell Mol Immunol.* 2011;8:135-45.
- DALMAU J, GEIS C, GRAUS F. Autoantibodies to synaptic receptors and neuronal cell surface proteins in autoimmune diseases of the central nervous system. *Physiol Rev.* 2017;97:839-87.
- DAMOISEAUX J, ANDRADE LEC, CARBALLO OG, ET AL. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis.* 2019;78:879-89.
- GARCIA D, ERKAN D. Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med.* 2018;378:2010-21.
- JÓZSI, M, REUTER S, NOZAL P, ET AL. Autoantibodies to complement components in C3 glomerulopathy and atypical hemolytic uremic syndrome. *Immunol Lett.* 2014;160:163-71.
- MCADOO SP, PUSEY CD. Anti-glomerular basement membrane disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2017;12:1162-72.
- RUGGERI RM, GIUFFRIDA G, CAMPENNI A. Autoimmune endocrine diseases. *Minerva Endocrinol.* 2018;43:305-22.
- SEBODE M, WEILER-NORMANN C, LIWINSKI T, ET AL. Autoantibodies in Autoimmune Liver Disease – Clinical and Diagnostic Relevance. *Front Immunol.* 2018;9:609.
- SPINDLER V, WASCHKEJ. Pemphigus – a disease of desmosome dysfunction caused by multiple mechanisms. *Front Immunol.* 2018;9:136.
- RONCO, P, DEBIEC H. Membranous nephropathy: a fairy tale for immunopathologists, nephrologists and patients. *Mol Immunol.* 2015;68:57-62.

INTRODUÇÃO

Assim como em outras áreas laboratoriais, o correto entendimento do controle de qualidade (CQ) em imunossorologia (IS) passa, obrigatoriamente, pelo contexto das fases pré, peri e pós-analítica.

Considerando a literatura extremamente ampla na abordagem dessas três etapas da IS, neste capítulo buscou-se detalhar mais a fase pós-analítica da maneira mais objetiva e prática possível, ressaltando apenas alguns aspectos relacionados com as outras fases.

O CQ em IS torna-se um tema extremamente abrangente, considerando que são encontradas metodologias qualitativas, semiquantitativas e quantitativas, competitivas e não competitivas, às quais se acrescenta a possibilidade de serem procedimentos manuais, semiautomatizados e automatizados, todos com características próprias. Não sendo possível neste capítulo abordar o CQ para todas essas alternativas, maior ênfase será dada aos métodos automatizados, embora alguns critérios possam ser extrapolados para os demais.

Embora não seja objetivo deste capítulo uma abordagem ampla de CQ em IS, torna-se necessário enfatizar que ele se constitui em um dos vários processos interligados da atividade laboratorial como um todo, os quais potencialmente podem interferir na qualidade desse controle.

FASE PRÉ-ANALÍTICA

Na patologia clínica/medicina laboratorial, a qualidade de um exame tem início em sua solicitação e termina com a adequada conduta que o profissional terá com aquele resultado. É importante que o profissional tenha noções sobre o que solicitar, o preenchimento correto e legível do pedido, a indicação clínica, que material colher, o melhor momento para a coleta, a melhor metodologia e seu erro inerente, os valores de referência, todas as informações constantes dos resultados, a preditividade dos resultados, entre outros.

Quanto à atividade laboratorial, é comum atrelar o emprego do CQ principalmente às etapas pós-analíticas, porém a área pré-analítica da IS apresenta características próprias por envolver reações antígeno-anticorpo (Ag-AC), exigindo um maior aprofundamento em alguns importantes conceitos da imunologia, bem como outros relacionados com o imunodiagnóstico (ID).

Tais conhecimentos certamente interferem de maneira direta nos dados obtidos nos CQ e, como consequência, na qualidade do resultado final. Nessa linha, o CQ será definido, neste capítulo, em um conceito mais amplo, e não apenas a partir da análise dos resultados observados (pós-analítico). Portanto, a seguir são sugeridos alguns conhecimentos para os

profissionais envolvidos com os exames imunossorológicos: antígeno, anticorpo, reação Ag-AC, curva de formação de complexos (cinética), constante de associação e dissociação, afinidade/avidéz, metodologias homogêneas e heterogêneas (vantagens e desvantagens), sensibilização de superfícies, principais metodologias imunodiagnósticas, qualidade da amostra [pacientes autoimunes, hipersensíveis, gestantes, politransfundidos, neonatos, neoplásicos, profissionais que atuam com animais (rural, *petshop*, veterinária etc.)], interferentes exógenos/endógenos (efeito matriz) e mecanismos de detecção, entendimento do *cutoff* (CO), anticorpos humanos anti-AC animais (*human anti animals antibodies* – HAAA), AC heterófilos, informações das bulas (soros controles, calibradores, conjugados e tipos de enzimas, cromóforos, soluções *stop*), agentes bloqueadores, efeitos pré e pós-zona, luz e mecanismos/dispositivos de sua medição aplicados ao ID, entre outros.

Uma ação comum e fundamental a todas as áreas laboratoriais é o estabelecimento dos procedimentos operacionais-padrão (POP), objetivando a padronização de todas as atividades realizadas no setor de IS.

FASE PERIANALÍTICA

Igualmente à fase pré-analítica, julga-se da maior importância algumas noções por parte dos profissionais atuantes na IS, que certamente também repercutirão nos resultados obtidos e conseqüentemente no CQ: estabelecimento dos POP, utilização de um sistema adequado de informática que atenda desde a admissão do paciente, processamento das amostras e liberação do laudo, implantação de equipamentos que atendam ao menu desejado, fluxo e carga de trabalho dos aparelhos, capacidade dos profissionais, capacidade de *walk away* do equipamento, emprego de códigos de barras adequados a todas etapas laboratoriais, utilização de tubo primário/características da *probe* do aparelho, análise dos dispositivos de medição de luz e sua adequada utilização, avaliação da liberação de sinais de alerta pelo equipamento, avaliação da possibilidade de CQ integrado ao equipamento, análise do sistema de suporte e manutenção, entre outros.

Soroteca

A existência de uma soroteca é essencial para a realização de um CQ minimamente aceitável. Na IS, ela deverá apresentar algumas características importantes, como:

- Soros sabidamente não reativos, fraco reativos (leitura/*cutoff* entre 1,5 e 4,5) e reativos, de preferência confirmados em mais de uma metodologia para o exame em questão, objetivando determinar, respectivamente, especificidade e sensibilidade;
- Deverá conter também soros reativos para outros marcadores correlacionados e falso-reativos para o marcador em questão (especificidade);
- Acondicionar os soros em dispositivos de plástico com tampa, identificando-o adequadamente para cada teste, se reativo ou não, número do lote de preparo, validade do lote (de preferência superior a 6 meses), colocar *kit* e lote que foi testado como reativo ou não, numerar os dispositivos (p. ex., 1/30, 2/30). Acondicionar todos os flaconetes de um lote preparado em uma caixa, identificando-a adequadamente. Os lotes deverão conter um quantitativo de amostras para utilização em tempo superior a 6 meses;
- Conservar as amostras a uma temperatura inferior a 20°C, em *freezer* com *no-break*;
- Para grandes sorotecas, é necessário utilizar programas que ajudam a localizar as amostras desejadas nos ambientes de armazenamento.

Amostra-padrão, calibrador e soro-controle

Importante ressaltar que esses três componentes que podem ser utilizados nas execuções dos exames laboratoriais apresentam funções e características diferentes (diferentes graus de purificação, concentrações bem definidas, estabilidade, reprodutibilidade, entre outras).

Amostra-padrão é fornecida por uma instituição sabidamente reconhecida, destinada a servir como referência na determinação de uma leitura ou valor em um analito/metodologia/marca de reativo específica.

Calibrador é uma solução destinada a servir como parâmetro para determinar ou calcular comparativamente determinado valor de uma amostra desconhecida, utilizada nas curvas de calibração. Como a IS envolve reações Ag-AC, verifica-se que, na dependência de como esses calibradores são purificados, a conformidade molecular tridimensional poderá interferir no reconhecimento do(s) epítipo(s) pelo AC e, conseqüentemente, na afinidade e na avidéz do(s) complexo(s) (lembrar que a maioria dos equipamentos automatizados emprega metodologia heterogênea, ou seja, com uma etapa de lavagens). É importante atentar para, entre outros, os calibradores dos marcadores tumorais.

Soro-controle representa uma solução cujo emprego tem por objetivo verificar a precisão e a exatidão (controle de qualidade interno – CQI e externo – CQE) medidas das amostras desconhecidas, sofrendo as mesmas influências metodológicas. O soro-controle não deverá ser usado como solução-padrão e calibrador.

Quanto ao kit

Verificar sempre: aspecto externo, aplicação para uso, para que tipo de amostra, condições de estocagem, validade da caixa e dos reativos internos, condições dos reativos (p. ex., turvação?), estabilidade dos reativos pós-preparo, quantidade de determinações diante da demanda, ler atentamente a bula e seguir rigorosamente as suas orientações.

Quanto à execução

Empregar água reagente tipos I ou II (verificar, no mínimo, diariamente resistividade/conduktividade), observar se há acessórios suficientes, pipetas e repipetadores calibrados, analisar a curva de calibração (número de calibradores, extensão e faixa acessível para controle), objetivando avaliar as *performances* das bateladas, deve-se verificar as leituras dos controles e o cálculo do *cutoff* usados no ELISA, e, no cálculo do índice “1” (um) nas metodologias de quimioluminescência e eletroquimioluminescência, obedecer rigorosamente aos critérios de validação da batelada estabelecidos pelo fabricante (amparo legal).

FASE PÓS-ANALÍTICA

Conforme já assinalado, o CQ aplicado à IS diferencia-se das demais áreas laboratoriais pelo fato de envolver reações Ag-AC e todas as suas peculiaridades relacionadas.

Na prática do CQ aplicado ao ID, observa-se que, em muitas situações, a literatura não apresenta consenso de condutas e de valores a serem atingidos, permitindo uma variabilidade grande de ações, principalmente nos procedimentos de validações.

Ressalta-se que a intenção deste capítulo é abordar, de maneira prática e objetiva, alguns tópicos importantes relacionados ao CQ na IS, voltados a todos os tipos de laboratórios, principalmente aqueles que não dispõem de setores especializados e recursos estatísticos maiores.

Embora a grande maioria das metodologias permita utilizar soro ou plasma, neste capítulo, a expressão “soro” se refere a ambas as amostras.

Programas de controle de qualidade interno e externo

Por ser considerado o mais importante programa de CQ, a implantação do CQI para os exames realizados é reconhecidamente uma exigência laboratorial essencial.

Sua importância reside no fato de validar as *performances* diárias das bateladas, detectar variações entre os lotes e indicar erros de procedimentos, alertando para medidas corretivas necessárias.

Em geral, empregam-se no CQI interbateladas (reprodutibilidade) o gráfico de Levey-Jennings (GLJ) e as regras de Westgard (RW), de fácil utilização e análises, tanto para métodos quantitativos (valores de um ou mais soros-controles) quanto qualitativas (índices dos soros-controles reativos e não reativos). Considerando-se o analito pesquisado e a metodologia empregada, é importante ressaltar que, na utilização desses recursos na IS, deve-se levar em conta a grande variabilidade dos desvios-padrões (DP) observados (geralmente amplos), agravada pela inexistência na literatura de valores de referência desses parâmetros aplicados ao ID. Alerta-se que, para cada determinação, os critérios de 2DP/3DP sejam bem pesquisados e avaliados para evitar perdas desnecessárias de bateladas, principalmente nas análises dos soros-controles não reativos, por apresentarem, por exemplo, nas metodologias não competitivas, leituras com baixa densidade óptica (DO) e conseqüentemente maiores DP (o inverso é válido para os soros reativos em metodologias competitivas). Obviamente que toda batelada deverá conter os soros-controles reativo e não reativo, procurando-se obter, para a mesma metodologia, marca e lote, DP cada vez menores.

No CQI intrabatelada (repetibilidade), deve-se testar na mesma batelada o número (n) mínimo de 20 alíquotas da mesma amostra, sendo o coeficiente de variação (CV) aceito de até 10%.

Os soros-controles reativo e não reativo poderão ser obtidos pelo próprio laboratório ou adquiridos de empresas provedoras. Ressalta-se que a produção própria dos soros-controles, embora de menor custo, é trabalhosa e tem algumas exigências técnicas.

Quanto ao CQE, que representa uma avaliação interlaboratórios, recomenda-se que o serviço participe de um programa de proficiência de uma entidade sabidamente reconhecida no ambiente nacional ou internacional. Atualmente, a grande maioria dos clientes, públicos ou privados, exige por parte do laboratório prestador de serviço sua participação em um desses programas, já que são de grande importância, uma vez que comparam os resultados obtidos com os soros-padrões enviados pelo provedor para cada determinação realizada, com os resultados obtidos pela mesma metodologia, marca e equipamento entre os vários laboratórios participantes. Ao final de determinado período, certificados são conferidos, segundo critérios de aprovação estipulados pelo provedor.

Validação de novos reativos e lotes

Todos os novos reativos e lotes devem ser submetidos a uma avaliação de desempenho, por meio de um ou mais processos de validação, utilizando-se amostras de painéis comerciais (de custo elevado) ou da própria soroteca.

Torna-se importante lembrar ambas as definições:

- Sensibilidade: capacidade do teste em detectar a menor concentração do analito pesquisado na amostra, bem como correlacionar as amostras reativas com indivíduos efetivamente doentes;

- Especificidade: capacidade em detectar amostras não reativas em indivíduos sem a doença.

$$\text{Determinação da sensibilidade: } \frac{\text{verdadeiro-reativos}}{\text{verdadeiro-reativos} + \text{falsos não reativos}} \times 100$$

$$\text{Determinação da especificidade: } \frac{\text{verdadeiros não reativos}}{\text{verdadeiros não reativos} + \text{falso-reativos}} \times 100$$

Uma característica que dificulta o correto cálculo da especificidade é a necessidade de usar amostras de indivíduos “verdadeiramente sadios”.

Especificidade e sensibilidade devem se aproximar o máximo possível de 100%.

Para atender a definição de sensibilidade como a menor diluição da amostra capaz de apresentar reatividade (menor quantidade de AC detectável), a técnica de *end point* pode ser empregada, na qual se deve diluir e testar uma amostra reativa de referência já titulada, em matriz de soro/plasma sabidamente não reativo para o analito em questão (p. ex., soro/plasma bovino) na mesma marca, metodologia e equipamento. Depois, compara-se a menor diluição reativa com a já obtida na amostra-referência, aceitando-se mais ou menos duas diluições.

Pode-se também verificar a reprodutibilidade da sensibilidade realizando três bateladas com amostras (p. ex., n = 21) apresentando os seguintes índices: sete amostras acima de 4,5, sete entre 3,5 e 4,4 e sete entre 1,5 e 3,4. Os resultados de cada batelada deverão apresentar um CV inferior a 10%.

Igualmente, a reprodutibilidade da especificidade será realizada da mesma maneira, testando-se, por exemplo, 10 amostras não reativas e 10 heterólogas também em três bateladas, objetivando obter CV inferior a 10% em cada.

Embora menos aceito, outro critério de validação é testar a mesma amostra de referência em outra metodologia e equipamento já validados e comparar simplesmente os resultados. Como sugestão, dentro desse mesmo critério para validação de teste qualitativo, comparando de diferentes métodos (teste a ser validado com um de referência), encontra-se um ótimo procedimento proposto por Westgard (<www.westgard.com>) denominado 2 × 2, embora um pouco mais trabalhoso, uma vez que a Food and Drug Administration (FDA) recomenda o uso de 30 ou mais amostras.

No processo de validação, a reprodutibilidade de um novo *kit* ou lote poderá ser verificada de maneira prática, dosando-se 20 ou mais amostras com índices entre 1,5 e 4,5 já determinados e validados. Para o cálculo, será considerada “resultado correto” a amostra que apresentar valor +/- 10% do índice já determinado. Aplica-se, então, a seguinte fórmula:

$$\text{Reprodutibilidade} = \frac{\text{número de resultados corretos}}{\text{número total de resultados}} \times 100$$

O grau de aceitabilidade para a reprodutibilidade deverá ser superior a 98%.

Outro recurso válido nas etapas de validação é a determinação da repetibilidade do novo *kit* ou lote, por meio do CV. Nesse caso, 20 ou mais alíquotas de uma mesma amostra deverão ser testadas em uma única batelada. Calcula-se a média e o DP dos índices observados aplicando-se a seguinte fórmula:

$$CV = \frac{\text{desvio-padrão}}{\text{média dos índices observados}}$$

O CV aceito deverá ser inferior a 10%.

Uma importante ação na verificação da qualidade do novo reativo ou lote que acaba de ser recebido é exigir o certificado do lote ao fabricante ou fornecedor. Esse documento contém dados de grande importância relacionados com o processo de validação do reativo quando de sua liberação pelo fabricante, como: lote/data de fabricação e validade de cada componente do *kit*, índices dos soros não reativo e reativo utilizados no *kit* (p. ex., entre 1,6 e 2,1), DO do *blank* e soros-controles não reativo(s) e reativo(s) com suas faixas de aceitabilidade, bem como se os índices observados estão dentro do esperado (exemplo em questão: 1,6 e 2,1).

Comparando-se as DO e os índices obtidos quando da utilização desse *kit* no laboratório com os dados constantes no certificado do lote, será verificada a *performance* atual dos seus componentes. Lembrando que, no Brasil, trabalha-se com reações Ag-AC e, em muitas metodologias enzimáticas, essa comparação torna-se crítica, uma vez que a grande maioria dos reativos de ID utilizados no país é importada e conseqüentemente sujeita a condições de transporte, temperatura e armazenamento.

Sugere-se que, nos processos de aquisição de reativos para ID, seja colocada nos editais ou em outros processos de compra a exigência do fornecimento a cada novo lote do certificado do lote.

Entre os dispendiosos painéis comercializados, dois são os mais utilizados:

- Painel de *performance*: para a mesma marca, metodologia e lote do *kit* diagnóstico, são fornecidas em média 25 amostras não reativas e reativas para o teste em questão e outras patologias com diferentes índices (amostra/CO), numeradas e distribuídas aleatoriamente, cujos valores observados em laboratórios de referência constam da bula. Comparam-se, então, os resultados obtidos com o novo reativo ou lote com os constantes da bula, na qual se encontram os critérios de validação. Importante salientar que esses painéis poderão ser realizados com amostras da soroteca do laboratório ($n > 20$, sendo a maioria dos reativos com índices distribuídos entre 1,5 e 4,5, reativos com índices acima de 4,5 e poucos não reativos);
- Painel de soroconversão: em média, 10 a 12 amostras são coletadas de um mesmo paciente em diferentes momentos, desde a provável data de sua primoestimulação até a melhora clínica. Dessa maneira, o painel apresentará para determinada marca, metodologia e lote valores crescentes do índice amostra/DO, os quais foram obtidos em laboratórios de referência e constam da bula. Essas mesmas amostras são testadas nas mesmas condições metodológicas, marca e equipamento com o novo *kit* ou lote, comparando-se o momento da soroconversão em ambos os conjuntos, caracterizando, dessa maneira, a sensibilidade do novo reativo.

O objetivo deste capítulo foi apenas relembrar e sugerir algumas ações de CQ em IS acessíveis a todos os perfis de laboratórios, pois o tema é muito amplo e difícil de se esgotar, visto que, embora a literatura seja muito rica, com inúmeros procedimentos sugeridos, dos mais simples aos mais complexos (com aprofundamentos estatísticos), ainda há falta de padronizações em condutas a serem seguidas nessa área, das mais simples às mais complexas, que ainda não estão estabelecidas pelos órgãos normativos, sejam públicos ou entidades privadas de referência.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI S. *Imunologia celular e molecular*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2015.
- BJERNER J, NUSTAD K, LARS FN, ET AL. IMMUNOMETRIC ASSAY INTERFERENCE: INCIDENCE AND PREVENTION. *Clin Chem*. 2002;48:613-21.
- BOERMAN OC, SEGERS MF, POELS LG, ET AL. Heterophilic antibodies in human sera causing falsely increased results in the CA 125 immunofluorometric assay. *Clin Chem*. 1990;36:888-91.
- BOSCATO LM. Incidence and specificity of interference in two-site immunoassays. *Clin Chem*. 1986;32:1491-5. *Inmetro. Boas práticas de laboratórios clínicos (BPLC) e lista de verificação para avaliação*. Rio de Janeiro: Qualitymark; 1997.
- CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. CLSI EP 12-A2 – User protocol for evaluation of qualitative test performance. Wayne, PA: CLSI; 2008.
- CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. CLSI H18-A3 – Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline. 3. ed. Wayne, PA: CLSI; 2004.
- CROWTHER JR. *The Elisa Guidebook*. Totowa, NJ: Humana Press; 2001.
- DATTA P, EJILEMELE AA, PETERSEN JR. *Immunoassay interference*. Washington D.C.: AACC Press; 2013.
- DAVIES C. Concepts. In: *The Immunoassay Handbook*. 3. ed. London: Elsevier; 2005.
- DIAMANDIS EP, CHRISTOPOULOS TK. *Immunoassay*. San Diego, CA: Academic Press; 1996.
- EL-NAGEH MM, HEUCK CC, APPEL W, ET AL.; World Health Organization. *Basics of quality assurance for intermediate and peripheral laboratories*. Alexandria: WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean; 1992.
- EVANS MJ, LIVESEY JH, ELLIS MJ, YANDLE TG. Effect of anticoagulants and storage temperatures on stability in human whole blood. *Clin Biochem*. 2001;34:107-12.
- FERNANDO SA. Studies on the hook effect in the one-step immunoassay. *J Immunol Methods*. 1992;151:46-7.
- FRASER CG. *Biological Variations: from principles to practice*. Whashington, DC: AACC PRESS; 2017.
- ISMAIL AAA, WALKER PL, CAWOOD ML, BARTH JH, ET AL. Interference in immunoassay is an underestimated problem. *Ann Clin Biochem*. 2002;39:366-73.
- KEFFER JH. Preanalytical considerations in thyroid function testing. *Clin Chem*. 1996;42:125-134.
- KRICKA LJ. Human anti-animal antibody interference in immunological assays. *Clin Chem*. 1999;45:942-56.
- KRICKA LJ. Interferences in immunoassay – still a threat. *Clin Chem*. 2000;46(8):1037.
- KROLL MH. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem*. 1994;40:1996-2005.
- MARKS V. False-positive immunoassay results: a multicenter survey of erroneous immunoassay results from assays of 74 analytes in 10 donors from 66 laboratories in seven countries. *Clinical Chemistry*. 2002;48(11):2008-16.
- NARAYANAN S. Quality control in tumor marker analysis: preanalytical, analytical and post analytical issues. *J Clin Ligand Assay*. 1998;21:11-17.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory. NCCLS – C3-A3; 2002. p. 20.

PRICE CP, NEWMAN DJ. Principles and practice of immunoassay. New York: Stockton Press; 1997.

ROSE NR, ET AL. Manual of Clinical Laboratory Immunology. Washington, DC: American Society of Microbiology; 1997.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA (SBPC). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso. 2. ed. Barueri: Minha Editora; 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial: fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais. Barueri: Manole; 2018.

SCHOEFF LE, WILLIAMS RH. Principles of Laboratory Instruments. St. Louis, MO: Mosby-Year Book; 1993.

SELBY C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem.* 1999;36:704-21.

SHEEHAN C. Clinical immunology. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 1997.

WESTGARD JO. OPSpecs manual: operating specifications, for precision, accuracy and quality control. Ogunquit: Westgard Quality Corporation; 1994.

WILD D. The immunoassay handbook. London: Nature; 2001.

WILDE C. Subject preparation, sample collection and handling. In: *The Immunoassay Handbook*, 3. ed. London: Elsevier; 2005.

Vera Lucia Pagliusi Castilho,
Elenice Messias do Nascimento Gonçalves

AS INFECÇÕES PARASITÁRIAS, ou parasitoses, ocasionadas por protozoários, helmintos e ectoparasitas, representam uma importante causa de morbimortalidade e de saúde pública em todo o mundo e está diretamente relacionada à falta de saneamento básico associada à indisponibilidade de profissionais capacitados em educação populacional. A complexidade da doença parasitária é determinada pela tríade: parasita, hospedeiro e meio ambiente, que se diferenciam em caracteres morfológicos, rotas de transmissão, formas de infecção, sítios de localização, ciclos biológicos e processos fisiológicos específicos. Assim, a gravidade das infecções depende da patogenicidade da espécie envolvida, da intensidade da infecção, da existência de infecções correlacionadas e da sensibilidade ao tratamento. O aspecto clínico varia da ausência de sintomatologia até a morte por agravamento de situações mórbidas associadas. A sintomatologia pode ser representada por: alterações de sono, comportamento e humor; dor abdominal (desconforto vago a cólicas); diarreia (aquosa, mucoide, sanguinolenta, explosiva, aguda, persistente, intermitente, crônica); vômitos; náuseas; anemia; perda proteica; tosse; dispepsia; anorexia; astenia, asma; constipação; fadiga; nervosismo; erupção cutânea; emagrecimento e distensão abdominal. Em infecções invasivas e em casos de helmintos, pode-se chegar a quadros de obstruções intestinais e/ou de infecções sistêmicas, além da predisposição a outras infecções. Fatores pertinentes ao hospedeiro, como idade, grau de resistência e nutrição, hábitos de higiene, atividade econômica, condição sociocultural, resistência imunológica e presença ou não de doença de base concomitante, são significativos na determinação da patogenia. O meio ambiente contribui com saneamento básico, tipo de fornecimento de água, disposição adequada de resíduos, densidade demográfica, condições climáticas, processos migratórios, controle de fontes de infecção, vetores e reservatórios.

Exames laboratoriais são ferramentas importantes para a fundamentação do cuidado ao paciente, e o diagnóstico parasitológico, atualmente, depara-se com três importantes fatores: o clínico, o paciente e o laboratório. Desse modo, o exame clínico é presuntivo e deve considerar a patogenia, o mecanismo de transmissão e a biologia do parasita, o clima e as condições sanitárias, assim como os hábitos, a predisposição e a vulnerabilidade do paciente. O diagnóstico das parasitoses necessita de confirmação laboratorial, uma vez que a maioria não apresenta um quadro clínico peculiar, podendo ser realizada em fezes, sangue, tecidos e outras amostras clínicas pertinentes. A interpretação correta do exame é de grande importância no exercício clínico para conclusão ou encontro de hipóteses diagnósticas e implica conhecimento básico de terminologias, princípios, limitações, in-

terferências, robustez, sensibilidade, especificidade, valores preditivos (negativo e positivo) e de referência para correlacioná-lo com o estado clínico e estabelecer o tratamento mais adequado e eficiente. Dentro da parasitologia, amostra positiva é diagnóstico, enquanto resultados negativos não significam ausência de parasitas. Resultado negativo pode decorrer de períodos de negatividade ou de eliminação intermitente de formas infectantes dos protozoários, ou, ainda, no caso de helmintos, de infecção unissexual por espécimes machos, infecção antiga, carga parasitária leve, presença de fêmeas imaturas ou com irregularidade na postura/eliminação de ovos/larvas ou infecção ainda no período pré-patente. O paciente, socioculturalmente, ou se automedica preventivamente ou atribui pouca importância à doença parasitária, quando ela se apresenta de forma branda, com consequente não diagnóstico e perda de dados epidemiológicos. Por sua vez, se portador de imunodeficiências ou situações mórbidas, os distúrbios apresentados são expressivos e requerem medidas terapêuticas adequadas, portanto é importante que se apresente a um serviço de saúde e, se indicado o exame parasitológico de fezes (EPF), que siga os cuidados prescritos para coleta, preservação e transporte do material biológico, com registro de quaisquer intercorrências e o efetivo antes de quaisquer tratamentos, a fim de evitar resultado falso-negativo. O laboratório, com apoio do clínico e da enfermagem, deve orientar o paciente de forma clara, normalmente por escrito, sobre a coleta, manipulação e transferência da amostra de fezes para o coletor provido de tampa de rosca, a conservação e o transporte desse material a ser analisado. É nessa fase que ocorre a maioria das intervenções humanas e, portanto, é a que está sujeita a um maior número de erros ($\pm 70\%$). Amostras de fezes podem ser enviadas ao laboratório, *in natura*, preferencialmente, imediatamente após a coleta ou em tempo máximo de 24 horas, se mantidas sob refrigeração, ou, ainda, diluídas, na proporção de uma parte de fezes para três de conservante, disponibilizado em um frasco coletor com tampa de rosca, normalmente fornecidos pelo laboratório, mantido em temperatura ambiente e em concordância com o exame solicitado. A coleta de fezes não requer jejum ou dieta restritiva; porém, deve-se evitar seu contato com água ou urina, por degradar formas trofozoítas de protozoários, assim como o uso de antidiarreicos e anti-inflamatórios, de acordo com indicações clínicas. O laboratório de parasitologia clínica, por sua vez, fornece diagnóstico de parasitoses em geral, tanto intestinais como teciduais, hemoparasitas e ectoparasitas. Os enteroparasitas, basicamente, dividem-se em protozoários e helmintos e o exame parasitológico de fezes (EPF) tem como objetivo a sua detecção de maneira seletiva, rápida e eficaz. Para isso, dispõe de uma gama de técnicas manuais, sujeitas a fontes de variabilidade, sensibilidade e especificidade, dependentes da validação de equipamentos, insumos e reagentes, além de funcionários bem treinados e experientes. O exame macroscópico das fezes caracteriza cor, odor, consistência e aspecto, além de indicar a presença de muco, sangue, alimento mal digerido, vermes ou fragmentos destes. Entre os parasitas, podem ser citados: adultos de *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, ancilostomídeos e proglotes de *Taenia* sp., entre outros. A identificação de vermes também pode ser realizada em espécimes coletadas em solução salina. Do mesmo modo que a associação de técnicas aumenta a sensibilidade do exame parasitológico, a coleta seriada de amostras fecais para o EPF é sugerida, com indicação de, no mínimo, três amostras em prazo máximo de 7 dias, enquanto, para detecção de *E. histolytica*, o prazo sugerido é de 10 dias, com coleta de seis amostras. Os métodos tradicionais são de alta especificidade e com base em particulari-

dades biológicas dos diferentes parasitos, para identificação de estágios específicos e avaliação de cargas parasitárias. Em razão da diversidade biológica apresentada pelos diferentes parasitas, não há um método único capaz de identificar todas as formas, sugerindo-se que o EPF seja composto de associação paralela de técnicas com objetivos diferenciados. A associação paralela tende a aumentar a sensibilidade. O método de Faust e colaboradores (centrífugo-flutuação) e o método de Ritchie (centrífugo-sedimentação) detectam cistos de protozoários (*Giardia intestinalis*, *Chilomastix mesnili*, *Blastocystis hominis*, *Balantidium coli*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba bangladeshi*, *Entamoeba polecki*, *Entamoeba hartmanni*, *Dientamoeba fragilis*, *Retortamonas intestinalis*) e ovos leves de helmintos (ancilostomídeos, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Diphyllobothrium* sp., *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Taenia* sp.). Os métodos de Lutz ou de Hoffman, Pons e Janer (sedimentação por força gravitacional) detectam ovos pesados de helmintos (*Schistosoma mansoni*, *Fasciola hepatica* e ovos inférteis de *Ascaris lumbricoides*). O método de Rugai ou o de *Baermann-Moraes* se baseiam no termo “hidrotropismo positivo de larvas”, como *Strongyloides stercoralis* e ancilostomídeos e sua extração. Para a detecção de formas trofozoítas dos protozoários, são sugeridos o método direto com salina para observação do movimento, ou com lugol para verificação de características citoplasmáticas e nucleares ou a coloração de tricrômio ou de hematoxilina férrica, e a última utiliza mercúrio, que contradiz com as diretrizes de saúde e segurança ocupacional. Ressalta-se que, para a diferenciação entre *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba bangladeshi*, *Entamoeba polecki* e *Entamoeba hartmanni* em lâminas úmidas derivadas de métodos de concentração e lugol, faz-se necessário método de coloração, ou ensaios imunológicos e/ou moleculares. Em contrapartida, métodos de coloração podem dificultar a diferenciação entre *Endolimax nana* e *Iodamoeba butschlii*, as quais são mais bem identificadas em métodos de concentração ou moleculares. Outras metodologias, principalmente de colorações específicas, também são utilizadas para as pesquisas de alguns parasitas não identificados satisfatoriamente pelos métodos tradicionais. Assim, colorações de caráter álcool acidorresistente (Kinyoun, *acid fast*, Ziehl-Neelsen a frio, Safranina) são utilizadas para os coccídeos (*Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis*, *Cystoisospora belli* e *Sarcocystis hominis*), enquanto esporos de microsporídios (*E. bienersi* e *E. intestinalis*), que apresentam caráter Gram-positivo, são corados por Gram-chromotrope; leucócitos e hemácias fecais são corados por Leishman. Colorações de Giemsa e Leishman são utilizadas para detecção de hematozoários em sangue periférico (*T. cruzi*, *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, *Babesia* sp. e microfilárias). Imuno-histoquímica é utilizada para detecção de *Leishmania* sp. Culturas são utilizadas para *S. stercoralis*, *Blastocystis* sp. e *Acanthamoeba* sp. Para quantificação de ovos e estimativa da intensidade de infecção causada por helmintos, são úteis o método de Kato-Katz ou o de Stoll-Hausheer.

Embora a maioria dos parasitos seja diagnosticada pelo EPF, outras amostras clínicas podem ser processadas e métodos específicos devem ser ensaiados de acordo com a suspeita etiológica; assim pode-se analisar sedimento urinário para detecção de ovos de *S. haematobium* e *E. vermicularis*; biópsia retal para ovos de *S. mansoni* e *E. histolytica*; biópsia vesical para *S. haematobium*, *printing* da região anal em fita adesiva (método de Graham ou da fita gomada) para ovos de *E. vermicularis* ou de *Taenia* sp.; escarifica-

ção de córnea para esporos de microsporídios ou cistos/trofozoítos de *Acanthamoeba* sp.; bile para detecção de ovos de *F. hepatica*; dreno de ameboma para detecção de cistos/trofozoítos de *E. histolytica*; secreções respiratórias para *Echinococcus granulosus*, *Paragonimus westermani*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Strongyloides stercoralis* e microsporídio; aspirado ou biópsia duodenal para *Giardia intestinalis*, *Fasciola hepatica* e *Dicrocoelium dendriticum*; aspirado de medula para complexo *Leishmania* sp.; lesões de pele para *Sarcoptes scabiei*; secreções vaginais ou uretrais para *Trichomonas vaginalis* e *Enterobius vermicularis*; líquido cefalorraquidiano para *Trypanosoma cruzi* e amebas de vida livre. Além da detecção de estruturas parasitárias, o EPF deve assinalar a presença de elementos indicadores de anormalidades intestinais, como células epiteliais, hemácias, leucócitos e cristais de Charcot-Leyden.

O advento da Aids associada à utilização de drogas imunossupressoras implicou a necessidade de novas técnicas diagnósticas, revelando parasitoses decorrentes do contato do homem com animais – zoonoses (*Plasmodium knowlesi*); oportunistas (*Cryptosporidium* spp.); emergentes (*Cyclospora cayetanensis*); reemergentes (*Lagochilascaris* sp.); além das decorrentes de mudanças de hábitos alimentares (*Diphyllobothrium* sp.) e da globalização (*Angiostrongylus* sp.). Entre essas novas técnicas diagnósticas, citam-se os imunoenaios, como ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*), imunocromatográficos, IFD (imunofluorescência direta) e IFI (imunofluorescência indireta), comercializados para detecção de antígenos de alguns parasitas (*Cryptosporidium* spp., complexo *E. histolytica*, *E. histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Plasmodium* sp. e *P. falciparum*) com taxas aceitáveis de sensibilidade e especificidade, além de ofertarem rapidez e simplicidade de processo, enquanto a detecção de anticorpos não garante a doença ativa.

Com maior sensibilidade e especificidade diagnóstica agregada à elucidação da epidemiologia molecular, destacam-se ensaios moleculares, representados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e suas variações, como PCR em tempo real (qPCR – PCR quantitativo), transcriptase reversa – PCR (RT-PCR), PCR multiplex e PCR digital (D-PCR), por serem metodologias simples, rápidas e extremamente sensíveis, capazes de detectar concentrações muito baixas de parasitos presentes em uma amostra. Há no mercado sistemas PCR multiplex certificados que integram a preparação de amostras, amplificação, detecção e análise para uma testagem rápida, fácil e abrangente, além de permitirem teste simultâneo de bactérias, vírus, leveduras, parasitos e/ou genes resistentes aos antimicrobianos, por meio do uso de diferentes painéis que abrangem grupos de patógenos associados.

Equipamentos de espectrometria de massa (EM), como MALDI-TOF MS, utilizados em análises laboratoriais de bioquímica, hematologia e bacteriologia têm se tornado foco de pesquisa diagnóstica para identificação de peptídeos séricos específicos detectáveis em indivíduos infectados por parasitas, desde que os bancos de dados correspondentes estejam disponíveis em um laboratório, por disponibilizarem resultados em poucos minutos e não exigirem técnicos altamente qualificados nem infraestrutura laboratorial adicional complexa a não ser o fornecimento constante de energia.

Outra ferramenta autônoma e poderosa para diagnóstico é o *smartphone*, que permite a transferência direta de imagens (pelo Serviço de Mensagens Multimídia [MMS], Bluetooth etc.) para um laboratório de referência para avaliação rápida, *feedback* e garantia de qualidade do diagnóstico de doenças parasitárias por um parasitologista especialista, principalmente em regiões com limitados recursos.

Contudo, a busca incessante por métodos automatizados que tirariam o viés do observador e poderiam agilizar e mostrar um exame totalmente independente do preparo e de possíveis erros da leitura microscópica individual, é seriamente procurada por vários pesquisadores, que são unânimes em relatar comprometimento das imagens pela presença das impurezas fecais. Mas várias pesquisas nesse sentido estão sendo realizadas. Yang e colaboradores, em 2001, propuseram um algoritmo de processamento computacional utilizando técnicas digitais de imagens e um classificador de rede neural artificial (RNA). Através desse sistema *on-line*, propuseram a digitalização de um banco de imagens de ovos de parasitas, armazenadas *off-line*. Posteriormente, as imagens captadas são comparadas com as imagens de toda a lâmina e utilizadas para a identificação de outras imagens. Em 2008 e 2009, Avci e colaboradores e Dogantekin e colaboradores abordaram o diagnóstico para a classificação de ovos de parasitas humanos por máquinas de vetores de suporte (SVM) e um sistema de inferência difusa. Em 2010, Lai e colaboradores desenvolveram técnicas de extração de protozoários intestinais e fizeram a segmentação desses parasitas a partir de imagens microscópicas. O esquema proposto tem capacidade de segmentação precisa, mesmo que a imagem seja de baixa qualidade ou de fundo complexo. Esses resultados experimentais mostram que o esquema proposto pode obter 96,64% de taxa média correta e cerca de 0,04; 0,45 e 0,06 das taxas de erro médias: erro de classificação incorreta, não uniformidade da região e erro relativo da área de primeiro plano. Sulong e colaboradores, em 2012, concentraram sua pesquisa na detecção de um único espécime, o ovo de *Ascaris lumbricoides*, nas imagens de amostras fecais usando a técnica de processamento digital de imagens. Foram propostas quatro etapas no processo de detecção: detecção de limites, determinação do ponto médio, cálculo da distância do raio e detecção do parasita. Os resultados gerados mostram 100% de precisão e recuperação de 73%. Suzuki e colaboradores, em 2013, mostraram a análise computacional das imagens, para 15 tipos de parasitas, em amostras de fezes concentradas através do *kit* TF-Test, anteriormente testado nas rotinas dos exames parasitológicos em vários laboratórios clínicos no país. Em 2016, Jiménez e colaboradores desenvolveram outro sistema para identificar e quantificar até sete espécies de ovos de helmintos em águas residuais usando diferentes processos de imagem, ferramentas e algoritmos de reconhecimento de padrões. Abdalla e colaboradores, em 2017, apresentaram técnica altamente complexa com procedimento computacional de digitalização das imagens, com a extração de características morfométricas, fundamentando-se na análise de três grupos de conjuntos de recursos baseados em pixels, utilizando recursos de coluna, de linha e da fusão de ambos para protozoários *Eimeria* de aves e coelhos, com taxas de precisão obtidas de 85,55% ($\pm 0,39\%$) e 96,6% ($\pm 0,82\%$) para o nível de escala cinza e imagens coloridas, respectivamente. As características dos conjuntos produziram resultados altamente precisos e espera-se que simplifiquem a identificação automática em comparação à análise de características morfológicas. Continuamente, tem-se promovido a busca por automação no laboratório de parasitologia, por meio de vários segmentos da área da saúde, nas áreas médica, veterinária e ambiental (águas), na possibilidade de se criar um banco de imagens para a identificação da extensa gama morfológica de parasitas, sendo ainda a maior dificuldade a sujidade das amostras e mesmo assim necessitar de observador especialista, treinado e com conhecimento morfológico de todos os parasitas. Isso está avançando e é um diagnóstico bastante promissor para as próximas décadas. Sistemas de análise morfológica digital em processos

contínuos de otimização vêm de encontro à necessidade de reposição de colaboradores experientes em microscopia manual e reconhecimento de diferentes formas parasitárias eliminadas, além de propor padronização de procedimentos, treinamentos relacionados e comparações inter/intra laboratórios, desde que se conheçam suas limitações.

Todos os métodos e possibilidades elencados retratam a diversidade diagnóstica e a disponibilidade de testes para o laboratório de parasitologia, o qual deve decidir individualmente quais testes são os mais econômicos e os mais adequados para introduzir no trabalho de rotina, embora a maioria continue, essencialmente, utilizando técnicas manuais tradicionais, de diferentes sensibilidades e especificidades, seguidas de observação microscópica, sujeitas à variabilidade intra e interobservadores, que deve ser minimizada pela associação paralela de técnicas, uma vez que nenhuma é capaz de evidenciar todos os ovos e larvas de helmintos ou trofozoítos, cistos e oocistos de protozoários. Validações de técnicas, equipamentos, reagentes e insumos, aplicação de controles internos e externos, conhecimento de indicadores relacionados e treinamento e habilitação de colaboradores, são prioridades básicas para a efetivação diagnóstica, contribuindo, assim, para a avaliação diagnóstica, a indicação do tratamento e o acompanhamento dos infectados.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- ABDALLA MAE, SEKER H. Recognition of protozoan parasites from microscopic images: Eimeria species in chickens and rabbits as a case study. 39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), Seogwipo. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2017; 2017:1517-20.
- ANGELETTI S, CICCOZZI M. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical microbiology: an updating review. Infect Genet Evol. 2019;76:1-7. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1567134819302898>>. Acesso em: 23 abr. 2020.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR 15340:2006. Laboratório clínico – Exames parasitológicos de fezes: esta Norma descreve os critérios e os requisitos mínimos para realização de exames parasitológicos de fezes, visando a padronização do processo de pesquisa de parasitos. São Paulo: ABNT; 31 mar. 2006.
- AVCI D, VAROL A. An expert diagnosis system for classification of human parasite eggs based on multi-class SVM. Expert Syst Appl. 2009;36(1):43-8. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957417407004538>. Acesso em: 28 abr. 2020.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Procedures for the recovery and identification of parasites from the intestinal tract: approved guideline. 2. ed. CLSI document M28-A2. Wayne, PA: CLSI; 2005.
- DOGANTEKIN E, YILMAZ M, DOGANTEKIN A, ET AL. A robust technique based on invariant moments – ANFIS for recognition of human parasite eggs in microscopic images. Expert Syst Appl. 2008;35(3):728-38. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957417407002862?via%3Dihub>>. Acesso em: 28 abr. 2020.
- FEUCHEROLLES M, POPPERT S, UTZINGER J, BECKER SL. MALDI-TOF mass spectrometry as a diagnostic tool in human and veterinary helminthology: a systematic review. Parasit Vectors. 2019;12(12):245. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13071-019-3493-9>>. Acesso em: 23 abr. 2020.
- GARCIA LS. Diagnostic medical parasitology. 6. ed. Washington: ASM Press; 2016.
- RINGSVEN MK, BOND D. Gerontologia e habilidades de liderança para enfermeiros. Albany: Delmar Publishers; 1996.

JIMÉNEZ B, MAYA C, VELÁSQUEZ G, ET AL. Identification and quantification of pathogenic helminth eggs using a digital image system. *Exp Parasitol*. 2016;166:164-72. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489416300789?via%3Dihub>>. Acesso em: 28 abr. 2020.

MOMČILOVIĆ S, CANTACESSI C, ARSIĆ-ARSENJEVIĆ V, ET AL. Rapid diagnosis of parasitic diseases: current scenario and future needs. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(3):290-309.

POMARI E, PIUBELLI C, PERANDIN F, BISOFFI Z. Digital PCR: a new technology for diagnosis of parasitic infections. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(12):1510-6.

SAEED MA, JABBAR A. “Smart Diagnosis” of parasitic diseases by use of smartphones. *J Clin Microbiol*. 2018;56(1):e01469-17. Disponível em: <<https://jcm.asm.org/content/56/1/e01469-17.long>>. Acesso em: 28 abr. 2020.

SULONG SM, GHAZALI KH, ZAIN JM, MOHAMED Z. Ascaris lumbricoides egg detection from digital microscopic fecal sample images. Toba Lake, North Sumatera, Indonesia: International Conference on Computational Science & Information Management (ICoCSIM): 2012. p. 59-62.

SUZUKI CTN, GOMES JF, FALCÃO AX, ET AL. Automatic segmentation and classification of human intestinal parasites from microscopy images. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2013;60(3):803-12.

TAYLOR SC, LAPERRIERE G, GERMAIN H. Droplet Digital PCR versus qPCR for gene expression analysis with low abundant targets: from variable nonsense to publication quality data. *Sci Rep*. 2017;7:1-7. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-02217-x.pdf>>. Acesso em: 28 abr. 2020.

YANG YS, PARK DK, KIM HC, ET AL. Automatic identification of human helminth eggs on microscopic fecal specimens using digital image processing and an artificial neural network. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2001;48(6):718-30. Disponível em: <<https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=923789>>. Acesso em: 28 abr. 2020.

Senne Liquor Diagnóstico:

Carlos Augusto Senne Soares, Fernando Brunale Vilela de Moura Leite, Renan Barros Domingues

INTRODUÇÃO

O exame do liquor (LCR) é fundamental para o diagnóstico de inúmeras manifestações neurológicas, sendo obtido preferencialmente por meio da punção lombar (PL). A punção suboccipital é reservada para casos em que a PL é inviável. Em pacientes com dispositivos intraventriculares, como o reservatório de Ommaya e Rickmann, o LCR pode ser obtido diretamente deles.

Alguns cuidados são essenciais na punção: obtenção do termo de consentimento, avaliação de potenciais contraindicações clínicas (distúrbios de coagulação, uso de antiagregantes e anticoagulantes, lesões expansivas focais do sistema nervoso central – SNC) e utilização de material adequado.¹ Recomenda-se o uso de agulhas atraumáticas, que reduzem o risco de cefaleia pós-punção. Em crianças, recomenda-se a realização da PL sob sedação.

Durante a punção, são obtidas importantes informações diagnósticas: a) manometria; b) aspecto e cor – normalmente límpido e incolor; quando se apresenta turvo, purulento, xantocrômico ou hemorrágico, pode contribuir no diagnóstico de infecções ou hemorragias. Marcadores radioisotópicos podem ser injetados para diagnóstico de fistula liquórica. A PL pode ter também função terapêutica, para redução da pressão intracraniana e administração de medicamentos, como quimioterápicos ou oligonucleotídeos.²

NEUROINFECÇÕES

Constituem a mais frequente indicação do exame de LCR. A análise convencional sugere a possível natureza do agente etiológico, como mostra a Tabela 1. O lactato indica sofrimento parenquimatoso e é o parâmetro que melhor distingue meningite viral de uma meningite bacteriana; quando acima de 25 mg/dL, indica etiologia bacteriana.³⁻⁵

A microbiologia convencional inclui a bacterioscopia e culturas, pesquisa e cultura de *Mycobacterium tuberculosis*, pesquisa e cultura de fungos, além de pesquisa de protozoários. O uso do PCR (*polimerase chain reaction*) aumenta significativamente a sensibilidade e especificidade diagnósticas. Recentemente, alguns painéis diagnósticos foram introduzidos com a finalidade de propiciar um diagnóstico rápido:

- BioFire FilmArray®: investiga 14 agentes, sendo cinco bactérias (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*), seis vírus (citomegalovírus, enterovírus, herpes simples 1 e 2, herpes-vírus-6, parechovírus, varicela-zóster) e *Cryptococcus neoformans/gattii*. A *Listeria* é um agente de importância crescente, sendo encontrada em extremos de idade e imunossuprimidos. O uso desse painel aumenta a acurácia diagnóstica gerando economia ao sistema;⁵

- BD Max™ vírus: inclui a pesquisa de enterovírus, HSV1, HSV2, varicela-zóster, cacumba e parechovírus;
- BD Max™ bactérias: inclui investigação para *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae*.

TABELA 1 Achados gerais do LCR nas principais neuroinfecções

	Normal	Infecção viral	Meningite bacteriana	Meningite tuberculosa	Meningite fúngica
Pressão de abertura (cmH ₂ O)	5-20	Ligeiramente aumentada	> 30	Aumentada	Pode estar muito elevada (<i>C. neoformans</i>)
Aspecto	Límpido e incolor	Claro ou opalescente	Turvo a purulento	Turvo	Variável
Leucócitos	≤ 3/mm ³	< 100/mm ³	> 500/mm ³	Variável	Variável
Diferencial	LMN	Predomínio de LMN (primeiras 24 h de PMN)	Predomínio de PMN	Padrão misto	Variável
Proteína (mg/dL)	≤ 45 mg/dL	50-100 mg/dL	< 150 mg/dL	> 200 mg/dL	> 50 mg/dL
Glicose (mg/dL)	2/3 da glicose sérica	Normal ou ligeiramente reduzida	Baixa	Baixa	Baixa
Lactato (mg/dL)	≤ 20 mg/dL	≤ 25 mg/dL	> 35 mg/dL	Aumentado	Aumentado

PMN: polimorfonucleares; LMN: linfomononucleares.

Fonte: elaborada pelos autores.

O LCR é fundamental no diagnóstico da neurosífilis. Anticorpos treponêmicos (imunofluorescência FTA-ABS e ELISA) e não treponêmicos (VDRL) são utilizados.⁶ O algoritmo diagnóstico é apresentado na Figura 1.

DEMÊNCIAS

Diversas etiologias podem determinar deterioração cognitiva na população idosa e o exame do LCR faz parte da investigação diagnóstica.

Doença de Alzheimer

Os biomarcadores em LCR avaliam o acúmulo das proteínas beta-amiloide e tau no cérebro pela detecção de biomarcadores em LCR. Os biomarcadores validados são as isoformas 42 e 40 da proteína amiloide (Aβ42 e Aβ40), a tau total e a tau fosforilada (tau-P), mensurados em LCR pela técnica de ELISA. Na doença de Alzheimer (DA), o padrão observado no LCR é de aumento da tau e tau-P e diminuição da Aβ42. A relação Aβ42/Aβ40 tem mostrado maior sensibilidade e especificidade que a Aβ42 isolada. Outro biomarcador é o neurofilamento de cadeia leve (NfL), que pode vir a ser utilizado como marcador da progressão da doença, embora não tenha especificidade diagnóstica.⁷

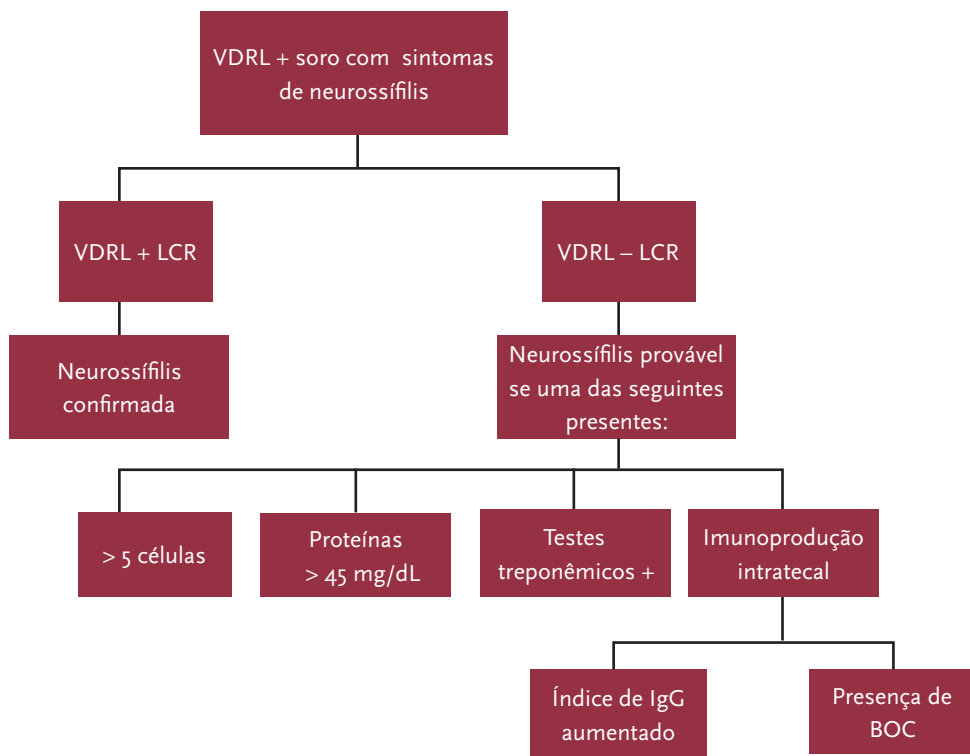


FIGURA 1 LCR no diagnóstico da neurosífilis em pacientes sintomáticos.

BOC: bandas oligoclonais.

Fonte: Marra, 2015; modificada por Senne Liquor Diagnóstico.

Hidrocefalia de pressão normal

A hidrocefalia de pressão normal (HPN) é caracterizada por alterações de marcha, déficit cognitivo e incontinência urinária. O diagnóstico é feito pelo Tap Test, que também é importante para indicação de derivação ventrículo-peritoneal (DVP). O Tap Test é feito em três etapas:

1. Avaliação prévia da cognição (com testes neuropsicológicos) e da marcha (com *softwares* quantitativos);
2. Retirada de 30 a 50 mL de LCR, realizada no dia seguinte à etapa 1;
3. Nova avaliação de marcha e neuropsicológico após a punção lombar. Quando positivo (com melhora da marcha e cognição após a punção), o Tap Test confirma a HPN e indica a DVP.⁸

Doença de Creutzfeldt-Jakob

É uma forma grave e rapidamente evolutiva de demência causada por acúmulo de príons. O diagnóstico definitivo é feito por meio de exame patológico do tecido cerebral. Novos biomarcadores líquóricos têm sido incorporados com a finalidade de diagnosticar em vida essa doença: detecção da proteína 14-3-3, aumento da

concentração da proteína tau e RT-QuIC (*real-time quake induced conversion*). Esta última baseia-se na detecção da proteína priônica e tem sensibilidade e especificidade maiores que 95%.⁹

DOENÇAS DESMIELINIZANTES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Esclerose múltipla

O exame de LCR é utilizado há décadas na esclerose múltipla (EM). Além de anormalidades no exame geral, como pleocitose e discreto aumento de proteínas (até 60 mg/dL), há anormalidades indicativas de imunoprodução intratecal por meio da análise das gama-globulinas do LCR. O índice de IgG é realizado correlacionando IgG LCR/IgG soro com albumina LCR/albumina soro. Quando acima de 0,7, tem sensibilidade de 75% na EM.¹⁰ A imunoprodução intratecal pode também ser demonstrada qualitativamente, por meio da identificação de, pelo menos, duas bandas oligoclonais (BOC) em LCR, e não no soro, por isoeletrofocalização. Esse método tem sensibilidade de 95% e faz parte dos critérios diagnósticos atuais de EM.¹¹ O neurofilamento (NFL) é utilizado para avaliar a atividade da doença e a resposta terapêutica.¹²

Distúrbio do espectro da neuromielite óptica

É uma condição que atinge nervos ópticos e a medula espinal. O distúrbio do espectro da neuromielite óptica (NMOSD) é associado a anticorpos antiaquaporina 4 (anti-AQ4). A AQ4 é o mais abundante canal de água no SNC, sendo expressa nos astrócitos. Já os anticorpos anti-MOG são sintetizados contra a glicoproteína da mielina de oligodendrócitos. A determinação dos anticorpos anti-AQ4 e anti-MOG (soro) é feita por CBA (*cell-based assay*). A sensibilidade do anti-AQ4 é maior que 70% e a especificidade é bastante alta, entre 86 e 100%.¹³

ENCEFALITES AUTOIMUNES E PARANEOPLÁSICAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Tais encefalites cursam com manifestações neurológicas agudas e subagudas. No LCR, podem ser encontradas alterações inflamatórias inespecíficas, como pleocitose, aumento da concentração de proteínas e marcadores de imunoprodução intratecal. O diagnóstico do tipo de encefalite é feito pela identificação dos anticorpos no soro e no LCR.

Os anticorpos mais frequentemente identificados nos casos de encefalites autoimunes são contra os seguintes alvos antigênicos: NMDAr, LGI1, Caspr2, AMPAr, GABA-A e B, IgLON5, DPPX, GlyR, mGluR5, mGluR1, Neurexin-3 α , Dopamin-2r. Os anticorpos nas encefalites paraneoplásicas são: anti-Hu, anti-Yo, anti-R1, anti-Tr, anti-CV2/CMPR5, anti-Ma, anti-VGKC, anti-anfifisina, anti-PCA-2, entre outros. Esses anticorpos são normalmente solicitados na forma de painel.¹⁴

NEOPLASIAS DO SNC

O exame do LCR é uma ferramenta essencial para o diagnóstico da infiltração meníngea neoplásica por neoplasias sólidas ou hematológicas.

Neoplasias hematológicas

A infiltração neoplásica do SNC ocorre em 5 a 15% dos casos de linfomas e leucemias. A análise citomorfológica do LCR é considerada o padrão de referência, contudo com possíveis resultados falso-negativos. Diversos estudos têm demonstrado aumento da sensibilidade diagnóstica com a imunofenotipagem, especialmente quando a celularidade é normal. A imunofenotipagem utiliza ampla gama de anticorpos monoclonais e análise por citometria de fluxo. A conservação das células, após a coleta, com Transfix melhora a sensibilidade diagnóstica.¹⁵ Acidente de punção pode contaminar a amostra, reforçando a importância da punção sob sedação em crianças.

Tumores sólidos

Para pesquisa de infiltração meníngea secundária a tumores sólidos, recomenda-se a realização de citomorfológica, com dupla observação, complementada pela técnica de imunocitoquímica.

Biópsia líquida

Baseia-se na identificação de sequências genômicas de tumores, sendo promissora para a pesquisa e o monitoramento de tumores, particularmente os gliomas. É mais específica do que técnicas citológicas e não requer células íntegras, tendo grande potencial para identificar infiltrações meníngeas, tumores sólidos e monitoramento terapêutico de gliomas. Sua sensibilidade é afetada pelo grau de diferenciação da neoplasia (maior sensibilidade em tumores menos diferenciados) e por sua localização (maior sensibilidade em tumores mais superficiais, contíguos ao espaço liquorico).¹⁶

CONCLUSÃO

O exame do LCR tem grande importância, mas sua realização adequada requer, além de grande rigor metodológico e uso de técnicas sofisticadas, uma integração profunda desde a avaliação clínica dos pacientes, coleta, cuidados pré-analíticos, análise e interpretação dos resultados.

REFERÊNCIAS

1. DOMINGUES R, BRUNIERA G, BRUNALE F, ET AL. Lumbar puncture in patients using anticoagulants and antiplatelet agents. *Arq Neuropsiquiatr*. 2016;74(8):679-86.
2. COSTERUS JM, BROUWER MC, VAN DE BEEK D. Technological advances and changing indications for lumbar puncture in neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2018;17(3):268-78.
3. DOMINGUES RB, BRUNALE F, BRUNIERA G, SENNE C. Avaliação da estabilidade de parâmetros citológicos e bioquímicos do líquido. *J Bras Patol Med Lab*. 2019;55(3):258-66.
4. DOMINGUES RB, FERNANDES GBP, LEITE FBVM, SENNE C. Performance of lactate in discriminating bacterial meningitis from enteroviral meningitis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2019;61:e24.
5. DOMINGUES RB, SANTOS MVD, LEITE FBVM, SENNE C. FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) panel in the diagnosis of bacterial meningitis. *Braz J Infect Dis*. 2019;23(6):468-70.
6. MARRA CM. Neurosyphilis. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2015;21(6 Neuroinfectious Disease):1714-28.

7. SHAW LM, KORECKA M, FIGURSKI M, ET AL. Detection of Alzheimer disease pathology in patients using biochemical biomarkers: prospects and challenges for use in clinical practice. *J Appl Lab Med.* 2020;5(1):183-93.
8. OLIVEIRA LM, NITRINI R, ROMÁN GC. Normal-pressure hydrocephalus: A critical review [published correction appears in *Dement Neuropsychol.* 2019 Jul-Sep;13(3):361]. *Dement Neuropsychol.* 2019;13(2):133-43.
9. BRANDEL JP, CULEUX A, GRZNAKOVA K, ET AL. Amplification techniques and diagnosis of prion diseases. *Rev Neurol (Paris).* 2019;175(7-8):458-63.
10. MATAS SL, GLEHN FV, FERNANDES GB, SOARES CA. Cerebrospinal fluid analysis in the context of CNS demyelinating diseases. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013;71(9B):685-88.
11. DOMINGUES RB, FERNANDES GBP, LEITE FBVM, ET AL. The cerebrospinal fluid in multiple sclerosis: far beyond the bands. *Einstein (São Paulo).* 2017;15(1):100-4.
12. DOMINGUES RB, FERNANDES GBP, LEITE FBVM, SENNE C. Neurofilament light chain in the assessment of patients with multiple sclerosis. *Arq Neuropsiquiatr.* 2019;77(6):436-41.
13. BRUSCOLINI A, SACCHETTI M, LA CAVA M, ET AL. Diagnosis and management of neuromyelitis optica spectrum disorders - An update. *Autoimmun Rev.* 2018;17(3):195-200.
14. GOODFELLOW JA, MACKAY GA. Autoimmune encephalitis. *J R Coll Physicians Edinb.* 2019;49(4):287-94.
15. BENTO LC, CORREIA RP, ALEXANDRE AM, ET AL. Detection of central nervous system infiltration by myeloid and lymphoid hematologic neoplasms using flow cytometry analysis: diagnostic accuracy study. *Front Med (Lausanne).* 2018;5:70.
16. SHANKAR GM, BALAJ L, STOTT SL, ET AL. Liquid biopsy for brain tumors. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017;17(10):943-7.

O **SÊMEN** OU esperma é produzido durante a ejaculação e é composto por espermatozoides e secreções da próstata, das vesículas seminais e das glândulas bulbouretrais. Na análise do sêmen, há dois componentes importantes: os espermatozoides, produzidos pelos testículos, e as secreções, que refletem a maior parte (cerca de 90%) do fluido seminal.

O espermograma ou análise do sêmen é importante na investigação da infertilidade masculina, quando da avaliação de um casal infértil. Esse exame pode direcionar o médico para solicitação de novos ensaios laboratoriais no sêmen, como bioquímicos e microbiológicos.

A infertilidade, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), se dá quando, após 12 meses de coito regular, sem o uso de métodos contraceptivos, os casais não conseguem engravidar. Esse quadro é crescente e atinge em torno de 20% dos casais, ainda segundo a OMS.

Existem inúmeros fatores de risco para a infertilidade masculina, como medicamentos (cetoconazol, itraconazol, finasterida, cimetidina, quimioterápicos e esteroides anabolizantes), drogas (maconha, cocaína, anfetaminas, álcool), tabagismo, doenças infecciosas (doenças sexualmente transmissíveis, tuberculose), doenças crônicas (diabetes, insuficiência renal, lúpus, hipertensão arterial sistêmica), estresse elevado, fatores ocupacionais e ambientais (calor, ruído, vibração, metais pesados), fatores imunológicos, biópsia testicular, trauma e vasectomia (quebram a barreira hematotesticular), radiação ionizante (radioterapia e raios x), desnutrição, alterações hormonais, varicocele, criptorquidia e ectopia testicular, além de neoplasias (testículos, próstata, bexiga).

A prevenção da infertilidade passa pela ação diante dos fatores de risco citados, com a orientação médica, que vai desde a cirurgia da varicocele, a orquidopexia precoce (correção da criptorquidia até o primeiro ano de vida), detecção e tratamento das infecções genitais, redução do estresse, controle do tabagismo e alcoolismo, identificação e redução dos fatores ambientais e ocupacionais, controle das doenças crônicas (diabetes, hipertensão etc.) até o congelamento de sêmen antes da radioterapia e/ou quimioterapia.

FASE PRÉ-ANALÍTICA

Na chegada ao laboratório, é importante realizar a anamnese masculina, na qual o paciente recebe um questionário e o responde, entregando-o assinado, com as seguintes perguntas: Abstinência sexual de 48 horas a 7 dias? Realizou alguma cirurgia? Vasectomia? Está tomando alguma medicação? Tem filhos biológicos?

O laboratório deve ter um local privativo e específico para a coleta desse exame, onde o paciente recebe orientações escritas de coleta, em que são descritas a importância de abstinência sexual de 2 a 7 dias e a lavagem das mãos antes da coleta. Segundo a OMS, deve-se realizar de duas a três coletas com intervalo de 15 dias a 3 meses, para a avaliação adequada do paciente. Nesse formulário escrito, deve-se frisar que a primeira parte do ejaculado contém 85 a 90% dos espermatozoides, ou seja, não deve haver perda de amostra e, se houver, o paciente deve desprezar a amostra e agendar nova coleta, respeitando o tempo de abstinência.

A coleta é feita por masturbação em frasco limpo, de boca larga, podendo ser de vidro ou plástico. O laboratório pode adotar como padrão um frasco estéril, já que exames microbiológicos podem ser solicitados pelo médico-assistente. Em caso de coleta domiciliar, o paciente deve transportar rapidamente a amostra ao laboratório, em temperatura ambiente, se possível a 36/37°C (junto ao corpo), evitando temperaturas extremas. Em casos excepcionais, em que o paciente se mostra incapaz de produzir a amostra por masturbação, pode ser usado um preservativo especial de látex não tóxico, para obtenção do sêmen, durante a relação sexual. O transporte da amostra deve ser feito no próprio preservativo, devendo seguir a mesma recomendação da coleta domiciliar.

FASE ANALÍTICA – ANÁLISE MACROSCÓPICA

Liquefação

Após a ejaculação, deve-se colocar o frasco em temperatura ambiente, desde que não seja muito frio (o ar-condicionado da sala de exame deve ser desligado), ou, de preferência, em uma placa aquecedora ou estufa, com temperatura entre 36 e 37°C. O sêmen se liquefaz, na maioria das vezes, entre 15 e 30 minutos, e o tempo máximo de referência permitido é de 60 minutos. No caso de alteração de liquefação, ocorre o aprisionamento de espermatozoides, o que pode levar à infertilidade.

Cor e aspecto

O sêmen, após a liquefação, apresenta coloração branco-acinzentado e aspecto homogêneo. Em situações de infecção, com grande presença de leucócitos ou em pacientes com icterícia, pode ser encontrada uma coloração amarelada com aspecto turvo e, em casos de sangramento no trato geniturinário, coloração avermelhada com aspecto hemorrágico.

Atualmente, além do frasco com o sêmen, todo o material a ser utilizado no exame, deve estar em temperatura ambiente ou na estufa ou placa aquecedora, como pipeta, lâmina, lamínula e câmara de contagem, evitando que temperaturas extremas provoquem alteração nos espermatozoides, como torná-los imóveis ou mortos.

Volume

O volume do ejaculado representa, principalmente, o material das vesículas seminais, da próstata e uma pequena quantidade das glândulas bulbouretrais e do epidídimo, sendo medido diretamente no frasco coletor, se for graduado, ou no momento da realização da viscosidade, quando se aspira a amostra em uma pipeta de vidro ou plástico descartável de 5 ou 10 mL. Essa medição correta é importante, pois é usada no cálculo do número total de espermatozoides e de células redondas no ejaculado. O valor de referência é de 1,5

mL ou mais. É possível encontrar a hipoespermia, que é a diminuição do volume, sugerindo obstrução ou agenesia e hipoplasia das vias eferentes (ductos ejaculadores, vesículas seminais ou deferentes), ou avaliar, junto ao paciente, possível perda da amostra durante a coleta. A aspermia, que é a ausência de ejaculado, pode ter origem neurológica dos mecanismos de emissão ou ejaculação retrógrada.

Viscosidade

É medida de acordo com a filância do sêmen. Recomenda-se utilizar a pipeta de 5 ou 10 mL, a qual, com a pera na ponta da pipeta, aspira e deixa pingar o sêmen pela ação da gravidade dentro do próprio frasco de coleta. O normal é a amostra se desprender da pipeta como pequenas e discretas gotas. A viscosidade aumentada se dá quando a gota se alonga, formando filetes com mais de 2 cm de comprimento.

pH

Deve ser medido após a liquefação da amostra, com uma gota de sêmen sobre o papel de pH (variação 6,5 a 10,0), no qual a cor uniforme será comparada com a fita-padrão para leitura de pH ou no pHmetro, um equipamento de medição. O valor de referência é maior ou igual a 7,2, demonstrando um equilíbrio entre as secreções das glândulas acessórias, vesícula seminal com a frutose (alcalino) e a próstata com o ácido cítrico (ácido).

FASE ANALÍTICA – ANÁLISE MICROSCÓPICA

O ideal para esse procedimento é um microscópio com contraste de fase. Na análise inicial, com uma pipeta automática calibrada, colocam-se 10 a 20 mL de sêmen, que deve estar homogêneo, entre a lâmina e a lamínula ou em alguma câmara de análise seminal, como Horwell, Makler ou Hawksley. Essa análise pode ser realizada à temperatura ambiente ou a 37°C, de acordo com a padronização do laboratório. No caso de 37°C, pode-se usar uma estufa ou uma placa aquecedora próxima ao microscópio, onde previamente são colocados a amostra de sêmen e o material (ponteiros, lâminas, lamínulas ou câmaras de leitura) a ser utilizado na análise, sendo também possível o uso de uma placa aquecedora no próprio microscópio para leitura da amostra, permitindo, nesse caso, o monitoramento térmico ideal durante a observação da amostra. Nessa primeira análise, tem-se a ideia do número de espermatozoides e de células, com o objetivo de diluir o sêmen para realizar a concentração, aproveitando para fazer o estudo da agregação, da aglutinação e da motilidade.

Agregação e aglutinação

São avaliadas na microscopia em aumento de 100 vezes. A agregação consiste em espermatozoides imóveis encontrados agregados entre si ou espermatozoides móveis, agregados com células epiteliais, debris ou filamentos de muco. A aglutinação envolve somente espermatozoides móveis unidos entre si, podendo ocorrer cabeça-cabeça, cauda-cauda ou de forma mista, variando de graus de 1 a 4, em que se leva em consideração a quantidade de espermatozoides por aglutinado e livres. O normal é a ausência de agregação e de aglutinação.

Motilidade

Para avaliação da motilidade, o movimento espontâneo dos espermatozoides, é necessário um aumento de 200 a 400 vezes no microscópio, devendo ser avaliada após a liquefação

da amostra, preferencialmente dentro de 30 minutos, todavia, em qualquer caso, dentro de 1 hora, após a ejaculação, limitando, assim, os efeitos deletérios da desidratação, pH ou alterações de temperatura na motilidade. É classificada em:

- Motilidade progressiva (PR): espermatozoides se deslocam ativamente, seja linearmente, seja em um grande círculo, independentemente da velocidade;
- Motilidade não progressiva (NP): espermatozoides móveis; porém, sem progressão, ou seja, movimentos em pequenos círculos ou quando a força flagelar (cauda) desloca levemente a cabeça ou somente batimento flagelar;
- Imóvel: não há movimento.

Valor de referência: PR \geq 32% ou PR + NP \geq 40%, onde a diminuição da motilidade é denominada astenozoospermia.

Concentração

A concentração deve ser realizada em câmara de Neubauer, na qual o sêmen é diluído em 1:2, 1:5, 1:10, 1:20 ou até 1:50, de maneira simples com água reagente, que facilita a imobilização dos espermatozoides para contagem, de acordo com a quantidade de espermatozoide observada na amostra não diluída, inicialmente. Deve-se utilizar uma tabela (ver manual da OMS) de conversão para obter o resultado final. O valor de referência é igual ou maior que 15 milhões/mL, sendo a diminuição chamada de oligozoospermia e a ausência de espermatozoide de azoospermia.

O número total de espermatozoides é realizado multiplicando-se a concentração de espermatozoide por mL pelo volume, com valor de referência maior ou igual a 39 milhões/ejaculado.

As células redondas correspondem às células epiteliais, às células primordiais da espermatogênese e aos leucócitos. São avaliadas, após a diluição do sêmen (1:10) com solução salina, para posterior leitura em câmara de Neubauer, podendo ser padronizada com a contagem de todos os 25 quadrantes, dividindo-se por 10 para obter o resultado. O valor de referência é de até 5 milhões/mL de ejaculado. O valor de referência somente dos leucócitos é de até 1 milhão/mL de ejaculado, que pode ser mais bem avaliado por um exame adicional ao espermograma, a peroxidase seminal.

Vitalidade

A vitalidade avalia os espermatozoides com a membrana celular intacta, principalmente pela técnica de exclusão de corante, na qual as membranas plasmáticas danificadas, como as encontradas em células mortas, permitem a entrada do corante, provocando a coloração da cabeça do espermatozoide. A técnica consiste em misturar parte iguais de sêmen e corante e aguardar 1 minuto. Fazer o esfregaço e aguardar mais 1 minuto para proceder à leitura. O esfregaço de sêmen fresco corado pela eosina-nigrosina tem a vantagem de que a leitura da lâmina pode ser realizada a qualquer tempo; além disso, a nigrosina serve para aumentar o contraste entre o fundo e as cabeças dos espermatozoides, o que os torna mais fáceis de discernir e também permite que as lâminas sejam armazenadas para fins de reavaliação e controle de qualidade. Quanto à coloração apenas com solução de eosina Y com cloreto de sódio, a leitura da lâmina deve ser realizada de maneira imediata. Realiza-se a contagem de pelo menos 200 espermatozoides, na qual os não corados são

contados como vivos (membrana íntegra) e os corados como mortos (membrana lesada), permitindo a passagem da eosina (Figura 1). O valor de referência é maior ou igual a 58%, sendo a diminuição conhecida como necrozoospermia.

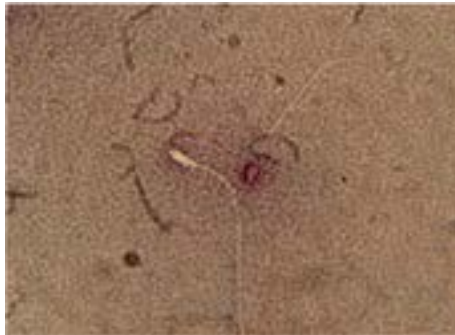


FIGURA 1 Foto microscópica, mostrando um espermatozoide vivo (cabeça branca) e um morto (cabeça rosada), em coloração de eosina-nigrosina.

Fonte: acervo do autor.

Morfologia

A morfologia estrita de Kruger, considerada um excelente fator prognóstico de fertilização *in vitro*, é realizada após um esfregaço do sêmen fresco em lâmina corada, posteriormente, pela coloração de Papanicolaou (Figura 2), podendo, ainda, ser utilizados corantes genéricos, como Giemsa, Leishman e Panótico ou específicos, como Spermac, Diff-Quik e Shorr. Esse método é feito com base na análise do muco do canal endocervical superior pós-coito e foi adotado como referência pela OMS, no qual se avaliam espermatozoides com cabeças lisas e ovais perfeitas e peça intermediária e cauda bem definidas. O acrosomo equivale a 40 a 70% da cabeça. O valor de referência é maior ou igual a 4%, cuja diminuição é denominada teratozoospermia.

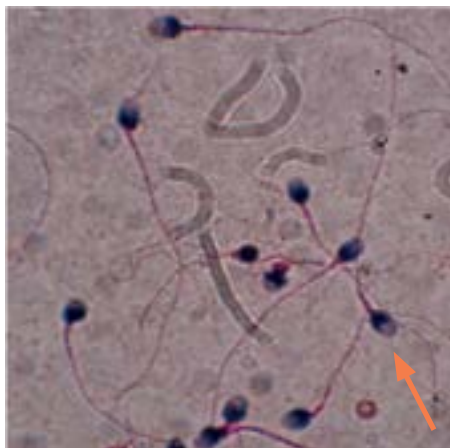


FIGURA 2 Foto microscópica mostrando somente um espermatozoide de forma normal (seta laranja), pela coloração de Papanicolaou modificado.

Fonte: acervo do autor.

Exames adicionais ao espermograma podem ser solicitados pelo médico-assistente para o sêmen, como: frutose e ácido cítrico, que são exames bioquímicos para avaliar a função secretora da vesícula seminal e da próstata, respectivamente; exames microbiológicos; peroxidase seminal, para avaliação da concentração de leucócitos; teste hipo-osmótico, considerado um teste adicional de vitalidade; e anticorpos antiespermatozoides, como MAR e Immunobead Test.

CONTROLE DE QUALIDADE

A análise do sêmen é processualmente de difícil padronização; portanto, a realização dos controles é de extrema importância. No controle interno, utilizam-se os *slides* (imagens) e lâminas ou amostras frescas, com duplo observador e, no externo, além dos *slides* e das lâminas, é possível empregar amostras conservadas. Os parâmetros fundamentais de concentração, morfologia, vitalidade e motilidade devem ser sempre monitorados por controle de qualidade interno e, dentro do possível, por ensaios de proficiência.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

KRUGER TF, ACOSTA AA, SIMMONS KE, ET AL. New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human in vitro fertilization. *Urology*. 1987;30(3):248-51.

PIVA S. Espermograma. Maringá: Nora Ribeiro; 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5. ed. Geneva: WHO; 2010. Disponível em: <https://www.who.int/docs/default-source/srhr-documents/infertility/examination-and-processing-of-human-semen-5ed-eng.pdf?sfvrsn=5227886e_2>. Acesso em: 17 maio 2020.

INÚMERAS METODOLOGIAS PODEM ser utilizadas no laboratório de toxicologia. Este capítulo aborda tanto os aspectos analíticos quanto os pré-analíticos.

Testes de drogas de abuso são oferecidos em uma variedade de configurações e incluem testes para substâncias comumente utilizadas para fins ditos “recreativos”, como opiáceos, cocaína, anfetaminas, canabinoides e benzodiazepínicos. Testes de rápida execução auxiliam os médicos com resultados precisos para avaliar e gerir pacientes. Testes de drogas de abuso podem ser utilizados em clínicas especializadas em tratamento da dor para avaliar a evolução da terapêutica e detectar o uso inadequado ou abusivo. Clínicas de desintoxicação, especializadas em acompanhamentos de usuários crônicos, também podem se beneficiar desses dispositivos.

IMUNOENSAIOS

Os imunoenaios são feitos com base no reconhecimento da droga ou de seus metabólitos por anticorpos específicos. Esses anticorpos são de linhagem monoclonal e com pretensão de serem altamente específicos para os epítomos para o qual foram desenhados. Porém, na prática, essa especificidade nem sempre é tão precisa, o que indica que um teste de pesquisa e quantificação de drogas ou substâncias tóxicas deve ter boa especificidade, mas uma sensibilidade ainda maior. Outra dificuldade observada é que, como são testados grupos de drogas e metabólitos, os sistemas devem ser projetados para tentar identificar o maior número de drogas possível. Assim, pode-se pensar que há certo prejuízo nas especificidades dos teste, ou seja, os imunoenaios em toxicologia têm a vantagem de serem muito sensíveis; porém, em virtude da sua especificidade prejudicada, são direcionados como testes de triagem. Contudo, um resultado negativo, nesse tipo de teste, apresenta razoável certeza da ausência de substância na amostra, ao passo que um teste positivo deve ser analisado em metodologia complementar para confirmação diagnóstica.

É importante lembrar que os testes rápidos (POCT – *point-of-care testing*) também são imunoenaios, porém, qualitativos, cujo emprego vem crescendo no Brasil. No entanto, uma boa parte desse tipo de teste indica apenas se há a presença da droga, e não a quantifica. As vantagens desse tipo de teste estão no seu fácil manuseio, dispensando estruturas complexas, podendo ser disponibilizado em ambientes fora do laboratório, como beira de leito, serviços de emergência, centros cirúrgicos e até mesmo o local de trabalho dos pacientes.

Um cuidado a ser tomado é que a maior parte dos POCT disponíveis no mercado tem a sua leitura inversa. Assim, o resultado deve ser observado com cuidado, pois a presença de duas linhas indica um resultado negativo; no entanto, intuitivamente, pensa-se o contrário (Figura 1).

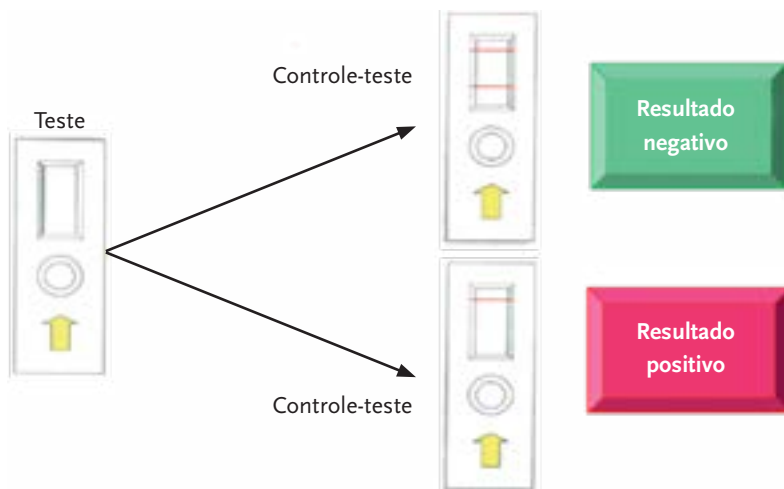


FIGURA 1 Exemplo de leitura de teste rápido.

Fonte: adaptada de Pulchinelli e Andriolo, 2008.

TIPOS DE AMOSTRAS

A urina é a amostra de escolha para a maioria dos dispositivos. A janela de detecção, via de regra, é de cerca de 2 a 3 dias. O volume necessário varia de algumas gotas a 30 mL, dependendo do dispositivo.

Para os testes de drogas de abuso, a urina tornou-se o material preferido, pois as drogas mais comuns podem ser detectadas por períodos mais longos do que no sangue. Além disso, a coleta de urina não exige flebotomia e é uma amostra estável. Isso facilita a triagem para drogas de abuso realizada no local de trabalho para avaliar potenciais empregados e aqueles que executam trabalhos perigosos ou profissões que podem impactar a segurança pública.

Uma consideração para o teste de urina é que, quando ela se encontra visualmente turva ou contendo sedimento, pode exigir pré-centrifugação para evitar resultados falso-negativos. Além disso, os médicos devem estar cientes das técnicas de adulteração e possíveis variações pré-analíticas, como aquelas envolvendo variações de pH, da gravidade específica, do aroma e da aparência. Tais achados podem sugerir tentativa de adulteração da urina.

O fluido oral (saliva) é fácil de ser coletado, compreende um método não invasivo e é improvável que seja adulterado. Ainda, evita o constrangimento de observar os pacientes que fornecem uma amostra de urina. Isso é particularmente importante se um observador do gênero adequado não está disponível para testemunhar a coleta de urina.

As drogas-mãe, e não os seus metabólitos, estão presentes na saliva e a janela de detecção é diferente daquele da urina. Por essa razão, as drogas podem ser detectadas mais cedo na saliva do que na urina. Assim, os resultados obtidos a partir de saliva podem refletir melhor o comprometimento atual do paciente.

Vários dispositivos de coleta de saliva estão disponíveis no mercado e, *a priori*, não há diferença entre eles quanto ao desempenho.

Porém, testes com base em saliva têm várias desvantagens. O rastreio de drogas pode ser analiticamente difícil, pois os analitos estão presentes em concentrações mais baixas e os volumes de amostra são menores. Por exemplo, o fluido oral é um espécime pobre para a detecção de canabinoides. Há também os efeitos da contaminação oral e do pH, que poderiam influenciar os resultados do teste na saliva, portanto as variáveis pré-analíticas devem ser cuidadosamente consideradas. Em alguns casos, pacientes que abusam de estimulantes, como anfetaminas ou *ecstasy*, podem não ser capazes de fornecer uma amostra adequada. Finalmente, há pouca informação sobre interferências vistas em testes de saliva.

INTERPRETAÇÃO E REGISTRO DOS RESULTADOS

A interpretação dos resultados e sua documentação são importantes, especialmente no âmbito do atendimento rápido ao paciente. Ao contrário das plataformas automatizadas, nesse tipo de teste, a maioria dos passos é operador-dependente, incluindo a aplicação de amostra, o tempo de reação e a interpretação visual de um ponto final.

Como dito anteriormente, na maioria dos dispositivos de drogas de abuso, a ausência ou presença de uma linha indica que uma droga está presente no limiar ou acima do que foi definido, e mesmo uma linha tênue deve ser interpretada como válida, seja em dispositivos em que a presença de linha indique resultado positivo ou a ausência de linha indique resultado positivo. Além disso, o tempo de leitura do resultado gira em torno de 5 a 10 minutos, e, se um operador prolonga demais o tempo de leitura, resultados falsos podem ser obtidos.

A leitura dos resultados é visual, o que dificulta avaliações e comparações, sendo prejudicada a análise da variabilidade tanto inter quanto intraobservador. A maior parte dos dispositivos é multianalito, e a leitura atenta dos resultados evita erros de laudo e erros de transcrição.

São dispositivos não interfaceáveis que acarretam problemas com o gerenciamento de dados. Dependendo do desenho do processo de coleta, leitura e análise, o tempo economizado pode ser perdido na transcrição, no registro e na disponibilização dos resultados.

Os registros médicos, em razão do que foi exposto, devem ter especial atenção, pois a entrada de dados passa normalmente nesses casos por uma via diferente daquela da maior parte dos analitos. Mecanismos de checagem devem, portanto, ser reforçados. As questões envolvendo o controle de qualidade são tratadas em outro capítulo.

Os resultados de relatórios devem trazer maior quantidade de informações. A precisão e a confiabilidade dos testes remotos para drogas de abuso podem ser melhoradas por meio do fornecimento de comentários interpretativos para ilustrar diferenças na sensibilidade e na especificidade do teste e facilitar a sua interpretação. Captura da imagem do resultado mostrado pelo dispositivo e sua liberação no laudo podem representar uma alternativa na facilitação da sua compreensão.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

- HRISTOVA EN, HENRY JB. Intermediários metabólicos, íons inorgânicos e marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. In: Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20. ed. Barueri: Manole; 2008.
- KLAASSEM CD, WATKINS JB. Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull. 2. ed. Porto Alegre: Mcgraw Hill (Artmed); 2012.
- MOYER TP, BURRITT MF, BUTZ JA. Metais tóxicos. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz fundamentos de química clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
- OGA S. Fundamentos de toxicologia. 2. ed. São Paulo: Atheneu; 1996.
- PINCUS MR, ABRAHAM NZ. Toxicologia e monitoramento de drogas terapêuticas. In: Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20. ed. Barueri: Manole; 2008.
- PORTER WH. Toxicologia clínica. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz fundamentos de química clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
- PULCHINELLI JR A, ANDRIOLO A. Toxicologia. In: Andriolo A. Medicina Laboratorial. 2. ed. São Paulo: Manole; 2008. p. 239-42.

A **DETERMINAÇÃO DE** elementos-traço pelo laboratório clínico vem tomando uma importância cada vez maior. Inicialmente, o interesse por essas dosagens se restringia apenas aos aspectos toxicológicos. Porém, com o aumento do entendimento sobre a fisiologia e o papel bioquímico desses elementos-traço, passou-se a ter um interesse crescente das especialidades que têm como foco uma análise sob aspecto nutricional e fisiológico (como a nutrologia), em que a faixa de observação é diferente daquela observada pelos toxicologistas. De maneira mais específica, preocupa-se com os aspectos danosos que concentrações alteradas podem causar no organismo, com foco nos aspectos desses elementos no metabolismo.

Os elementos presentes na circulação estão presentes habitualmente em concentrações muito pequenas, na ordem de grandeza de mcg/dL ou mg/kg de tecido. Assim, com a melhora nos sistemas analíticos permitiu-se um entendimento melhor sobre o comportamento desses elementos no organismo e a respeito do seu papel fisiológico.

A maior parte dos oligoelementos pertence à classe dos metais, e, como dito anteriormente, muito de seu papel nas funções normais do organismo ainda está sendo descoberto.

Essa dificuldade em entender como se dá esse papel acarreta também outros problemas subsequentes, como: quais são os níveis de referência desses elementos na população normal e sadia? Qual a melhor forma de dosá-los? A partir de que níveis é possível afirmar sem sombra de dúvida que os níveis desses elementos estão baixos e devem ser repostos? A Figura 1 mostra uma possibilidade de esquematizar essa situação.

CUIDADOS NA COLETA E NA ANÁLISE

Neste tópico, serão abordados quase exclusivamente os aspectos pré-analíticos do laboratório de metais. Os aspectos analíticos ligados propriamente ditos serão analisados em um capítulo específico sobre metodologia.

TIPOS DE AMOSTRAS

Virtualmente, qualquer tipo de amostra biológica pode ser analisado para mensuração da presença de metais. Assim, pode-se usar sangue total, plasma, soro, urina, cabelos, fezes, mecônio etc.; porém, as amostras de maior importância pelo seu significado clínico são as que provêm do sangue (total, ou soro e plasma), bem como a urina.

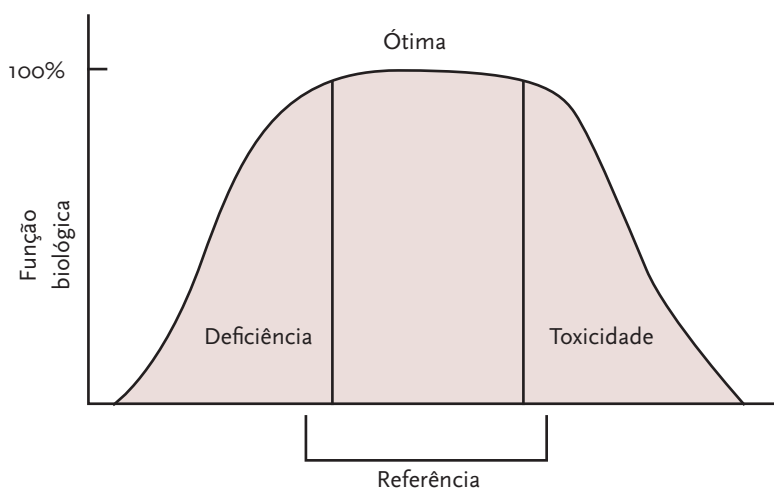


FIGURA 1 Níveis de elementos-traço e seu papel biológico.

Fonte: adaptada de Moyer et al., 2008.

Cuidados para evitar a contaminação da amostra

As amostras devem ser colhidas, obrigatoriamente, em frascos e recipientes livres de metal. Tubos comuns, mesmo sem conservantes ou gel separados não podem, em hipótese alguma, ser utilizados, pois eventualmente, podem ter ativadores de coagulação em seu interior, que, por sua vez, podem estar contaminados com traços de metal, o que inviabiliza as amostras.

Os tubos livres de metal já são disponibilizados comercialmente nessa versão prontos para uso. Antigas técnicas *in house* utilizando ácidos fortes no tratamento dos tubos para descontaminação são totalmente desaconselhadas.

As agulhas devem ser de boa qualidade e a coleta ser feita, preferencialmente, em sistemas a vácuo. As alíquotas devem ser evitadas ao máximo, pois há chance de contaminação pelo ambiente. Após a coleta, os tubos idealmente devem ser abertos somente no setor técnico.

Para coleta de urina, deve-se também evitar o uso de coletores metálicos, dando-se preferência para coletores livres de metal descartáveis e com tampas incolores ou brancas. Isso se explica pelo fato de os corantes de algumas dessas tampas terem metal na composição dos pigmentos, que, eventualmente, podem liberar traços de metal e contaminar as amostras.

Para a análise das amostras, pode-se utilizar dois tipos de metodologia: ensaios colorimétricos e espectrofotométricos. O segundo tipo é o recomendado, qualquer que seja sua modalidade (absorção ou emissão atômica) pelo seu melhor desempenho analítico. O método colorimétrico tem um desempenho inferior, sendo utilizado, atualmente, somente em elementos que tenham uma maior abundância, como ferro e cobre. Os métodos colorimétricos também são muito mais sujeitos a interferentes.

METAIS COM IMPORTÂNCIA CLÍNICA

A seguir, são listados alguns metais com maior relevância do ponto de vista clínico. Contudo, essa lista não tem a pretensão de esgotar o assunto, tampouco cobre todos os metais que podem ser dosados no laboratório e têm importância clínica, servindo, portanto, como um guia rápido para orientação dos principais pontos que devem ser observados no dia a dia.

Cromo

Tem como funções o aumento da resposta aos receptores de insulina. Assim, há evidências que aja como ativador da insulina, embora esses aspectos clínicos não tenham sido confirmados. A deficiência de cromo, então, poderia ocasionar intolerância à glicose, pois o Cr^{+3} seria um adjuvante à insulina. A deficiência também estaria, em tese, relacionada com doença cardiovascular.

A toxicidade do cromo está ligada à exposição a fumos e a poeiras metálicas e à exposição crônica associada a câncer de pulmão, dermatite e mucosite. Salienta-se que todas as formas de cromo são potencialmente tóxicas, em especial a Cr^{+3} , que também é associada a insuficiência renal aguda (IRA).

Cobre

Apresenta absorção intestinal em torno de 20 a 50% do ingerido e é transportado no sangue ligado à albumina. É armazenado no tecido hepático, estando ligado à ceruloplasmina. Pode também, eventualmente, armazenar-se nos rins e nos ossos. A excreção se dá pela bile, eliminada nas fezes e, em parte, pela urina. Em condições habituais, menos de 3% do total da excreção do cobre se dá pela via urinária, já que esse metal é eliminado do organismo predominantemente pelo sistema biliar.

O cobre participa de inúmeras funções. Dentre as principais estão a participação na produção de energia na respiração celular na citocromo C oxidase. Atua na formação do tecido conectivo através da lisil oxidase. Está envolvido no metabolismo do ferro (ferroxidase) e também aumenta a saturação de transferrina.

No sistema nervoso central (SNC), pela função na dopamina monooxigenase, atua na transformação de dopamina em noradrenalina. Por fim, tem ação antioxidante pela ação da superóxido dismutase.

Várias patologias estão relacionadas ao metabolismo do cobre. A primeira a ser lembrada é um erro inato do metabolismo à doença de Wilson, que se caracteriza pela toxicidade do cobre em virtude de seu acúmulo no SNC, nos olhos e nos rins. Em recém-nascidos malnutridos, está associada à anemia resistente ao ferro. E, nos recém-nascidos pré-termo, a deficiência de cobre se apresenta como alterações hematológicas e ósseas.

A síndrome de Menkes é caracterizada por alterações no desenvolvimento e de cabelos. A criança apresenta uma involução do desenvolvimento neuropsicomotor, a partir do surgimento do quadro, bem como alterações capilares (cabelos encaracolados). Há também indícios da participação do cobre na patogênese da doença cardiovascular.

Os níveis séricos de cobre estão muito diminuídos na síndrome de Menkes e normais ou diminuídos na doença de Wilson. Ambas as condições são decorrentes de defeitos genéticos, que envolvem a incorporação celular de cobre e a sua excreção hepática. A doença de Wilson se manifesta por doença hepática já na primeira década de vida e por

manifestações neurológicas do tipo extrapiramidal, a partir da segunda década. A doença de Menkes, por sua vez, é uma doença de herança recessiva, ligada ao cromossomo X, que se caracteriza por involução neuromotora, convulsões, grave comprometimento do SNC, associado a cabelos quebradiços e descoloridos. Nessas duas doenças, observam-se, em geral, níveis baixos da principal proteína transportadora sérica de cobre, a ceruloplasmina.

No entanto, quando existe obstrução das vias biliares, tal como ocorre na cirrose biliar e na colangite esclerosante primária, a eliminação do elemento pela urina aumenta. Da mesma maneira, na doença de Wilson, condição geneticamente determinada em que há um defeito na proteína responsável pelo transporte do cobre para o canalículo biliar, observa-se elevação na excreção urinária desse metal. O uso do quelante de cobre D-penicilamina acarreta um significativo aumento de sua excreção e contribui para avaliar, em portadores dessa doença genética, a resposta ao tratamento. Porém, ainda há condições que cursam com aumento de cobre:

- Neoplasias: linfomas, linfoma de Hodgkin;
- Doenças autoimunes: artrite reumatoide;
- Cirrose biliar;
- Tireotoxicose;
- Anemia, hemocromatose, talassemia;
- Infecções: febre tifoide e tuberculose;
- Infarto do miocárdio;
- Gestação.

Manganês

Está presente em diversos alimentos, razão pela qual sua deficiência em pessoas com dieta livre nunca foi documentada. Contudo, a restrição do aporte do metal em dietas parenterais pode ocasionar redução da síntese de colesterol, alterações ósseas e, em crianças, retardo de crescimento. Nessas situações, portanto, a dosagem ajuda o clínico no controle dos níveis séricos de manganês.

A intoxicação por manganês decorre de exposição ocupacional, na nutrição parenteral e de condições que comprometam a excreção biliar, como se observa na hepatopatia colestática, além de estar associada à hemodiálise.

O excesso desse metal no organismo cursa com anorexia, fraqueza, insônia, dificuldade de memorização, dores musculares, rigidez, distonia e quadro neurológico semelhante ao da doença de Parkinson, com tremores e alteração da marcha. Pode, ainda, haver alterações comportamentais, como episódios de mania, alucinação, apatia, depressão e confusão. O diagnóstico de intoxicação por manganês é sugerido pela clínica e pela ressonância magnética de crânio, que mostra alteração do sinal do globo pálido nas sequências T1, confirmado por meio da dosagem do metal no soro ou no plasma.

Selênio

O selênio é um elemento essencial, funcionalmente relacionado com a vitamina E e quimicamente relacionado com o enxofre. Apresenta várias formas, como selenato, selenito, selenocisteína e selenometionina; porém, via de regra, não é feita a especificação dessa forma nos laboratórios clínicos.

As deficiências relacionadas com o selênio podem ser graves, embora raras. Estão relacionadas com dietas artificiais ou locais onde o solo é pobre em selênio, como na doença de Keshan (cardiomiopatia).

As deficiências moderadas estão ligadas a alterações da função tireoidiana, imunodeficiências (diminuição da função das células B) e outras alterações hormonais e reprodutivas.

A toxicidade se apresenta como alterações de unhas e queda de cabelo.

Zinco

O zinco é um elemento-traço essencial para o organismo humano, é o segundo elemento-traço depois do ferro. Está presente, como metaloenzima, em virtualmente todos os pontos do metabolismo. O zinco total do organismo varia entre 2 e 2,5 g, está presente no músculo (50%), nos ossos (30%) e o restante está nas hemácias e nas metaloproteínas.

A deficiência de zinco condiciona o indivíduo a apresentar retardo do crescimento corporal e da maturação esquelética, atrofia testicular e hepatoesplenomegalia. Por sua vez, a deficiência moderada de zinco é caracterizada por atraso do crescimento em crianças e adolescentes, por hipogonadismo em homens e por redução das respostas imunológicas, alterações neurocomportamentais, entre outras manifestações. A acrodermatite entérica caracterizada por diarreia e lesões na pele em crianças é outra manifestação bem conhecida da deficiência de zinco. Porém, há ainda outras causas de valores baixos, como gravidez, anticoncepcional oral e as anemias hemolítica e falciforme.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

HRISTOVA EN, HENRY JB. Intermediários metabólicos, íons inorgânicos e marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. In: Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20. ed. Barueri: Manole; 2008.

MOYER TP, BURRITT MF, BUTZ JA. Metais tóxicos. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz fundamentos de química clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

PINCUS MR, ABRAHAM NZ. Toxicologia e monitoramento de drogas terapêuticas. In: Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20. ed. Barueri: Manole; 2008.

PORTER WH. Toxicologia clínica. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz fundamentos de química clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

PULCHINELLI JR A, ANDRIOLO A. Toxicologia. In: Andriolo A. Medicina laboratorial. 2. ed. Barueri: Manole; 2008. p. 239-42.

SHENKIN A, BAINES M. Vitaminas e elementos traço In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz fundamentos de química clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

A DEFINIÇÃO DA RDC 302 para teste laboratorial remoto (TLR) estabelece que são aqueles realizados por meio de um equipamento de laboratório situado fisicamente fora da área de um laboratório clínico. Também é conhecido como teste rápido, teste à beira do leito e, em inglês, *point-of-care test* (POCT), utilizado para triagem, diagnóstico ou acompanhamento de uma doença.

De acordo com a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), o TLR é:

Teste laboratorial passível de realização em sistemas analíticos especificamente desenvolvidos de forma a permitir sua execução em locais que podem ou não pertencer à área física licenciada pela Vigilância Sanitária como parte integrante de um laboratório clínico. Os equipamentos e insumos são em geral portáteis e de utilização simples e rápida, e os testes podem ser realizados por equipe devidamente treinada e capacitada, em qualquer local próximo ao paciente.

É importante reconhecer que, em algumas circunstâncias, os equipamentos de TLR, têm limitações inerentes e, por razões variadas, podem apresentar menor precisão, exatidão, sensibilidade e especificidade, em comparação aos equipamentos do laboratório que realizam os mesmos exames.

Há vários métodos/equipamentos de TLR disponíveis no mercado e, para realizar a melhor escolha, devem ser avaliados vários itens, por exemplo: comparação com os equipamentos de referência, necessidade da população que será atendida, disponibilidade de reagentes e soluções-controle, facilidade de uso na testagem, manutenção e controle de qualidade, capacidade de identificação do paciente, lotes de reagentes e controles por código de barras, range analítico, requisitos de limpeza e desinfecção (principalmente quando utilizado para mais de um paciente) etc.

Por esses motivos, um estudo do TLR é fundamental para avaliar o sistema teste antes de ser colocado em uso. O College of American Pathologists (CAP) estabelece a diferença entre validação e verificação de métodos analíticos, sendo o termo “validação” aplicado para métodos desenvolvidos *in house* ou métodos comerciais modificados, mais exigentes em termos de requisitos a serem testados e número de amostras para comparabilidade (exatidão) em relação ao método de referência. Enquanto o termo “verificação” é utilizado para o processo de confirmação das especificações analíticas definidas pelo fabricante de um método/equipamento, quando são seguidas as instruções do fornecedor, sem modificações. Independentemente do termo utilizado, é recomendável avaliar a precisão e a

exatidão do TLR, sendo ideal a comparação com um sistema analítico de referência, ou seja, com o método/equipamento mais robusto utilizado pelo laboratório.

A comparabilidade ou harmonização entre equipamentos é um requisito descrito no Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) pela norma PALC:

Quando um mesmo exame pode ser realizado por meio de diferentes sistemas analíticos, diferentes equipamentos ou analistas, diferentes locais, ou de maneira que reúna todas ou parte dessas condições, o PCIQ deve contemplar um procedimento para a verificação da comparabilidade dos resultados de amostras de clientes ao longo do intervalo clinicamente apropriado.

Uma vez que os equipamentos de TLR podem realizar exames que também são oferecidos pelo laboratório, a comparabilidade periódica é um procedimento que deve ser avaliado e definido para checar a equivalência entre os resultados. No laboratório, todos os equipamentos que realizam o mesmo exame são comparados periodicamente, no entanto, para os testes rápidos, o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI EP31) preconiza que, para programas de TLR com grande número de aparelhos da mesma marca e modelo (p. ex., glicosímetros), um procedimento alternativo é aceitável para realizar a comparabilidade ou harmonização com o equipamento de referência. Quando os equipamentos de TLR utilizam o mesmo lote de reagente (tiras ou cartuchos), o teste pode ser realizado com uma amostragem representativa dos aparelhos de TLR, acompanhada da avaliação de controle de qualidade interno e externo. Se a comparabilidade dos resultados dessa amostragem é confirmada, pode-se inferir que os demais aparelhos da mesma marca e modelo, utilizando os mesmos reagentes, também atendem aos critérios de aceitação. O ideal é que se alternem todos os aparelhos a cada harmonização periódica.

Na prática, cabe ao laboratório definir em documentos os procedimentos para validação, verificação e harmonização, incluindo o número de amostras, itens obrigatórios (precisão, exatidão, linearidade, intervalo analítico, interferentes etc.), periodicidade, registros e todas as informações necessárias para a realização dos processos.

A validação/verificação/harmonização do TLR em comparação com o método de referência requer atenção para fatores importantes, por exemplo, a equivalência entre os tipos de amostra (sangue total e plasma) e os fatores pré-analíticos que podem interferir nos resultados, prejudicando a comparabilidade.

O controle de qualidade deve ser realizado de acordo com as recomendações do fabricante. O CLSI POCT13 recomenda que os controles para TLR sejam testados a cada troca de lote de tiras reagente, a cada abertura de novo frasco de tiras, após troca de baterias, após procedimentos de manutenção e sempre que houver investigação de mau funcionamento ou deterioração de tiras reagentes.

Se qualquer resultado de controle estiver fora do intervalo de aceitação ou o operador estiver em dúvida sobre a acurácia dos resultados, a causa do problema deve ser investigada antes da realização de qualquer teste de validação, verificação ou comparabilidade, sob o risco de obtenção de resultados incorretos. Após investigação do resultado inadequado e correção do problema, as dosagens dos controles devem ser repetidas e, se o problema não for corrigido, torna-se necessário o contato com a assistência técnica do fornecedor.

Com relação aos métodos que utilizam tiras reagentes, é importante garantir que as tiras sejam retiradas do frasco imediatamente antes do uso e que não fiquem expostas ao ambiente por mais tempo do que o necessário para realizar o teste.

Antes de realizar os experimentos de validação/verificação/comparabilidade, também é necessário garantir a calibração correta do aparelho. No caso de alguns TLR, a calibração para determinado lote de tiras reagentes é introduzida no equipamento através de um *chip* ou código. Em geral, há um código de calibração em cada frasco de reagente. Uma vez inserido o código de calibração no aparelho, ele fica armazenado em sua memória e deve ser verificado antes da realização dos testes para garantir que o lote correto esteja sendo utilizado. Independentemente se o aparelho necessita de entrada de códigos de calibração (verificar as instruções do fabricante), a calibração deve ser sempre checada antes da utilização do equipamento.

Após a validação, antes de implantar o teste na rotina, é importante avaliar as recomendações do fabricante para a manutenção regular dos equipamentos por meio de um plano de manutenção.

O programa de qualidade deve ser desenhado e gerenciado pelos responsáveis. Formulários ou sistemas informatizados devem ser utilizados para acompanhamento de registros. Os operadores devem ser selecionados e treinados com avaliações de capacitação. Os treinamentos de reciclagem e avaliação de competência também devem ser previstos no programa de qualidade.

A RDC 302 estabelece que “a execução dos TLR e de testes rápidos deve estar vinculada a um laboratório clínico, posto de coleta ou serviço de saúde pública ambulatorial ou hospitalar”. A Norma PALC apresenta o mesmo requisito. Dessa maneira, quando o laboratório é contratado para atendimento laboratorial dentro de uma instituição hospitalar, muitas vezes é cobrado pela responsabilidade sobre os equipamentos de TLR.

A responsabilidade inclui a validação realizada em comparação com as metodologias utilizadas no laboratório clínico e consideradas uma referência.

De acordo com a norma PALC 2016, o laboratório também é responsável pelos procedimentos documentados que orientam os processos nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, incluindo controle de qualidade, manutenção e treinamento dos operadores do TLR.

Para atender aos requisitos das normas, o laboratório enfrenta o desafio de conscientizar os responsáveis pelo hospital da importância da correta utilização dos equipamentos para a obtenção de resultados confiáveis que impactam diretamente na segurança dos pacientes.

Para atender às exigências da legislação e normas da qualidade e, principalmente, garantir a confiabilidade dos resultados, é indicada a criação de uma equipe multidisciplinar que envolva os responsáveis pelo laboratório, representantes da direção, da equipe de gestão da qualidade, da equipe de enfermagem e da engenharia clínica do hospital.

Em instituições que buscam certificações e creditações, costuma haver melhor entendimento da necessidade de controle e monitoramento dos equipamentos de TLR. Desse modo, a interação do laboratório com o hospital, para desempenhar seu papel de participação, é facilitada. No entanto, o desafio é grande, pois os conceitos de qualidade empregados para o monitoramento dos métodos/equipamentos do laboratório também devem ser introduzidos para os equipamentos TLR utilizados pelo hospital.

Quando a relação entre o hospital e o laboratório é bem-sucedida, o hospital deve realizar o TLR com todas as necessidades de qualquer exame laboratorial atendidas, como validação do método, verificações periódicas, controle de qualidade interno e externo, treinamentos adequados para os operadores e liberação de resultados de acordo com as boas práticas de laboratório e requisitos de qualidade.

CONCLUSÃO

A indústria diagnóstica oferece a cada dia um maior número de métodos/equipamentos na linha de TLR, que pode ser realizado à beira do leito, no consultório médico, nas farmácias e nos domicílios, assim como no ambiente ambulatorial.

Paralelamente, as normas da qualidade se preocupam em oferecer diretrizes para o melhor controle e monitoramento dos resultados obtidos a partir dessa tecnologia. A preocupação do laboratório é constante para realizar a melhor escolha entre tantas opções disponíveis no mercado. Para isso, as validações/verificações de metodologias se apresentam como ferramenta importante para avaliar o desempenho dos métodos/equipamentos antes da implantação, enquanto a comparabilidade/harmonização visa a monitorar seus resultados periodicamente.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005 – Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Brasília: DOU; 2005.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Essential tools for implementation and management of a point-of-care testing program. CLSI document POCT04. Wayne, PA: CLSI; 2016.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Glucose monitoring in settings without laboratory support. CLSI document POCT13. Wayne, PA: CLSI; 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Procedures and devices for the collection of diagnostic capillary blood specimens; approved standard. 6. ed. CLSI document GP42-A6. Wayne, PA: CLSI; 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Verification of comparability of patient results within one healthy care system. CLSI document EP-31-A-IR. Wayne, PA: CLSI; 2012.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS. All Common Checklist. Disponível em: <<https://elss.cap.org/elss/ShowProperty?nodePath=/UCMCON/Contribution%20Folders/DctmContent/education/OnlineCourseContent/2017/LAP-TLTM/checklists/cl-com.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2020.

COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS. Point-of-Care-Testing Checklist. Disponível em: <<https://elss.cap.org/elss/ShowProperty?nodePath=/UCMCON/Contribution%20Folders/DctmContent/education/OnlineCourseContent/2017/LAP-TLTM/checklists/cl-poc.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). Diretriz para a Gestão e Garantia da Qualidade de Testes Laboratoriais Remotos (TLR) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). 2. ed. Barueri: Manole; 2016.

59 Modelagem e adaptabilidade: principais características do laboratório do futuro

Syllene Nunes

CUIDAR DA SAÚDE das pessoas não é uma tarefa fácil. Atualmente, a ciência do cuidado tem se tornado um desafio cada vez mais dependente da tecnologia e de profissionais com habilidades múltiplas, ecléticos e que estão reaprendendo a trabalhar em parceria com ela.

Diferentes populações, características específicas de doenças, monitoramento e gerenciamento do cuidado para assegurar o atendimento integral a cada indivíduo que busca o sistema de saúde têm exigido muito conhecimento e flexibilidade daqueles que participam da linha de frente. Mas o que dizer, então, dos gestores, que compartilham com os primeiros a oportunidade do gerenciamento? A capacidade de gerir saúde, atualmente, transcende em muito uma formação administrativa.

O fato é que a tecnologia e as pessoas se associam, fazendo rodar infinitos ciclos de melhoria contínua PDCA ou PDSA (*plan, do, check/study, act* – planejar, fazer, checar/estudar, agir), empurrando o mercado que, como um organismo vivo, vai evoluindo, de uma forma ou de outra, para patamares melhores, mais simples e acessíveis (Figura 1).



FIGURA 1 Modelo de melhoria contínua.

Fonte: adaptada de Institute for Healthcare Improvement, 2019.

Problemas complexos, ópticas diversas! Das inúmeras faces desse caleidoscópio que envolve o cuidado, o diagnóstico é, sem dúvida, a principal delas. Muitos têm especulado como será o laboratório do futuro, o novo profissional da saúde, os processos, a dinâmica. Que lógica modelará a próxima década da investigação laboratorial?

Mas, para obter a resposta, vale resgatar o conceito simples do que se chama de diagnóstico. Ele é o primeiro passo a ser seguido para que uma decisão médica correta seja tomada com vistas ao tratamento de um paciente. Mas qual é o nível de complexidade desse passo na jornada que o paciente percorre até encontrar o desfecho clínico?

Tudo começa com uma consulta, virtual ou presencial, cuja finalidade é identificar sintomas e sinais. Daí em diante, a inovação e a sofisticação tecnológica oferecem o poder da análise microscópica, molecular, *in vivo* e *in vitro* proporcionada pelas análises clínicas dos laboratórios.

No entanto, a inovação nem sempre acompanha a ambição de melhores práticas, otimização do tempo, precisão e personalização. De acordo com um relatório publicado pela National Academies of Sciences, Engineering and Medicine, em 2015, diagnósticos imprecisos ou atrasados ainda persistiam em todas as configurações de atendimento e continuavam a prejudicar um número inaceitável de pacientes naquela época.

Isso mostra que sempre há espaço para se aprimorar à luz do conhecimento e das experiências adquiridas ao longo do tempo.

As fases iniciais de um projeto de laboratório são, de longe, as mais importantes para pensar esse novo diagnóstico. Para ter sucesso, é necessário um entendimento completo do projeto, dos objetivos de negócios e das motivações por trás do *design*. É preciso aplicar essa mesma abordagem focada em operações laboratoriais compatíveis e à prova de futuro, seja para projetar laboratórios clínicos para pesquisa, seja para atendimento geral, desenvolvimento ou controle de qualidade (CQ). Além disso, a relação entre o produto de laboratório, os processos e como o produto é manuseado nas operações é essencial para garantir a entrega custo-efetiva do resultado. Para abordar isso da maneira mais eficiente, é preciso um entendimento abrangente dos processos, dos fluxos de trabalho e de operações específicas.

A redundância deve ser evitada em todas as nuances do projeto de *design*, seja do negócio, seja da área física e dos equipamentos. O aproveitamento dos espaços se torna cada vez mais importante e, nesse quesito, o tráfego de amostras por meio de esteiras inteligentes, modulares, aéreas e com independência para o fluxo de amostras ganha preferência. Os equipamentos também observam redução de tamanho, aumento de capacidade de processamento e de produção por m². Processos fechados, sem interferência manual, computadorizados, com índices de confiabilidade inimagináveis e precisão impecável são demandados.

A tendência atual é que as empresas invistam em novas instalações de laboratório ou reformem as instalações existentes para melhorar a flexibilidade – onde as principais funções e fluxos podem ser alteradas em semanas ou até mesmo dias. É aqui que os conceitos modulares de inventário e equipamento de laboratório móvel e *softwares* inteligentes se tornam mais relevantes.

Como um laboratório pode responder ao imprevisto, sem duração definida e com mudança no perfil de testes? Como se adequar a desastres naturais, surtos e novas doenças? Um exemplo disso está sendo vivenciado por todos com a pandemia atual, que levou os

laboratórios a revisitarem suas instalações, seus equipamentos, suas formas de comunicação e sua capacidade de resposta.

A experiência que está sendo vivenciada mostrou que as empresas estão convencidas da necessidade de mudança. Obviamente, os equipamentos menores, chamados de *point-of-care*, já passam a fazer parte do laboratório clínico do futuro, cuja tendência é trabalhar com esses verdadeiros tentáculos móveis, integrados a *softwares* ou plataformas de dados com informações trafegando via *web*. A comunicação direta com o sujeito do cuidado, o paciente, em qualquer lugar, do leito hospitalar até sua residência, se torna quase mandatória e, para atingir esse fim, há que se viabilizar a troca de dados e informações entre vários equipamentos, que vão desde o telefone celular aos *wearables* que monitoram afecções crônicas, como o diabetes.

Outra tendência muito evidente é o aumento do foco em como os laboratórios são usados. Tradicionalmente, um dos objetivos fundamentais do projeto de laboratório era criar espaço para um número específico de funcionários em período integral. Porém, uma pressão severa na área ocupada por essa instalação, como é o caso daqueles que funcionam em hospitais, ou mesmo aqueles pequenos núcleos técnico-operacionais que se valem de outros laboratórios de apoio para existir, gera a realocação de analistas, cientistas e pesquisadores que não podem mais ter seus próprios laboratórios e equipamentos dedicados. Há uma clara mudança de “meu espaço e minha função” para “nosso espaço e função compartilhada”, além de uma diminuição geral no tamanho das instalações do laboratório e no custo do ciclo de vida.

Sendo assim, ficar preso a uma mentalidade desatualizada pode tornar os projetos de laboratório redundantes desde o início. As organizações devem se adaptar a uma nova mentalidade empresarial de produtividade, eficiência e criatividade. E, para corresponder a esses objetivos de negócios, é preciso garantir a disseminação de conceitos mais despojados, a fim de criar laboratórios mais flexíveis e à prova de futuro, com espaços compartilhados e novas formas de organização.

Um ótimo exemplo de otimização e flexibilidade é decidir, por exemplo, ter instalações centralizadas de cromatografia líquida de alta pressão para servir a toda a instalação do laboratório ou a vários laboratórios-clientes, em vez de funções especializadas descentralizadas com equipes de especialistas individuais. E o que dizer da otimização da capacidade das equipes?

A inteligência artificial, acompanhada ou não de *machine learning*, cria a oportunidade para outro profissional de laboratório e, no conceito mais amplo, outro profissional de saúde que, agora, dispõe de uma capacidade de interpretação amplificada por conteúdos ultrarrecentes, com evidência científica, baseados em estudos multicêntricos, metanálises, séries de coorte e uma base de dados infinita para criar correlações. Algoritmos preventivos e/ou preditivos podem ser construídos com sintaxe simples de frases e/ou palavras, sem necessidade de um programador experiente em ambiente de dados, utilizando várias fontes de informação ao mesmo tempo. De repente, um único profissional pode concentrar, associar, comparar dados provenientes do sistema do laboratório, do prontuário eletrônico, do protocolo clínico de melhor evidência para o tratamento do paciente, foco de toda essa operação, em tempo real.

O desenvolvimento tecnológico oferece novidades em todos os aspectos. Agora, por exemplo, é possível integrar amostragem e análise de controle de qualidade diretamente

no equipamento do processo. Portanto, quando se olha para os laboratórios do futuro, uma das principais tendências será a adoção de atividades de controle de qualidade com funções de fabricação.

Outro movimento importante do mercado envolve as novas tecnologias e métodos operacionais que chegam ao *design* do laboratório. Atualmente, existe uma quantidade inusitada de dados digitais gerados a partir de processos de laboratório que estão subindo rapidamente a plataformas e, portanto, o tempo gasto no manuseio desses dados está aumentando significativamente. Isso influencia diretamente as operações de trabalho e os conceitos de laboratório, o que significa definir o manuseio de dados, bem como dos espaços de colaboração, mantendo a simplicidade e a adaptabilidade das estruturas.

As plataformas digitais que funcionam como grandes repositórios de informações tendem a ganhar a preferência dessas instalações mais inovadoras, agregando a gestão visual com base em *dashboards*, mapas de calor e curvas de tendência *versus* operação, criando uma realidade sem volta. Esses mapas de calor, que mostram o comportamento dos testes, desde as quantidades até os resultados, tornam-se componentes imprescindíveis ao gerenciamento e à condução do cuidado de populações e indivíduos (medicina personalizada) ao longo da cadeia de saúde.

O reconhecimento do valor dessas plataformas integradas de dados foi muito impulsionado pelo surto viral iniciado na China no fim de 2019. Várias empresas de tecnologia se esforçaram para assumir a dianteira no desenvolvimento e na implementação de soluções, mas foram rapidamente superadas pela indústria do diagnóstico. Muitas companhias desenvolvedoras de testes diagnósticos já estavam investindo seus esforços na criação de inovações para mobilização dos dados em prol de uma visão ampliada de cenários críticos de doença, permitindo a gestão da saúde populacional. Essas plataformas de dados conquistaram a preferência entre os gestores da medicina laboratorial, já que conseguiam mostrar, em tempo real, além do processamento dos testes, o comportamento relativo à positividade ou à negatividade desses testes por gênero, idade, local ou região. Isso sem falar nas ferramentas de suporte à decisão que, acopladas às plataformas de dados, proporcionaram uma integração entre todos os envolvidos no processo, do médico ao paciente, do bioquímico ao gestor do hospital ou plano de saúde.

Além disso, o tempo gasto em colaborações científicas e compartilhamento de conhecimento está aumentando e deve crescer ainda mais com a tecnologia da informação e a disponibilidade. Com relação a esse fato, equipamentos de laboratório automatizados e integrados, incluindo robótica, são mais utilizados do que nunca. E, como o equipamento robótico raramente fica em locais de trabalho pesado, ele precisa de uma área técnica simples e climatizada para mantê-lo fresco e funcionando, qualquer que seja o *design* do espaço.

Todas essas tendências estão influenciando o funcionamento dos laboratórios e continuarão a fazê-lo na próxima década. Anteriormente, os trabalhadores de laboratório passavam cerca de 60% de seu tempo dentro dele e 40% em espaços de suporte e de gravação. Em um futuro muito próximo, com o novo *design* e a nova tecnologia, espera-se que apenas 20% do tempo de trabalho seja gasto dentro das instalações físicas. Os 80% restantes serão utilizados para manipulação de dados, funções de suporte clínico e trabalho em espaços de colaboração, juntando as várias formas de diagnóstico, como as análises clínicas, a anatomia patológica, os exames de imagem e outros para auxiliar na condução do melhor tratamento.

Por fim, a automação do laboratório, a robótica e a ciência de dados transformarão o dia de trabalho típico de técnicos e cientistas em uma central de controle similar ao que acontece hoje na aviação; porém, com uma quantidade de detalhes e correlações infinitamente maior e personalizada.

Toda essa discussão em torno da inovação e do novo momento global que será vivido após a pandemia atual gera uma dúvida ainda maior no sentido de como seguir em frente e se preparar para um futuro desconhecido. Com tantas mudanças vividas entre 2019 e 2020 e tantas outras no horizonte, como repensar a medicina laboratorial e recriar instalações sustentáveis e à prova de futuro? Em verdade, não existe mais a oportunidade de inadequação.

Da modelagem dos dados até o novo desenho do espaço físico, equipamentos e formação de pessoas, tudo tem que ser pensado de modo a simplificar os processos, a logística, a função do negócio e o acesso.

Primeiro, é essencial executar as etapas iniciais corretas e criar uma base sólida para a decisão e a definição do *design*. Isso pode incluir o uso de conceitos modulares e genéricos, mas que possam integrar tecnologias futuras, em linha.

A abordagem deve ser geral, evitando-se o erro de personalizar espaços com base em tecnologias e formas de trabalho anteriores, pois a evolução não limita: ao contrário, expande.

E, por fim, é importante ratificar que o conceito do laboratório do futuro é indissociável de profissionais ecléticos, que se utilizem da tecnologia da informação e da inteligência artificial para atingir os melhores desfechos de saúde dos pacientes. Esses profissionais precisarão trabalhar com criação/inovação, e será essencial a capacidade de se adaptarem a novas situações muito rapidamente. A criação de um *networking* amplo e sólido, de altíssima credibilidade e embasamento científico, será condição inalienável do sucesso do projeto. A garantia de acesso e retorno ao demandante em tempo real servirá a todos e a cada um dos atores, concentrando-se em um fator crítico de sucesso.

Nota: O laboratório do futuro já é uma realidade oferecida mundialmente aos clientes do Laboratório Abbott, que optou por entregar mais do que um resultado de exame preciso e de qualidade ao mercado. Essa proposta de valor tem mobilizado pagadores, hospitais, laboratórios, administradores, médicos e pacientes em todo o mundo a trabalharem juntos pelos melhores desfechos de saúde das pessoas.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA E RECOMENDADA

CHEN B, BAUR A, STEPNIAK M, WANG J. Finding the future of care provision: the role of smart hospitals. New York: McKinsey & Company.; 2019. Disponível em: <<https://www.mckinsey.com/industries/healthcare-systems-and-services/our-insights/finding-the-future-of-care-provision-the-role-of-smart-hospitals#>>. Acesso em: 1 jul. 2020.

COMMITTEE ON DIAGNOSTIC ERROR IN HEALTH CARE; BOARD ON HEALTH CARE SERVICES; INSTITUTE OF MEDICINE; THE NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE; BALOGH EP, MILLER BT, BALL JR, EDITORS. Improving diagnosis in health care. Washington, DC: National Academies Press (US); 2015 Dec 29.

EUROPEAN COMMISSION. Digital diagnostics – developing tools for supporting clinical decisions by integrating various diagnostic data. SC1-BHC-06-2020. Last update: May 29, 2019.

JINGFENG C. Computation: Chinese Counting Rods. In: Seline H. Encyclopaedia of the History of Science, Technology, and Medicine in Non-Western Cultures. New York: Springer; 2008. p. 1529.

KRULL A, HIRSCH P, ROTHER C, SCHIFFRIN A, KRULL C. Artificial-intelligence-driven scanning probe microscopy. *Communications Physics*. 2020;3(1).

LIM CT. Future of health diagnostics. *VIEW*. 2020;1:e3. Disponível em: <<http://www.ihl.org/resources/Pages/HowtoImprove/ScienceofImprovementTestingChanges.aspx>>. Acesso em: 1 jul. 2020.

ROMAN R. Drawing insights from lab data can improve patient health and Health System Results. *Modern Healthcare*. 2019 December 10. Disponível em: <<https://www.modernhealthcare.com/opinion-editorial/drawing-insights-lab-data-can-improve-patient-health-and-health-system-results>>. Acesso em: 1 jul. 2020.

SCHUBERT H. Adaptability is the key design driver for laboratories of the future. Tech talk. 2020. Disponível em: <<https://www.nne.com/>>. Acesso em: 1 jul. 2020.

OS CONTEÚDOS DESCRITOS NOS MATERIAIS INFORMATIVOS A SEGUIR SÃO DE RESPONSABILIDADE DAS EMPRESAS QUE OS PRODUZIRAM E NÃO REPRESENTAM NECESSARIAMENTE A OPINIÃO OU UMA RECOMENDAÇÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML).

LABORATÓRIO CLÍNICO: A CHAVE PARA O MELHOR CUIDADO, COM SEGURANÇA

Automação, linhas de produção, grandes núcleos técnico-operacionais, logística, informatização – movimentos inexoráveis vividos pelo mercado do diagnóstico, levando a composição e a complexidade da atividade para um patamar superior.

Hoje, a capacitação tecnológica, a digitalização e a automação estão afetando profundamente a indústria da saúde como um todo. A prestação de assistência médica adquiriu uma nova forma e um aprimoramento das funções. Do lado da oferta, uma série de novas tecnologias pode, agora, ser integrada à prestação de cuidados: inteligência artificial (IA), robótica, medicina de precisão, impressão 3D, realidade aumentada/realidade virtual, genômica, telemedicina e quantas mais.²

A adoção dessas tecnologias está sendo impulsionada tanto pelas necessidades imediatas (por exemplo, enfrentamento de surtos como o da atualidade, controle de custos e otimização da eficiência) quanto pelas metas de longo prazo (especialmente maior precisão, menor incidência de erros e melhores resultados ou desfechos clínicos mais custo-efetivos). Mas os testes clínicos de laboratório não são uma mercadoria como as outras. São procedimentos analíticos sofisticados, realizados no sangue e em outros fluidos corporais, que permitem que os médicos avaliem o estado de saúde de um paciente, determinem um diagnóstico e verifiquem a eficácia do tratamento.

O teste clínico laboratorial é um componente essencial da prestação de cuidados de saúde, e os esforços para reduzi-lo a um produto simples podem causar danos significativos aos pacientes. Sob o ponto de vista da demanda, as novas tecnologias alteraram as expectativas dos consumidores. Hoje, um número crescente de pacientes deseja que os serviços de saúde sejam prestados com maior eficiência e em ambientes convenientes, confortáveis e quase normais, sem o estigma das instalações hospitalares habituais. Mas o argumento comercial para o redesenho do negócio laboratorial tem se evidenciado de maneira forte e decisiva, impondo novas regras. Isso se configura, principalmente, pela pressão atualmente percebida sobre as instituições menores, com redução do reembolso, necessidade de capilaridade e entregas de serviço *just in time*.

Segundo a McKinsey em uma publicação recente, na maioria dos países da OCDE, a implementação de tecnologias digitais na prestação de serviços de saúde poderia ajudar a reduzir os custos em mais de 10% do total das despesas nacionais anuais nesta área. Os investidores reconheceram a oportunidade, e o financiamento de capital de risco para soluções digitais de saúde aumentou exponencialmente, de cerca de US\$ 1 bilhão em 2011 para mais de US\$ 8 bilhões em 2018.² Uma grande alteração que tem sido observada nos últimos anos é a troca do foco do serviço, anteriormente baseado no tratamento de doenças, para o gerenciamento da saúde, um termo que

engloba bem-estar, vida saudável, prevenção de doenças e reabilitação. A mudança está sendo conduzida por várias frentes: tanto pelos pacientes, que desejam uma vida mais longa e saudável, quanto pelos contribuintes, que enfrentam pressões orçamentárias (e, em alguns casos, perdas financeiras).

Entretanto, por mais estranho que pareça, erros de diagnóstico e tratamento fazem parte de um cenário muito frequente em vários países.³ Pesquisas nos Estados Unidos, por exemplo, mostraram que 5% dos diagnósticos ambulatoriais são incorretos, que erros de diagnóstico contribuem para cerca de 10% das mortes de pacientes e que aproximadamente 20% dos cirurgiões ortopédicos farão uma cirurgia no local errado em algum momento da carreira. Reportagens feitas em países em desenvolvimento sugerem que as taxas de erros de diagnóstico podem ser ainda mais altas. A Organização Mundial da Saúde estima que, mesmo em países desenvolvidos, sete em cada cem pacientes hospitalizados desenvolvem uma infecção importante a cada ano. Somente nos Estados Unidos, mais de US\$ 210 bilhões são desperdiçados anualmente em “serviços desnecessários”. Essas estatísticas deixam claro que o conceito de atendimento na área diagnóstica ainda precisa ser revisitado, implementando uma transformação de pensamento para melhorar a qualidade e a efetividade do desfecho.^{2,3,4}

IA (inteligência artificial), robótica e outras novas tecnologias podem melhorar a precisão do tratamento e diminuir drasticamente a probabilidade de erro. Entretanto, o custo de tecnologias entrantes em mercados complexos costuma ser um fator limitante para uma ampla adoção dessas tecnologias num curto espaço de tempo. Dessa forma, estratégias que promovam o compartilhamento de conhecimento e experiências entre instituições que se encontrem em diferentes fases de amadurecimento podem ser um diferencial competitivo para os laboratórios que adotarem meios para viabilizá-las. Parcerias entre laboratórios, Institutos de Ensino e Pesquisa de Operadoras de Saúde e hospitais, universidades e indústria podem criar um círculo virtuoso na construção das novas boas práticas.

Mas o que fazer diante de margens baixas? Hospitais têm liderado o mercado na busca de soluções. Muitos hospitais com laboratórios em seu interior têm terceirizado essa atividade, como também a gestão administrativa, de maneira crescente, a fim de mitigar as pressões de pagamento e reduzir os custos.⁴

De acordo com uma pesquisa realizada em 2019 pela UBS internacional, um número crescente de hospitais planeja aumentar a terceirização de serviços de laboratório em resposta ao PAMA (The Protecting Access to Medicare Act, 2014).⁶ Essa tendência também é impulsionada pelos sistemas de saúde, atendendo à necessidade de executar planos de melhoria de desempenho e economia. Em julho de 2019, os dados da pesquisa da UBS mostraram que 23% dos hospitais esperavam aumentar a terceirização, sendo apenas 4% em uma pesquisa anterior. Dos entrevistados que planejam terceirizar, 42% estavam considerando o LabCorp, seguidos pelo Quest (33%) e outros prestadores de serviços (17%)⁴.

Paralelamente, os sistemas de saúde se preparam para a falta de patologistas necessários para atender à demanda futura. Enquanto o setor de saúde continua a evoluir, patologistas independentes vivenciaram uma compressão do pagamento nos níveis governamental e comercial, juntamente com a ênfase na eficiência e na qualidade. Essas alterações estão afetando diretamente os vários grupos de patologia. O número de patologistas nos EUA declinou cerca de 17% entre 2007 e 2017.^{4,5} Essa escassez só atingirá um equilíbrio se houver uma associação consistente entre profissionais altamente qualificados e experientes, dispostos a trabalhar em parceria com softwares de inteligência artificial. O antigo modelo de hospitais, com instalações independentes que prestam todos os serviços a todas as pessoas, está desaparecendo rapidamente, cedendo espaço à superespecialização. Cada vez mais

os hospitais estão se tornando apenas um componente de ecossistemas maiores e interdependentes que incluem várias outras instalações (por exemplo, prestadores de cuidados primários, clínicas, farmácias, centros de reabilitação).

Em vários países do mundo, por exemplo, algumas empresas líderes de varejo oferecem aos pacientes vários exames e tratamentos de rotina por meio de clínicas localizadas, inclusive, em lojas. Na China, os recursos médicos têm sido tradicionalmente concentrados em hospitais terciários, mas agora o governo está mudando o foco para os cuidados primários por meio de um grande esforço para construir uma rede de médicos de família e clínicas comunitárias.³

E o laboratório, como fica nesse contexto? Como interage com os outros elos da cadeia? Sem dúvida alguma, oferecendo qualidade, agilidade e valor a seus clientes.

O valor passa a ser a chave desse mundo diagnóstico personalizado que visibiliza a molécula, o código genético e o metabolismo intracelular. Porter e Teisberg definem valor em saúde como a relação entre os resultados que importam para os pacientes – ou seja, os desfechos clínicos – e o custo para atingi-los. Se o laboratório é a chave da entrega de valor, o resultado, antes considerado seu principal produto, passa a ser mais um componente.²

O laboratório clínico armazena cenários, populações doentes e saudáveis, evolução dos estados de doença, prognósticos. Entretanto, se escolher continuar entregando apenas o resultado dos testes, mesmo que em tempo recorde e com a melhor qualidade, será superado pelos concorrentes. A atualidade demanda proatividade deste elo da cadeia, que precisa atravessar as paredes dos núcleos técnicos e engajar os outros atores. Só o laboratório, com seu banco de dados e conhecimento de bancada, pode assumir esse papel. Afinal, cada laudo é um indivíduo cuja evolução de exames mostra a fotografia de sua saúde ao longo do tempo.

Na era da escassez de patologistas, paradoxalmente aparecem inúmeras ferramentas de suporte à decisão clínica capazes de devolver ao laboratório o poder de unificar esforços para o bem-estar do paciente, unindo de maneira ética o profissional mais qualificado à tecnologia, de maneira a amplificar sua capacidade de ação.⁵

A segurança do paciente representado em cada laudo emitido também é de responsabilidade do laboratório, e isso o habilita a ir além de suas paredes, atuando de maneira definitiva na cadeia de saúde. Laudos integrados, correlações entre exames, alertas relacionados ao perfil de doença, medicações associadas e possíveis alternativas terapêuticas também fazem parte de seu compromisso com o cuidado. O mercado vive, hoje, um momento crucial de adaptação e aceitação do que era inexorável. A tecnologia não substitui o profissional, mas aprimora e amplifica seu conhecimento. A tecnologia multiplica o profissional bem qualificado na ponta e permite que ele consiga impactar um maior contingente de vidas.

Vale ao laboratório clínico se apropriar, então, da condição privilegiada na qual se encontra, compartilhando a preciosidade contida em seus dados com os outros atores da cadeia. Assim, pagadores, médicos, administradores, governos e pacientes terão condição de conhecer e escolher de maneira equilibrada o melhor caminho para cada caso, além da oportunidade de criar e implementar políticas para obter o melhor desfecho por grupos de doença, áreas de incidência e vigilância. Isso tem tanta importância para o equilíbrio dos sistemas de saúde no mundo que foi motivo da criação do prêmio Univants, apoiado por grandes instituições, como AACC, IFCC, HIMSS, EHMA e outras. O prêmio visa, justamente, laurear a união entre os vários atores da cadeia

de cuidados em prol da saúde do paciente de maneira mensurável e utilizando como principal insumo o resultado dos testes laboratoriais. Os casos de sucesso em todo o mundo mostraram, em 2019, entre outras evidências, que o simples olhar de várias equipes sobre uma creatinina levemente alterada pode mudar o tempo de evolução do estado do doente para uma insuficiência renal grave. Um olhar de várias equipes para o resultado de uma troponina de alta sensibilidade, no tempo adequado, pode significar a diferença entre um desfecho satisfatório e uma sequela cardiovascular irreversível.⁷

Situações inusitadas, como o atual surto, mostram a todos de maneira definitiva a fragilidade do sistema de saúde, bem como de sua fragmentação.

Experiências exitosas em todo o mundo mostraram, durante a evolução do surto, que existe uma capacidade intrínseca de adaptação rápida do sistema no que concerne ao uso de tecnologia da informação. E isso ficou mais evidente na operação dos laboratórios clínicos, responsáveis pelos exames de identificação da doença e de comorbidades, que passaram a alimentar os governos e a sociedade com estatísticas, mapas de calor, monitoramento vivo da positividade de exames etc. Naturalmente, as instituições maiores conseguiram se adequar primeiro, mas o fato é que o mercado criou alternativas em tempo real e adequou plataformas, criou algoritmos e utilizou a comunicação móvel para atingir melhores desfechos.

De fato, se a dificuldade cria a oportunidade, pudemos vivenciar, nos últimos meses, os laboratórios clínicos expandindo sua participação, levando o valor de uma informação objetiva de diagnóstico para toda a cadeia de saúde e participando de cada protocolo de atendimento criado durante a evolução da pandemia. A tecnologia só fez catalisar essa expansão, criando um novo patamar de cooperação entre os atores.

REFERÊNCIAS:

1. WHO. "Health care-associated infections". https://www.who.int/gpsc/country_work/gpsc_ccisc_fact_sheet_en.pdf
2. Bo Chen, Axel Baur, Marek Stepniak, and Jin Wang. "Finding the future of care provision: The role of smart hospitals." Article. McKinsey & Company. May 31, 2019.
3. WHO. "Clean Care is Safer Care". www.who.int/gpsc
4. Taylor, N. "Hospitals May Boost Outsourcing of Lab Services: UBS Poll". MedTech Dive, July 17, 2019.
5. Lundberg, G.D. "How Many Pathologists Does the United States Need?" JAMA Network Open, 2(5) e194308, May 31, 2019.
6. H.R.4302. Protecting Access to Medicare Act of 2014/113th Congress (2013-2014) <https://www.congress.gov/bill/113th-congress/house-bill/4302>
7. Modern Healthcare supplement. "UNIVANTS of Healthcare Excellence: Celebrating the 2019 Winners". July, 22-2019. <https://www.modernhealthcare.com/safety-quality/univants-healthcare-excellence-celebrating-2019-winners>

ALINIQ INTEGRATED PLATFORM
SURVEILLANCE

OFERECER INSIGHTS CRÍTICOS PARA LIDAR COM O IMPACTO DE DOENÇAS INFECCIOSAS NA SAÚDE PÚBLICA

O laboratório diagnóstico é a primeira linha de defesa de uma comunidade em uma crise de saúde pública. Antes de um surto, os dados de vigilância laboratorial suportam a detecção precoce em regiões e populações. Durante um surto, os dados laboratoriais são essenciais para rastrear as tendências de diagnóstico, a eficácia dos protocolos de teste e tratamento e orientar as decisões baseadas em evidências sobre a distribuição de recursos críticos. Sem acesso oportuno a ferramentas que agregam e interpretam os dados, a propagação e o impacto de uma doença podem ser mal compreendidos, os programas de saúde comunitários estabelecidos falham e as ferramentas e pessoas necessárias para combater a doença não são alocadas àqueles que mais precisam.

Apoiados pelo poder de AlinIQ Integrated Platform, Surveillance Analytics oferece aos líderes de laboratório os insights críticos necessários para lidar com o impacto de doenças infecciosas nas comunidades e populações que atendem. Com a capacidade de agregar dados além do que normalmente está disponível em um LIS/EMR e visualizações fáceis de entender para as métricas de relatórios mais críticas, os relatórios de vigilância estão acessíveis quando você precisa e são refinados facilmente para atender a necessidades agudas e urgentes.



Agendar relatórios de e-mails personalizados para apoiar a vigilância



Rastrear volumes de testes por CEP/ códigos postais, gênero do paciente e idade



Monitorar as taxas de diagnóstico por código postal, centro de testes e solicitante



Tomar decisões orientadas por dados para otimizar a alocação de recursos



Identificar o impacto dos esforços de vigilância ao longo do tempo



“À MEDIDA QUE O INTERESSE NA OBTENÇÃO DE UMA RESPOSTA GLOBAL ÀS DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS AUMENTA, OS PROFISSIONAIS DE SAÚDE PÚBLICA PRECISAM AVALIAR CONSTANTEMENTE SEU DESEMPENHO NA DETECÇÃO E RESPOSTA A ELAS.”¹

CHOOSE TRANSFORMATION™

ADD-00071326
Exp. Date: 02 de Junho de 2022
Referência: ADD-00070396

1. https://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/WHO_CDS_EPR_LYO_2006_2.pdf Accessed 4/1/2020

AlinIQ é uma marca registrada da Abbott Laboratories em diversas jurisdições; AlinIQ é um produto isento de registro.

COVID-19

TESTE RÁPIDO DE PUNÇÃO DIGITAL PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS IgM/IgG

AMPLIE O ACESSO À TESTAGEM PARA COVID-19

- Tempo de leitura: 10-20 minutos
- Tipos de amostra por punção digital de sangue total, sangue venoso, soro e plasma
- Testagem descentralizada alivia os hospitais superlotados
- Útil em *drive-through*, farmácias, visitas residenciais, pronto atendimento hospitalar, serviços ambulatoriais e laboratórios

SYMPHEOS™ SYSTEM

COLETA E VISUALIZAÇÃO DE DADOS EM TEMPO REAL PARA PROGRAMAS DE TESTAGEM DA COVID-19

TESTE RÁPIDO*



Acesso contínuo aos resultados dos testes de anticorpos

APLICATIVO SYMPHEOS™ PARA DISPOSITIVOS MOVEIS**



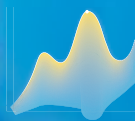
Coleta de dados descentralizados em tempo real

COLETA DO SYMPHEOS™



Registro dos resultados para gerenciamento do seu programa de testagem

INFORMAÇÕES DO SYMPHEOS™



Visualização dos dados, tendências e relatórios



Panbio™ COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device

DIAGNÓSTICO POCT PARA INFECÇÃO RESPIRATÓRIA AGUDA.

Sintomas como tosse, febre e falta de ar são comuns a infecções causada pelo Vírus Sincial (VSR), Influenza e bactérias como *S. pneumoniae* e Legionela podendo gerar casos de síndrome respiratória aguda grave e pneumonia.

S. PNEUMONIAE IMUNOCROMATOGRAFICO

Deteção qualitativa de antígenos urinários do *Streptococcus pneumoniae*. Também executável em líquido para diagnóstico de meningites.

- BinaxNOW *S.pneumoniae*



LEGIONELLA IMUNOCROMATOGRAFICO

Deteção qualitativa de antígenos urinários de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1.

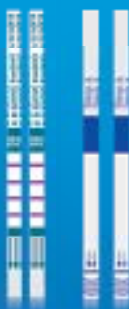
- BinaxNOW Legionella



INFLUENZA IMUNOCROMATOGRAFICO

Deteção qualitativa e diferencial de antígenos do vírus da Influenza A e Influenza B e subtípico A (H1N1).

- Influenza Ag Pandêmico A/B/H1N1



RSV IMUNOCROMATOGRAFICO

Deteção qualitativa do antígeno do vírus sincial respiratório.

- BinaxNOW RSV



STREP A IMUNOCROMATOGRAFICO

Deteção qualitativa de antígenos do *Streptococcus* do Grupo A (Strep A).

- Strep A Rapid Test

ENSAIO ABBOTT REALTIME SARS-CoV-2

CIÊNCIA LÍDER

Ensaio de Duplo Alvo para os genes RdRp e N

Deteção qualitativa de ácido nucleico a partir do SARS-CoV-2

A análise de dados por *maxRatio* [razão máxima] aumenta a confiança ao remover a subjetividade do operador

SOLUÇÕES QUE CAPACITAM

O carregamento de amostras primárias com extração de amostras e preparação da mistura principal automatizadas reduz o tempo de manipulação e aumenta a confiança nos resultados

O processo automatizado expansível permite volumes de testes flexíveis (24-96 amostras) e eficiência do fluxo de trabalho

Até 470 amostras de pacientes em 24 horas

PARCEIRO DE CONFIANÇA

Garantia de acesso a este importante teste para atender a uma necessidade de saúde pública a partir de um parceiro de testes moleculares dedicado e de confiança

Embaixadores, equipe de suporte técnico e técnicos de atendimento/ suporte comprometidos prontos para auxiliar os laboratórios



Para uso diagnóstico *in vitro*

WWW.MOLECULAR.ABBOTT

AMD.14865 BRA © 2020 Abbott.
RMS: 80146501301/ 80146501740/ 80146502251
EXP.: Mar 23, 2021.



O PAPEL DA HEMATOLOGIA NO MONITORAMENTO DA COVID-19

A doença causada pelo coronavírus 2019, abreviada como COVID-19, é uma pandemia global que vem sendo extensivamente estudada desde o seu surto inicial. Pesquisadores examinaram a progressão da doença na população hospitalizada com o objetivo de identificar maneiras de otimizar os cuidados prestados aos pacientes. Uma área de estudo examina o papel dos parâmetros hematológicos, disponíveis a partir de um hemograma simples e econômico (CBC), para a avaliação da progressão da doença, monitoramento terapêutico e previsão do prognóstico.

Os biomarcadores hematológicos quantitativos foram avaliados por vários estudos em pacientes com PCR positivo confirmado, a fim de rastrear as tendências dinâmicas em pacientes hospitalizados e avaliar se essas alterações podem ajudar a prever a gravidade da doença, a necessidade de UTI e auxiliar na decisão de regimes de tratamento. Diferenças estatisticamente significativas nas tendências foram observadas para aqueles que necessitaram de cuidados de UTI em comparação com aqueles que se recuperaram sem a necessidade de intervenção com cuidados intensivos. Os achados hematológicos mais comuns incluíram linfocitopenia, neutrofilia, eosinopenia e trombocitopenia leve^{1,2}.

Foi demonstrado estatisticamente que o agravamento da linfopenia, neutrofilia e trombocitopenia progressiva está relacionado ao agravamento da doença e à necessidade de intervenção com cuidados intensivos^{1,2,3,4}. Alguns estudos também mencionam anemia e presença de linfócitos reativos atípicos⁵. Evidências científicas recentes indicam uma tendência específica para a resposta plaquetária com progressão da doença e mecanismos fisiopatológicos relacionados ao desenvolvimento de anormalidades da coagulação⁵, eventos tromboembólicos⁶ e até coagulação intravascular disseminada em casos graves⁷.

Inflamação sistêmica grave e infecções superpostas foram observadas em pacientes gravemente enfermos, possivelmente devido a mecanismos imunológicos e citocinas pró-inflamatórias. Isso pode levar ao aumento de células mielóides imaturas descrito na literatura, e uma reação granulocítica pronunciada na circulação periférica em doentes críticos. Como os granulócitos neutrofilicos apresentam várias fases morfológicas e reativas imaturas⁸, a quantificação correta desses leucócitos inflamatórios

com um analisador hematológicos que reporta também granulócitos imaturos como parâmetro adicional tem uma grande importância clínica. Contagem de granulócitos imaturos e percentuais são considerados ferramentas de triagem e prognóstico para a previsão de sepse, bacteremia ou infecção grave⁹.

Nestes tempos difíceis para o sistema de saúde, o monitoramento da progressão da doença com a avaliação desses parâmetros comuns disponíveis no CBC, pode melhorar a utilização de recursos. O CBC pode ser usado para avaliar a condição dos pacientes diagnosticados com COVID-19 a fim de garantir o nível adequado de cuidados prestados e a intensificação desses cuidados se necessário.

A Abbott oferece uma ampla gama de sistemas de hematologia escaláveis para atender as crescentes necessidades do sistema de saúde durante esta crise global sem precedentes. Sistemas pequenos e compactos que fornecem um CBC com contagem diferencial de leucócitos (WBC) em questão de minutos para instrumentos de alta produtividade, como o sistema Alinity h-series, capaz de gerar centenas de resultados em uma hora, incluindo uma diferencial de leucócitos em seis partes com granulócitos imaturos. Recursos avançados de conectividade também dão suporte para melhores decisões clínicas com a facilidade de análise do paciente e avaliação de tendências dos dados laboratoriais. Nossa família de soluções tem um histórico comprovado de eficácia e pode apoiar o manejo dessa população diversificada de pacientes.

www.corelaboratory.abbott/hematology

REFERÊNCIAS:

1. Lu, G & Wang J. Dynamic changes in routine blood parameters of a severe COVID-19 case. *Clinica Chimica Acta*. 2020. (508) 98-102
2. Fan BE, Chong VCL, Chen S et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Hematol*. 2020. 95; E131-E153
3. Tan et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19, a descriptive and predictive study. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020 5:33
4. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2020
5. Fan BE, Lim KGE, Chong VCL, et al. COVID-19 and mycoplasma pneumoniae coinfection. *Images in hematology*. AJH. 2020
6. Xu Panyang, Zhou Qi, Xu J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. *Annals of Hematology*. 2020
7. Klok FA, Kruij MJHA, Meer NJM et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thrombosis Research*. 2020
8. Zini G, Belleri S, Ramundo F, Giuseppe DO. Morphological anomalies of circulating blood cells in COVID-19. *Images in hematology*. AJH. 2020
9. Niarhaus A, Klätte S, Eismann NM et al. Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis - a prospective, observational study. *BMC Immunol*. 2013. 14:8

ADD-00071325

Registro MS: 80146502143 / 80146502148

Exp. Date: 02 de Junho de 2022



Alinity

ci-series



Alinity ci-series

Uma nova maneira de entregar valor ao sistema de saúde



UNIFORMIDADE por todo o laboratório



FLEXIBILIDADE para se adaptar às mudanças do cenário



PRODUTIVIDADE OPERACIONAL para melhorar desempenho e fluxo de trabalho



CONFIANÇA nos sistemas e desempenho

CHOOSE TRANSFORMATION™

Alinity é uma marca comercial da Abbott Laboratories em várias jurisdições.
©2020 Abbott Laboratories. ADD-00071324
Registro MS: 80146502000 / 80146502005 / 80146502006
Exp. Date: 25 de Junho de 2022



Abbott

A qualidade da fase pré-analítica impacta no diagnóstico clínico

BD Vacutainer® Preanalytical Quality Check

O BD Preanalytical Quality Check possibilita identificar e monitorar as possíveis causas dos erros pré-analíticos, proporcionando informações fundamentais para o dia a dia do laboratório.

- Índices de rejeição/ recoletas
- Segurança do profissional da saúde
- Erros de identificação do paciente
- Técnica de punção
- Fluxo laboratorial e tempo de resultado
- Controle de infecção
- Requerimentos para acreditação

Acompanhamento da fase pré-analítica



Armazenamento



Coleta de Sangue



Transporte



Preparo da Amostra



Qualidade da Amostra



Análise

Solução BD Vacutainer® para coleta de sangue a vácuo



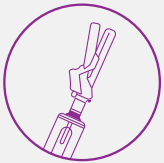
Impulsionando a
gestão de amostras,
**melhorando resultados
e transformando vidas**
uma amostra por vez.



Escalpe BD Vacutainer®
UltraTouch™ Push Button



Tubos
BD Vacutainer®



Agulha
BD Vacutainer® Eclipse™

Soluções BD para uma coleta de sangue mais segura

A segurança dos profissionais de saúde está cada vez mais em destaque, e um procedimento de coleta de sangue com os dispositivos adequados pode ajudar a evitar acidentes.

Agulhas BD Vacutainer® Eclipse™



As agulhas BD Vacutainer® Eclipse™ são agulhas para coleta de sangue a vácuo com um exclusivo dispositivo de segurança que recobre toda a agulha após seu uso. Este é ativado com um dedo, reduzindo o risco de uma punção acidental e reutilização.

Escalpe BD Vacutainer® Safety-Lok™



Trava de segurança aliada a praticidade e eficiência, projetada para prevenir acidentes perfurocortantes, proporcionando maior segurança ao profissional de saúde.

Acidentes de trabalho

Escalpe BD Vacutainer® UltraTouch™ Push Button



Possui a inovadora tecnologia PentaPoint™ com bisel pentafacetado que proporciona menos dor ao paciente durante a punção.

88%

Seu dispositivo de segurança automático Push Button reduz em até 88% os acidentes com perfurocortantes³.

20 PATÓGENOS DIFERENTES



podem ser transmitidos em acidentes com fluidos biológicos, entre eles HIV, HBV e HCV¹.

276,6 MIL CASOS REGISTRADOS



pelo Ministério da Saúde entre 2010 e 2015².

26,9%



dos acidentes de trabalho estão relacionados ao descarte inadequado de perfurantes.

É a primeira posição na causa de acidentes².

91,3%



são causados por equipamentos inadequados².

Tubo BD Vacutainer® Barricor™

Tubo para separação de plasma



A solução é clara

Quando se busca eficiência
sem comprometer a qualidade
da amostra.



**Resultados
rápidos**



**Amostra de plasma
de alta qualidade**



**Melhora
do processo**

O BD Vacutainer® Barricor™

através da tecnologia inovadora do **separador mecânico**, auxilia a entregar resultados mais rápidos ao mesmo tempo em que fornece a mais alta qualidade de diagnóstico e experiência ao paciente.



Surpreenda seu paciente com um cuidado especial na coleta de sangue.



Escalpe BD Vacutainer® UltraTouch™ Push Button

Tecnologia Push Button

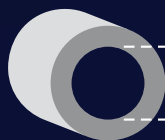
Dispositivo de segurança com retração automática da agulha direto da veia do paciente.

Tecnologia PentaPoint™

Agulha com bisel pentafacetado, diminui a sensação de dor.

Tecnologia PentaPoint™

Parede ultra fina que permite o uso de calibres menores para facilitar o acesso venoso difícil, sem comprometer a qualidade da amostra.



23G Cânula de parede fina com bisel trifacetado



25G BD Vacutainer® UltraTouch™ Push Button



25G Cânula de parede fina com bisel trifacetado

Segurança e precisão nos resultados

As seringas BD A-line™ e BD Preset™ foram desenvolvidas para a obtenção de amostras sanguíneas de alta qualidade.

A correta dispersão do anticoagulante na amostra proporciona acuracidade do exame de gasometria o que é essencial para a correta conduta médica. Somente uma amostra de qualidade irá gerar um resultado confiável.

BD A-line™ e BD Preset™
Soluções para Gasometria



Dispositivo de segurança
BD Eclipse™



Tampa
BD Hemogard™



É a hora de nos questionarmos sobre exame de urina?

BD Vacutainer®

Sistema de coleta de urina

Sistema de coleta de urina

20 minutos é o tempo necessário para dobrar a quantidade de bactérias quando a amostra de urina é acondicionada incorretamente.



Com a solução BD Vacutainer® para coleta de urina, é possível manter a amostra conservada em temperatura ambiente por até 48 horas.





Especializada na quantificação de proteínas plasmáticas e oferta de soluções diagnósticas inteligentes

Fundada por pesquisadores da Universidade de Birmingham, há mais de 30 anos a Binding Site aplica sua vocação científica no desenvolvimento de novos produtos e serviços tudo feito com base nas necessidades dos médicos e pacientes.

Oferece produtos especializados para diagnóstico in vitro aos hospitais e laboratórios clínicos do mundo todo. Sempre comprometida em trabalhar colaborando com seus parceiros e clientes, a empresa busca ser líder em diagnósticos médicos especializados.

Sua equipe dedica-se ao aprimoramento do diagnóstico clínico, proporcionando condutas médicas inovadoras que melhoram a vida dos pacientes, especialmente aqueles que sofrem de alguma enfermidade relacionada à Gamopatia

Monoclonal ou possuem Imunodeficiências.

Essa história de sucesso tem na capacitação de sua equipe um pilar fundamental. Investe-se continuamente em capital humano para que as competências necessárias ao negócio da empresa sejam desenvolvidas e alinhadas à Missão, Visão e Valores da empresa.

Compromissada com a inovação a Binding Site aposta na pesquisa e desenvolvimento de novas tecnologias e plataformas de automação para quantificação de proteínas plasmáticas especiais.

1. Novos produtos clínicos da Binding Site: Detecção de proteínas no líquido

Com foco em fornecer a solução completa e estar na vanguarda tecnológica, a Binding Site trabalha sempre pensando em agregar novos produtos ao menu já existente.

Assim, encontram-se disponíveis exames específicos para auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de doenças do **Sistema Nervoso Central**: Albumina no líquido, Freelite® no líquido (cadeias leves e livres kappa e lambda) e Imunoglobulinas no líquido (IgA, IgM, IgG).

A seguir, veja os exames específicos para quantificação de proteínas no líquido comercializados pela Binding Site no Brasil já disponíveis para uso.

	Código do Produto	Quantidade de testes por kit
Albumina LCR	NK032.L.OPT	100 testes
IgG LCR	NK004.L.OPT	60 testes
IgA LCR	LK010.L.OPT	60 testes
IgM LCR	LK012.L.OPT	60 testes
Freelite MX kappa	LK016.M.OPT	100 testes
Freelite MX lambda	LK018.M.OPT	100 testes

Para os próximos anos, a empresa segue trabalhando para que outros produtos também estejam disponíveis para quantificação por turbidimetria, como: C2, C1q, Fator I, Amilóide A, Fibrinogênio, etc. Veja o menu clínico completo da Binding Site nos materiais de marketing a seguir.

2. Vanguarda tecnológica – Espectrometria de Massa

Trabalhando sempre com tecnologias de ponta, a Binding Site realizou uma parceria com a Mayo Clinic dos EUA, buscando o desenvolvimento de uma tecnologia que irá revolucionar a quantificação de proteínas especiais para grandes rotinas. Por mais de duas décadas, a Binding Site e a Mayo Clinic estão envolvidas em atividades colaborativas. São expertises complementares com foco no lançamento de produtos que tragam impactos positivos à conduta médica e à qualidade de vida dos pacientes, em particular àqueles que sofrem de alguma Gamopatia Monoclonal, como o Mieloma Múltiplo.

A nova tecnologia, que é baseada em interações antígeno-anticorpo e espectrometria de massa, pela primeira vez, será capaz de identificar e quantificar simultaneamente todas as proteínas de interesse clínico presente em pacientes com Mieloma. Ela eliminará a interpretação subjetiva inerente aos métodos atualmente disponíveis (imunofixação), melhorando a segurança dos resultados, além de otimizar o fluxo de trabalho do laboratório.

Essa parceria mostra mais uma vez que a Binding Site está a frente da tecnologia colaborando na luta contra o Mieloma Múltiplo e outras doenças relacionadas. A tecnologia está com lançamento programado para o ano de 2021.

3. Freelite® (cadeias kappa/lambda leves livres)

Além dos novos produtos e tecnologias citadas anteriormente, a Binding Site segue sendo sinônimo de inovação no que se refere ao diagnóstico, prognóstico e monitoramento de **Gamopatas Monoclonais**. O produto **Freelite** é o único kit comercial recomendado pelas Diretrizes Internacionais e Brasileiras para a dosagem de Cadeias Leves Livres (CLLs) Kappa (κ) e Lambda (λ) em soro. O teste, considerado biomarcador para diagnóstico e monitoramento desses pacientes, foi incorporado ao **ROL de procedimentos e eventos em saúde da Agência Nacional de Saúde (ANS)**, que entrou em vigor em janeiro de 2018. Desde então, os planos de saúde são obrigados a cobrir os custos laboratoriais envolvidos na realização desse exame (código CBHPM 4.03.24.26-5).

Mais especificamente, os **anticorpos policlonais** do teste, reagem apenas com as **formas livres** das cadeias leves proporcionando uma medição quantitativa de κ e λ livres no soro, cujo resultado pode ser utilizado para diagnóstico, monitoramento e prognóstico de pacientes com Mieloma Múltiplo e outras Gamopatas Monoclonais.

As recomendações atualizadas das diretrizes definem que a relação entre a cadeia envolvida e não envolvida deve ser ≥ 100 , e que a mesma é um biomarcador para mieloma. Isto significa que se um paciente apresenta células clonais na medula óssea $\geq 10\%$, a cadeia leve

livre produzida pelo tumor é ≥ 100 mg/L e a relação entre kappa/lambda é ≥ 100 , trata-se de uma caso de mieloma múltiplo (Rajkumar et al, 2014). Além das diretrizes internacionais,, a quantificação das cadeias kappa/lambda leves livres pelo ensaio de anticorpos policlonais também está incluída nas nacionais (Hungria et al 2013) e na Portaria número 708 para Diagnóstico de Mieloma Múltiplo do Ministério da Saúde, publicada em 06 de agosto de 2015.

A alta concentração de CLL monoclonal no soro está associada à proliferação maligna de células plasmáticas na maioria dos casos de gamopatas monoclonais. **A proporção de cadeias leves livres no soro (κ/λ)** é um indicador sólido de **monoclonalidade**. A associação do teste de cadeia kappa/lambda leve livre no soro (CLL, Freelite®) aos testes laboratoriais tradicionais como a eletroforese de proteínas (EFPs) e a imunofixação no soro (IFs), resulta na diminuição do número de resultados falso negativos, conferindo maior segurança para os pacientes, corroborando ainda mais com as boas práticas clínico-laboratoriais.

4. Nova plataforma automatizada Optilite: O Futuro dos Analisadores de Proteínas Especiais

Lançado em 2015 na Europa e nos Estados Unidos, a Binding Site já tem 725 unidades do Optilite® instaladas em todo mundo até o mês de maio de 2020. A plataforma foi lançada no Brasil em 2017 no 51º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica. Desde então, o Optilite® já está na rotina laboratorial dos principais grupos de medicina diagnóstica no Brasil como Grupo Fleury, Diagnósticos da América (DASA) e Diagnósticos do Brasil (DB), e também em Hospitais de referência, como o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina-DLC-SP, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho no Rio de Janeiro-UFRJ e Hospital Israelita Albert Einstein.

Trata-se de um compacto analisador de bancada com sistema inteligente e de fácil utilização, possui protocolos de exames otimizados que minimizam o gasto de reagentes e conseqüentemente reduzem os custos. O Optilite® tem capacidade para execução de no mínimo 120 testes por hora, carregamento contínuo, interface bidirecional e utilização de tubos com códigos de barras que dão agilidade ao fluxo de trabalho. Para assegurar a qualidade e aumentar a confiabilidade dos resultados, o Optilite® possui três métodos de verificação de excesso

de antígeno, minimizando a ocorrência de resultados falso negativos, além de utilizar cubetas descartáveis de reação, diminuindo o risco de contaminação. Ainda, possui sistema automático de diluição para amostras altamente concentradas, eliminando em 100% a necessidade de diluições manuais (necessárias em outras plataformas que quantificam proteínas plasmáticas, como os nefelômetros) e identificação automática do número de lote de reagentes, permitindo rastreabilidade total. Essas e outras características, fazem com que o Optilite® seja a plataforma de escolha dos especialistas da área, além de se enquadrar nas boas práticas clínicas laboratoriais preconizadas.





Painel de exames para quantificação de proteínas em líquido cefalorraquidiano

A Binding Site disponibiliza uma solução completa de exames para quantificação de proteínas em líquido cefalorraquidiano (LCR).

O painel de exames oferece os seguintes benefícios para seu laboratório:

- Diluições automáticas até o resultado final sem necessidade de intervenção manual
- Intervalos de diluição mais amplos e com protocolos otimizados
- Intervalos de referência específicos para LCR
- Detecção de excesso de antígeno automática que garante mais confiança nos resultados

A análise do líquido pode ser útil no diagnóstico de uma variedade de distúrbios do sistema nervoso central (SNC), como por exemplo para encefalite viral, malária cerebral ou doenças autoimunes como a esclerose múltipla.

A análise quantitativa de IgG ou de cadeias leves livres (CLLs) pode ser usada como uma forma de avaliação da síntese intratecal.

Veja a seguir os produtos que a Binding Site oferece para seu laboratório.

Referências

1. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001; 184:101-
2. Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May; 111(4):313-8.



O futuro das Análises de Proteínas Especiais

O Optilite® é a mais moderna plataforma para quantificação de proteínas especiais. De tamanho compacto, software intuitivo, a plataforma foi desenvolvida para trazer simplicidade a processos analíticos complexos.

Otimização do fluxo de trabalho ♥ Segurança nos resultados

Menu de testes

Gamopatas Monoclonais

Freelite® (quantificação de cadeias leves e livres)

Sistema Imune

IgA, IgM, IgG, IgD e IgE, Suclases de IgG e IgA, Sistema Complemento (CH50, C1 inativador, C1q, C2, C3c e C4)

Sistema nervoso central

Albumina, Freelite, Cistatina e Imunoglobulinas no líquido.

Nefrologia

Cistatina, Microalbumina
Beta-2-Microglobulina, Transferrina

Proteínas Específicas

PCR, ASO, Fator Reumatóide, Ferritina, Transferrina, Pré-Albumina, Ceruloplasmina, Haptoglobina, Alfa-1-Antitripsina, Alfa-1-Glicoproteína Ácida, Lipoproteína(a), entre outras.

Freelite[®]

Ensaio de Cadeias Leves Livres em Soro

Referência no diagnóstico de Mieloma Múltiplo

Você atende pacientes com as seguintes doenças ou sintomas?

- ▶ Osteoporose
- ▶ Dor ou fraturas ósseas
- ▶ Neuropatia periférica
- ▶ Hipercalemia
- ▶ Nefropatia
- ▶ Anemia
- ▶ Dorsalgia



Pense em Mieloma Múltiplo

Por que pensar em “Mieloma Múltiplo”?

Pacientes com Mieloma Múltiplo são difíceis de diagnosticar porque frequentemente apresentam diversos sintomas inespecíficos. Freelite é uma ferramenta de diagnóstico poderosa para a avaliação inicial de seu paciente.

O que é Freelite?

Freelite é o único teste que mede e avalia os níveis de cadeias leves kappa e lambda LIVRES presentes em soro ainda que em concentrações normais.

Diretrizes recomendadas

Se houver suspeita de gamopatia monoclonal, o Grupo Internacional de Trabalho sobre Mieloma recomenda incluir o ensaio quantitativo das Cadeias Leves Livres em soro (Freelite) já na fase inicial da investigação diagnóstica para assegurar a sensibilidade necessária à detecção da doença. Freelite combinado com o teste de eletroforese de proteínas do soro (ELPs) detectam 100% dos casos de Mieloma Múltiplo. ¹⁻²

Como o Freelite é usado?

Freelite, quando usado em combinação com ELPs (eletroforese de proteínas do soro) proporciona 100% de precisão, permitindo a detecção precoce por meio da mais alta sensibilidade disponível para o diagnóstico de mielomas múltiplos.³⁻⁵

Sensibilidade de diagnóstico: porcentagem de paraproteínas detectadas

	Mielomas múltiplos ⁶	Amiloidose AL ⁷	Mielomas múltiplos de cadeia leve ^{8,9}	Mielomas múltiplos não secretores ¹⁰
ELPs somente	88	53	57	0
Freelite somente	97	98	100	68
ELPs, Freelite +/- IFE	>99	98	100	68

Sensibilidade de diagnóstico: porcentagem de paraproteínas detectadas

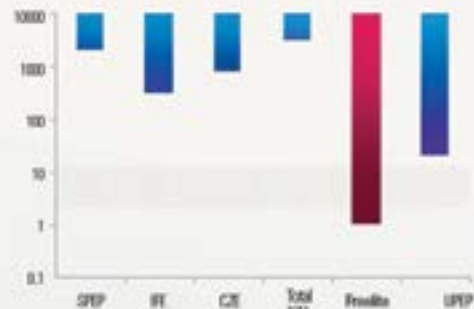
Soro de um adulto normal	Faixa de percentil 95%
Kappa livres	3,30-19,40 (mg/L)
Lambda livres	5,71-26,30 (mg/L)
Proporção kappa/lambda	Faixa total 0,26-1,65

Como posso solicitar o ensaio de Freelite

Todos os grandes laboratórios de referência e diversos laboratórios de hospitais oferecem o Freelite.

Observação: Alguns laboratórios realizam ambos os ensaios de cadeias leves LIVRES e TOTAIS. É importante especificar "cadeias leves livres" ("cadeias leves kappa livres, cadeias leves lambda livres, e a respectiva relação entre elas") ao solicitar estes ensaios a fim de garantir que as análises corretas sejam realizadas.

Sensibilidade de Diferentes Testes para Detecção de Cadeias Livres



Freelite é um ensaio automatizado que mede as cadeias leves livres kappa e lambda em soro e urina

Freelite é o único ensaio que possibilita a quantificação dos níveis das cadeias leves kappa e lambda ainda que elas estejam dentro do intervalo de normalidade.

A relação anormal entre a quantificação das cadeias kappa/lambda é um marcador sensível e específico de uma gamopatia monoclonal clinicamente importante

Referências

- Dispenzieri A, et al. Leukemia 2009; 23:215-224
- Katzmann JA, et al. Clin Chem 2009; 55:1517-1522
- Keren. Warde Report 2010; 21
- Bakshi, et al. Am J Clin Pathol 2005; 124:214-218
- Hill, et al. Clin Chem 2006; 52:1743-1748
- Lachmann HJ, et al. Br J Haematol 2003; 122:78-85
- Abraham RS, et al. Clin Chem 2002; 48:655-667
- Bradwell AR, et al. Lancet 2003; 361:489-491
- Drayson M, et al. Blood 2001; 97:2900-2902

Adesão às Diretrizes Médicas: o caminho para antecipação do diagnóstico de Mieloma Múltiplo e otimização de recursos

Pacientes com sintomas inespecíficos:

- ▶ Cansaço, dor óssea ou dor lombar^{1,2}
- ▶ São atendidos por clínicos gerais¹
- ▶ Podem estar com sinais iniciais de Mieloma Múltiplo²

Diagnóstico precoce pode prevenir:

- ▶ Complicações secundárias¹
- ▶ Condições debilitantes
- ▶ Aumento dos custos³

Exames recomendados pelas diretrizes:

- ▶ Garantem a antecipação do diagnóstico do Mieloma Múltiplo.^{4,5}
- ▶ Permitem o monitoramento do risco
- ▶ Apenas 6% das solicitações médicas estão de acordo com as diretrizes³

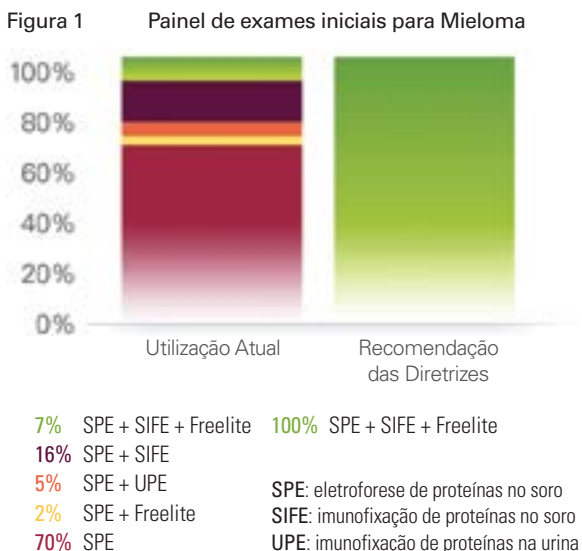
A adesão às diretrizes médicas faz com que haja uma redução significativa nos gastos.

Garanta que o hospital e laboratório de sua preferência sigam as diretrizes médicas preconizadas.

Para mais informações contate nossos especialistas pelo info@bindingsite.com.br

Modelo econômico aplicado ao Diagnóstico de Mieloma Múltiplo e suas complicações

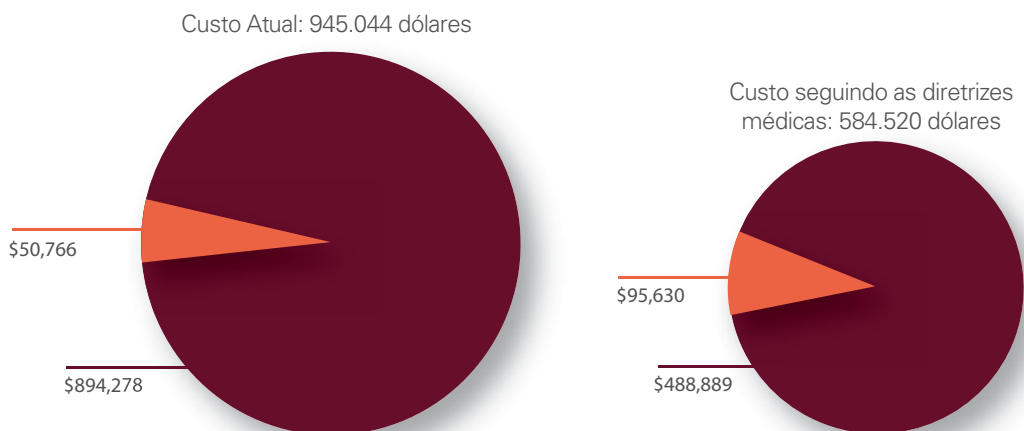
- ▶ Para os casos suspeitos, o modelo demonstra o painel de exames atual e o impacto à partir da utilização de 100% do protocolo recomendado pelas diretrizes médicas (Figura 1).
- ▶ Tempo para diagnóstico do mieloma é reduzido de 159 dias para 45 dias com a utilização dos exames preconizados nas diretrizes (114 dias, 72% diminuição).
- ▶ As diretrizes recomendam o uso de eletroforese de proteínas, imunofixação e cadeias leves livres no soro para o diagnóstico do mieloma.^{4,5}



Transição do protocolo atual para o preconizado nas diretrizes

- ▶ Redução em custos: 405.388 dólares
- ▶ Gastos com testes adicionais: 48 dólares por paciente
- ▶ **Economia total: 360.524 dólares**


- Redução dos gastos
- Custos dos exames para laboratório



Adaptado de Wu. et al, Sociedade Americana de Hematologia

Referências

1. Kariyawan et al, Q J Med, 2007
2. MayoClinic.org and Myeloma.org
3. Wu et. al. American Society for Hematology Annual Conference 2017. P-4698
4. NCCN Multiple Myeloma Guidelines Version 3.2017.
5. Dispenzieri et. al. Leukemia 2009
6. Genzen JR et al. Arch Pathol Lab Med, 2017



Você conhece os impactos do atraso no diagnóstico do

Mieloma Múltiplo?

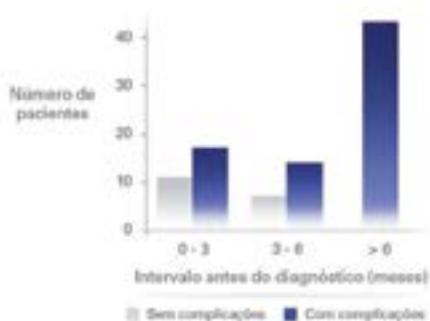
Mieloma é uma doença que pode ser tratada com sucesso. Muitos pacientes tem sobrevida longa e produtiva após o diagnóstico.¹

Uma das grandes dificuldades para o tratamento é o estágio avançado da doença em que os pacientes se encontram, em função do diagnóstico tardio.

Pacientes diagnosticados após 6 meses do início dos sintomas apresentam complicações como anemia, lesões ósseas, insuficiência renal.²

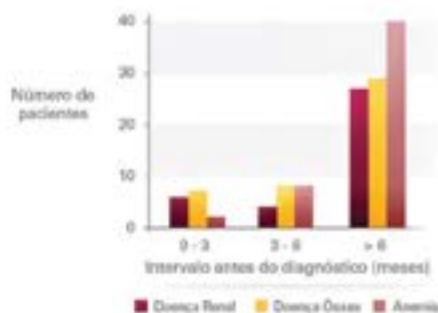
Consequências do Atraso no Diagnóstico

Impacto no número de complicações



Adaptado de Kariyawan et al QJ Med. 2007.

Tipos de complicações



A insuficiência renal ocorre em até 56% dos casos de pacientes com mieloma, com gasto estimado em 66.000 dólares por ano. As lesões ósseas, podem ocorrer em até 30% dos casos e, se necessário internação, o gasto pode ser acima de 20.000 dólares.³⁻⁶

A inclusão do Freelite® no quadro de exames auxilia no diagnóstico precoce, diminui as complicações e reduz os gastos com tratamento.



Faça diagnóstico do Mieloma Múltiplo precocemente!

Incluir **Freelite®**, o exame para quantificação de cadeias leves e livres, junto à eletroforese de proteínas e imunofixação no soro garante o aumento da sensibilidade (>99%), além de permitir o diagnóstico do Mieloma Múltiplo em estágios iniciais.

Se somente a eletroforese for realizada, possivelmente 1 a cada 8 pacientes com mieloma não será diagnosticado, ocasionando complicações futuras em função do diagnóstico tardio.⁷⁻⁹

Diagnostic Sensitivity: Percentage of Paraproteins Detected

	Mieloma Múltiplo ¹⁰	Amiloidose ¹⁰	Mieloma Múltiplo de Cadeia Leve ¹¹⁻¹²
EFPs	88	66	57
EFPs, Freelite , IFE	>99	96	100

Utilize os exames de acordo com as Diretrizes!

Freelite® é recomendado pelas diretrizes. O Grupo de Trabalho Internacional do Mieloma recomenda que o teste para cadeias leves e livres seja o biomarcador Freelite®.¹³

1. www.myeloma.org
2. Kariyawasan CC et al. Q J Med. 2007; 100:635-640
3. Leung N et al. Kidney Int. 2008; 73:1282-1288
4. Lysaght J. Am Soc Nephrol. 2002; 13:37-40
5. Body JJ. Cancer 2003; 97:859-865
6. HCUP Inpatient Database, 2017
7. Keren, Warde Report, 2010; 21

8. Bakshi et al. Am. J Clin Pathol 2005; 124:214-218
9. Hill et al. Clin Chem 2006; 52:1743-1748
10. Katzmann JA et al. Clin Chem 2009; 55:1517-1522
11. Abraham RS et al. Clin Chem 2002; 48:655-667
12. Bradwell AR et al Lancet 2003; 361:489-491
13. Rajkumar SV et al Lancet Oncology 2014; 15:e538-c548

Freelite®

Você sabe qual exame para quantificação de cadeias kappa e lambda livres livres o laboratório da sua preferência utiliza?

Felizmente a grande maioria dos laboratórios clínicos seguem as recomendações das diretrizes nacionais e internacionais e utilizam o kit **Freelite®**. Porém, caso receba resultados cujos valores de referência apresentem-se diferentes dos intervalos:

Kappa Livre (κ): **3,30 - 19,40 (mg/L)**

Lambda Livre (λ): **5,71 - 26,30 (mg/L)**


Razão κ/λ = **0.26-1.65**

trata-se da evidência de que o laboratório em questão não está usando **Freelite®**.

Garanta a realização do exame padrão ouro para seus pacientes.

Freelite®, peça pelo nome!

Código para cobertura do exame (planos de saúde): 4.03.24.26-5
Visite o website www.freelite.com.br e confira a lista dos laboratórios que utilizam Freelite.



Soluções que
promovem a qualidade
e a **confiabilidade** dos
seus **laudos de análise**

Excelência Analítica
ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Controle do Processo Analítico
CONTROLE INTERNO

Planejamento e Monitoramento da Performance Analítica
GESTÃO DA QUALIDADE ANALÍTICA

Aperfeiçoamento das Estratégias do Negócio
BENCHMARKING DE INDICADORES LABORATORIAIS

Confiabilidade nas Medições
CALIBRAÇÃO DE INSTRUMENTOS

Credibilidade nas Análises Microbiológicas
CEPAS CONTROLE

Segurança dos Resultados de Medição
MATERIAIS DE REFERÊNCIA CERTIFICADOS

A Controllab, com sede no Brasil, é a maior empresa de controle de qualidade laboratorial da América Latina e circula entre os maiores provedores de ensaio de proficiência do mundo. Dispõe de soluções completas e integradas no mais amplo portfólio do mercado – são mais de 3.500 ensaios. Cuidar da vida é o seu compromisso.

É uma empresa *full solution* em diversos segmentos: clínico, banco de sangue, veterinária, microbiologia, ensaios físico-químicos e outros. Com foco no desenvolvimento da melhor experiência para os usuários, ajuda os clientes a prover **serviços precisos, incontestáveis e que se destaquem nos mercados nacional e internacional**. Possui *know-how* único em soluções de controle de qualidade, tem o apoio exclusivo da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e o reconhecimento das principais normas relacionadas à sua atuação: ISO 9001, 17025, 17034 e 17043.

Motivos para ser parceiro da Controllab

A Controllab acompanha a evolução do setor diagnóstico e as necessidades laboratoriais. Esse monitoramento permite que as soluções oferecidas para o controle de qualidade laboratorial atendam às exigências das rotinas e proporcione **confiabilidade nos resultados dos exames**.

As Soluções Controllab ajudam o seu laboratório a obter o **reconhecimento de médicos e pacientes**, quanto à qualidade dos laudos emitidos. Os serviços oferecidos facilitam a rotina para os processos de creditações laboratoriais e órgãos regulamentadores.

+15 anos de creditações Cgcre/Inmetro

04 creditações com reconhecimento internacional

+3500 ensaios oferecidos

Reconhecimentos



De acordo com os escopos publicados em www.inmetro.com.br



BOAS PRÁTICAS NA GESTÃO ANALÍTICA DO LABORATÓRIO

A gestão analítica do laboratório é desafiada a todo o momento devido às inúmeras variáveis que podem interferir nos resultados dos exames. As exigências são crescentes, advindas da própria organização e também do cenário em que ela está inserida.

Os processos de análises precisam atender à múltiplas expectativas: legais e regulamentares, médicos, pacientes e seus familiares, convênios, recomendações e diretrizes das sociedades científicas, órgãos acreditadores e outros. O atendimento geralmente é requerido no menor prazo e com a maior qualidade das informações.

Os processos de análises precisam atender múltiplas expectativas. Entre elas, a de médicos e pacientes.



Nesse contexto, como gerir tantas variáveis sem permitir impactos nos processos e - em especial - nas análises? O controle de qualidade é um aliado fundamental. Ele colabora para a credibilidade e sustentabilidade do laboratório, atua como parceiro dos profissionais que requerem dados confiáveis para assegurar as suas decisões em momentos de ações rápidas e precisas.

Diante de tantas ferramentas que compõem o controle de qualidade, como geri-las no menor tempo e com a maior qualidade? Para alcançar esse nível de gestão do controle, é importante compreender a contribuição de cada ferramenta e como maximizar o uso dela na rotina.

O **Ensaio de Proficiência (EP)** e o **Controle Interno (CI)** têm funções complementares; juntos, têm o propósito central de identificar a presença de possíveis erros analíticos, possibilitando ao laboratório a implantação de ações para eliminar as causas dos mesmos. O ensaio de proficiência realiza um acompanhamento das tendências dos processos (inexatidão), comumente relacionadas a características de linearidade, especificidade, sensibilidade, interferentes e calibração.

Ao participar de um EP com rodadas e intervalos regulares, metas anuais e múltiplos itens em concentrações variadas para análise, o laboratório obtém uma avaliação permanente sobre a exatidão dos seus exames.

As informações de desempenho no EP inseridas em gráficos da avaliação do período e ao longo do tempo contribuem para a análise de tendências e auxílio na prevenção e na identificação das causas dos resultados não conformes.



**CONTROLE
DE QUALIDADE**
Um aliado do laboratório

Manter o histórico e o rastreamento das atuações sobre os resultados é requisito para evidenciar o tratamento das avaliações para auditorias, além de promover a evolução da gestão.

Ao selecionar um provedor de proficiência que ofereça um sistema de avaliação do EP com esses recursos, o laboratório agiliza a rotina, visto que não será despendido tempo na construção dos gráficos e os esforços serão direcionados às análises de desempenho.

O controle interno é realizado em conjunto com a rotina de análise de amostras dos pacientes, para validar os resultados produzidos após identificar que o sistema analítico está operando dentro dos limites de tolerância pré-definidos, especialmente a precisão do processo (reprodutibilidade).



Utilizar controles de terceira opinião infere mais eficiência e precisão nos processos analíticos. Quando valorados por comparação interlaboratorial e em diferentes sistemas, esses materiais proporcionam ao laboratório detectar variações mais sensíveis, que não são percebidas nos controles dos fabricantes do sistema analítico.

Monitorar as informações de controle em único sistema introduz mais praticidade e produtividade nos processos de análise e acompanhamento da rotina. Ter esse sistema integrado ao LIS permite ao laboratório verificar as aprovações, alertas e rejeições das corridas analíticas em tempo real.

Nas rotinas de microbiologia, utilizar **Cepas de Referência Autenticadas** é de suma importância para o controle de exames de diagnóstico clínico.

Essas cepas conferem mais credibilidade e confiabilidade aos processos de análises; auxiliam os laboratórios a atenderem de forma eficiente às diversas normativas da área microbiológica e contribuem para os processos de acreditações laboratoriais e órgãos regulamentadores.

Um outro valioso recurso para o monitoramento das rotinas é o uso dos **Indicadores Laboratoriais**. Quando correlacionados em todas as áreas, esses indicadores proporcionam uma visão global e sistêmica do processo, melhorando os resultados operacionais.

Indicadores de desempenho têm uma função primordial: gerar melhorias nos processos, assegurando o atendimento ou superando as expectativas dos clientes. Quando potencializados com o **Benchmarking** (comparação das

melhores práticas) estimulam os decisores a terem uma visão ampliada dos resultados alcançados para a melhoria dos processos e a sustentabilidade do laboratório.

Complementando as ferramentas de apoio para as boas práticas da gestão analítica do laboratório, é essencial citar a **Calibração de Instrumentos**. A calibração atribui mais confiabilidade nas medições, contribui para a produtividade e redução de custos da organização.

Em continuidade à segurança dos resultados de medição, o uso de **Materiais de Referência Certificados** estabelece rastreabilidade metrológica às medições.

Cada uma dessas ferramentas minimiza a interferência das variáveis nos resultados dos exames. Com a aplicação delas em conjunto, o laboratório mantém a rotina sob controle e assegura a confiabilidade dos laudos.

Utilizar indicadores alinhados com dados de mercado (Benchmarking) contribui para a sustentabilidade do laboratório.



No entanto, cada um desses recursos necessita de análise das informações produzidas. Com a multiplicidade de dados a analisar, muitas vezes algumas dessas ferramentas deixam de ser aplicadas ou maximizadas no seu potencial de atuação.

Por isso, definir a **Especificação da Qualidade** para os exames é um norte para a gestão da qualidade no laboratório. Ao determinar a especificação da qualidade, o gestor no laboratório na verdade está determinando o erro máximo permitido para o ensaio laboratorial.

Muitos laboratórios ainda encontram dificuldades para essa determinação devido aos recursos requeridos para estabelecer a especificação. Desde obter até unificar as informações analíticas do ensaio de proficiência, do controle interno e das demais referências para definir a estratégia.

Utilizar sistemas que apoiem de forma prática a gestão analítica do laboratório contribui para a obtenção e análise desses recursos.

No Brasil, os laboratórios já contam com uma solução de **Gestão Analítica do Laboratório** disponível. Ela cruza as informações entre as principais soluções de controle do exame e compacta de forma didática as principais referências da Variação biológica e Estado da Arte para a definição da estratégia de especificação da qualidade.



 controllab.com

 facebook.com/controllab

 instagram.com/_controllab

 linkedin.com/company/controllab

ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

(CONTROLE EXTERNO DA QUALIDADE)

Promove a excelência nas análises dos exames

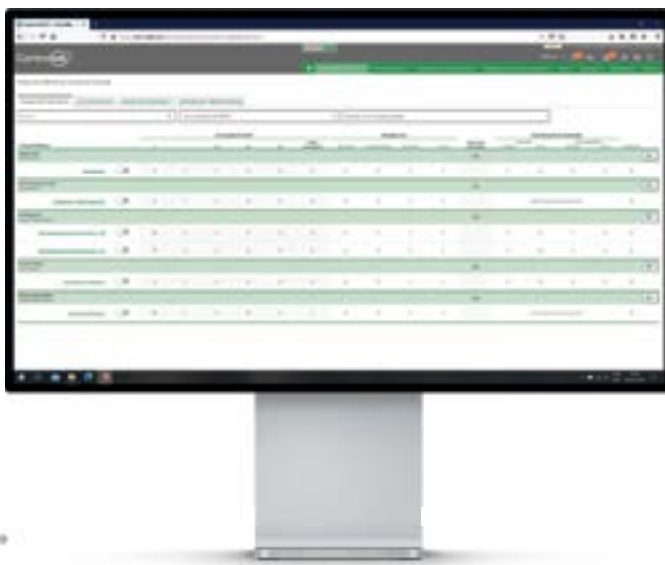
O Programa de Ensaio de Proficiência da Controllab é contínuo, com rodadas em intervalos regulares, metas anuais e múltiplos itens em concentrações variadas para análise. Nele, as informações são dinâmicas para simplificar os processos de auditorias e aprimorar o conhecimento das análises.



Central de controle para análise objetiva dos exames que precisam de ação imediata

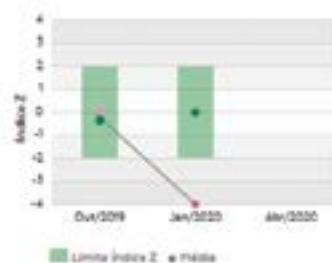
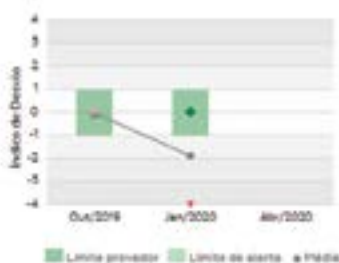
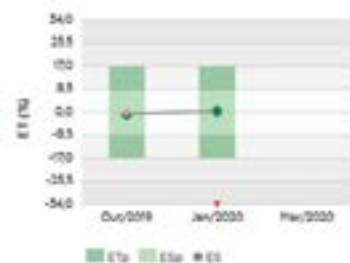


Relatórios que simplificam o acompanhamento e a consulta das informações dos exames



BQ01
 BQ02
 IC03
 Exibir gráficos por concentração

Gráficos por rodadas



Gráficos na avaliação do período e ao longo do tempo para análise de tendências e auxílio na prevenção e na identificação das causas dos resultados não conformes



Histórico e rastreamento das atuações sobre os resultados que evidenciam o tratamento dos resultados para auditorias e promovem a evolução da gestão

CONTROLE INTERNO

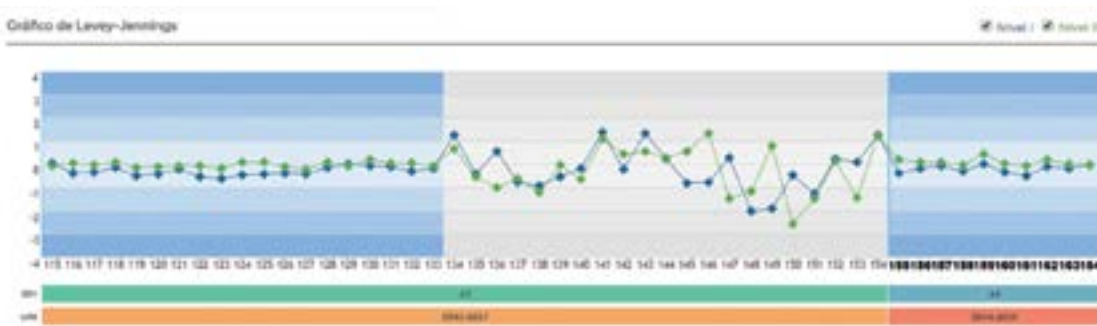
(CI ONLINE)

Previne falhas nos resultados dos exames

O CI ONLINE é o Programa de Controle Interno da Controllab que promove mais eficiência e precisão ao processo analítico.

No CI ONLINE o laboratório pode utilizar as amostras da Controllab (valoradas por interlaboratorial), os materiais de controle interno de outros fornecedores disponíveis no mercado e os desenvolvidos pelo próprio laboratório.

Os materiais podem ser monitorados em única Central de Controle. Essa flexibilidade gera mais praticidade e produtividade nos processos de análise e monitoramento da rotina.



No CI ONLINE, seu laboratório:

Compara em tempo real os materiais de controle

Mantém o histórico e rastreamento das atuações sobre os resultados

Realiza a integração com o sistema de informática laboratorial (LIS) e automatiza por completo a rotina dos controles internos



GESTÃO DA QUALIDADE ANALÍTICA

Planejamento e monitoramento da performance analítica

A Gestão da Qualidade Analítica (GQA) é uma solução da Controllab que une as informações do desempenho do exame no Ensaio de Proficiência e no Controle Interno para a definição da estratégia de Especificação da Qualidade Analítica. Essa unificação amplia o monitoramento da performance do exame e aprimora a agilidade na tomada de decisões.

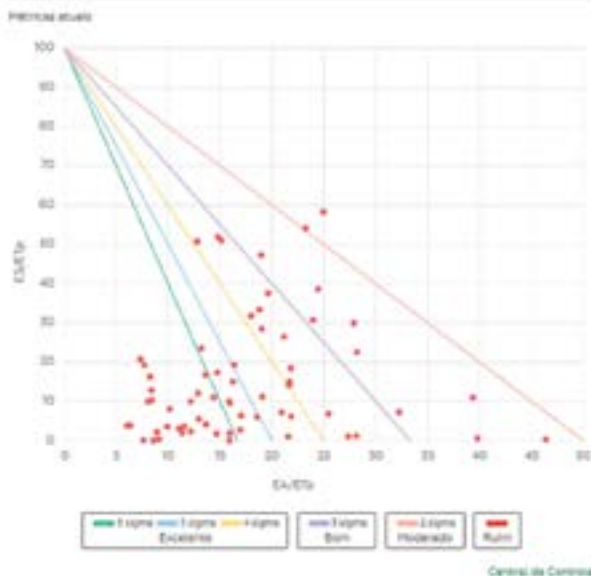


Ao avaliar os dados cruzados entre as principais soluções de controle do exame, o laboratório entrega resultados mais ágeis, precisos e seguros ao paciente.

Na GQA, seu laboratório:

- › Mantém a imprecisão e inexactidão das análises sob controle;
- › Diminui o uso de reagentes associados às análises ocasionadas por falsas-rejeições;
- › Evidencia os históricos e o rastreamento das atuações sobre os resultados;
- › Compacta de forma didática as principais referências da Variação biológica e Estado da Arte para definição da estratégia de especificação.

GRÁFICO EHSICHA



PROGRAMA DE BENCHMARKING **E INDICADORES LABORATORIAIS**

Aperfeiçoamento das estratégias do laboratório

O programa, desenvolvido em parceria com a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), é uma solução para gestão laboratorial que promove informações para decisões mais assertivas. Isso porque o programa utiliza indicadores potencializados com o benchmarking para medir e comparar a performance do laboratório com o desempenho do mercado.

O programa oferece um abrangente menu de indicadores com padrões internacionais que promovem resultados para o laboratório.

Para reduzir a complexidade do levantamento de dados e melhorar o acesso às informações, o Programa de Benchmarking dos Indicadores dispõe de uma parceria com empresas desenvolvedoras de LIS (Sistemas de Informação Laboratorial).

Essa parceria promove mais agilidade nos processos e confiabilidade nas informações disponibilizadas em tempo real para a tomada de decisão.

Essas empresas são parceiras do programa:



O Benchmarking de Indicadores promove as melhorias dos processos e a sustentabilidade do laboratório.



PROGRAMA CEPAS CONTROLE

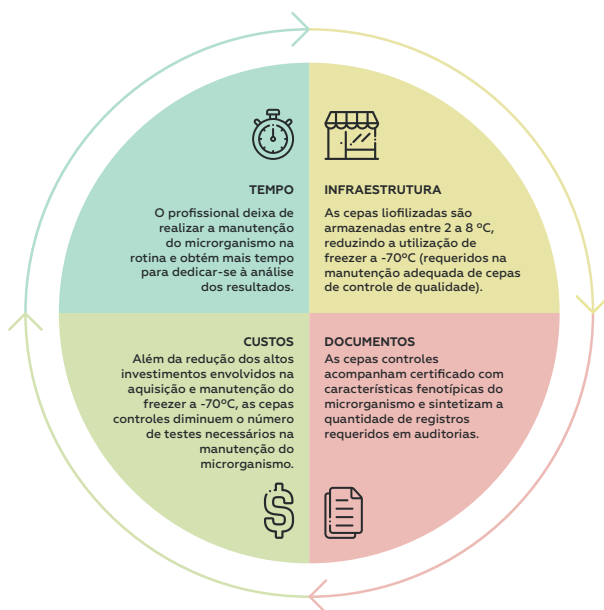
A Controllab realiza a manutenção dos microrganismos para o seu laboratório.

Ao introduzir CEPAS Controle na rotina, o laboratório ganha mais tempo para dedicar-se à análise do exame, praticidade nos processos e maximiza os recursos de infraestrutura.

A Controllab envia as cepas certificadas, que substituem os repiques. São cepas para pronta entrega, na quantidade definida pelo laboratório, a partir dos microrganismos selecionados.

As cepas certificadas conferem mais confiança e credibilidade no controle de qualidade, facilitando o processo para atendimento às normas, auditorias, acreditações e fiscalizações Anvisa/VISA.

No **CEPAS CONTROLE**, seu laboratório:



Obtém mais confiança nas análises microbiológicas

Adiciona credibilidade ao controle de qualidade

Aumenta a produtividade

Programa o fornecimento regular e contínuo das cepas*

*As cepas liofilizadas são originárias da coleção de cultura mais antiga desta categoria - NCTC (National Collection of Type Cultures), fruto da parceria Controllab e PHE - Public Health England.



HemoCue[®] Hb 201⁺

Portabilidade e Precisão
TLR Padrão para Hb total

Ideal para os setores que
necessitam de verificação imediata
e quantitativa da hemoglobina total.



Portabilidade para o diagnóstico de anemia em várias aplicações



Método
Laboratorial Vanzetti
Azidametahemoglobina

Dispensa manutenção
preventiva

Não necessita de
calibrações adicionais

Calibrado de fábrica

Apenas 10 µl
de amostra

Exatidão comprovada com
método de referência internacional ICSH

Resultados em até
60 segundos



HemoCue[®] Glucose 201 RT

Precisão laboratorial
Portabilidade garantida

Total confiabilidade com resultados quantitativos de precisão laboratorial. TLR com valor para diagnóstico, ideal para uso ambulatorial e emergências glicêmicas.



Glicose quantitativa para diagnóstico e controle



Método
Glicose desidrogenase
alterada

Dispensa manutenção
preventiva

Não necessita de
calibrações adicionais

Calibrado de fábrica

Resultados em até
60 segundos

Apenas 4 µl de amostra



Tel. (21) 2435-9800/(11) 3318-2800 - sac@biodina.com.br / vendas@biodina.com.br
facebook.com/biodinabrasil - www.biodina.com.br - www.hemocue.com

HemoCue[®] WBC DIFF

Praticidade e Precisão
Portabilidade nas emergências

Leucograma com diferenciais em 5 classes celulares: Neutrófilos, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos e Basófilos. Dentre as diversas indicações, destaca-se a diferenciação entre infecções virais e bacterianas.



Decisão rápida e fluxo de trabalho simplificado na classificação de risco.



Método
Hemolização, coloração
e contagem de células
com divisão em 5 classes

Dispensa manutenção
preventiva

Não necessita de
calibrações adicionais

Calibrado de fábrica

Resultados em até
5 minutos

Apenas 10 µl de amostra

HemoCue[®] Albumin 201

Precisão e Versatilidade Avaliação da Microalbuminúria

Detecção imediata com apenas uma gota de urina aleatória. Precisão laboratorial para identificação precoce de doenças renais e cardiovasculares.



Resultado de Microalbuminúria no ato da consulta.



Método
Aglutinação por
anticorpo Policlonal

Não necessita de
calibrações adicionais

Resultados em até
90 segundos

Dispensa manutenção
preventiva

Calibrado de fábrica

Apenas 18 µl de urina
de qualquer hora do dia

HemoCue® Plasma/Low Hb

Praticidade e Exatidão
Controle de Qualidade eficaz

Precisão e rapidez nos resultados de Hemoglobina Livre de forma automática, otimizando o tempo na determinação do Grau de Hemólise. Indicado para avaliação dos concentrados de hemácias e controle de qualidade dos produtos do sangue.



Hemoglobina Livre imediata e precisa, sem necessidade de cálculos.



Método
Laboratorial Vanzetti
Azidametahemoglobina

Dispensa manutenção
preventiva

Não necessita de
calibrações adicionais

Calibrado de fábrica

Resultados em até
60 segundos

Apenas 20 µl de plasma, soro e
soluções aquosas ou suspensões
de eritrócitos armazenados.

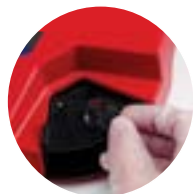
HemoCue[®] Hb 301

Precisão e Rapidez
Segurança e tradição

Hemoglobina total rápida e precisa com a tradição HemoCue, na triagem de doadores no banco de sangue. Resistente a altas temperaturas, total portabilidade para uso em coletas externas e locais remotos.



Precisão e praticidade na triagem da anemia.



Método
Absorbância no
Ponto Isobéstico

Dispensa manutenção
preventiva

Não necessita de
calibrações adicionais

Calibrado de fábrica

Resultados em até
3 segundos
Apenas 10 µl
de amostra

Funciona sob temperaturas
de até 40° C.

SOLUÇÕES INOVADORAS EM PURIFICAÇÃO DE ÁGUA: BOAS PRÁTICAS EM LABORATÓRIO CLÍNICO.

ÁGUA NOS LABORATÓRIOS DE ANÁLISES CLÍNICAS

Há mais de 350 anos no mercado e com vasta experiência em pesquisa e desenvolvimento de novos produtos, a Merck através da sua divisão Milli-Q® é pioneira e patenteadora de tecnologias inovadoras para equipamentos de purificação de água que foram desenvolvidas com o objetivo de otimizar a rotina e os resultados dos laboratórios de diagnóstico.

A água purificada é o reagente mais importante utilizado em laboratórios de análises clínicas e possui diversas aplicações como:

- Analisadores Bioquímicos e Imunoquímicos: possui funções como diluição e reconstituição de reagentes, preparo de brancos e padrões para curvas de calibração, lavagem de probes, agulhas e cubetas e até mesmo em sistema de refrigeração;
- Microbiologia e Histologia: preparo de meios de cultura, preparo de soluções e coloração de lâminas;
- Plataformas de diagnóstico de especialidades: Cromatografia Líquida com Espectrômetro de Massa (LC-MS), Análise Elementar, Biologia Molecular, Análise Proteômica e Toxicologia - para análises de fluidos e tecidos, monitoramento de tratamentos, diagnósticos de distúrbios genéticos, triagem e diagnóstico de câncer, entre outros;
- Outras Aplicações: lavagem de vidraria e alimentação instrumental.

Por ser o produto mais utilizado dentro dos processos laboratoriais, a qualidade da água impacta diretamente nas análises e, se fora dos parâmetros especificados, os resultados dos exames podem ser alterados, sendo motivo de preocupação por interromper a rotina, perder amostras, reagentes e tempo e, o mais crítico, não conseguir liberar resultados importantes e muitas vezes emergenciais para os seus pacientes.

Por isso, fornecer água de qualidade adequada para ensaios clínicos é fundamental para obter resultados confiáveis e consistentes ao longo do tempo.

Para assegurar a harmonização dos laboratórios, existem normas e regulamentações que fornecem diretrizes com orientações técnicas sobre a qualidade da água, métodos para seu monitoramento e considerações sobre o projeto do sistema de purificação de água. O objetivo é garantir que a qualidade correta da água seja usada para uma aplicação específica, além de limitar os custos operacionais do laboratório.



Saiba mais!



Veja na imagem acima um breve esquema que mostra exatamente a rotina de um laboratório de diagnóstico e como os purificadores de Água Milli-Q® atuam em conjunto com um analisador clínico.

NORMAS E REGULAMENTAÇÕES

As principais normas e regulamentações para aplicações laboratoriais são:

» **CLSI:** Clinical & Laboratory Standards Institute - Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory - GP40-A4-AMD⁽¹⁾.

A norma estabelecida pela CLSI (que substitui a NCCLS National Committee for Clinical Laboratory Standard / College of American Pathologists – Água tipo I, II e III) é a mais adotada pelos laboratórios de análises clínicas. Esta regulamentação classifica a água em três tipos: CLRW - Clinical Laboratory Reagent Water (Água Reagente para Laboratório Clínico), atende a maioria das aplicações; IFW - Instrument Feed Water (Água para alimentação de Instrumentos), permite que os fabricantes de instrumentos esclareçam as especificações de seus métodos específicos e SRW - Special Reagents Water (Água Reagente Especial), pode ser escolhido para determinadas aplicações quando parâmetros adicionais são necessários às especificações CLRW (Parâmetros CLRW + requisitos especiais = SRW) para garantir a qualidade da água.

O laboratório deverá adotar o tipo de água que melhor atende à suas aplicações, devendo controlar e monitorar os parâmetros de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e resistividade ($\text{m}\Omega.\text{cm}$), contagem de unidades formadoras de colônias bacterianas (UFC/mL) e Carbono Orgânico Total - COT $\mu\text{g}/\text{L}$ (ppb). Ainda, o purificador de água deve possuir um filtro de partículas na etapa final de purificação com porosidade absoluta 0,22 μm .

Parâmetros	Especificações GP40-A4-AMD
Impurezas Iônicas	Resistividade $\geq 10 \text{ M}\Omega.\text{cm}$
Impurezas Microbiológicas	Contagem Total de placas $< 10 \text{ UFC}/\text{mL}$
Impurezas Orgânicas	COT $< 500 \mu\text{g}/\text{L}$ (ppb)
Particulados	Filtro para retenção de partículas $\geq 0,22 \mu\text{m}$

» **ASTM:** American Society for Testing and Materials - Standard Specification for Reagent Water - D1193-06⁽²⁾.

Esta é uma regulamentação que fornece diretrizes para aplicações laboratoriais. Esta especificação descreve as características necessárias para as águas reagentes, são quatro tipos de águas com três classes adicionais que podem ser aplicadas aos quatro tipos. As especificações da classe tratam especificamente de contaminantes de origem microbiológica. Historicamente, os tipos de água reagente I, II, III e IV eram associados a processos específicos para suas produções. Em revisões mais recentes, o uso de tecnologias de purificação de água alternativas foi incorporado, desde que as especificações de qualidade sejam atendidas.

Tipo	Classe	Condutividade $\mu\text{S}/\text{cm}$ (máx.)	Resistividade $\text{M}\Omega.\text{cm}$ (mín.)	COT $\mu\text{g}/\text{L}$ (máx.)	Sódio $\mu\text{g}/\text{L}$ (máx.)	Cloreto $\mu\text{g}/\text{L}$ (máx.)	Silica $\mu\text{g}/\text{L}$ (máx.)	pH	Bactérias UFC/mL	Endotoxinas EU/mL
I	A	0,0555	18	50	1	1	3	N/A	10/1000	0,03
I	B	0,0555	18	50	1	1	3	N/A	10/100	0,25
I	C	0,0555	18	50	1	1	3	N/A	100/10	N/A
II	A	1	1	50	5	5	3	N/A	10/1000	0,03
II	B	1	1	50	5	5	3	N/A	10/100	0,25
II	C	1	1	50	5	5	3	N/A	100/10	N/A
III	A	0,25	4	200	10	10	500	N/A	10/1000	0,03
III	B	0,25	4	200	10	10	500	N/A	10/100	0,25
III	C	0,25	4	200	10	10	500	N/A	1000/100	N/A
IV	A	5	0,2	N/A	50	50	N/A	5,0 a 8,0	10/1000	0,03
IV	B	5	0,2	N/A	50	50	N/A	5,0 a 8,0	10/100	0,25
IV	C	5	0,2	N/A	50	50	N/A	5,0 a 8,0	100/10	N/A

ÁGUA E O IMPACTO DOS CONTAMINANTES NO LABORATÓRIO CLÍNICO

Contaminantes

A água possui contaminantes classificados em cinco categorias: os particulados, os compostos orgânicos, as substâncias inorgânicas, as bactérias e seus subprodutos e os gases. Essas impurezas podem interferir nas seguintes aplicações laboratoriais:

	Substâncias inorgânicas	Compostos Orgânicos	Bactérias	Bactérias Subprodutos	Particulados
Química geral	X		X		
Enzimas	X	X	X		
Toxicologia TDM*	X	X	X		
EIA**	X	X	X	X	
Elementos traços	X	X	X	X	
Teste molecular	X	X	X	X	X
Analizador clínico	X	X	X	X	X

*TDM: Therapeutic Drug Monitoring (Monitoramento de Medicamentos Terapêuticos)

**EIA: Imunoensaio enzimático

- **Particulados:** quando em altas concentrações podem interferir na operação do analisador impactando a detecção a 340 nm nos ensaios turbidimétricos;
- **Compostos orgânicos:** podem afetar experimentos biológicos como cultura celular e interferir nas técnicas analíticas. Até mesmo uma contaminação orgânica moderada presente na água usada para preparação de cromatografia líquida pode causar instabilidade da linha de base, diminuir a sensibilidade e resolução, além de reduzir a vida útil da coluna;
- **Substâncias inorgânicas:** podem afetar tanto as reações bioquímicas quanto as orgânicas atuando como catalisadores;
- **Gases:** a concentração de oxigênio pode afetar reações bioquímicas específicas e o nitrogênio é capaz de formar bolhas que são prejudiciais à processos como contagem de partículas ou medidas espectrofotométricas;
- **Bactérias e seus subprodutos:** podem causar diferentes problemas em experimentos laboratoriais, diretamente ou indiretamente através de seus subprodutos, como nucleases ou fosfatase alcalina.

A alta contagem de bactérias em água pura é particularmente crítica, por isso, vamos analisar os efeitos das bactérias na rotina laboratorial.

Efeitos das bactérias

Bactérias Gram-negativas, como *Ralstonia pickettii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Caulobacter crescentus* e *Pseudomonas aeruginosa* são capazes de se adaptarem às condições rigorosas e se proliferarem em água pura, contaminando o analisador clínico. Essas bactérias crescem em tubulações, reservatórios, coletores e agulhas, podendo ser encontradas em níveis elevados, causando efeitos típicos negativos:

- Interferência em vários ensaios pela liberação de proteínas, enzimas e pequenos ácidos orgânicos (oxalato, piruvato, ...);
- Calibrações instáveis;
- Alta absorvância nos brancos;
- Derivações de referência;
- Erros nos valores médios do paciente.

Interferências com ensaios químicos

• Ensaio de Cálcio

O ensaio de cálcio é um dos testes que mais gera problemas em química clínica. O Ensaio Arsenazo - teste baseado em um complexo colorimétrico entre o cálcio e o reagente Arsenazo em pH neutro - resulta na formação de um complexo colorido entre cálcio livre e o reagente de Arsenazo. Para este teste não é recomendado o uso de citrato, oxalato ou EDTA porque eles removem o cálcio por formação de complexos. Qualquer substância que contenha cálcio interferirá no teste. Se os compostos orgânicos na água não forem eliminados adequadamente, pequenos ácidos orgânicos, similares ao ácido oxalato, podem estar presentes e se ligarem ao cálcio, reduzindo assim a sua concentração. Da mesma forma, aminas (semelhantes a estrutura do EDTA) também podem se ligar ao íon. Finalmente, um alto nível bacteriano na água irá gerar a presença de níveis significativos de proteínas que se complexarão com o cálcio, levando a um nível aparentemente baixo, bem como valores incorretos. As proteínas bacterianas se ligam ao cálcio, modificando a concentração do analito no soro administrado.

• Ensaio potenciométrico de Potássio

Quando os analisadores estão em modo espera (*stand-by*), pode ocorrer crescimento bacteriano de *Pseudomonas aeruginosa* nos eletrodos seletivos de íons, essas bactérias são expelidas do eletrodo de referência e interagem com o eletrodo de Potássio. Valores elevados nas amostras de controle de qualidade e necessidades de recalibração podem ser observados após modo stand-by dos instrumentos.

Interferências com Imunoensaios Enzimáticos (EIAs)

Para imunoensaios, as enzimas liberadas por bactérias, substâncias inorgânicas (íons) e compostos orgânicos são classes de contaminantes que podem gerar problemas.

A fosfatase alcalina (ALP) é utilizada como enzima de detecção em muitos métodos biomédicos. Isto inclui vários imunoensaios enzimáticos, como EIAs sandwich e imunoensaios quimioluminescentes, cascatas bioquímicas induzidas por ALP e sondas nucleicas marcadas com ALP. Na maioria dos casos, a ALP de bezerro é utilizada. No entanto, devido à homologia da sequência e à interatividade para muitos substratos, a ALP bacteriana pode interferir nos ensaios usando a ALP de bezerro. Além disso, ambas as enzimas usam co-fatores (Zn, Mg). Foi demonstrado⁽³⁾ que espécies bacterianas que crescem em água pura liberam ALP. Portanto, a proliferação bacteriana resulta em interferências em todos os ensaios clínicos com base no uso de ALP: testes de água, ensaios quimioluminescentes ou cascatas de amplificação bioquímica. Uma grande parte de ALP é livre e atravessa o filtro de 0,2 µm. Em conclusão, os imunoensaios enzimáticos requerem água de alta pureza com baixa contagem de bactérias, sem ALP, sem íons e baixo conteúdo orgânico.



Impactos com a manutenção

Os analisadores deverão ser descontaminados com maior frequência para reduzir as interferências bacterianas, impactando no:

- Tempo de inatividade do analisador;
- Risco de vestígios do agente sanitizante utilizado (Ex.: NaOCl, ClO₂, H₂O₂, C₂H₄O₂) que permanecem no analisador. Estes agentes oxidantes podem interferir em ensaios com base em NAD⁺/NADH (Dinucleótido de nicotinamida e adenina) e detecção espectrofotométrica em 340 nm (G6PD - glicose-6-fosfato desidrogenase, GHB - Ácido gama-hidroxibutírico, Amônia, ALT - Alanina aminotransferase, LDH - lactato desidrogenase).

TECNOLOGIAS DE PURIFICAÇÃO DE ÁGUA MILLI-Q®

Para garantir que os contaminantes da água sejam devidamente eliminados, garantindo assim, alta qualidade da água purificada para todas as aplicações na rotina do laboratório e cumprimento às normas e regulamentações vigentes, faz-se necessário o uso de diferentes tecnologias de purificação da água potável. A Merck conta com tecnologias de ponta de última geração (state-of-art), desde o pré-tratamento até a filtração final da água purificada ou ultrapura.



Pré-tratamento

O pré-tratamento é o primeiro estágio de purificação, geralmente composto por um filtro para retenção de partículas que tem o objetivo de proteger a membrana de osmose reversa e também o analisador clínico, pois essas partículas também podem entupir sondas e manifolds e interferir na detecção espectroscópica. Combinado com polifosfato para remover a dureza (Ca e Mg) e com um filtro de carvão ativado para eliminar agentes oxidantes (cloro, cloraminas, flúor) e adsorver macro moléculas orgânicas presentes na água da rede pública.

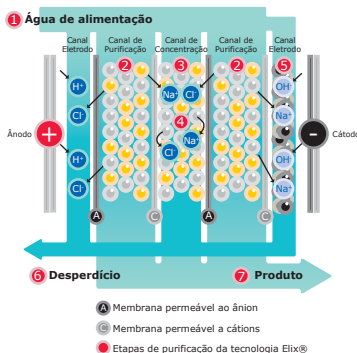
Além do pré-tratamento convencional, a Merck Milli-Q® possui uma novidade, o ultrafiltro, que contém uma membrana especial com propriedade de eliminar moléculas de acordo com seu peso molecular, removendo efetivamente partículas, enzimas, microrganismos e coloides acima de 50.000 Dalton. Possui retrolavagem automática, sem necessidade de manutenções extras.

Osmose Reversa (OR)

A tecnologia de osmose reversa consiste na passagem da água por uma membrana semipermeável através de uma pressão superior a pressão osmótica retendo nesta passagem um elevado grau de impurezas, assim, teremos o permeado (água purificada) e o rejeito (água com concentração de contaminantes).

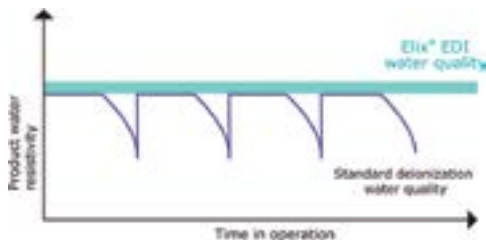
A membrana de osmose reversa é capaz de remover até 99,4% de contaminantes. Requer o mínimo de manutenção, é de fácil operação e de baixos custos operacionais (baixo consumo de água e energia). No entanto, por ser uma membrana sensível exige um bom pré-tratamento para evitar danos como a entrada de cloro, depósito de dureza em sua superfície, incrustações ou biofilmes por depósitos de produtos orgânicos.

As membranas de OR da Merck ainda possuem sensores de condutividade para monitoramento na entrada e saída da água, garantindo a performance e qualidade da membrana. Exclusivo e patenteado sistema de recirculação, a tecnologia E.R.A® (Evolutive Reject Adjustment – Ajuste Evolutivo do Descarte) gera uma redução de até 50% no consumo de água potável e prolonga a vida útil dos filtros.



Eletrodeionização Elix® (EDI)

A tecnologia Elix®, patenteada pela Merck, é uma combinação de troca iônica e membranas seletivas de íons que resulta em um processo de separação de compostos iônicos. As resinas de troca iônica são continuamente regeneradas pela ação da corrente elétrica, sem necessidade, portanto, de regeneração química característica do processo de deionização convencional. A eletrodeionização é muito eficiente na remoção dos inorgânicos purificando a água com um nível elevado de pureza, baixa concentração de COT (Carbono Orgânico Total), alta taxa de recuperação de água, favorável ao meio ambiente. O que é único neste módulo Elix® são as esferas de carbono no cátodo, impedindo a precipitação de dureza, por isso, não há necessidade de abrandadores ou cartuchos adicionais.



O investimento moderado é retornável em consumo de água e energia elétrica, baixa manutenção e principalmente com a garantia da qualidade da água final evitando erros e desperdícios com reagentes e amostras.

A figura ao lado demonstra claramente eficiência e desempenho superiores da tecnologia Elix® quando comparada a um deionizador comum.

O Elix® requer alimentação por água tratada, preferencialmente por osmose reversa.



Lâmpadas Ultravioletas

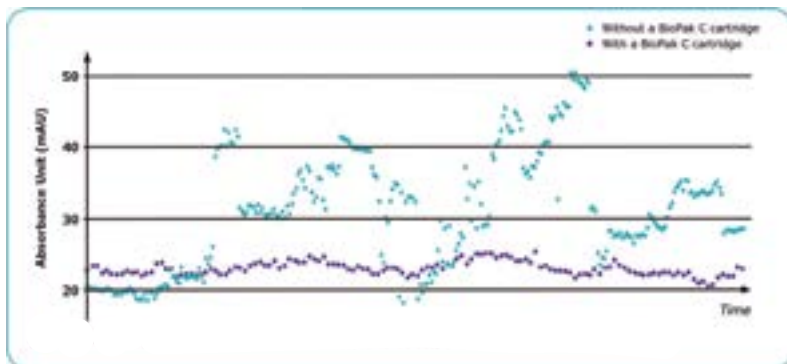
As lâmpadas ultravioletas utilizadas para tratamento de água são livres de mercúrio, uma exclusividade Milli-Q®!

A lâmpada com comprimento de onda de 254 nm possui ação germicida e é eficaz no controle microbiológico e a lâmpada com comprimento de onda 185 nm utilizada para oxidação de compostos orgânicos atingindo níveis de COT inferior a 2 ppb (µg/L).



Ultrafiltração BioPak®C

O BioPak®C é uma solução patenteada Milli-Q® que consiste em um ultrafiltro para purificação final composto por fibras ocas de polissulfona (corte de peso molecular: <20.000 Dalton). O cartucho foi projetado para remover bactérias, macromoléculas como pirogênio, nuclease e protease e fosfatase alcalina (ALP). Desta forma, a necessidade de calibração e sanitização frequentes no analisador é significativamente reduzida, promovendo uma otimização dos processos de rotina diários e maior confiabilidade nos resultados dos testes.



Impacto do uso do BioPak®C nos valores do branco durante período de 30 dias.

SOLUÇÕES MERCK PARA ALIMENTAÇÃO DE ANALISADORES BIOQUÍMICOS E IMUNOQUÍMICOS

Estações de Água Milli-Q® CLX

Robusto e econômico, o Milli-Q® CLX foi desenvolvido para atender aos padrões de qualidade estabelecidos por laboratórios clínicos de alta performance. Sua capacidade de produção pode atingir 3.000 Litros/dia com alimentação automática, de acordo com a demanda dos analisadores clínicos.

Interface de comunicação intuitiva: todos os detalhes necessários para a operação diária do sistema Milli-Q® CLX estão disponíveis na grande tela sensível ao toque (*touch*) e colorida do sistema. Várias exibições mostram:

- Status de produção, distribuição e qualidade de água;
- Nível de armazenamento do reservatório;
- Durabilidade dos consumíveis/filtros;
- Alertas e alarmes de operação.

Saiba mais!



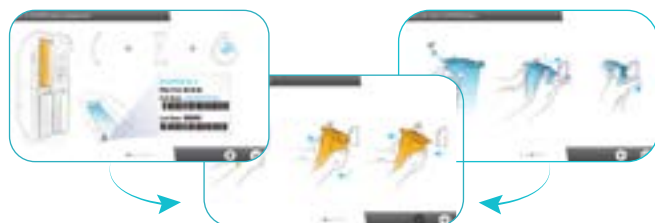
Conectividade total e monitoramento flexível: monitoramento completo em tempo real com acesso remoto permite maximizar o tempo de atividade da estação de água e do analisador. Os usuários podem acessar a interface de qualquer local (computador, tablet ou smartphone) através de um navegador web.

Rastreabilidade de dados: para garantir o histórico de dados de operação, manutenções e qualidade de água, o sistema registra automaticamente todos os eventos diários por até 2 anos.

Os registros são gravados em formato eletrônico e podem ser recuperados remotamente ou via USB a qualquer momento.

Manutenção fácil e previsível:

- Todas as manutenções (limpezas e trocas de filtros) são mostradas passo-a-passo por um assistente diretamente na tela;
- O dispositivo patenteado de travamento de cartuchos permite que os usuários troquem os filtros com muita facilidade e rapidez;
- O tempo de vida e as performances dos filtros são mostrados na tela, garantindo a previsibilidade de troca e baixo *downtime* dos analisadores.





Projetos Customizados de Alta Vazão com Reservatório SDS 500®

A Merck também desenvolve soluções customizadas de alta vazão para seus clientes, com equipamentos que são capazes de entregar até 10 mil litros de água por dia, sendo possível abastecer vários laboratórios a partir de uma Central de Água.

Os sistemas contam com as mesmas tecnologias e benefícios da linha Milli-Q® CLX com armazenamento, proteção e centro de distribuição de alta capacidade.

O SDS 500® foi projetado para armazenar até 400 litros de água purificada, fornecendo proteção eficaz contra a contaminação proveniente do ar e distribuindo água purificada sob alta pressão para diferentes locais. Além disso, pode ser dimensionado de forma customizada para atender a demanda desde um laboratório compacto, sem ocupar muito espaço, até a distribuição de água pura para um edifício inteiro.

Alguns dos atributos que tornam o SDS 500® a melhor solução para seu laboratório:

- É um sistema completo com opções de loop e consumíveis disponíveis como parte da configuração;
- Flexível e adaptável: bomba(s), inversor(es) e controladores de fluxo adaptados a uma ampla gama de aplicações; permitindo fluxo de distribuição de até 40 L/min;
- Equipamento certificado baseado em nossos rigorosos padrões de qualidade;
- Trabalha de forma automática ou manual de acordo com as necessidades do laboratório;
- Garante uma produção contínua da qualidade da água pura por possuir: filtro de ventilação que protege contra contaminantes transportados pelo ar, filtros opcionais e lâmpadas UV bactericidas;
- Velocidade constante mantida no circuito, garantindo um fluxo turbulento e evitando o surgimento de biofilmes nas tubulações de distribuição de água;
- Oferece controle remoto por meio dos sistemas de purificação de água Merck, garantindo: acesso rápido e fácil aos principais dados do SDS 500® (medições do nível do tanque, alertas preventivos e status dos consumíveis) via computador, tablet ou smartphone;
- Obtenção de dados em tempo real com medições on-line.



Sistemas de Purificação de Água Linha Essencial AFS®



Os equipamentos da linha Essencial AFS® (Analyzer Feed System - Sistema de Alimentação do Analisador) são robustos, compactos e de baixo custo de manutenção; dimensionados para alimentar analisadores clínicos com água pura, com qualidade superior a CLRW fornecendo até 480 litros por dia.

A estrutura avançada do sistema AFS®, bem como seu software de funções automáticas de automanutenção, reduzem significativamente o uso de água da torneira e aumenta a vida útil dos consumíveis.

Interface de comunicação simples:

Uma tela intuitiva, com cores e baseada em ícones facilita a manutenção, e um novo sistema ergonômico de bloqueio dos consumíveis tornam mais fáceis do que nunca sua troca. A manutenção reduzida economiza tempo e também significa baixo *downtime* do analisador.



Rastreabilidade:

Os sistemas AFS® possuem recursos completos de monitoramento e arquivamento automático da qualidade da água. Até seis meses de informações podem ser armazenadas para rastreabilidade confiável, e o software Millitrack® fornece fácil acesso aos dados.

Uso ideal do espaço do laboratório:

Os sistemas AFS® têm um tamanho reduzido, permitindo a instalação onde for conveniente: sobre/sob a bancada ou na parede. Uma grande variedade de reservatórios de água confeccionados em polietileno de alta qualidade (de 10 a 100 Litros) se beneficiam de vários recursos que mantêm a pureza consistente da água armazenada e fornecem proteção eficaz contra contaminantes transportados pelo ar:

- Um filtro de ventilação do reservatório protege a água de partículas, bactérias e CO₂ dissolvido;
- A função de transbordamento asséptico mantém a qualidade da água evitando retro contaminação do dreno;
- A base cônica do reservatório permite a drenagem completa e facilita o enxágue durante a higienização, enquanto o interior liso limita a formação de biofilme.

Operação 24/7:

Uma função de backup de emergência garante que o sistema funcione sem paradas, garantindo a produtividade do laboratório.



SOLUÇÕES MERCK PARA PLATAFORMAS DE DIAGNÓSTICO DE ESPECIALIDADES E APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

Outras aplicações no laboratório clínico, como Cromatografia Líquida com Espectrômetro de Massa (LC-MS), Análise Elementar, Biologia Molecular, Análise Proteômica e Toxicologia, faz-se necessário o uso de qualidade de água superior, a ultrapura: Água tipo I – ASTM ou SRW-CLSI. Para aplicações laboratoriais gerais e biológicas utiliza-se a Água Tipo II-ASTM.

Para essas aplicações, a Merck possui os sistemas que já estão em sua 7ª geração: Milli-Q® IX 7003/5/10/15 para produção de água tipo II e Milli-Q® IQ 7003/5/10/15 para produção de água tipo II e tipo I no mesmo equipamento.

Projetados para tornar seu trabalho o mais agradável e confortável possível, além de maximizar a produtividade do laboratório, possui design ergonômico inovador e poderosos meios de purificação que garantem a produção consistente da água com qualidade superior.



Simples: Display digital em cristal líquido touch screen, com fácil acesso às informações: com simples toque acesse os menus na tela interativa:

- Informações de qualidade da água;
- Histórico;
- Manutenções com passo a passo na tela;
- Alertas e Alarmes.

Gerenciamento fácil de dados (ambiente sem papel - sustentabilidade):

- Relatório de Dispensação disponível no display logo após a coleta da água fornece todas as informações relacionadas com um único clique;
- Gerenciamento de dados com rastreabilidade através de relatórios completos de histórico de todos os eventos;
- Proteção com senha: dados críticos podem ser protegidos por uso de senha.

Versatilidade:

- Possibilidade de até 4 pontos de dispensação para o Milli-Q® IQ e até 2 pontos para o Milli-Q® IX otimizando as atividades diárias e podendo atender até mesmo outros laboratórios com um único equipamento;
- Diferentes filtros polidores finais personalizando o equipamento ainda mais de acordo com suas aplicações específicas diárias;
- Com recirculação automática e vazão ajustável a qualquer momento o Dispensador permite coleta manual ou volumétrica (volume pré-determinado);
- Para o Milli-Q® IQ a coleta assistida tem a função de dispensação gota a gota garantindo precisão do menisco.



Fácil manutenção

- Todas as manutenções (sanitização e trocas de consumíveis) são demonstradas passo-a-passo no display;
- O visor colorido permite identificar rapidamente o status de cada consumível;
- Novo sistema de troca de consumíveis (twist) para maior agilidade e facilidade no momento da troca dos filtros.

Sustentabilidade

- Menor consumo de água e energia, além da redução do uso de plásticos na construção do equipamento;
- Maximização da durabilidade dos consumíveis;
- Lâmpadas ultravioleta UV sem mercúrio, garantindo a não contaminação do meio ambiente;
- Ambiente sem papel.



Otimização de espaço

- O novo projeto permite instalação visualmente mais "clean", sem tubulações e conexões aparentes no laboratório;
- A estação de água e o reservatório são compactos e podem ser instalados em qualquer local: na bancada, sob a bancada ou na parede.



SERVIÇOS E GERENCIAMENTO DE DADOS

Os laboratórios clínicos são ambientes de rotina 24/7, sendo extremamente exigentes quanto ao nível de atendimento (SLA). Para assegurar a qualidade e manter o sistema de purificação de água dentro da conformidade é essencial ter uma equipe de suporte e serviços adequados mantendo os analistas focados em suas atividades com alta produtividade. A Merck possui serviços que otimizam a rotina e garantem as certificações dos laboratórios mais exigentes.

- **Instalação, Treinamento e Suporte avançado:** fornecidos por engenheiros de campo certificados que seguem procedimentos padrões rígidos, utilizam somente peças genuínas e fornecem relatório de assistência técnica segundo diretrizes de excelência em garantia de qualidade;
- **Calibração:** garantia da precisão de medições com padrões de referência rastreáveis, essencial para laboratórios que cumprem com os altos padrões de qualidade;
- **Qualificação:** conjunto de testes que facilitam o processo de validação do laboratório; o programa inclui protocolos Qualificação de Instalação (IQ), Procedimentos de Manutenção (PM), Qualificação Operacional (OQ), e recomendações de Qualificação de Desempenho (PQ).



Consultoria Técnica com Serviços Personalizados: os Planos de Serviços Merck podem ser adaptados de acordo com demandas e necessidades específicas do laboratório, promovendo dessa maneira o melhor custo-benefício no projeto e cuidado dos equipamentos através de manutenções rotineiras customizadas feitas por uma equipe técnica altamente qualificada.

MyMilli-Q™ e Milli-Q® Connect



O MyMilli-Q™ é nova plataforma digital da Merck que combina 3 serviços disponíveis:

- Milli-Q® Connect;
- Gerenciamento de Contratos;
- Portal para parceiros clínicos.

O serviço digital baseado em nuvem MyMilli-Q™ armazena todos os documentos (relatórios de visitas técnicas, manuais do usuário, etc.) que permite a gestão on-line de contratos de serviço. Além disso, com o Milli-Q® Connect ativo, o usuário pode obter todas as informações e parâmetros de qualidade da água como a resistividade, temperatura e COT (carbono orgânico total) em tempo real.

O cliente que possui o MyMilli-Q™ usufrui de:

- Visualização fácil das informações de contratos;
- Informações sobre os parâmetros de qualidade do sistema*;
- Preparo para auditorias simplificado;
- Histórico e relatórios de suporte técnico de fácil rastreamento;
- Agendamento de visitas de manutenção preventiva ou corretiva;
- Linha de contato direta com o Suporte Técnico Milli-Q®.

Com esses benefícios o usuário consegue realizar um planejamento mais rápido e eficiente dos seus contratos ativos com a Merck, além de obter uma projeção de gastos mais previsível com a visualização das informações do sistema consolidadas.

O Milli-Q® Connect é um novo recurso de serviço e monitoramento remoto projetado para ajudar a maximizar o tempo de atividade dos equipamentos. Este serviço exclusivo confere aos clientes usuários e às nossas equipes de suporte técnico acesso ao sistema e aos seus respectivos dados, para um diagnóstico remoto rápido e preciso, bem como a realização de alguns reparos, oferecendo:

- Garantia de produtividade 24 horas por dia/7 dias por semana. Acesso em tempo real das informações do sistema;
- Economia de tempo: o Milli-Q® Connect fornece aos nossos engenheiros uma visualização segura e direta das informações do sistema. Nossas equipes de suporte podem diagnosticar e possivelmente até fazer reparos no sistema remotamente, evitando ter que esperar por uma visita técnica;
- Tempo máximo de atividade dos equipamentos: o usuário recebe notificações de alertas e alarmes, o que lhe permite gerenciar remotamente o sistema de modo independente;
- Maior rastreabilidade dos dados e certificações: os dados são salvos automaticamente e podem ser facilmente acessados, encontrados e recuperados.



Saiba mais!



*Para a visualização dos parâmetros de qualidade do sistema é necessário que o modelo seja elegível ao Milli-Q® Connect. Para ativação da conta é necessário que o cliente possua um contrato de serviço com a Merck ou um sistema conectado ao Milli-Q® Connect.

RADIOMETER

**Pioneiro mundial na fabricação e comercialização
de analisadores de gasometria**



Desde 1952, prezando pela segurança do paciente, entregando resultados imediatos com precisão laboratorial e conectividade.



A cada segundo,
5 gasometrias são realizadas
nos analisadores Radiometer
pelo mundo.

BIODINA
BRASIL

Tel. (21) 2435-9800/(11) 3318-2800 - sac@biodina.com.br / vendas@biodina.com.br
[facebook.com/biodinabrasil](https://www.facebook.com/biodinabrasil) - www.biodina.com.br - www.radiometer.com

Gasometria

ABL90 FLEX

Emergências e UTIs
Rapidez e Portabilidade

Analizador de gasometria, eletrólitos,
oximetria e metabólitos.
Destaque para FHbF em UTI Neo.



pH - pCO₂ - pO₂ - sO₂ - cK⁺ - cNa⁺ - cCa²⁺ - cCl⁻ - ctHb
FO₂Hb - FCOHb - FMetHb - FHHb - FHbF - cGlu - cLac - ctBil



Eficiência na
Biossegurança



Otimiza os fluxos de trabalho
nos setores críticos

Apenas 65 µl de amostra



17 parâmetros em
apenas 35 segundos

Exatidão e redução dos
erros pré-analíticos

Gasometria

ABL800 Séries

Eficácia no fluxo de trabalho
Exatidão desempenho

Utilizado como referência para médio e alto volumes de testes, o analisador de gasometria pode trabalhar juntamente com o módulo Flex Q, que permite identificar, homogeneizar e medir automaticamente até 3 amostras ao mesmo tempo.



pH - pCO₂ - pO₂ - sO₂ - cK⁺ - cNa⁺ - cCa²⁺ - cCl⁻ - ctHb - FO₂Hb
FCOHb - FMetHb - FHbF - cGlu - cLac - cCrea - ctBil



Ideal para áreas com alto a médio volume de testes

Mede até 18 parâmetros na mesma amostra



Resultados em até 100 segundos

Qualidade laboratorial de Crea e do pH no fluido pleural

BIODINA
BRASIL

Gasometria

ABL80 Séries

A solução no laboratório
ou TLR

Portabilidade e Leveza

Menu de testes personalizável.
Ideal para atender locais com baixo
a médio volume de testes.
Rápida troca de consumíveis.



pH - pCO₂ - pO₂ - cK⁺ - cNa⁺ - cCa²⁺ - cCl⁻ - cGlu ou cLac



Baixo volume de
amostra, 70 μ l

Funciona com energia
elétrica ou bateria



Controle de qualidade
automático, portátil



Resultados em até
100 segundos

Pode ser compartilhado
em vários setores.

BIODINA
BRASIL

Imunofluorescência

AQT90 FLEX

Emergências cardíacas
e SEPSE

Rapidez e Segurança
nas decisões críticas

Marcadores cardíacos, de coagulação,
gravidez, infecção e SEPSE.

Método de Imunofluorescência com
marcador Európio e resolução em tempo.
Amostras sem necessidade de preparo.



Tn I - Tn T - Myo - CKMB - NT-proBNP - D-Dimero - β hCG - PCR - PCT



Total biossegurança no
manuseio do teste e descarte.

Sangue total heparinizado
ou EDTA.

Até 5 parâmetros em
uma única amostra

Resultados a partir
de 10 min

BIODINA
BRASIL

Sistema de Gestão

AQURE

OPEN, SMART, INTEGRATED POC MANAGEMENT

Relatórios e estatísticas
Gestão de dados no Laboratório e TLR

Tecnologia Microsoft
Conectividade em várias plataformas
Software integrado com HIS/LIS



Coletores

Segurança
Redução de erros pré analíticos



Capilares plásticos pré-heparinizados,
com sistema próprio de homogeneização.



Heparina sólida balanceada
para eletrólitos



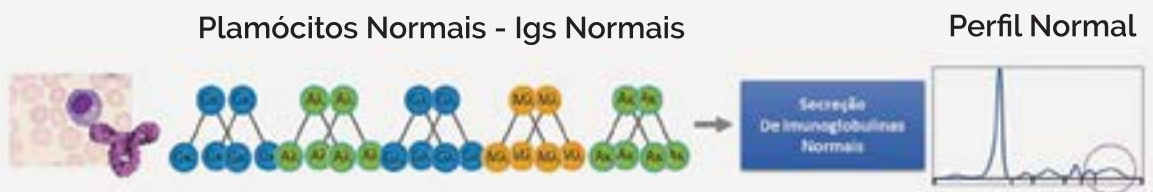
BIODINA
BRASIL

A importância de Eletroforese de Proteínas no Diagnóstico do Mieloma

Antes de falarmos sobre o teste de eletroforese, vamos falar um pouco sobre a doença. O mieloma múltiplo é o câncer de um tipo de células da medula óssea chamadas de plasmócitos, responsáveis pela produção de anticorpos que combatem vírus e bactérias.

Em indivíduos saudáveis, o sistema imunológico está adaptado a produzir uma quantidade de anticorpos necessários para a defesa do nosso organismo, conforme demonstrado na figura 1.

figura 1.



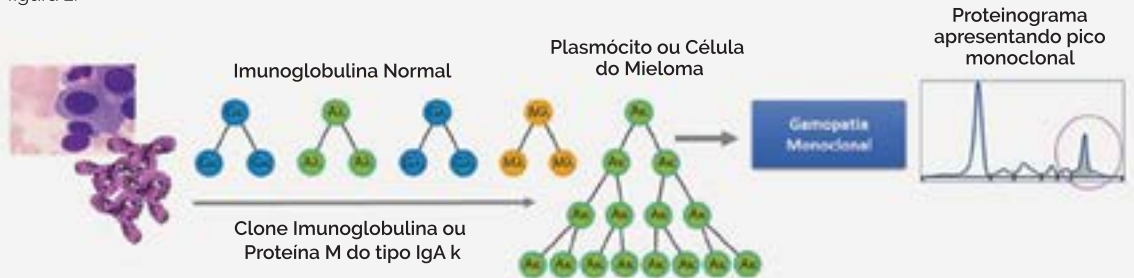
No mieloma múltiplo, os plasmócitos são anormais e se multiplicam rapidamente, comprometendo a produção das outras células do sangue. Por isso, os pacientes podem ter anemia e ficam sujeitos a infecções.

Uma das características do mieloma múltiplo é a produção, pelo organismo, de uma proteína única, chamada proteína monoclonal, ou componente monoclonal.

Este componente monoclonal é "fabricado" (sintetizado) pelas células plasmáticas malignas, também conhecidas como células do Mieloma. A quantidade de proteína produzida e liberada no soro, e às vezes presentes também na urina, reflete o estadiamento da doença em um dado momento.

Esta proteína, que é liberada no soro ou na urina, é chamada de marcador tumoral sérico ou urinário. Na figura 2 está representado a produção monoclonal das imunoglobulinas, característica das gamopatias.

figura 2.



A detecção e quantificação desta proteína anormal, presente no soro e/ou na urina é muito importante para avaliar a resposta do paciente ao tratamento e se o paciente está tendo algum tipo de recaída.

O mieloma é o tipo de câncer mais frequente em pessoas acima dos 60 anos. Acomete cerca de 7 mil pessoas por ano no Brasil e na grande maioria dos casos é diagnosticado tardiamente, dificultando o tratamento. Seus sintomas podem se confundir com o de outras comorbidades da terceira idade, por isso, é muito importante conscientizar as pessoas sobre seus sinais:

- ✓ Dor nas costas;
- ✓ Cansaço excessivo;
- ✓ Anemia, fraqueza, palidez;
- ✓ Infecções constantes;
- ✓ Mal funcionamento dos rins e inchaço nas pernas;
- ✓ Sede exagerada;
- ✓ Intestino preso.

A eletroforese de proteínas é o teste que é utilizado como triagem dos pacientes e é recomendado que seja realizado como exame de rotina, principalmente em pessoas com mais de 50 anos.

Eletrforese de Proteínas

A eletrforese de proteínas é um exame solicitado pelo médico com o objetivo de investigar doenças que podem cursar com alteração na quantidade de proteínas circulantes no sangue e na urina, sendo considerado um dos principais exames solicitados para investigação e diagnóstico do mieloma múltiplo.

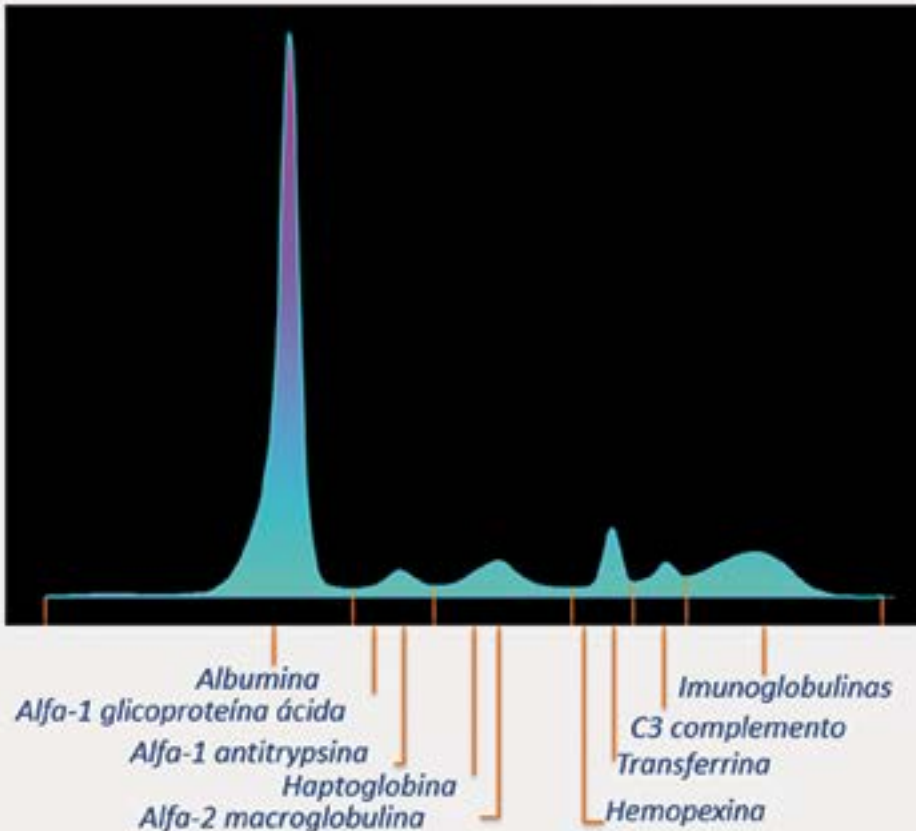
As proteínas são aplicadas em meio sólido, tal como gel de agarose ou acetado de celulose ou injetadas em um tubo capilar muito estreito preenchido com solução tampão, chamado tubo capilar, e são separadas em meio líquido e estas sofrem um processo de separação de acordo com a sua carga elétrica e peso molecular, levando à formação de um padrão de bandas e, posteriormente, de um gráfico que é fundamental para interpretação do exame pelo médico.

A eletrforese capilar por apresentar uma alta resolução e por ser totalmente automatizada é a mais indicada para detectar o monitorar as gamopatias monoclonais, visto que pequenas concentrações de componentes monoclonais são facilmente detectadas pelo software de gerenciamento de resultados, além de não sofrer interferências pelos processos de coloração e lavagem, etapas necessárias para a eletrforese em gel de agarose e acetado de celulose.

As proteínas que são avaliadas nesse exame são importantes para o bom funcionamento do organismo, já que atuam no sistema imune, no processo de coagulação e reações metabólicas, além de poderem carregar algumas moléculas até o seu sítio de ação. Assim, alterações nas suas concentrações podem ser indicativas de doenças.

Dentre as proteínas avaliadas estão a albumina, alfa-glicoproteínas, beta-glicoproteínas e gama-glicoproteínas (fig.3)

figura 3.



Uma característica exclusiva da eletroforese de proteínas, é a capacidade de medir a quantidade de componente monoclonal no sangue ou na urina.

É importante salientar que nem todas as vezes em que são detectados componentes monoclonais no soro indicam que o paciente está doente. Esta é uma das maiores dúvidas dos profissionais que trabalham diretamente com este exame quando analisam os resultados.

Existem critérios de análise dos resultados da eletroforese, associados a testes adicionais que fazem parte do diagnóstico, que os médicos seguem para saber qual a classificação da gamopatia.

A maioria dos pacientes que apresentam componentes monoclonais não são portadores de alguma doença maligna.

Segundo estudo realizado pela Clínica Mayo em 2005, com 1510 pacientes portadores de gamopatia monoclonal, 51% dos casos correspondem a MGUS, que é a gamopatia monoclonal sem significado clínico, enquanto 6% dos pacientes estudados são portadores do mieloma silencioso.

Estes pacientes mesmo não estando doentes devem ser monitorados por eletroforese ao longo da vida, pois a probabilidade destes pacientes se tornarem pacientes portadores de doença maligna aumenta a cada ano.

Como você pode notar, 57% dos casos de gamopatia monoclonal são assintomáticos, sendo que o mieloma silencioso é mais susceptível de se tornar uma doença maligna.

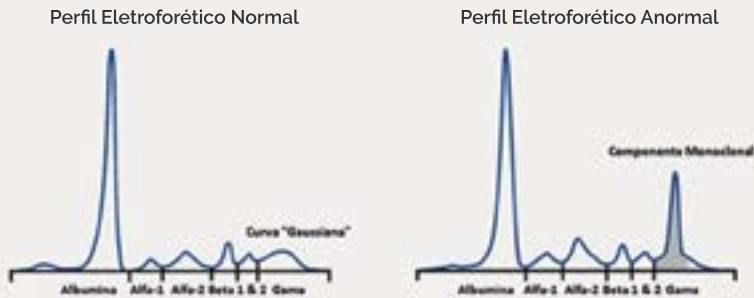
Classificações das gamopatias monoclonais:

- **Assintomáticas:** MGUS e Mieloma Silencioso;
- **Maligna:** Mieloma múltiplo, Macroglobulinemia de Waldenström, Plasmocitoma solitário e outras síndromes linfoproliferativas;
- **Secundária:** Doenças autoimunes, Infecções crônicas, Deficiência imunológica primária e secundária e alguns cânceres não linfoides;

Através da eletroforese de proteínas, realizando a quantificação do componente monoclonal e a depender da concentração absoluta desta banda, é possível presumir em qual dessas classificações o paciente se encontra.

A eletroforese de proteínas é um exame de baixo custo acessível a todas as pessoas, pois é realizado tanto pela saúde pública quanto pelo sistema privado e pode salvar vidas.

Figura 5. Representação de um resultado normal de eletroforese de proteínas séricas



Imunofixação Sérica e Urinária

Uma vez que um pico estreito de proteína é detectado por eletroforese de proteínas, pode-se suspeitar da presença de proteína monoclonal. Deve-se fazer a caracterização imunológica para confirmar a sua presença e determinar o seu tipo, identificando quais os tipos de cadeias pesadas e leves estão envolvidos em sua estrutura. É importante que se identifique qual o tipo de proteína-M está sendo produzida para estabelecer um diagnóstico e para o acompanhamento do paciente.

Para isto, outro método de eletroforese, chamado Imunofixação (ou IF), será usado. Na IF, são usados reagentes específicos, chamados antissoros, que se ligam às imunoglobulinas. Cada um desses antissoros ou anti-imunoglobulinas reagem com um determinado tipo de cadeia pesada e/ou leve.

As proteínas monoclonais geralmente reagem com um antissoro anti-cadeia pesada e antissoro com anti-cadeia leve (embora algumas vezes as células do plasma possam produzir cadeias leves apenas, neste caso a proteína monoclonal vai reagir com antissoros específicos contra cadeias leves livres). O método de Imunofixação é mais sensível à presença de proteínas monoclonais podendo detectar proteínas-M de baixa concentração, mesmo que eletroforese não mostra qualquer anormalidade visível, porém, não permite a quantificação da proteína-M, portanto, ambos os métodos são usados em conjunto: a eletroforese para detectar e quantificar a proteína monoclonal, e a Imunofixação para identificar seu tipo.

O FUTURO da HbA1c



> Dê adeus ao passado
desperte para o FUTURO!

A cada segundo o mundo se transforma, surgem novas doenças, assim como novos tratamentos, e não é diferente para os testes de HbA1c.

A HbA1c por Capilaridade da Sebia, representa o que há de mais moderno para este analito, e são vários estudos científicos que comprovam sua superioridade.

Com o Capillarys e o Minicap, a Sebia oferece resultados mais claros e precisos, e traz para você hoje, o futuro da Hemoglobina Glicada.



“

a Sebia se tornou
líder de mercado
na Europa em um
curto espaço de tempo.

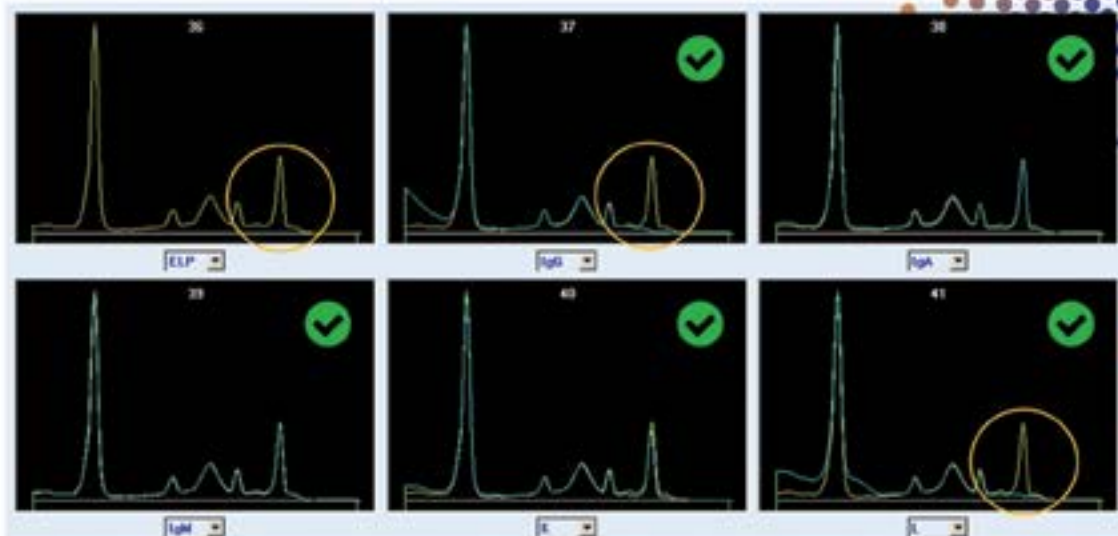
sebia

o FUTURO da HbA1c

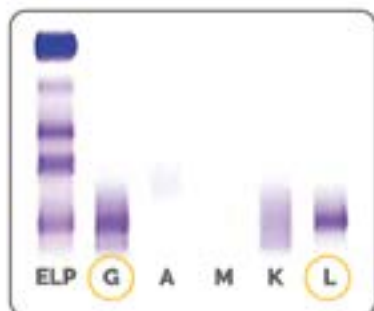


Imunotipagem Capillarys

Alternativa totalmente automatizada
para a Imunofixação em gel de agarose.



IgG Lambda



IgG Lambda

A eletroforese de proteínas séricas é uma técnica amplamente utilizada na rotina de laboratórios clínicos para classificar muitos tipos de proteínas anormais encontradas nas gamopatias que podem apresentar um ou mais picos monoclonais e/ou aumento das frações no padrão eletroforético.

O teste de Imunotipagem Sebia foi desenvolvido para identificar qual o tipo de proteína monoclonal está presente se detectada uma gamopatia.

A amostra de soro é transferida automaticamente a um seguimento carregado com antissoros específicos (anti-IgG, IgA, IgM, Kappa e Lambda) formando rapidamente o complexo imunoglobulina / anti-imunoglobulina, não havendo necessidade de preparação prévia ou incubação das amostras. Tendo formado o complexo, inicia-se a separação eletroforética.

A interpretação é acompanhada por uma curva padrão pré-estabelecida como referência (ELP), para cada um dos padrões de antissoro o que permite uma fácil identificação dos componentes monoclonais, sendo uma alternativa totalmente automatizada para a Imunofixação em gel de agarose.

sebia



num mundo sem fronteiras

o que precisamos é de uma melhor separação.



A Sebia é líder mundial em triagem das hemoglobinopatias em pacientes adultos

A Eletroforese de hemoglobinas por Capilaridade Sebia é internacionalmente reconhecida como a melhor técnica de triagem para detecção das hemoglobinopatias exatamente por fornecer a melhor separação e detecção das hemoglobinas variantes e talassemias. São mais de 500 variantes de hemoglobinas já catalogadas em sua biblioteca.

sebia

Líder Mundial em Eletroforese

 www.sebia.com.br  Tel. 11 3849 0148



Conheça o projeto educacional



Compartilhando
Saberes



Todos os profissionais que trabalham tanto na parte operacional quanto na liberação dos resultados de eletroforese sabem o quão complexo é a interpretação dos testes. Pensando nisto, a Sebia tem o prazer de lançar o projeto educacional "Compartilhando Saberes".

Compartilhar significa dar de si mesmo, sem egoísmo, para o bem de outros e por isso a partir de hoje todas as ações educacionais da Sebia terá uma identidade, e será divulgada. Exatamente por entender que o saber deve ser sempre compartilhado.

A construção do saber funciona como uma engrenagem onde participar a experiência adquirida pelos especialistas dos laboratórios, o conhecimento clínico dos médicos e os especialistas de produtos das empresas.

O "Compartilhando Saberes" tem como objetivo juntar todos estes saberes, tendo como foco a melhoria da qualidade de vida dos pacientes.



Venha fazer parte deste projeto, **compartilhe o seu saber** e faça a diferença na vida dos pacientes.



Compartilhando
Saberes

 www.sebia.com.br  Tel 11 3849 0148



sebia

Lider Mundial em Eletroforese



Mieloma Múltiplo

a Sebia, líder de mercado neste segmento, triou

4 milhões de pacientes em 2019

O mieloma múltiplo é o câncer que acomete um tipo de células da medula óssea denominadas plasmócitos, que são responsáveis pela produção de anticorpos que combatem vírus e bactérias.

No mieloma múltiplo, os plasmócitos são anormais e se multiplicam numa velocidade maior que a normal, comprometendo a produção das outras células do sangue, como consequência, os pacientes podem ter anemia e ficam sujeitos a infecções. Em entrevista exclusiva ao Portal Oncoguia, Merula Steagall, presidente da Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia (ABRALLE), fala sobre a realidade do Mieloma Múltiplo no Brasil: "Por ano, estima-se que 7600 brasileiros recebem o diagnóstico da doença e, a falta de conhecimento sobre o assunto, implica em diagnósticos tardios, que restringem as opções de tratamento".

Sobre o diagnóstico da doença ela destaca a importância do teste da eletroforese de proteínas: "A eletroforese de proteínas séricas (EPS) é um exame para medir a quantidade total de imunoglobulina no sangue e detectar qualquer imunoglobulina anormal. Este é um exame fiel no diagnóstico principalmente em 75% dos pacientes, nos quais são detectados picos anormais de imunoglobulinas".

Uma oferta Global, Completa e Única no Mercado!



sebia



Interpretation Challenge

Uma **ferramenta de avaliação do conhecimento contendo desafios de interpretação dos resultados de eletroforese**, destinados aos laboratórios que utilizam a tecnologia Sebia

A Sebia tem o prazer de anunciar mais um produto que faz parte do projeto de educação continuada, Compartilhando Saberes: o "Interpretation Challenge". Trata-se de uma ferramenta de avaliação do conhecimento contendo desafios de interpretação dos resultados de eletroforese, destinados aos laboratórios que utilizam a tecnologia Sebia para o diagnóstico e monitoramento de Gamopatias Monoclonais, Diabetes e Hemoglobinopatias. O propósito do programa é fortalecer o conhecimento no diagnóstico garantindo a qualidade dos resultados emitidos aos médicos e pacientes.

O programa é destinado aos laboratórios que ao final de cada ano receberão um **certificado de excelência** ao completarem o programa e atingirem um percentual de acerto igual ou superior a 90% ou um **certificado de participação** para todos aqueles que completarem o programa.

Todos os passos do projeto serão amplamente divulgados nas redes sociais e através dos nossos canais de distribuição. Este programa é de uso exclusivo aos clientes Sebia.

O objetivo da empresa, é garantir aos pacientes e aos médicos o recebimento dos laudos com a máxima qualidade, tendo os testes realizados em laboratórios que possuam excelência na interpretação dos laudos.



Interpretation
Challenge



sebia

Parceria e compromisso com o futuro da saúde

Os laboratórios de diagnóstico *in vitro* desempenham um papel vital nos sistemas de saúde, especialmente quando adotam um modelo baseado em **valor**. Os avanços neste campo não apenas solidificam a certeza sobre o diagnóstico, mas também melhoram a experiência do paciente, auxiliam no prognóstico e monitoram o curso clínico das doenças.¹ Além disso, vários estudos mostraram que os resultados dos testes de laboratórios *in vitro* conduzem cerca de 70% da tomada de decisão clínica e compreendem menos de 5% dos custos hospitalares.^{2,3}

Embora os pacientes nem sempre tenham exposição direta ao laboratório, evidências sugerem que os laboratórios são indispensáveis no sistema de saúde, ajudando a reduzir as despesas de saúde, diminuindo os custos em toda a cadeia, incluindo os pacientes, provedores e governos.³ À medida que o papel do laboratório de diagnóstico *in vitro* vem crescendo no sistema de saúde, abraçar a inovação e a tecnologia laboratorial tornou-se essencial.

Essa dinâmica foi explorada em profundidade no estudo de 2017 *“The Value of In Vitro Diagnostic Testing in Medical Practice”*. Neste estudo, 300 médicos hospitalares dos EUA foram entrevistados para explorar o valor dos testes de diagnóstico *in vitro* para

pacientes, profissionais de saúde e o sistema de saúde como um todo. O estudo constatou que 80% dos médicos de emergência, patologistas e diretores de laboratórios hospitalares concordam que o aumento do investimento em tecnologia para automação de laboratório de diagnóstico *in vitro* pode melhorar o atendimento ao paciente.³

À medida que o papel do laboratório de diagnóstico *in vitro* está crescendo no sistema de saúde, abraçar a inovação e a tecnologia no laboratório tornou-se essencial.

A Siemens Healthineers acredita que as mudanças constantes do setor ajudarão a tornar os desafios de hoje em oportunidades. Por isso, nossa missão é possibilitar aos profissionais de saúde alcançarem melhores resultados a menores custos, capacitando-os em suas jornadas em busca da expansão da medicina de precisão, da transformação da entrega dos cuidados com a saúde, da melhora da experiência do paciente e da digitalização dos cuidados da saúde.

Expandindo a
Medicina
de precisão

Transformando a
Entrega
de cuidado

Melhorando a
Experiência
do paciente

Digitalizando
Os cuidados
da saúde

Expandingo a medicina de precisão

O **National Research Council** explica: "Medicina de precisão refere-se à adaptação do tratamento médico às características individuais de cada paciente". É a capacidade de classificar os indivíduos em subpopulações que diferem em sua susceptibilidade a uma determinada doença, na biologia e/ou prognóstico dessas doenças ou em sua resposta a um tratamento específico. A medicina de precisão trata-se de diagnóstico preciso, prevenção e terapia individualizadas.

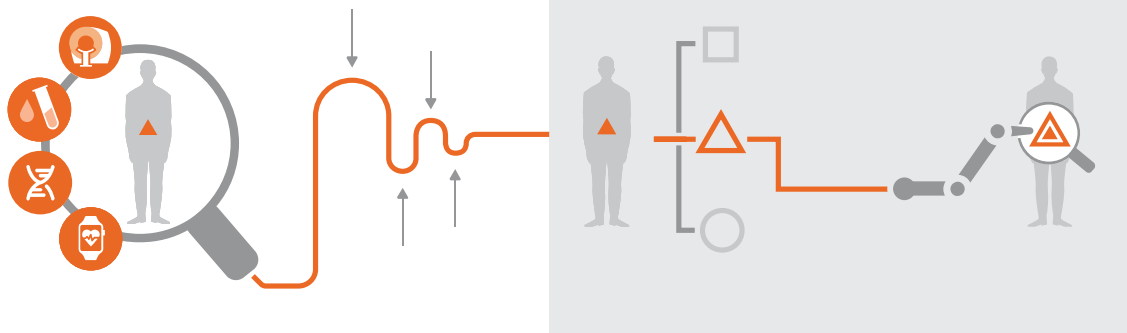
Ao diagnosticar, os médicos poderão integrar dados e informações dos pacientes para um diagnóstico mais preciso. A terapia será adaptada às características do paciente e da doença - resultando em um tratamento personalizado, correto e no momento certo para aquele paciente. Outro ponto interessante que a medicina de precisão traz é a ideia de "consumo" da saúde. Com uma sociedade cada vez mais

conectada e empoderada de sua saúde, procurando melhorar a alfabetização de sua saúde. A medicina de precisão ajuda o sistema de saúde a se adaptar a essa nova era. A pressão pela redução de custos é um grande acelerador da era da medicina de precisão, que se implementada em escala, poderá ser benéfica para o sistema de saúde, empresas e pacientes.



Acreditamos que a medicina será mais precisa e acessível

Médicos integrarão dados relevantes de pacientes e *insights* para tomar decisões em prol de diagnósticos mais assertivos. As terapias serão adaptadas às características específicas, tanto do paciente, quanto da doença, resultando no tratamento certo para o paciente certo, na hora certa.



Melhora precisão do diagnóstico

Imagens de alta qualidade e resultados laboratoriais. Opiniões de pacientes na tomada de decisão.

Reduz variações injustificadas

Consistência diagnóstica através de padronização, automação e quantificação.

Personaliza quando é importante

Cuidados personalizados que alavancam "omics", integração de imagens e dados laboratoriais.

Avança resultados do tratamento

Estratificação e triagem de risco eficazes e terapias minimamente invasivas guiadas por imagem.

Alguns exemplos de ensaios que ajudam a orientar nas melhores decisões clínicas:

Marcadores Cardíacos

Troponina I Alta Sensibilidade (TNIH), auxilia o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (IAM) medindo precisamente as mudanças de suas concentrações em dosagens seriadas, diferenciando elevações agudas versus elevações crônicas. Desempenho aceitável para critérios de inclusão/exclusão com algoritmos de 1 a 3 h.

BNP e NT-proBNP em um único sistema, indicado em situações não-agudas para pacientes com sintomas de dispneia, doença arterial coronariana, hipertensão e idade superior a 60 anos e, para situações agudas para pacientes com suspeita de insuficiência cardíaca ou apresentando dispneia e/ou dor torácica na admissão do departamento de emergência.



Doenças Infecciosas e Sepses

CHIV, permite o diagnóstico precoce do HIV através da detecção simultânea do antígeno p24 do HIV-1 e anticorpos para o HIV-1 (incluindo o grupo O) e HIV-2.

HBSAgII, projetado com a tecnologia patenteada de éster de acridina zwitteriônica, permitindo maior precisão, sensibilidade e melhor detecção de mutantes de HBsAg. O algoritmo SMART e a "hot zone", reduz custos com repetições e TAT.

HCV, ensaio de terceira geração com a capacidade de detectar o anticorpo NS5. O design do ensaio usa a tecnologia patenteada de éster de acridina (AE) para melhorar sensibilidade na detecção, e melhor exatidão e precisão.

Procalcitonina (PCT), diagnóstico precoce e avaliação de risco de sepse, melhorando o prognóstico, reduzindo morbidade e mortalidade. Precisão no intervalo de medição proporcionando confiança no gerenciamento da antibioticoterapia. Tecnologia com alta concordância com o ensaio *B-R-A-H-M-S PCT sensitive KRYPTOR assay*.



Avaliação da Tireóide

TSH3-Ultra™, promove melhores decisões clínicas com excelente precisão e uma sensibilidade funcional a 0,007 µIU/L.

TSI, detecta especificamente anticorpos estimulantes da tireóide com sensibilidade clínica (98,6%) e especificidade (98,5%) para o diagnóstico diferenciado da Doença de Graves (DG). Aplicação clínica do TSI: monitorar a resposta à terapia, prever remissão ou recaída da DG, confirmar oftalmopatia de DG e prever o hipertireoidismo neonatal.



Avaliação da Fibrose Hepática de Maneira não Invasiva

Enhanced Liver Fibrosis (ELF™) Test, mede no soro três marcadores bioquímicos diretos da fibrose hepática: Ácido hialurônico (HA), Peptídeo amino terminal do procolágeno III (PIIINP) e Inibidor tecidual da metaloproteinase da matriz (TIMP-1). A pontuação numérica obtida através de um algoritmo está correlacionada ao nível de fibrose obtidos quando avaliado por biópsia hepática.



Avaliação do Metabolismo Ósseo

Vitamina D, ensaio rastreável ao ID-LC/MS/MS 25(OH) Vitamin D, certificado pelo CDC Vitamin D Standardization Certification Program (VDSCP). Resultados consistentes e clinicamente precisos com medição equimolar de 25 (OH) Vit D2 e D3. Reatividade cruzada mínima (1,1%) com 3-epi-25 (OH) Vit D3.



Diabetes

Hb1Ac, ensaio certificado pelo NGSP e padronizado pelo IFCC fornecendo segurança e confiança, com alta precisão e exatidão que atendem aos novos padrões nos testes de A1c. Demonstra interferência <5% com as variantes HbA1c mais conhecidas (HbC, HbD, HbE, HbS e HbA2).



Trombose

D-Dímero, INNOVANCE D-Dimer, apoio adequado para exclusão da hipótese diagnóstica da trombose venosa profunda e/ou embolia pulmonar associada a avaliação de probabilidade clínica. Precisão, menor sensibilidade a interferentes (fator reumatoide) e estratificação por faixa etária asseguram a precisão em altas concentrações.

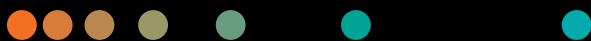


Avaliação de Gamopatas Monoclonais

Cadeia Leve Livre Kappa e Lambda (FLC), excelente e estável reprodutibilidade lote a lote proporcionando precisão do diagnóstico. Alta especificidade baseada em anticorpos monoclonais e protocolo de pré-reação garante alta segurança para excesso de antígeno, gerando resultados confiáveis.



Confira o nosso portfólio com + de 900 ensaios!



Fatores de Coagulação Anticoagulante Lúpico Triagem IgE Total Proteína S - Livre Antigênica
 Lactato AlaTop Allergy Screen Agregação Plaquetária* Triglicérides Ácido Valpróico PAI
 Cloreto Gama-Glutamil Transferase Magnésio Lactato Desidrogenase Benzodiazepínicos LDL
 HCG Total Teofilina Heparina Anti Xa Amicacina Anfetaminas
 H.pylori IgG PAPP-A Lidocaína Potássio*
 Fator Reumatóide Anti-HBs sFLT-1/PIGF***
 Uréia Gasometria Androstenediona Ferritina Dabigatran BNP D-Dímero T3 Livre Estradiol Ácido Úrico
 HDL Anti-CCP Everolimus* EBV-EBNA IgG α2-Macroglobulina
 PTH Intacto FLC Kappa Fenitoína Glicose Tacrolimus Insulina
 Resistência à Proteína C Ativada CK-NAC VB12 Anti-HBs IL-6 Alergia 3g Lítio
 Imunoglobulinas LBP PCT T3 Uptake Ecstasy Lipase Peptídeo-C
 CA125 α2-Microalbumina SHBG Salicilato Ectasy Lipase Peptídeo-C
 Fator Von Willebrand TNF-α TBG Fosfatase Alcalina IGF-I
 α1-Microglobulina hGH PYRILINKS-D Amilase Tobramicina CEA EPO Antidepressivos Tricíclicos
 Ciclosporina LH Anti-HBc Total EBV-VCA IgM HCV hCG Inibidor de C1
 Hematologia Creatinina Ciclosporina de Ampla Espectro Proteína S - Atividade HBsAg
 PSAc Anti-HBc IgM Estriol Não-Conjugado Proteína C - Cromogênica
 EBV-VCA IgG Amônia Troponina I de Alta Sensibilidade
 CA19-9 Sirolimus Transferrina Calcitonina Tiroglobulina Gentamicina
 CA15-3 TTPa Bilirubina Total Alanina Aminotransferase Proteína Urinária
 Cálcio Colinesterase Plasmática Proteína Total Bilirubina Total Alanina Aminotransferase Barbitúricos
 Sódio Acetaminofenos PCR US Sifilis N-GAL Ferro cHIV Haptoglobulina
 TP Microalbumina Tempo de Trombina Fosfatase Ácida AMH - Anti Mulleriano ***
 FSH β-trace proteína Anti-HBe Metotrexato Folato BR 27.29
 Uroanálise Plasminogênio Anti-HBe Metotrexato Fosfatase Ácida Fenobarbital Testosterona
 NT-proBNP Fibrinogênio Osteocalcina ACN - Relação Albumina Creatinina ACTH Carbamazepina Bicarbonato HER-2/neu
 Anti-TG Anti-HBe Progesterona T4 Livre PCR Vancomicina Frutosamina Homocisteína Digoxina
 Fenoclidina HBeAg Albumina SARS CoV 2 AFP Metaqualona Atividade Von Willebrand
 Opiatos Etanol Mioglobina HAV IgM TIBC BR 27.29 DHEAS
 Canabinóides Amilase Pancreática Anticoagulante Lúpico Confirmatório Anti-Trombina III CK-MB
 HAV Total Beta hCG Livre Aspartato Aminotransferase Bilirubina Direta ETP (Potencial de Trombina Endógena)** Dióxido de Carbono

*Sob registro Anvisa
 **Somente para pesquisa
 ***Em desenvolvimento

Transformar a Prestação de Cuidados Médicos

Investir no laboratório de diagnóstico já provou ser um fator crucial para melhorar a experiência do médico e do paciente, principalmente por meio de melhorias no tempo de entrega do resultado, o TAT (turnaround time). De acordo com o estudo **The Value of In Vitro Diagnostic Testing**, médicos de emergência, intensivistas e diretores de laboratório concordam por unanimidade que melhorar o TAT melhora significativamente a satisfação do médico e do paciente, bem como a segurança.

Nossa missão é proporcionar acesso e eficiência de novos modelos de atendimento, através de sistemas analíticos, operacionais e de tecnologia de informação, contribuindo com a otimização de suas operações clínicas e aumentando a produtividade da sua força e fluxo de trabalho.



Acreditamos que a prestação de cuidados será baseada em valores

Equipes especializadas trabalharão em colaboração ao longo de todo o ciclo de cuidados com o paciente. Provedores de saúde terão o conhecimento necessário para eliminar desperdício e variações. A prestação de cuidados será moldada para reduzir custos sem sacrificar os resultados.

Alguns exemplos de soluções que ajudam a transformar a entrega de cuidados médicos:

Atellica® Solution combina analisadores flexíveis para imunoenaios e bioquímica, escaláveis e prontos para automação com transporte magnético e bidirecional de amostras para o controle independente de cada amostra.



Aptio® Automation, combina tecnologias inteligentes com a experiência em fluxo de trabalho para oferecer soluções flexíveis que aumentam a produtividade.



Atellica® Diagnostics IT, conjunto abrangente de softwares que transforma os seus dados em análises objetivas para simplificar as complexidades.



Sistema Sysmex® CS-5100, analisador totalmente automatizado, agilidade para alto volume, pois opera com 4 probes e consolida as metodologias: coagulométrica, cromogênica, imunoturbidimétrica e agregação plaquetária.



Sistema ADVIA® 2120i, a exatidão desta tecnologia confere resultados precisos em única análise da amostra, mitigando repetições e fluxo de trabalho gerando aumento do foco dos operadores na avaliação dos resultados.



Sistema Atellica® NEPH 630 é um sistema de nefelometria dedicado, que simplifica as operações de laboratório, oferecendo o mais amplo menu de testes de proteínas em múltiplos tipos de amostras.



Sistema de Urinálise Automatizado Atellica® 1500 reduz o processamento manual e as taxas de revisão no sedimento da urina com menos manutenção e intervenção.



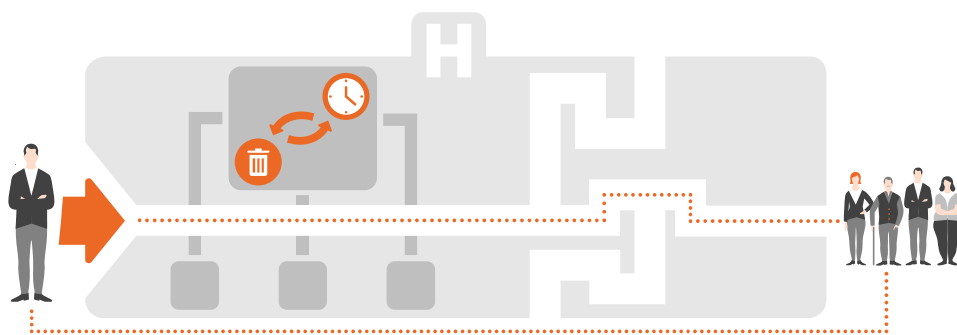
Plataformas Connect, são ferramentas, portais e conexões que buscam expandir o desenvolvimento contínuo, facilitar e potencializar as rotinas clínicas.

Smart Remote Service (SRS): conexão remota entre o Customer Care Center e seus equipamentos.

LifeNet: portal para gerenciamento de base instalada.

PEPconnect: plataforma educacional gratuita, permite educação personalizada, projetada para aumentar competência pessoal, a eficiência, a produtividade.

PEP Connections: gerenciador de capacidades clínicas.



Melhora o acesso ao atendimento

Tomar os cuidados mais acessíveis e disponíveis.



Aumenta a produtividade de trabalho

Habilitação do atendimento em equipe através da mudança do trabalho de rotina e fomentando a colaboração.



Otimiza operações clínicas

Automatização, padronização e otimização de caminhos clínicos em nível departamental ou de sistema.

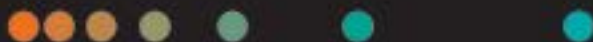


Gerencia a saúde da população

Identificação de cortes de pacientes e alcance automatizado em escala para população estratificada.

Atellica® Solution

Desenvolvido para proporcionar controle e simplicidade obtendo melhores resultados



O Atellica® Solution integra os analisadores de imunoenensaio e de bioquímica clínica com o novo padrão em tecnologia para o gerenciamento de amostra com o sistema de transporte magnético bidirecional patenteado, Atellica® Magline.



Atellica® Sample Handler

- Capacidade de carregamento de 440 amostras simultaneamente;
- Processamento de até 500 amostras/hora;
- Armazenamento refrigerado de controles e calibradores.

Atellica® IM 1300/1600

- Processamento de até 220/440 testes/hora;
- 42 posições dedicadas para reagentes e 35 para reagentes auxiliares;
- Controle interno de umidade e temperatura;
- Inovador anel duplo de incubação proporcionando maior produtividade e menor tempo para os resultados;
- Anel de lavagem separado conferindo maior sensibilidade e precisão.

Atellica® CH 930

- Processamento de até 1800 testes/hora;
- 70 reagentes onboard;
- 15 testes fotométricos utilizando 50µL da amostra com a tecnologia de microvolume.

Atellica® Solution com Atellica® Decapper integrado



Atellica® Decapper

Agrega um novo conceito para a integração e gerenciamento de amostras no Atellica® Solution



Atellica® Solution apresenta **flexibilidade** com mais de 300 opções de configurações: desde linear, em “L” ou em “U”, até a conexão com o **Aptio® Automation**.

Com o sistema do **Atellica® Decapper** é possível remover as tampas dos tubos sem a necessidade do manuseio manual ou durante a fase pré-analítica, com capacidade máxima de destampar 500 amostras/hora. Esta solução permite um fluxo de trabalho ainda mais simplificado e proporciona melhores resultados para todos os formatos de laboratório.



Aptio® Automation

Uma esteira capaz de otimizar todo o processo das amostras, do pré ao pós-analítico, integrando as demais especialidades do laboratório como Hematologia, Hemostasia, entre outros, fornecendo uma solução multidisciplinar utilizando o conceito de Automação Total.



LANÇAMENTO

Atellica® NEPH 630

Conheça a mais nova plataforma dedicada de proteínas plasmáticas da Siemens Healthineers



Expanda seus recursos com o menu mais amplo de testes de proteínas plasmáticas em vários tipos de amostras.



Realize 65 testes/hora.



Indicado para clientes que possuem uma rotina média a baixa de Nefelometria e realizam testes específicos, como: Cistatina C, NGAL, Proteína Beta Trace, RbP ou FLC Kappa/Lambda.



Simplifique os fluxos de trabalho do seu laboratório conectado ao software inteligente de análise de dados, Atellica® Data Manager.



Entregue resultados precisos e seguros com as diluições corretas e reagentes amplamente reconhecidos.

Portfólio de Hemostasia

Soluções que se adequam ao seu laboratório



BAIXO VOLUME



BFT™II Analyzer

- Testes Coagulométricos



Sysmex® CA-600
Series Systems

- Testes Imunológicos
- Testes Cromogênicos
- Testes Coagulométricos



Sysmex® CS-2500
Systems

- Tecnologia PSI - análise pré-analítica de amostras
- Agregação Plaquetária*
- Testes Imunológicos
- Testes Cromogênicos
- Testes Coagulométricos

ALTO VOLUME



Sysmex® CS-5100
Systems

- Conectividade multidisciplinar com a automação
- Tecnologia PSI - análise pré-analítica de amostras
- Agregação Plaquetária*
- Testes Imunológicos
- Testes Cromogênicos
- Testes Coagulométricos

*Aguardando a liberação de registro

Confiança, Consistência, Capacidade, Eficiência e Fluxo de trabalho otimizado

O abrangente portfólio de equipamentos de hemostasia da Siemens Healthineers oferece recursos e escalabilidade de ponta a ponta para atender às necessidades atuais e futuras do seu laboratório. Opções flexíveis de conectividade multidisciplinar permitem integração personalizável com as soluções de automação da Siemens Healthineers.

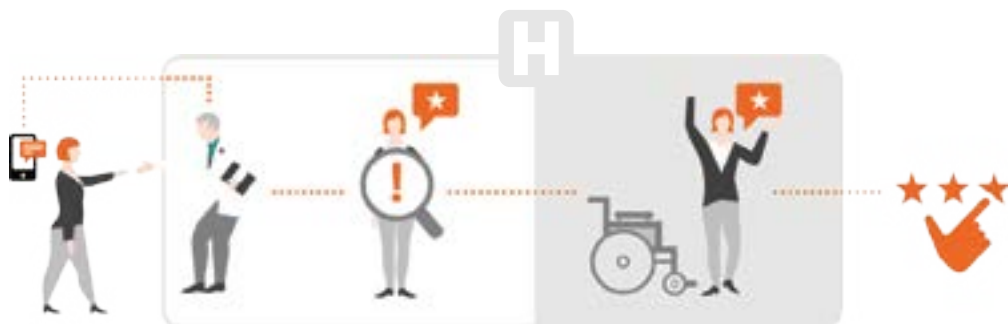
Melhorar a experiência do paciente

O Beryl Institute, comunidade global focada em melhorias para a experiência do paciente, define "experiência do paciente" como: **"A soma de todas as interações, moldadas pela cultura de uma organização, que influenciam as percepções dos pacientes em todo o ciclo de atendimento"**. Ou seja, a experiência do paciente é sobre como o paciente se sente ao passar pelo tratamento contínuo.



Acreditamos que os pacientes se tornarão consumidores

Eles estarão envolvidos na gestão de sua própria saúde e bem-estar usando tecnologias digitais. Essa será a força propulsora que definirá sua percepção e suas decisões. O paciente será um consumidor informado que tem suas próprias expectativas e exercita seu poder de escolha.



Engajamento de pacientes e familiares

Abordagem proativa e educativa para envolver os pacientes na gestão de sua saúde e bem-estar.

Otimizar a experiência do diagnóstico

Tecnologia amiga do paciente. Potencial para menor tempo de espera. Necessidades de viagens reduzida.

Entrega de resultados que importam aos pacientes

Potencial para menos efeitos colaterais, menos complicações e melhores resultados terapêuticos duradouros.

Manter a fidelidade do paciente

Os pacientes acessam seus dados e resultados. Continuidade do atendimento por meio de divulgação automatizada.

Alguns exemplos de soluções que ajudam a melhorar a experiência do paciente:



Sistema de Análise do Sangue epc®

Análise completa de gases e painel metabólico básico com hematócrito e lactato em um único cartão de teste com resultados em menos de 1 minuto.



Analisadores de gases sanguíneos RAPID®

Portfólio abrangente para testes de cuidados críticos, fornecendo resultados próximos aos pacientes e apoiando as demandas de alto rendimento de um laboratório clínico.



Analisador DCA Vantage®

Monitoramento do controle glicêmico e a detecção de doenças renais precoces, desde o consultório médico até os locais mais remotos, coordenados no ponto de atendimento em hospitais e consultórios.

Digitalizar os cuidados com a saúde

Nosso amplo portfólio de soluções de TI fornece suporte eficaz no diagnóstico, monitoramento e gerenciamento de doenças, fornecendo aos médicos e laboratórios, informações necessárias para um atendimento de qualidade ao paciente, integrando dados clínicos e demográficos e apoiando de forma inteligente o diagnóstico clínico.



Acreditamos que os cuidados com a saúde serão digitais

Equipamentos médicos contribuirão para o crescimento exponencial dos dados de saúde. A inteligência artificial transformará esse vasto universo de dados em insights implementáveis. Essa revolução digital impulsionará nossa compreensão juntamente do tratamento de doenças, além de modificar a natureza dos cuidados com a saúde.



Gerar

Imagens de alta qualidade, dados laboratoriais e operacionais.

Agregar

Dados para transparência, interoperabilidade em todo o sistema e compartilhamento de conhecimento.

Analisar

Dados para gerar compreensões acionáveis, aproveitando análises e inteligência artificial.

Operacionalizar

Através de experiências de usuário simplificadas e suporte no gerenciamento de mudanças.

Alguns exemplos de soluções que ajudam a melhorar a digitalização dos cuidados com a saúde:

Atellica® Data Manager

Solução de middleware personalizável e escalável, que permite a automatização dos fluxos de trabalho avançados e autovalidação, evita repetições de testes desnecessários, reduz as oportunidades de erro humano e fortalece o gerenciamento dos testes de controle de qualidade, melhora o foco clínico para aumentar a eficácia da equipe.



Atellica® Process Manager

Controla e melhora os processos com supervisão centralizada e análises de *business intelligence* acionáveis e análises de processos para descobrir e otimizar ineficiências.



Atellica® Inventory Manager

Automatiza a gestão de reagentes e consumíveis em vários locais do laboratório através da tecnologia de RFID para reduzir custos, poupar tempo, melhorar a qualidade e gerar pedidos automatizados.



Atellica® Connectivity Manager

Melhora a conectividade, habilita a integração de dados e maximiza o desempenho em toda a sua rede.



Sistema de Gerenciamento de Dados POCcelerator™

É um sistema aberto de gestão de dados que permite conectar mais de 180 dispositivos de *Point of Care*.



Sistemas de Suporte a decisões clínicas:

PRISCA, sistema avançado de cálculo de risco pré-natal, utiliza marcadores bioquímicos, medições de ultrassom e dados demográficos para calcular com precisão os riscos e fornecer relatórios detalhados.

AI-Pathway Companion, próxima geração em sistemas de suporte a decisões clínicas, integrando de forma inteligente dados relevantes usando tecnologias de inteligência artificial para facilitar as decisões de diagnóstico e tratamento ao longo de caminhos específicos da doença.



Referências bibliográficas:

1. Fang et al., 2011
2. Cadogan et al., 2015; Lippi et al., 2016; Plebani, 2015; Sarata and Johnson, 2014
3. Rohr et al., 2016



Atellica® Diagnostics IT

Menos Trabalho. Mais Fluxo.
Controle total de toda operação do seu laboratório



O portfólio **Atellica® Diagnostics IT** permite que laboratórios simplifiquem e automatizem tarefas, além de possibilitar o aumento da capacidade e eficiência.

Resultados como:

- ↓ Uma redução de 93% nos erros de testes .¹
- ↓ Uma redução de 35% do tempo gasto no gerenciamento de inventário.²
- ↑ Um aumento de 85% na satisfação do paciente e da equipe.¹

Atellica® Data Manager: um middleware simples com conectividade aberta para o gerenciamento de pacientes e controles de qualidade.

Atellica® Process Manager: otimizando o fluxo de trabalho com análises de *business intelligence*.

Atellica® Inventory Manager: gerenciamento de inventário automatizado em tempo real utilizando a tecnologia de RFID.

Referências Bibliográficas:

1. Wen D, et al. Establishment and application of an autoverification system for chemistry and immunoassay tests. 69th AACC Annual Scientific Meeting Abstracts. 2017.
2. Columbus Regional Health leverages informatics and automation efficiency. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. 30-19-13821-01-76. 2019 May.

Melhorando o fluxo de trabalho na rotina de hematologia usando os testes reflexos

O que é um teste reflexo?

É um teste automaticamente realizado a partir do resultado anormal de um exame inicialmente solicitado pelo requerente. É também conhecido como teste de protocolo porque muitas vezes faz parte de um algoritmo diagnóstico para determinadas doenças. Alguns exemplos de testes reflexos já bastante utilizados são a dosagem da tiroxina livre (T4) a partir de um resultado de TSH anormal, ou a determinação do PSA livre quando o PSA total apresenta valores elevados. A grande vantagem do teste reflexo é que ele agiliza o diagnóstico e diminui a requisição de exames desnecessários ou inespecíficos.

Teste reflexo na rotina hematológica

Vamos ressaltar dois testes ainda não totalmente incorporados na rotina dos laboratórios de hematologia, mas que podem auxiliar e agilizar bastante o diagnóstico diferencial de algumas condições patológicas, reduzindo o tempo da investigação e a requisição de exames comprobatórios subsequentes.

- 1. **Na investigação das anemias:** a contagem de reticulócitos (RTC) é um excelente teste reflexo na investigação das anemias. Vejamos na figura abaixo quais informações a contagem de reticulócitos pode nos fornecer (**Figura 1**).

Quando requisitar	Por que requisitar?	Resultado esperado quanto às contagens de RTC
Investigação de anemia	Diferencia anemia hipoproliferativa de anemia regenerativa	Hipoproliferativa: valores reduzidos em relação à anemia Regenerativa: medula responsiva, contagem de RTC normal ou elevada
Diagnóstico diferencial das anemias macrocíticas	Diferencia anemia megaloblástica da anemia macrocítica com hemólise e resposta medular	Megaloblástica: normal ou reduzida Anemia hemolítica: reticulocitose
Diagnóstico diferencial das anemias normocíticas	Diferencia anemias da fase de diferenciação de anemias da fase de circulação	Anemias de origem medular: normal ou reduzida Anemias por destruição de hemácias: elevada
Avaliação da resposta ao tratamento de reposição de ferro	Resposta precede todos os outros dados hematimétricos	Medula responsiva: elevada Tratamento ineficaz ou erro no diagnóstico: reduzida

Figura 1: A importância da contagem de reticulócitos na investigação das anemias

Portanto, o uso da contagem de RTC como teste reflexo de uma dosagem de hemoglobina (Hb) baixa agiliza bastante a investigação da causa da anemia, principalmente se associada aos outros dados que o hemograma fornece. Como a contagem de RTC é um indicador da atividade medular, ela nos fornece uma informação essencial no diagnóstico diferencial das anemias: a dosagem da Hb está reduzida por falta de produção medular ou aumento de destruição periférica? A partir dessa resposta, como podemos ver no diagrama abaixo (**Figura 2**), são várias as possibilidades, que com a observação dos outros dados do hemograma, como os dados hematimétricos, contagens de leucócitos e plaquetas, além da observação das alterações morfológicas, é possível "encurtar" o caminho para um diagnóstico definitivo.

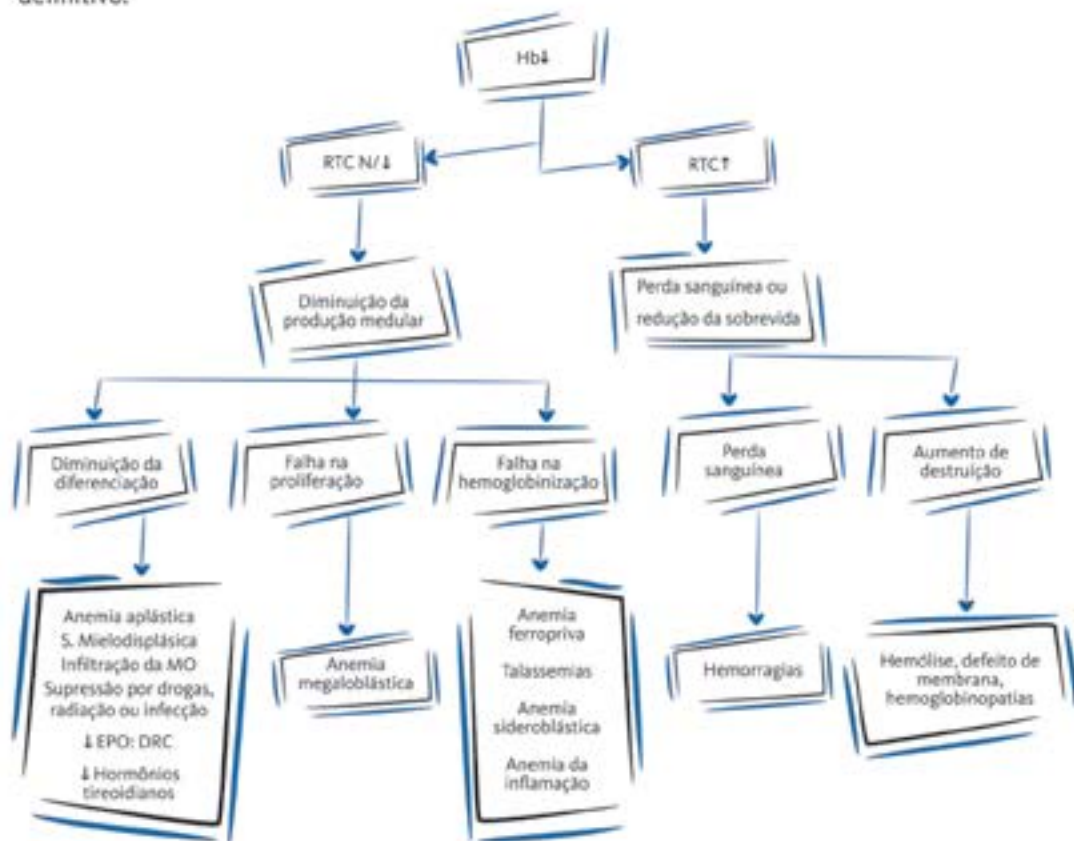


Figura 2: Algoritmo para investigação das anemias a partir do resultado da contagem de RTC
 Legenda: MO: medula óssea; EPO: eritopoetina; DRC: doença renal crônica

Além da contagem de RTC em números percentuais e absolutos, a tecnologia Sysmex fornece mais um dado importante para avaliar a produção e qualidade dos glóbulos vermelhos. Utilizando a citometria de fluxo fluorescente e um corante específico para DNA e RNA é possível classificar os RTCs pelos graus de maturidade e de hemoglobinizacão da célula. Com isso obtemos o parâmetro RET-He, que é um indicador do conteúdo de Hb dos reticulócitos e reflete a disponibilidade de ferro para a eritopoiese (**Figura 3**).

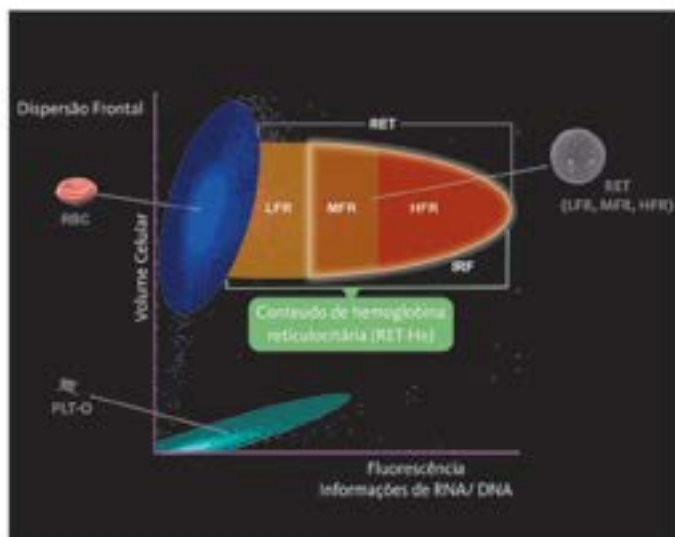


Figura 3: Gráfico de dispersão do Canal RET.

Havendo deficiência de ferro, valores reduzidos de RET-He serão observados, antes que a concentração de Hb das hemácias maduras acuse essa alteração. Portanto, é um parâmetro precoce da deficiência de ferro. Várias aplicações clínicas do RET-He tem sido relatadas na literatura (Figura 4).

Preditor da deficiência de ferro
Marcador diagnóstico da deficiência de ferro (com ou sem anemia) e da anemia ferropriva
Monitoramento da terapêutica de reposição de ferro
Bom indicador do estado do ferro na anemia da inflamação/infecção
Em pacientes com doença renal crônica em regime de diálise: otimização da terapia com ferro IV e provável redução da utilização de AEE (agentes estimulantes da eritropoiese)

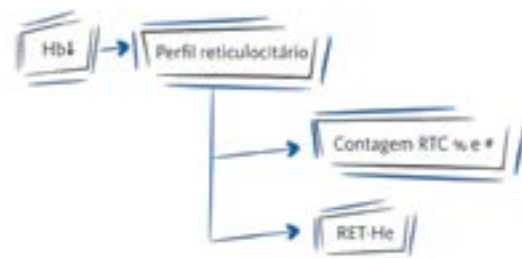
Figura 4: Aplicações clínicas do RET-He

No algoritmo abaixo (Figura 5) vemos como a associação de diferentes parâmetros do hemograma nos auxiliam no diagnóstico diferencial das anemias por falha na síntese de hemoglobina. Usando essas informações é possível conduzir a solicitação de exames confirmatórios de maneira mais racional, otimizando o fluxo de exames e fornecendo um diagnóstico definitivo em menor tempo e com menor custo.



Figura 5: Algoritmo para diagnóstico diferencial das anemias por déficit da síntese de hemoglobina

Melhora do fluxo de trabalho usando os testes reflexos na investigação das anemias



Recomendações:

- Para o médico solicitante:
 - Na suspeita clínica de anemia sempre solicitar o perfil reticulocitário: RET % e #, fração de reticulócitos imaturos (IRF) e RET-He.
- No laboratório: tornar o perfil reticulocitário um teste reflexo sempre que os valores de hemoglobina forem indicativos de anemia para idade e sexo do paciente.

→ 2. Teste reflexo na investigação das trombocitopenias

Trombocitopenia: contagem de plaquetas $< 150 \times 10^9/L$.

Dois mecanismos principais são responsáveis pela redução de plaquetas circulantes (**Figura 6**), com diferentes respostas medulares.



Figura 6: Principais mecanismos que causam trombocitopenia

Causas de trombocitopenia

1. Diminuição da produção: pode ser herdada ou adquirida.

1.1.Herdadas: anemia de Fanconi, Anomalia de May-Hegglin, Síndrome de Alport; Síndrome de Wiskott-Aldrich, Síndrome da plaqueta cinza.

1.2.Adquiridas: comprometimento de células precursoras ou do microambiente medular, consequentes a quimioterapia ou radioterapia, doenças hematológicas, metástases.

- **Infecções:** bacterianas, virais e parasitárias

- **Deficiências nutricionais:** deficiência de Vit. B12 e ácido fólico, alcoolismo

2. Por aumento de consumo ou menor sobrevivência

2.1. Mecanismos imunes: autoimunes, associados a infecções, drogas

2.2. Aumento de consumo: Púrpura trombocitopênica trombótica (PTT), Síndrome Hemolítica Urêmica, Púrpura Trombocitopênica Imune (PTI).

Um terceiro mecanismo pode estar envolvido na redução de plaquetas circulantes:

3. Alterações na distribuição: cirrose com hipertensão hepática, doença de Gaucher, sequestro esplênico, infecções com esplenomegalia, hipersplenismo.

Dois pontos são de suma importância na avaliação das plaquetopenias: o primeiro diz respeito à acurácia da contagem, já que alguns interferentes podem causar falsas plaquetoses ou falsas plaquetopenias dependendo do método utilizado para a detecção e contagem das plaquetas. Sabemos que a correta determinação do número de plaquetas é muito importante, porque implicará no tipo de conduta a ser tomada, tanto em termos terapêuticos, como a necessidade ou não de transfusão de plaquetas. O segundo ponto refere-se à identificação da possível causa daquela plaquetopenia, já que dependendo da causa pode-se ter uma conduta mais expectante ou mais imediata quanto ao tratamento do paciente.

A metodologia Sysmex responde a essas duas questões, usando um corante específico (oxacina) que cora o retículo endoplasmático rugoso e a mitocôndria da plaqueta, e o foco hidrodinâmico que conta cada partícula separadamente, sem a possibilidade de sobreposição. Os analisadores da Série-XN da Sysmex possuem um canal dedicado à identificação e contagem das plaquetas usando a metodologia citada acima, denominado canal de plaqueta fluorescente (PLT-F). O **teste reflexo** é realizado automaticamente quando a contagem por impedância não garantir um resultado preciso. A amostra será então processada no Canal de PLT-F, onde o tempo de contagem se estende em 6 vezes, e o corante fluorescente junto com a determinação do tamanho das partículas, possibilitará uma contagem mais precisa, principalmente nas plaquetopenias e/ou na existência de interferentes.

O que isso significa? Eliminação de repetidas contagens, que aumentam o tempo de realização do exame e maior confiabilidade no resultado do teste.

Além da contagem de plaquetas mais precisa, o uso do corante fluorescente para RNA possibilita a diferenciação das plaquetas de acordo com o grau de maturidade da célula: plaquetas mais jovens, recém lançadas na circulação são maiores e têm maior conteúdo de RNA do que as plaquetas mais maduras. Com isso, é possível discriminar as populações, sendo a fração de plaquetas imaturas (IPF), o parâmetro correspondente às plaquetas mais jovens (**Figura 7**).

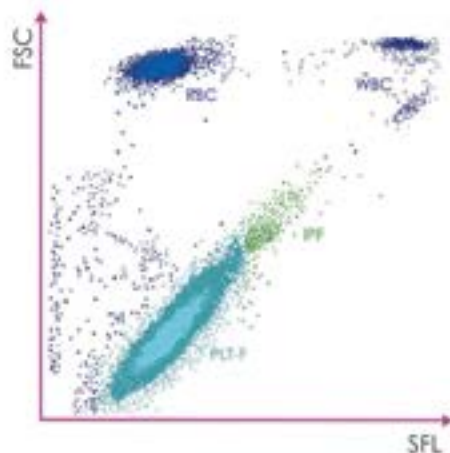


Figura 7: Canal de plaquetas fluorescentes (PLT-F)

Algumas características das plaquetas imaturas:

- ▶ São plaquetas jovens recém-lançadas na circulação, que ainda contém RNA
- ▶ Maior volume e mais densas
- ▶ Mais reativas
- ▶ Tem a capacidade de produzir e secretar proteínas porque possuem uma quantidade significativa de ácidos nucleicos → plaquetas reticuladas
- ▶ Maior expressão de proteínas relacionadas com a trombose, como a P-selectina, glicoproteína IIb/IIIa e cicloxigenase
- ▶ São mais resistentes à aspirina

Algumas aplicações clínicas da IPF

1. A quantificação das plaquetas imaturas é bastante útil na **diferenciação das trombocitopenias**, uma vez que de forma rápida e precisa indica se a origem daquela plaquetopenia é central (medular) ou periférica (destruição). (**Figura 8**).



Figura 8: a IPF como auxiliar na identificação da resposta medular à trombocitopenia.

Sabemos que as causas associadas com esses dois mecanismos de trombocitopenia, assim como o tratamento e evolução são bastante distintos. Portanto, a obtenção rápida dessa informação é muito útil para determinar a conduta clínica. Adotar a contagem de plaquetas fluorescentes como teste reflexo das plaquetopenias é uma medida indicada para otimizar o diagnóstico do paciente e auxiliar na tomada de conduta subsequente.

2. Na indicação da necessidade de transfusão:

Como sabemos as transfusões sanguíneas, embora imprescindíveis em alguns casos, não são isentas de riscos. Nas trombocitopenias a transfusão de plaquetas tem diferentes indicações, dependendo do propósito (uso terapêutico ou profilático) e da condição associada à plaquetopenia. O número de plaquetas/ μ L utilizado como indicativo ou não da necessidade de reposição das plaquetas também é variado, dependendo da condição clínica do paciente e da patologia existente. Em alguns casos, o uso terapêutico da

transfusão de plaquetas deve ser evitado, como na púrpura trombocitopênica autoimune, e é contra-indicada na trombocitopenia induzida por heparina, púrpura trombocitopênica trombótica e síndrome hemolítica urêmica.

Portanto, dois pontos devem ser ressaltados: 1º) a contagem de plaquetas, principalmente nas baixas contagens deve ser muito precisa, para a decisão do momento certo de se fazer a transfusão; 2º) a etiologia da plaquetopenia permite que a conduta seja imediata ou seria possível aguardar porque há indicação de que a medula óssea tem capacidade de recuperação.

Nesses dois aspectos, a tecnologia Sysmex pode ser muito útil na tomada de decisão, assegurando contagens de plaquetas precisas e confiáveis e fornecendo informação de como está a atividade megacariocítica. Assim, níveis de plaquetas reduzidos com IPF elevada significa que a medula óssea está produzindo novas plaquetas, havendo a possibilidade de uma conduta mais expectante quanto à transfusão. Por outro lado, plaquetopenia com IPF baixa indica que a medula óssea é hiporegenerativa, novas plaquetas não estão sendo produzidas de maneira adequada, o que pode colocar o paciente em risco hemorrágico, e a transfusão deve ser realizada.

Melhora do fluxo de trabalho usando os testes reflexos na investigação das plaquetopenias



Recomendações:

- ▶ Para o médico solicitante:
 - ▶ Na suspeita clínica de trombocitopenia sempre solicitar o perfil plaquetário: PLT-F e índices plaquetários
 - ▶ Incluir a IPF nos protocolos de avaliação das trombocitopenias
- ▶ No laboratório:
 - ▶ Tornar o perfil plaquetário um teste reflexo sempre que os valores de plaquetas estiverem reduzidos na contagem por impedância

Bibliografia de apoio:

- Abe Y, Wada H, Tomatsu H et al. A simple technique to determine thrombopoiesis levels using immature platelet fraction (IPF). *Thromb Res* 2006;118(4):463-469.
- Briggs C, Harrison P, Machin J. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hematol* 2007; 29:77-91.
- Buttarello M, Flebani M. Automated blood cell counts. State of the art. *Am J Clin Pathol* 2006; 130:104-116.

- Harrison P. Platelet development. *Sysmex J Int* 2007; 17:73-80.
- Hoffbrand AV & Moss PAH. *Essential Haematology*. Wiley-Blackwell, UK, 6th edition, 2011
- Schoorl M et al. New fluorescent method (PLT-F) on Sysmex XN2000 hematology analyzer achieved higher accuracy in low platelet counting. *Am J Clin Pathol* 2013;140:495-499.

HEMATOLOGIA SYSMEX Série-XN e Série XN-L

Padronização, qualidade e consistência nos resultados para laboratórios em constante evolução.



VOCÊ DETERMINA quais parâmetros analisar. **VOCÊ DETERMINA** a velocidade de processamento. **VOCÊ GERENCIA** testes reflexos conforme seus critérios. Essa é a **HEMATOLOGIA SYSMEX** que se adapta às suas necessidades.

SYSMEX SÉRIE XN-L

O legado da tecnologia Sysmex ao alcance do seu laboratório

Quaisquer que sejam suas necessidades, existe um modelo XN-L para você!

Os analisadores XN-350, XN-450, XN-550 irão atender sua demanda por qualidade e confiança nos resultados, através da **mesma tecnologia e reagentes** usados pelos analisadores de ponta. Além de **agregarem valor clínico** ao hemograma de rotina com a análise de **granulócitos imaturos (IG)**, a Série XN-L é capaz de oferecer **testes especializados** como **perfil reticulocitário, análise de outros líquidos biológicos.**

XN-550

A melhor escolha para quem busca tecnologia, *design* e melhoria no fluxo de processamento

- ▶ Analisador compacto de diferencial leucocitária de 6-partes, incluindo análise de granulócitos imaturos (IG) em todos os hemogramas
- ▶ Maior agilidade na liberação dos resultados devido à análise automática e carregamento contínuo das amostras
- ▶ Maior produtividade com automação dos testes reflexos ou reanálise das amostras segundo critérios estabelecidos pelo laboratório
- ▶ Velocidade de processamento padrão de até 60 amostras por hora com possibilidade de realizar até 70 amostras por hora
- ▶ Volume de aspiração de somente 25 µL de sangue



SYSMEX SÉRIE XN

Maximize sua produtividade com a solução em hematologia perfeita para você

A Sysmex acredita que pode melhorar o desempenho do seu laboratório aplicando o nosso conhecimento e experiência de acordo com a necessidade e demanda específica da sua rotina.

A Série-XN é o reflexo dessa crença e do nosso compromisso em oferecer:

- ▶ Ampla gama de parâmetros que **agregam valor clínico** ao hemograma através da comprovada tecnologia de **citometria de fluxo fluorescente**;
- ▶ **Padronização e melhoria da qualidade** dos resultados do hemograma;
- ▶ Otimização do fluxo de trabalho e aumento da produtividade do laboratório;
- ▶ Confirmação automática dos resultados através de **ações rerun (reanálise) e testes reflexos** definidos por **critérios estabelecidos por cada laboratório**.



SYSMEX SÉRIE XN

XN-1000

O alicerce da automação Sysmex

- ▶ Capacidade analítica personalizada com possibilidade de reportar:
 - ▷ Perfil reticulocitário
 - ▷ Segunda metodologia de plaquetas por análise de citometria de fluxo fluorescente
 - ▷ Análise de outros líquidos biológicos
- ▶ Até 100 amostras por hora



XN-1500

Solução completa em uma única plataforma analítica

- ▶ Compacto, integra um módulo analítico XN com o preparador e corador de lâminas SP-50
- ▶ Velocidade de até 100 amostras por hora
- ▶ Possibilidade de integração da solução XN-1500 com o dispositivo de imagem digital DI-60™ (opcional)

XN-2000

O par perfeito

- ▶ Conceito de equipamento back-up integrado: combinação de dois módulos XN que funcionam juntos perfeitamente processando as amostras simultaneamente
- ▶ Velocidade de até 200 amostras por hora



SYSMEX SÉRIE XN

XN-3100

Maior produtividade em um espaço mínimo

- ▶ Solução ideal para laboratórios com demanda para um sistema de back-up e automação da confecção e coloração de lâminas
- ▶ Velocidade de até 200 amostras por hora
- ▶ Aumento da produtividade do laboratório com a integração de dois módulos analíticos XN com o preparador e corador de lâminas SP-50
- ▶ Possibilidade de integração com o dispositivo de análise digital da morfologia celular DI-60™ (opcional)

XN-9100

Flexível e modular, pronto para crescer juntamente com o seu laboratório

- ▶ Configurações para diversos fluxos de trabalho que podem integrar até 10 módulos analíticos XN com o preparador e corador de lâminas automático, SP-50
- ▶ Possibilidade de integração com o dispositivo de análise digital da morfologia celular DI-60™ (opcional)





Tecnologia e Serviços

**Gerenciamento Laboratorial
a qualquer hora, em qualquer lugar.**

Desde 1997 a TM Informática vem desenvolvendo e oferecendo soluções, muitas delas customizadas, sempre de acordo com a necessidade de nossos clientes.

Hoje, após mais de duas décadas de experiência podemos dizer que somos referência no setor de Tecnologia de Informação para a área de Análises Clínicas e Medicina Diagnóstica, processando mais de 25 milhões de exames por mês em nossos sistemas, automatizando e organizando laboratórios e hospitais.

Nossos Produtos:

LISNET – Sistema de Gestão Laboratorial

TM QUALITY – Sistema de Controle de Qualidade

TM INTERFACE – Sistema de Interfaceamento

TM PRODUTOS – Sistema de Controle e Gerenciamento de Estoque

Entre em contato conosco.

Teremos o enorme prazer em levar a você a solução que seu o laboratório precisa.





Tecnologia e Serviços

**Gerenciamento Laboratorial
a qualquer hora, em qualquer lugar.**

Nossa Missão

Agir para promover a melhoria dos serviços e produtos personalizados para a área de saúde e bem estar das pessoas.

Visão

Crescer de forma sustentável e contínua e ser reconhecida como uma das melhores empresas de desenvolvimento em soluções para a área da saúde.

Valores

Transparência e ética nos negócios

Flexibilidade e agilidade nos negócios

Zelo pelo sigilo e segurança das informações

Ser atencioso e fiel

Ser um concorrente leal

Reconhecimento e valorização das pessoas

Compromisso com a sustentabilidade do meio ambiente



Nós entendemos a importância do Controle de Qualidade para o Laboratório Clínico e temos a solução completa para facilitar essa etapa.

TMQuality é um software desenvolvido para o controle de qualidade em laboratórios de análises clínicas que tem como principal objetivo gerenciar dados técnicos para monitorar e melhorar a qualidade dos processos analíticos.

Com uma interface amigável, o sistema é muito fácil de ser manuseado e totalmente configurável de acordo com a rotina de qualidade definida pelo laboratório. Além de ser multi-usuário o TMQuality possui módulos que podem ser gerenciados via web facilitando ainda mais o gerenciamento à distância.

Veja as principais características desse completo software de gestão de qualidade.

Integração com o sistema da Control-lab

Envio automático dos ensaios da rodada, eliminando o risco de erros de digitação.

Inserção de valores de bulas

Atualizados automaticamente, não sendo necessário inserir os valores de bula a cada troca de lote. Apenas um clique e o sistema faz pra você.



Rastreabilidade

Controles, rastreabilidade de lotes, Ações Corretivas: todas as informações são armazenadas no sistema. Rastreabilidade por usuário: ações, validações, supressão de pontos, justificativas, alteração das médias, tudo rastreável por usuário.



Gráficos de Westgard

Fácil visualização e análise de tendências e desvios. Análise por analito de acordo com o período desejado. Análise diária de analitos por equipamento. Parametrização de acordo com necessidade: Regras de westgard, regras internas de qualidade de cada laboratório, por analitos, por período, alarmes visuais.

Segurança

Liberação de equipamentos para o uso após validações. Condicionar a liberação de analitos após o usuário registrar as ações corretivas. Dupla checagem.

Registro de Manutenção dos Equipamentos

Importante para justificar a possível falta de dados durante a manutenção do equipamento, com possibilidade de anexar as Ordens de Serviços.

Controle de Qualidade por Paciente

Analisar o controle de qualidade em todas as solicitações de um paciente específico com detalhes ricos e múltiplos gráficos.

Relatórios

Relatórios mensais de coeficiente de variação por analito, equipamento, período. Relatório de erros total e calculado. Estatísticas de exames realizados por lote, ajudando a controlar o rendimento do controle e evitar maiores desperdícios. Relatório de Manutenções dos Equipamentos. Relatório de Ações Corretivas com gráficos.

LISNET

A Solução em gestão para seu laboratório. Um poderoso LIS (Laboratory Information System) desenvolvido para atender todas as necessidades do seu laboratório podendo ainda ser customizado de acordo com a sua rotina.

A riqueza de funcionalidades e a solidez dos seus conceitos são características fundamentais que garantiram o sucesso desse sistema em diversos serviços, públicos e privados, hospitalares e ambulatoriais, assim como redes laboratoriais e bancos de sangue.

Integração com Sistemas Hospitalares (HÉS)
Integração com SICOLO, SISMAMA, BPA e BPAI
Sem limites de usuários ou máquinas
Rastreabilidade desde a emissão da senha de atendimento
Total rastreabilidade e controle de caixa
Etiquetas pré-impresas
Controle e confirmação de coletas por amostras
Triagem por lotes
Emissão de etiquetas primárias de laboratórios de Apoio
Monitoramento da Produção por gráficos em tempo real
Relatórios avançados de microbiologia para SCIH
Estatísticas gerenciais avançadas

Painéis de controle para acompanhamento de TAT pela área técnica
Painéis de gestão à vista
Reconhecimento automático de máscaras dos laudos de acordo com metodologia utilizada
Soroteca Integrada e com gestão de descarte
Acompanhamento de repetições e resultados anteriores na tela de liberação
Delta-Check e 4 níveis de flags de alterações
Faturamento com emissão de guia TISS e geração de XML automático
Consulta de pacientes completa pela web



Tecnologia e Serviços

TM Interface

Sistema de interfaceamento laboratorial com funcionalidades de LIS.

Permite o gerenciamento da produção desde a entrada das amostras até a liberação dos resultados. Possuímos mais de 300 drivers de comunicação com equipamentos de automação laboratoriais de todas as marcas do mercado. Desenvolvemos drivers para qualquer plataforma interfaceável, com a possibilidade de utilização de todos os recursos de cada equipamento bem como gráficos de eletroforese, histogramas e outras funcionalidades.

Temos protocolo de integração (facilmente interpretado) com sistemas de gestão laboratorial LIS (Laboratory Information System) e Hospitalares HIS (Hospital Information System), também disponíveis para os protocolos padrões de mercado ASTM, HL7 entre outros.

Sem limites de usuários ou máquinas

Processo completo de gerenciamento de amostras em uma única tela
Soroteca Integrada e com gestão de descarte

Delta-Check

Contador de células integrado

Auto Validação de Resultados

Configuração de Laudos por metodologias

Visualização de gráficos dos exames diretamente na tela do sistema

Integração com Sistemas Hospitalares (HIS) e laboratoriais (LIS)

Integração com sorteadores Pré e Pós Analíticos

Painel de monitoramento de exames da área técnica

Índice remissivo

A

A1C 353
ação corretiva 24
ação preventiva 20
acidose 231
acreditação 178
água grau reagente 106
 controle da qualidade 108, 115
água reagente 115
 carbono orgânico total 116
 garantia de qualidade 115
 resistividade 116
 sistemas de purificação 117
alfetoproteína 289
algoritmos 425
AMH 349
análise 171
 crítica 164
 de riscos 9
 SWOT 9
anemia falciforme 285
anticorpos antinucleares 359
antígeno
 carcinoembrionário 291
 prostático específico (PSA) 294
Apo B 224
autoanticorpos 359, 366
autoimunidade 366
automação 427

do exame de urina 325
laboratorial 61
autoverificação 207

B

benchmarking 15
biomarcadores 399
biossegurança 48
bisalbuminemia 236
BrCAST 299

C

CA19-9 291
CA125 290
cadeias leves livres 238
calibração 29
câncer prostático 295
citometria de fluxo 274
coagulação 269
coagulopatias 268
coeficientes de variação 254
colesterol 223
coleta de sangue 198
 segurança do paciente 198
 tubos 201
componente monoclonal 238
comportamento seguro 52
comunicação de resultados 212
comutabilidade 140
contaminação da amostra 415

controle da qualidade 316
controle de documentos 41
controle de qualidade 142, 147, 153,
165, 167, 253
interno 147, 153
correlação e regressão linear 262
cromatografia 240, 332
cultura de segurança 52

D

delta check 207
demências 399
desempenho 15, 156
desenvolvimento de metodologias
analíticas 240
design 424
diabetes melito 353
diferenciação 90
disco-difusão 300
documento 39
doença inflamatória 370
doenças
autoimunes 359, 366
autoinflamatórias 377
dor torácica aguda 221
drogas de abuso 410

E

eficiência 28, 61, 98
operacional 206
electroforese capilar 354
elementos-traço 414
eletroforese 286
de proteínas 235
encefalites autoimunes 401
endocrinologia 241, 327
enolase neurônio-específica 290
ensaio de proficiência 160, 167
equipamentos 139, 179

equivalência entre sistemas
analíticos 139
erro(s)
aleatório 255
inatos da imunidade 376
sistemático(s) 149, 255
crítico 156
laboratoriais 18
randômicos 149
especificações de qualidade 135
especificidade 2
espectrofotométricos 415
espectrometria de massa(s) 111, 240,
248, 253, 305, 327
calibrador interno 249
curva de calibração 249
validação 248
espermatozoides 404
espermograma 404
estatística de Chauvenet 258
estatística Kappa de Cohen 261
exame de proficiência 255
exame de urina 309
automação 318
bilirrubina 314
corpos cetônicos 313
glicosúria 312
hemácias 320
hematúria 311
leucocitúria 312
proteínúria 312
tiras reagentes 316
exatidão 2, 154, 250

F

FAN 359
farmacoeconomia 83
fase pós-pós-analítica 184
fase pré-pré-analítica 185, 198

interferentes 184
orientações aos pacientes 187
pedidos de exames 184
raciocínio clínico 186
solicitação de exames laboratoriais 184
fases laboratoriais 184
 monitoramento 198
 pós-analítica 184
 pré-analítica 184
fibrinogênio 271
fluido seminal 404
fluxo(s) de trabalho 61, 98
FSH 346

G

garantia da qualidade 248
gasometria 228
gênero designado 70
gestão 8
 da qualidade 20
 analítica 156
 de documentos 39
 de equipamentos 28
 de pessoas 94
 de segurança 47
 laboratorial 14
gonadotrofinas 346
gráfico de Levey-Jennings 148

H

harmonização de métodos 139
HbA1c 353
HbA2 357
hemácias glomerulares 324
hematúria 324
hemoglobina glicada 353
hemoglobinas variantes 286
hemoglobinopatias 283, 356
Hemoglobinúria paroxística noturna 282

hemólise 190
 acelerador de coágulo 192
 harmonização 194
 interferência 190
hipercalemias 191
hipercolesterolemia familiar 223
 heterozigótica 223
hipocalemia 191
hormônio anti-mülleriano 349
hormônio(s) 328
 tireoestimulante 333
HPLC 111, 286

I

imunodeficiências 372
imunodiagnóstico 383
imunoensaios 329, 334, 410
imunofluorescência indireta 359
imunologia 383
imunossorologia 383
 especificidade 387
 interferentes 384
 sensibilidade 386
 validação 385
incorporação de novas tecnologias 83
indicadores 15
 de desempenho 13
índice de saúde da próstata 296
infarto 220
infecção 306
 Aspergillus 306
 Candida albicans 306
 Cryptococcus 304
infecções parasitárias 391
 exames laboratoriais 391
 pesquisa diagnóstica 394
infertilidade 351, 404
inovação 11, 427
inteligência artificial 427

interferentes 109
intoxicação 417
investigação das causas 170
iodotironinemia 341

J

jejum 3

L

laboratório clínico 20, 167
laboratório do futuro 423
laudos confiáveis 153
LC-MS 240
LC-MS/MS 328
LDL-C 223
LDLR 224
Lean 63, 98
 eficiência 98
 processos 98
 produtividade 98
 qualidade 98
 velocidade 98
leucemia(s)
 aguda(s) 276
 linfoide aguda 278
LH 346
liberação automática de resultados 206
linfoma 278
lipemia 5
liquor 398
lúpus eritematoso 362

M

manutenção corretiva 29
marketing estratégico 87
martech 93
melhoria 16
 melhoria contínua 20, 99, 423
metal 415

metanálises 84
métrica Sigma 128, 255
micologia 304
microscopia 319
 automatizada 325
monitoramento terapêutico 241

N

não conformidade(s) 20, 178
neoplasias de células B maduras 278
neuroinfecções 398
nome social 70
novas tecnologias 83

O

oligoelementos 414
osmose reversa 111

P

p2PSA 296
P50 231
PALC 178
 dúvidas 183
 implantação 178
parasitológico 391
PCA3 296
PCO2 230
PCSK9 224
performance 61
perigo 48
planejamento estratégico 8
plano de *marketing* 91
point-of-care test 419
 comparabilidade 419
 equivalência 420
 validação 419
 verificação 419
polimorfismos 287
Portaria n. 64 303

posicionamento 90
práticas seguras 47
precisão 2, 154, 250
processo laboratorial 15
produção enxuta 63
profissionais 427
ProGRP 291
prolactina 351
prostatectomias 294
proteína-M 238
protrombina 269
punção lombar 398

Q

qualidade 15, 178

R

rastreio de drogas 412
redesignação
do gênero 70
sexual 71
reference change value 209
cálculo 209
registros 39
regras
de controle 156
de Westgard 149
Relação Normatizada Internacional
(RNI) 269
repetitividade e reprodutibilidade 265
resultados críticos 212
revisão sistemática 204
riscos no laboratório clínico 47
robótica 426

S

saúde ocupacional 52
sedimento urinário 323
segmentação 90

segurança do paciente 22
Seis Sigma 128
sêmen 404
seminal 404
sensibilidade 2
sexo 71
sigma 156
síndromes autoimunes 363
diagnóstico 363
síndrome urêmica hemolítica 196
sistema(s)
de gestão da qualidade 39
de informações 39
de purificação 109
documental 39
analíticos 139
SO₂ 230
Socratica 94

T

Tabela de Rümke 259
talassemia 285
Team-Based Learning 94
teste(s)
de Allen 229
de sensibilidade 299
concentração 300
concentração inibitória
mínima 301
F-Snedecor 265
laboratorial remoto (TLR) 419
de sensibilidade aos antimicrobianos
(TSA) 299
rápidos 410
interpretação dos resultados 412
saliva 411
urina 411
tireoidianos 334
T (*student*) 264

testosterona 350
tiras reagentes 316
tireoide 333
 interferentes 342
tiroxina 333
toxicologia 240, 241, 410
traçado eletroforético 238
transgênero 68
travesti 71
treinamento 94
 de equipes 94
tromboplastina 269
troponinas 220

de alta sensibilidade 221
protocolos 221

V

validação de novos métodos 140
valores críticos 212
variação cronobiológica 4

W

workflow 61

Símbolo

5-hidroxi-indoleacético 290



Sociedade de especialidade
médica fundada em 1944

SBPC ML

Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial



Vantagens de se associar

Congresso Brasileiro de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial

Inscrição gratuita no maior evento de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial da América Latina, com palestrantes brasileiros e estrangeiros e Exposição Técnico-científica, com produtos, equipamentos e serviços para laboratórios clínicos.

Eventos da SBPC/ML ou em parceria

Desconto na inscrição de Eventos científicos regionais realizados pela SBPC/ML, ou em conjunto com outras instituições científicas.

Cursos presenciais PALC

Desconto na inscrição em cursos exclusivos para formação de auditores, internos e externos, do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da SBPC/ML.

Publicações Técnicas Impressas

Receba as edições impressas anualmente sobre temas de interesse para profissionais de laboratórios clínicos e estudantes.

Ensino à Distância ead.sbpc.org.br

Inscrição gratuita nos cursos à distância.

Biblioteca Digital SBPC/ML bibliotecasbpc.org.br

Acesso a conteúdo exclusivo, como apresentações de congressos, aulas de EAD, vídeos etc.

Revista Notícias Medicina Laboratorial

Receba o periódico da SBPC/ML, com reportagens, artigos e entrevistas que interessam aos profissionais de laboratórios clínicos.



Para mais informações, acesse:
sbpc.org.br

- facebook.com/SBPCML
- instagram.com/sbpcml
- twitter.com/sbpcml
- linkedin.com/company/sbpcml
- flickr.com/sbpcml
- youtube.com/sbpcml

O site **Lab Tests Online BR** auxilia a população leiga e os profissionais de saúde a conhecerem melhor os exames laboratoriais.

Há informações sobre os exames, sua finalidade, preparativos, tipo de amostra coletada e forma de coleta, além de estados clínicos e doenças relacionadas.

Lab Tests Online BR é desenvolvido e atualizado por médicos Patologistas Clínicos.

Lab Tests Online BR é mantido pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), sob licença da American Association for Clinical Chemistry (AACC).

LAB TESTS ONLINE

Seu Guia Confiável

Entendendo seus exames. Cuidando da sua saúde.

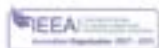
Uma fonte pública e gratuita sobre exames laboratoriais preparada por profissionais especialistas em medicina laboratorial

www.labtestsonline.org.br

Produzido por



Coloque o link para **Lab Tests Online**™ no site do seu laboratório. É gratuito e você oferece um serviço a mais aos seus clientes. Fale com a SBPC/ML: imprensa@sbpc.org.br



Confiança, respeito e qualidade durante todo o processo laboratorial

A Norma PALC é certificada pela The International Society for Quality in Health Care - ISQua, a principal organização mundial que promove a melhoria da qualidade e a segurança na prestação de serviços de saúde.



Segurança para seus pacientes

Laboratórios com selo de Acreditação PALC atendem a padrões técnicos reconhecidos por instituições internacionais.



Suporte para suas decisões médicas

A SBPC/ML é Entidade Acreditadora reconhecida pela Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS).



Para mais informações, acesse:
www.sbpc.org.br

JBPML

Jornal Brasileiro de
Patologia e Medicina
Laboratorial

Brazilian Journal of Pathology and Laboratory Medicine

Edição eletrônica em um *site* exclusivo:

www.jbpml.org.br

JORNAL BRASILEIRO DE
**PATOLOGIA E
MEDICINA LABORATORIAL**
BRAZILIAN JOURNAL OF PATHOLOGY AND LABORATORY MEDICINE



O JBPML é uma publicação oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial sendo veículo de publicação de manuscritos relacionados com a medicina laboratorial. Possui indexação no LILACS, Periódica e no Chemical Abstracts e é integrante da base de dados SciELO.

Promovendo e divulgando trabalhos científicos da área de Medicina Laboratorial (Patologia Clínica) com qualidade técnica aprovada por pares competentes.

Mais informações: jbpml@sbpc.org.br
ou (21) 3077-1400 com Lidia Côrtes



Indexado por:



Ministério
da Educação

Ministério da
Ciência e Tecnologia



EAD

educação continuada

ead.sbpc.org.br

Ferramenta de

Ensino à Distância da Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial



Qualidade reconhecida

Os palestrantes são especialistas de renome em sua área de atuação.

Escolha o melhor horário

O vídeo com a aula gravada pode ser assistido ao longo do dia da transmissão, quantas vezes você quiser.

Uma palestra de Congresso

Cada curso tem de 45 a 75 minutos de duração, a mesma de uma atividade dos Congressos da SBPC/ML.



Leve e compatível com todos os navegadores e dispositivos como desktop, notebook, smartphone e tablet

SBPC · ML

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

Associado SBPC/ML
pode se inscrever
gratuitamente

Acesse: www.sbpc.org.br



bibliotecasbpc.org.br

Entre, consulte e fique à vontade

Aqui você encontra publicações da SBPC/ML, aulas de congressos e eventos científicos, vídeos de cursos à distância, legislação e normas que interessam aos profissionais de laboratórios clínicos e muito mais.



Associado SBPC/ML
têm acesso à conteúdo
exclusivo do acervo

Acesse: www.sbpc.org.br



WASPALM

A Associação Mundial de Sociedades de Patologia e Medicina Laboratorial (WASPALM) foi fundada em 1947 na cidade de Paris, França. A WASPALM representa a Patologia e a Patologia Clínica junto à Organização Mundial da Saúde (OMS), atuando no Conselho de Organizações Internacionais em Ciências Médicas. Além disso, disponibiliza bolsas de estudos a jovens pesquisadores através da World Pathology Foundation.

Atualmente, 45 sociedades de Patologia e Patologia Clínica, faculdades e associações nas seis regiões do planeta fazem parte da WASPALM, incluindo a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e a Sociedade Brasileira de Patologia (SBP).

MISSÃO:

Melhorar a saúde em todo o mundo, promovendo o ensino e a prática de todos os aspectos da Patologia e da Medicina Laboratorial.

OBJETIVOS:

- Promover a educação, a pesquisa e padrões internacionais de qualidade, através dos comitês científicos, secretarias da WASPALM e do World Pathology Foundation.
- Incentivar a cooperação entre as sociedades de Patologia e Medicina Laboratorial em todo o mundo.
- Promover a cooperação com organizações internacionais de saúde.
- Promover serviços laboratoriais médicos de alta qualidade.
- Promover o intercâmbio de informações entre patologistas/patologistas clínicos com cientistas da área laboratorial em todo o mundo.

www.waspalm.com

**CONGRESSO
MUNDIAL DA
WASPALM**

31º Congresso Mundial da Associação Mundial de Sociedades de Patologia e Medicina Laboratorial (WASPALM)
Centro de Convenções de Punta del Este – Uruguai
25 a 28 de novembro de 2021

Realização:



Um dos grandes objetivos da qualidade no laboratório clínico é a busca constante pela excelência visando superar as expectativas dos clientes, oferecer qualidade e garantir a segurança dos pacientes. A recente pandemia de COVID-19 nos obrigou a mudar hábitos, introduziu uma grande transformação social e estabeleceu novos paradigmas. O laboratório clínico também sofreu o impacto dessas mudanças, tornando mandatória uma readaptação aos novos tempos.

Nestas Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), são discutidas as tendências e os novos conceitos em boas práticas nas diferentes áreas do laboratório clínico.

Trata-se de um livro indispensável aos gestores e profissionais que atuam no laboratório clínico.

O arquivo completo está disponível para livre *download* na Biblioteca Digital da SBPC/ML: www.bibliotecasbpc.org.br.

Apoio:



MANOLE