

Gestão da

# Fase Analítica do Laboratório

como assegurar a qualidade na prática

## Volume I

Seleção e Qualificação de Sistema Analítico

Validação de Sistema Analítico

Equivalência de Sistema Analítico

Comparação Intralaboratorial em Microscopia

Indicadores de Desempenho da Fase Analítica

## Organizadoras

Carla Albuquerque de Oliveira

Maria Elizabete Mendes

1ª Edição Digital

Control Lab<sup>®</sup>

# Gestão da Fase Analítica do Laboratório

como assegurar a qualidade na prática

Volume I

1ª Edição Digital

Organizadoras

Carla Albuquerque de Oliveira

Maria Elizabete Mendes



© ControlLab Controle de Qualidade para Laboratórios LTDA  
Rua Ana Neri, 416 - 20911-442 - Rio de Janeiro - RJ  
Telefone: (21)3891-9900 Fax: (21)3891-9901  
email: [contato@controllab.com.br](mailto:contato@controllab.com.br)  
[www.controllab.com.br](http://www.controllab.com.br)

Copyright © 2010 da ControlLab Controle de Qualidade para Laboratórios LTDA

**Coordenação Editorial**

ControlLab Controle de Qualidade para Laboratórios LTDA

**Revisão de Textos**

Olenka Lasevitch

**Projeto Gráfico e Capa**

Marcelle Sampaio

**Diagramação**

Felipe Vasconcellos / Marcelle Sampaio

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

(Sindicato Nacional dos Editores de Livros, RJ, Brasil)

G333

Gestão da fase analítica do laboratório : como assegurar a qualidade na prática / organizadoras, Carla Albuquerque de Oliveira, Maria Elizabete Mendes - 1.ed. - Rio de Janeiro: ControlLab, 2010.

144p. (Como assegurar a qualidade na prática; v.1)

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-63896-00-1

1. Laboratórios de patologia clínica - Administração. 2. Laboratórios médicos - Administração. 3. Laboratórios de patologia clínica - Controle de qualidade. 4. Laboratórios médicos - Controle de qualidade. 5. Gestão da qualidade total. I. Oliviera, Carla Albuquerque de Oliveira, 1974-. II. Mendes, Maria Elizabete, 1958-. III. Série.

10-4261

CDD: 616.075

CDU: 616-076

26.08.10 27.08.10

021101

**Todos os direitos de publicação reservados à:**

©ControlLab Controle de Qualidade para Laboratórios LTDA

Rua Ana Neri, 416 - 20911-442 - Rio de Janeiro - RJ

Telefone: (21)3891-9900 Fax: (21)3891-9901

email: contato@controllab.com.br

www.controllab.com.br

É proibida a reprodução total ou parcial deste volume, de qualquer forma ou por quaisquer meios, sem o consentimento expresso da editora.

2010

IMPRESSO NO BRASIL

## BIOGRAFIAS

### Carla Albuquerque de Oliveira (organizadora)

Engenheira Química. Pós-graduada em Engenharia de Produção da UFRJ/INT, em Gestão de Serviços – Sênior Service MBA do IBMEC/RJ e MBA Marketing da COPPEAD. Gestora de Serviços (Controle de Qualidade e Indicadores) da ControlLab. Membro do Grupo Assessor da ControlLab para Controle de Qualidade e Indicadores Laboratoriais.

### Maria Elizabete Mendes (organizadora)

Médica Patologista Clínica. Doutora em Patologia pela 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. Responsável pelo Núcleo da Qualidade e Sustentabilidade da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP. Membro do Grupo de Discussão de Indicadores da ControlLab - SBPC/ML. Certificado *Green Belt* em Seis Sigma (FCAV).

### Fernando de Almeida Berlitz

Farmacêutico Bioquímico. Pós-graduado (MBA) em Gestão Empresarial (Major) e Marketing (Minor) pela ESPM-RS. Gestor Sustentabilidade - Regional RS no Grupo Fleury. Certificado *Black Belt* em Seis Sigma (QSP-SP). Especialista em Redesenho de Processos pela Grid Consultores-RS. Gestor de Processos pela *Business Process School* - SP. Auditor de Sistema de Gestão da Qualidade ISO 9001. Examinador de Prêmios de Excelência em Gestão: Prêmio Nacional da Qualidade – PNQ e Prêmio Nacional de Gestão em Saúde - PNGS. Professor de Análises Bioquímicas na UFRGS em 2003-2007. Professor de Controle de Qualidade da Especialização em Análises Clínicas da UFRGS em 2003-2004, da UNESC em 2006-2008 e da FEEVALE de 2008-2009.

### Marcos Antonio Gonçalves Munhoz

Médico Patologista clínico. Diretor Técnico de Serviço de Saúde Hematologia da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HC FMUSP. Residência em Patologia Clínica na Divisão de Laboratório Central do HC FMUSP de 1980 a 1981. Especialista em Patologia Clínica pela SBPC/ML e HC FMUSP. Membro da Comissão de Controle de Qualidade do Laboratório Central do HC FMUSP. Certificado *Green Belt* em Seis Sigma (FCAV).

### Mariana Lipp Haussen

Farmacêutica Bioquímica. Pós-graduada (MBA) em Gestão Empresarial (Major) e Gestão de Pessoas (Minor) pela ESPM-RS. *Senior Operations Improvement Consultant at Advocate Health Care, Oak Brook, Illinois, USA*. Certificado *Green Belt* Seis Sigma (ASQ). Examinadora do Prêmio Qualidade RS (2004 e 2006) e Prêmio Nacional da Gestão em Saúde (2004, 2006 e 2007). Auditora do Programa de Acreditação Laboratorial PALC (2002-2007). Membro do Grupo de Discussão de Indicadores da ControlLab - SBPC/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 FMUSP. Assessor Médico em Bioquímica Clínica - Fleury Medicina e Saúde. Membro do Consultor Científico do Latin American Preanalytical Scientific Committee (LASC) e membro do "specimencare.com" editorial board. Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial (SBPC/ML) biênio 2010-2011.

### Nelson Medeiros Junior

Médico Patologista Clínico. Residência Médica em Otorrinolaringologia. Residência Médica em Patologia Clínica. Doutorado em Ciências pela Universidade de São Paulo - USP. Médico chefe no Serviço de Hematologia, Citologia e Genética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Membro da Comissão de Controle de Qualidade do Laboratório Central do HCFMUSP. Médico do Laboratório Médico da Real e Benemérita Associação Portuguesa de Beneficência de São Paulo. Certificado *Green Belt* em Seis Sigma (FCAV).

### Paschoalina Romano

Farmacêutica-Bioquímica. Mestre em Ciências da Saúde pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP. Biologista encarregada do Serviço de Bioquímica Clínica - Divisão de Laboratório Central Hospital das Clínicas da FMUSP. Multiplicadora da Comissão de Controle de Qualidade da Divisão de Laboratório Central HCFMUSP. Certificada *Green Belt* Seis Sigma (FCAV).

## AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos vão para todos aqueles que acreditaram na exequibilidade deste livro, se comprometeram e trabalharam com tamanho empenho pela realização deste sonho.

Inicialmente agradecemos à Direção da ControlLab por ter apoiado este ambicioso projeto de maneira incondicional.

Aos autores que aceitaram despende do seu escasso tempo com este trabalho, de forma tão abnegada, os quais compartilharam conosco parte do seu conhecimento.

Aos estatísticos Rodrigo Doellinger e Diogo Jerônimo, que foram consultores pacientes e atentos. À equipe de Marketing da ControlLab que dedicou-se à editoração e diagramação com muito carinho.

Aos nossos colegas de trabalho que compreenderam a agitação vivenciada durante a realização deste projeto, nos apoiando o tempo todo.

Aos nossos familiares, que souberam entender os períodos de ausência do seu convívio com tanta generosidade e constantes palavras de estímulo.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

Carla e M.Elizabete



# SUMÁRIO

Prefácio.....	9
Recursos Estatísticos.....	13
Capítulo 1 - Seleção e Qualificação de Sistema Analítico.....	15
Maria Elizabete Mendes	
Nairo Massakazu Sumita	
Capítulo 2 - Validação de Sistema Analítico.....	39
Maria Elizabete Mendes	
Paschoalina Romano	
Capítulo 3 - Equivalência de Sistema Analítico.....	63
Carla Albuquerque de Oliveira	
Maria Elizabete Mendes	
Capítulo 4 - Comparação Intralaboratorial em Microscopia.....	95
Marcos Antonio Gonçalves Munhoz	
Nelson Medeiros Junior	
Capítulo 5 - Indicadores de Desempenho da Fase Analítica.....	119
Fernando de Almeida Berlitz	
Mariana Lipp Haussen	





## PREFÁCIO

O mercado nacional de medicina laboratorial tem passado por intensas mudanças as quais têm afetado fortemente os produtos ofertados. As exigências são crescentes, tanto do ponto de vista interno como externo.

Externamente há os requisitos legais e regulamentares, as novas expectativas e necessidades dos clientes (corpo clínico solicitante, pacientes e seus familiares, fontes pagadoras e pesquisadores), as recomendações e diretrizes das sociedades científicas, as inovações tecnológicas, a pressão de concorrência e os fornecedores com uma variedade de novos produtos.

No âmbito interno, os gestores dos laboratórios e suas equipes são confrontados diariamente com a necessidade de demonstrar níveis crescentes de excelência técnica para garantir a confiabilidade de seus resultados, com prazos de entrega cada vez menores, ampliação do menu de exames ofertado e preços menores para a manutenção da sua competitividade.

A rotina de um laboratório clínico é complexa pela multiplicidade de processos distintos e inter-relacionados a serem controlados e pela variedade de matrizes analisadas (sangue, urina, fezes, liquor, líquidos cavitários etc.). Por uma fase pré-analítica envolvendo a qualificação de amostras que dependem do preparo do paciente, da coleta realizada, do acondicionamento das amostras e do transporte. Na etapa analítica, pelos produtos, materiais e serviços qualificados, pelo controle e processamento do material biológico, pela equipe competente, realizando exames em equipamentos em ótimas condições de operação, empregando-se uma tecnologia da informação moderna. Na fase pós-analítica há a relevante correlação clínico laboratorial e a exata interpretação clínica dos resultados.

Não é surpresa encontrarem-se tantas publicações sobre erros laboratoriais, que mesmo diante de um grande desenvolvimento dos processos analíticos, incluindo-se a evolução metodológica e automação, ainda apontam como 14% de chance de erros acontecerem dentro da fase analítica.

A rápida evolução dos processos também tem exigido um melhor preparo dos profissionais e a adoção de ferramentas de gestão eficazes por parte dos laboratórios, para assegurar a qualidade dos resultados. Institutos de normalização internacionais têm descrito diretrizes neste sentido, organismos de acreditação têm estimulado a adoção destas diretrizes e, em alguns casos, órgãos do governo vêm ampliando os requisitos básicos para o funcionamento de laboratórios e seus fornecedores.

Dentre as determinações do governo pode-se citar a RDC302/2005 da ANVISA, que regulamentava laboratórios clínicos e determina o uso de ensaio de proficiência e controle interno para todos os exames da rotina. Este requisito inclui uso contínuo, análise crítica de resultados para a implementação de ações corretivas ou de melhoria, conforme seu desempenho.

Ainda assim, é comum encontrar-se, no Brasil, laboratórios diante de resultados insatisfatórios nos ensaios de proficiência, com dificuldade de identificar as possíveis causas e definir ações que corrijam o problema e os ajudem a prover resultados mais confiáveis. Ao analisar as possíveis origens desta imobilidade, suposições recaem sobre o desconhecimento ou aplicação ineficaz de algumas ferramentas de gestão.

Diante deste cenário, aliando-se ao fato de haver uma escassez de literatura nacional relativa à gestão da fase analítica do laboratório, os autores - apoiados pela ControlLab - dispuseram-se a compartilhar com os leitores a experiência adquirida em destacados serviços de Medicina Laboratorial nacionais, considerados como serviços de excelência.

Este é o primeiro livro de uma coleção a ser editada, considerando-se os aspectos práticos para assegurar a qualidade aos laboratórios na fase analítica. O livro aborda cinco ferramentas de gestão. Os capítulos foram estruturados com aspectos teóricos, abordados de maneira objetiva. Os processos são descritos apontando na prática como realizar as tarefas necessárias, com exemplos obtidos a partir de rotinas diagnósticas.

Sempre que possível foram ofertados modelos de registros e aplicativos gratuitamente no site da ControlLab, patrocinadora deste projeto, para uso no cotidiano dos serviços laboratoriais.

Inicialmente há uma discussão sobre a seleção e qualificação de sistemas analíticos apontando a regulamentação e níveis de responsabilidade. São descritos os requisitos gerais para a seleção de sistemas analíticos, com critérios de qualificação técnica dos processos. A importância da definição dos objetivos analíticos neste processo é destacada. São abordadas ainda a seleção, avaliação, qualificação e desqualificação de fornecedores, assim como a parametrização da introdução de um novo sistema analítico.

Segue-se um capítulo sobre a validação de sistemas analíticos, no qual as autoras apresentam conceitos e definições aplicáveis, o planejamento e a estruturação da validação, discutindo as propriedades do sistema analítico. Elas descrevem com detalhes as seguintes especificações analíticas de qualidade: estudos de carreamento, de linearidade, de recuperação, de precisão e de estabilidade das amostras.

A equivalência de sistemas analíticos é descrita com o estabelecimento do protocolo de comparabilidade e as causas de não comparabilidade de resultados. Discute-se quais são os riscos no planejamento do protocolo e o que deve ser considerado durante o planejamento. O capítulo descreve como fazer a seleção de amostras. As autoras detalham os cuidados a serem tomados para a realização do estudo e detalham os métodos estatísticos que podem ser utilizados e os critérios de avaliação.

Um capítulo foi dedicado à comparação intralaboratorial em microscopia pela sua importância no dia a dia laboratorial, seja na hematologia, na urinálise, na parasitologia, na imunofluorescência ou na microbiologia. Nele os autores fazem uma análise geral do processo e destacam o treinamento como fonte de sucesso para esta atividade.

Apontam modelos estatísticos para comparação, discutem critérios de aceitabilidade e limites de variação microscópica na dupla observação independente. Descrevem a importância da comparação entre a microscopia e a automação, além de trazerem recomendações para os exames sem ensaios de proficiência.

Finalizando, segue um capítulo sobre indicadores de desempenho da fase analítica, que permitem a monitoração objetiva dos processos. Os autores dissecam a anatomia do indicador, descrevem a importância da designação do nível de responsabilidade e da comunicação, discutem a definição de metas, a aplicação da métrica-sigma, avaliando os impactos e o papel da ferramenta de benchmarking. Apresentam ainda uma seleção de indicadores para a monitoração do desempenho da exatidão e precisão dos processos a partir de resultados de controle interno e ensaio de proficiência, indicadores de prazo para exames urgentes e ambulatoriais e de eficiência do processo analítico em termos de custo.

Esperamos que ao implementar na rotina diagnóstica as cinco ferramentas descritas neste livro, a equipe do laboratório identifique oportunidades de melhoria, conquistando uma maior robustez e rastreabilidade para o sistema analítico, ampliando sua precisão e exatidão e garantindo, deste modo, maior confiabilidade aos seus resultados.

Boa Leitura



## RECURSOS ESTATÍSTICOS

Algumas das ferramentas estatísticas de análise apresentadas para validação de sistemas analíticos (capítulo 2), equiparação de sistemas analíticos (capítulo 3) e comparação intra-laboratorial de microscopistas (capítulo 4) podem ser implementadas sem uso de *software*. Por exemplo, Tabela de Rümke, Estatística de Chauvenet, Estatística Kappa de Cohen e Tabela de Dorsey.

Existem outros estudos estatísticos que podem ser facilmente implementados na rotina laboratorial com o uso do aplicativo como o Microsoft Excel® ou similar, exemplificando: regressão para estudo de linearidade, estudos de precisão (repetitividade), métodos para estudo de recuperação, carregamento e os indicadores.

Outras ferramentas apontadas, entretanto, como o Estudo R&R, os Testes de Hipóteses e a Análise de Variância (ANOVA) por serem específicas, requerem o uso de um software estatístico.

No mercado nacional estão disponíveis alguns *softwares* como o Minitab *statistical software* (Quality. Analysis. Results.®), MedCalc *software bvba* (MedCalc Software) e EP Evaluator (David G. Rhoads Associates-Data Innovations). Estes possuem aplicativos específicos para laboratórios que simplificam seu uso. O “R” é um programa estatístico livre (<http://www.R-project.org>), que contém todos os recursos necessários para uso, contudo possui uma interface menos amigável, que requer maior domínio de estatística e de programação. Diversas das análises propostas neste livro podem ainda ser realizadas no Action ([www.portalaction.com.br](http://www.portalaction.com.br) - Estatcamp), um suplemento livre (gratuito) para o Microsoft Excel®, baseado no R e de fácil utilização. Algumas análises também podem ser realizadas em Microsoft Excel® ou similar. Contudo, a execução destas análises pode ser complexa.

Além de permitir a realização completa dos estudos propostos, o uso de software com pacote estatístico possui facilidades e vantagens importantes a serem pontuadas. São elas: facilidade de uso, confiabilidade e recursos abrangentes, são intercambiáveis com o Microsoft Excel®, possuem pacotes de estatística básica, oferecem a possibilidade de elaboração e interpretação de gráficos e contêm um conjunto completo de métodos revisados, sem necessidade de comprar, aprender ou manter separadamente materiais adicionais ou módulos.

No site da ControlLab ([www.controllab.com.br](http://www.controllab.com.br)) está disponível um conjunto de roteiros para o Action, que permite a implementação das ferramentas que exigem *software* estatístico, cujas funções existem disponíveis neste *software* livre. Há também um conjunto de planilhas para aquelas ferramentas não disponíveis no Action e que podem ser implementadas em Excel®.



# Capítulo 1

## SELEÇÃO E QUALIFICAÇÃO DE SISTEMA ANALÍTICO

Um sistema analítico compreende, segundo o *International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology*<sup>18</sup>, o conjunto de procedimentos de trabalho, equipamentos, reagentes ou suprimentos necessários para a realização do exame laboratorial e a geração do seu resultado.

O exame laboratorial pode contribuir para a assistência médica<sup>9</sup> de forma decisiva. Algumas das múltiplas funções que os exames laboratoriais podem desempenhar são:

- diagnosticar doenças potenciais, não suspeitadas, propiciando sua prevenção adequada (exemplo: fenilcetonúria);
- estabelecer precocemente, o diagnóstico de doenças suspeitas, possibilitando o tratamento eficiente (exemplo: hipotireoidismo congênito);
- promover o diagnóstico diferencial entre possíveis doenças, dando oportunidade de tratamento específico (exemplo: processos infecciosos);
- estabelecer o estadiamento de doença já instalada, contribuindo para a escolha da melhor conduta terapêutica (exemplo: Imunofenotipagem nas leucemias por citometria de fluxo)<sup>19</sup>;
- fornecer prognóstico num paciente com uma doença conhecida (exemplo: valores elevados de Proteína C Reativa<sup>23</sup> e VHS estão associadas com a progressão radiográfica das lesões após 6 e 12 meses do início do quadro na Artrite Reumatóide);
- estimar a atividade e/ou recorrência de doença preexistente (exemplo: infecção ou neoplasia já tratadas);
- monitorar a eficiência de um tratamento instituído (exemplo: dosagem de anticonvulsivantes<sup>24</sup> ou imunossuppressores<sup>25</sup>);
- possibilitar o aconselhamento genético<sup>26</sup> (exemplo: talassemia, anemia falciforme);
- esclarecer questões ligadas ao exame e fornecer dados que possam indicar se no futuro poderá surgir doença, isto é, estabelecer risco para o desenvolvimento de uma doença (exemplo: dislipidemias e risco de doença coronariana)<sup>13</sup>.

Deste modo, o exame laboratorial é um importante instrumento de auxílio no raciocínio clínico e na conduta terapêutica, constituindo-se num indicador sensível e objetivo do estado da saúde do paciente.



Assim, o seu resultado constitui-se numa informação adicional que auxilia na definição do diagnóstico e tratamento, complementando a anamnese e o exame físico. Grande parte das condutas clínicas é tomada a partir de pequenas alterações nos dados laboratoriais.

O elevado grau de confiabilidade dos resultados de exames de laboratório podem ser creditados, em parte, ao processo de evolução dos métodos laboratoriais e também pela incorporação de novas tecnologias, como por exemplo, os analisadores totalmente automatizados. Estes possibilitaram a obtenção de resultados com rapidez, elevado grau de exatidão e reprodutibilidade.

Novos parâmetros foram desenvolvidos e incorporados à rotina laboratorial, permitindo um melhor entendimento da fisiopatologia das doenças, otimizando o diagnóstico clínico e a terapêutica. São exemplos: a dosagem da microalbuminúria pelo método da nefelometria no diagnóstico da nefropatia incipiente<sup>33</sup>, e recentemente como marcador de risco cardiovascular, e a quantificação da concentração da creatinaquinase fração MB (CK-MB massa) por quimioluminescência<sup>36</sup>, em substituição ao método imunoquímico, o qual sofria interferência da macro-CK<sup>35</sup>, resultando valores inapropriadamente elevados de CK-MB.

No passado, os exames laboratoriais eram realizados de modo artesanal, com a utilização de técnicas manuais, as quais tinham um componente maior de variação. Além disto, os métodos laboratoriais eram desprovidos de uma padronização capaz de garantir a sua exatidão, dificultando sobremaneira a comparação dos resultados observados em diferentes laboratórios.

O desenvolvimento da robótica e da informática trouxe uma evolução ao laboratório clínico sem precedentes. O processo de automação dos laboratórios clínicos permitiu um ganho substancial na qualidade dos resultados, aumento de produtividade, queda significativa dos custos operacionais, diminuição substancial do tempo de atendimento total ou *Turn Around Time* (TAT) na língua inglesa, o qual corresponde ao intervalo de tempo que vai desde a coleta, passando pela fase de processamento da amostra, até a liberação do resultado<sup>7,9</sup>.

O reconhecimento e a análise da variação nos exames laboratoriais é fundamental na prestação de serviços de Medicina Laboratorial. Isto porque os pacientes, por si só, têm uma combinação de condições coexistentes, apresentações clínicas e expectativas.

Acrescentando-se a multiplicidade de profissionais que prestam esta assistência associada à disponibilidade de testes diagnósticos e à exatidão com que estes são realizados<sup>9</sup>. Estas múltiplas fontes de variação combinam-se ao acaso e a tomada de qualquer decisão no diagnóstico e/ou tratamento médico requer a aplicação de técnicas estatísticas para reconhecer e prever os padrões que são observados e evitar equívocos nos serviços de assistência médica por conta de variações inadequadamente explicadas.

A execução de um exame laboratorial tornou-se sobremaneira complexa, exigindo a divisão do processo em três fases distintas: pré-analítica, analítica e pós-analítica.

O exame laboratorial é, de fato, uma ferramenta que permite ao médico reduzir as incertezas e estabelecer um diagnóstico com exatidão. Um exame bem indicado contribui para a preservação e/ou restauração da saúde, agregando elevado valor a assistência médica, otimizando a qualidade do serviço prestado.

Um dos grandes desafios do laboratório clínico é minimizar o efeito das inúmeras variáveis que podem interferir no resultado final.

Novas tecnologias laboratoriais são lançadas continuamente no mercado<sup>34</sup> para acompanhar as inovações técnicas ocorridas no campo da pesquisa em Medicina Laboratorial. Manter o serviço atualizado é uma das condições de sobrevivência no negócio atualmente. O pioneirismo nesta área agrega valor ao laboratório e ao cliente, trazendo vantagem competitiva ao negócio.

O sucesso na introdução de uma nova tecnologia está ancorado num bom planejamento, na perspectiva da aplicação clínica que resultará desta implantação, na condução correta da fase de avaliação do novo sistema analítico, na padronização para o seu desenvolvimento, na capacitação dos responsáveis pela sua execução e na ampla divulgação da nova rotina implantada.

Este capítulo pretende discutir a seleção e qualificação de sistemas analíticos a serem introduzidos na rotina laboratorial e suas implicações para garantir qualidade e confiabilidade aos resultados gerados.

## REGULAMENTAÇÃO

O grande direcionador para a evolução deste assunto foi a regulamentação nos EUA a partir do final da década de 1960.

Este processo iniciou-se com o *Clinical Laboratory Improvement (CLIA '67)*, lei federal americana atualizada em 1988 (CLIA '88). Estendeu-se para as exigências do FDA (*Food and Drug Administration*) na aprovação de ensaios diagnósticos in vitro a partir de 1976.

Os esforços iniciais para a formação do *National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*, visando definir padrões ou diretrizes, iniciaram-se em 1966, simultaneamente ao CLIA '67. Em 1987 surge uma diretriz sobre avaliação de método (GP10-P), seguida em 1989 de outro documento sobre este assunto, o EP10-T. Este movimento legalista trouxe mudanças para os laboratórios clínicos, que passaram a trabalhar com maior afinco na definição de requisitos de desempenho para seus métodos, sobretudo nos serviços de maior complexidade.

No Brasil a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), do Ministério da Saúde, edita as suas Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC's), regulamentando aspectos específicos para o laboratórios, cite-se como exemplo a RDC 302:2005 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos.

## RESPONSABILIDADE

A tarefa de revisar ou introduzir novas tecnologias ou novos métodos no laboratório clínico é de responsabilidade dos profissionais que atuam na liderança da área técnica, em conjunto com os administradores. Todos trabalhando em equipe para assegurar elevados padrões de qualidade ao novo serviço a ser prestado.

## REQUISITOS GERAIS PARA A SELEÇÃO DE SISTEMAS ANALÍTICOS

As Boas Práticas em Laboratório Clínico e os programas de acreditação, tanto nacionais (PALC da SBPC/ML)<sup>29</sup>, como internacionais (*CAP Accreditation*)<sup>30</sup>, requerem que a etapa de seleção de um novo método seja cuidadosa.

No enfoque clínico<sup>20</sup>, a seleção requer algumas considerações:

- Quais as vantagens que este novo método trará para a assistência ao paciente?
- Quais serão suas indicações?
- As alterações provenientes desta introdução trarão alguma contribuição para a ampliação do nível de segurança ao paciente?
- A nova tecnologia ampliará a exatidão e precisão, comparadas com estas especificações do sistema analítico vigente?
- A literatura sobre esta inovação já está consolidada?
- O corpo clínico, para o qual o seu laboratório presta serviços, está preparado para a introdução e aplicação deste novo sistema analítico?

- O corpo clínico fez a solicitação deste novo sistema analítico?
- Em termos de capacitação técnica, a equipe do laboratório está preparada para atender esta nova demanda?
- O mercado já disponibiliza todos os suprimentos para que esta nova tecnologia entre na rotina laboratorial?

Aspectos técnicos<sup>9</sup> a serem ponderados durante a seleção de um método:

- Trata-se de atualização tecnológica, que auxilia na manutenção da competitividade.
- Necessidade do cumprimento de diretrizes técnicas de entidades reconhecidas, tais como sociedades médicas científicas (Projeto Diretrizes da Associação Médica Brasileira; Recomendações de Coleta da SBPC/ML) ou requisitos legais (exemplo: ANVISA –RDC's, CLIA nos EUA).
- Ampliação do menu de exames do laboratório, aumentando a fatia de participação do laboratório no mercado regional.
- Otimização de fluxos de trabalho e da carga de trabalho.
- Melhoria da eficiência, com redução do TAT de determinado analito ou de um conjunto deles, caso a inovação seja a introdução de um novo equipamento.
- Melhores níveis de desempenho técnico serão alcançados.
- A nova metodologia poderá reduzir o volume de material biológico utilizado, ampliando o rendimento dos tubos coletados/paciente.
- O novo método tem ou não limitações para a sua exequibilidade?
- Requisitos práticos como tipo de amostras, volume de amostras, manuseio das amostras, rendimento do método, condições de calibração, material de controle, medidas de segurança, destinação de resíduos gerados.

Nos aspectos econômicos<sup>21,22</sup> é preciso que a equipe toda esteja consciente em relação:

- Ao nível de investimento requerido e o retorno esperado.
- Às perspectivas realistas de custo-benefício da inovação requisitada.
- Ao custo por determinação a ser produzida por este novo sistema analítico.
- À possibilidade de receitas a serem geradas com a nova tecnologia.
- Aos custos que poderão ser reduzidos com esta nova introdução.
- Ao aumento de produtividade e em qual proporção isto poderá ocorrer.
- Aos riscos que a introdução ou não deste novo sistema analítico pode trazer para o laboratório.
- Às possibilidades de conquista de maior participação no mercado regional.

O desempenho do novo sistema analítico deverá ser avaliado imparcialmente, com rigor técnico e dentro das condições pré-definidas pelo laboratório, antes de sua introdução na rotina diagnóstica.

Uma vez selecionado o novo método/tecnologia, os objetivos analíticos a serem atingidos devem ser traçados com detalhamento. Como objetivos analíticos podem ser estabelecidos níveis de erro total, erro aleatório (imprecisão) e erro sistemático (inexatidão).

# CRITÉRIOS DE SELEÇÃO E QUALIFICAÇÃO DE SISTEMA ANALÍTICO

O processo diagnóstico inicia-se com o interrogatório do paciente seguido do exame físico. O exame laboratorial tem por finalidade confirmar, estabelecer ou complementar um diagnóstico clínico, determinado por meio de uma história clínica minuciosa e por dados de exame físico. A possibilidade ainda de delinear o risco de desenvolvimento de doenças, bem como auxiliar no acompanhamento e prognóstico de algumas moléstias, faz do exame laboratorial um instrumento essencial para a determinação de condutas adequadas.

Para que um método laboratorial tenha utilidade clínica, este deve preencher alguns requisitos básicos que garantam a confiabilidade dos resultados obtidos em amostras de pacientes.

Os denominados parâmetros de desempenho são propriedades relacionadas ao desempenho do método ou equipamento<sup>28</sup> e envolvem: exatidão, precisão, sensibilidade analítica, especificidade analítica, recuperação analítica, intervalo analítico de medida, valores de referência, limite de detecção, interferentes, estabilidade de reagentes, robustez e interação com amostras. A avaliação destas características requer estudos experimentais para estimar se os achados práticos podem subsidiar uma tomada de decisão – se o seu desempenho corresponde às necessidades médicas para o uso do sistema analítico em questão.

Uma análise prévia e genérica do desempenho de sistemas analíticos disponíveis pode ser obtida em resumos estatísticos fornecidos por provedores de ensaio de proficiência que demonstram a proporção de variabilidade entre diferentes sistemas analíticos. Contudo, deve-se ter em conta que os valores de variabilidade (CV) ali apresentados tendem a ser menores na rotina de um laboratório, pela própria natureza dos dados. Dados de comparação interlaboratorial tendem a ter uma maior variabilidade que os obtidos dentro de um único laboratório por incluir a contribuição de erro total dos processos de diversos laboratórios.

## EXATIDÃO

A exatidão diz respeito à capacidade do método em apresentar resultados próximos do valor verdadeiro. Segundo a IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) a exatidão é a concordância entre o valor medido de um analito e seu valor real. A exatidão de um método pode se obtida empregando-se os conceitos de erro sistemático (viés, bias) ou erro total.

O Sistema Nacional de Referência para Laboratórios Clínicos americano (NRSCL) preconiza uma hierarquia de métodos analíticos e de materiais de referência que permite avaliar a acurácia do método. A seguir eles são apontados em ordem decrescente: método definitivo, método de referência, comparação entre métodos através de sua média, média de laboratórios de escolha e média por grupo para ensaios de proficiência.

Os métodos definitivos relacionam-se a algum valor quantificado fisicamente como, por exemplo, Massa. A técnica de escolha para estas dosagens é a espectrometria de massa<sup>27</sup>, pela sua sensibilidade em análises de baixas concentrações. Ela mede a relação massa/carga de fragmentos iônicos gerados a partir de um processo de ionização da amostra que se pretender analisar. O NIST (*National Institute of Standards and Technology*) vem desenvolvendo métodos definitivos há alguns anos.

Métodos de referência são menos exatos que os anteriores, mas podem ser desenvolvidos pelo pessoal da indústria ou dos laboratórios clínicos. Seus resultados são rastreáveis aos métodos definitivos.

Uma das formas de avaliar o grau de exatidão, num método em uso no laboratório, pode ser feita através de um ensaio de comparação interlaboratorial através de um programa de ensaio de proficiência (EP). Este sistema de controle da qualidade interlaboratorial consiste na comparação de resultados observados num mesmo material, analisado simultaneamente por diversos laboratórios. A avaliação é realizada pelo valor médio de consenso de todos os participantes que utilizam a mesma metodologia

Os laboratórios que conseguem obter um resultado igual ou muito próximo à média do seu grupo de comparação possuem um sistema analítico com nível de exatidão adequado e comparável aos demais laboratórios. Participar de um EP tornou-se obrigatoriedade legal após a RDC 302:2005, por isto, atualmente boa parte dos laboratórios clínicos no Brasil participa de pelo menos um programa nacional ou internacional de ensaio de proficiência. Como exemplos, citam-se os programas da ControlLab com a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica /Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e *CAP Surveys do College of American Pathologists (CAP)*, dos Estados Unidos.

Uma forma alternativa (quando não existe EP), é selecionar 10 laboratórios com mesma metodologia e nível de qualidade similar para todos analisarem um mesmo grupo de amostras, obter-se as médias e comparar os resultados individuais a estas médias.

## RECUPERAÇÃO

É a capacidade de um método analítico medir um analito corretamente, quando uma quantidade conhecida de analito é adicionada à amostra. Trata-se de um meio efetivo para avaliar a exatidão do sistema analítico porque testa o método na presença de outros compostos que estejam contidos na mesma matriz da amostra.

## ROBUSTEZ

Um método robusto provê um desempenho confiável consistente quando diferentes operadores o realizam com diferentes lotes de reagentes, por um longo período de tempo.

## PRECISÃO

O documento do CLSI EP5-A231 define a precisão como uma concordância entre resultados de medidas independentes obtidos sob condições estipuladas.

A precisão revela a capacidade do método de, em determinações repetidas numa mesma amostra, fornecer resultados próximos entre si. A precisão é estimada por um experimento de replicação de um mesmo material analisado pelo menos 20 vezes, tendo o seu desvio padrão calculado.

A precisão pode ser intra-ensaio (ou repetibilidade de resultados) e obtida com o mesmo método, em material idêntico, no mesmo laboratório, com o mesmo operador, utilizando o mesmo equipamento num curto intervalo de tempo<sup>31</sup>.

A Repetibilidade de resultados corresponde à concordância entre resultados de sucessivas medidas, do mesmo analito, sendo realizado sob as mesmas condições de medida<sup>18</sup>.

Entende-se como Reprodutibilidade de resultados<sup>31</sup> a concordância entre resultados do mesmo analito, realizado sob condições de medida alteradas. Na precisão interensaios o mesmo material é dosado em replicatas, no mesmo dia ou em diferentes dias.

Na prática, o grau de reprodutibilidade de um método é avaliado pelo controle interno da qualidade, empregando-se material de controle. Neste caso, o laboratório executa diariamente a análise de amostras de controle de valores conhecidos, dosadas simultaneamente com as amostras dos pacientes. Os valores observados não necessariamente necessitam ter o mesmo valor numérico no decorrer dos dias, porém devem apresentar resultados muito próximos entre si, garantindo que o sistema analítico está mantendo um bom nível de reprodutibilidade dia após dia.

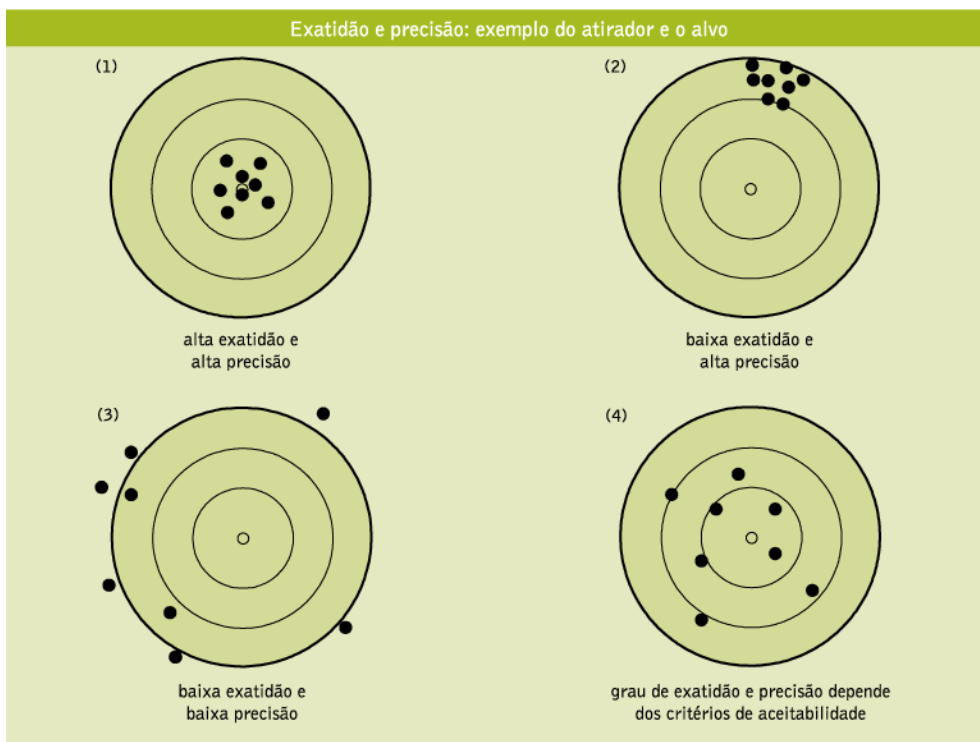


Figura 1: Conceitos de exatidão e precisão utilizando o exemplo do atirador e o alvo.

A exatidão e a precisão podem ser didaticamente exemplificadas utilizando-se o exemplo do atirador e o alvo (figura 1).

Quando o atirador apresenta alta exatidão e a alta precisão (1), os projéteis se concentram no centro do alvo. Na baixa exatidão e alta precisão (2), os impactos se concentram numa pequena área, porém distante do alvo central. Já na baixa exatidão e baixa precisão (3), todos os impactos situam-se muito distantes do alvo central.

O alvo (4) é o típico exemplo aplicável a um método laboratorial. Os impactos não atingiram o alvo central, porém estão “orbitando” ao seu redor. Ao transportar essa situação ao laboratório clínico, os níveis de exatidão e precisão dependem dos critérios de aceitabilidade ou do percentual de variabilidade ou de desvios caracterizados como aceitáveis pelo laboratório.

Se o atirador for alertado acerca da falta de exatidão de seus tiros, indicando-se qual o desvio verificado, ele poderá corrigir os impactos mirando para um ponto diametralmente oposto ao anteriormente atingido pelos seus tiros. Trata-se de um erro sistemático, onde se conhecendo a magnitude do desvio o mesmo pode ser corrigido (erro corrigível), conforme demonstrado na figura 2-1.

O erro accidental não pode ser corrigido, mas poderá ser atenuado pelo aprimoramento técnico, metodológico e pela aplicação das ferramentas de gestão de processos (figura 2-2).

A precisão exigida, ou o erro accidental máximo permitido, depende essencialmente da amplitude da faixa de variação dos valores normais do parâmetro considerado em condições fisiológicas. A precisão aceitável para um método quantitativo pode ser expressa em termos de desvio padrão.

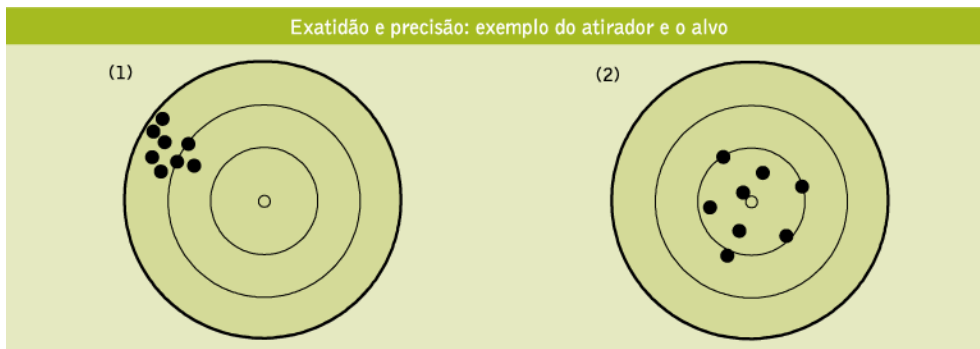


Figura 2: Caracterização dos erros sistemático e aleatório

### MEDIDA DO BRANCO DA REAÇÃO

Este parâmetro pode ser obtido experimentalmente pela medida de uma solução de reagentes sem a presença da amostra. Pode ser obtido também da solução de uma amostra e reagentes, sem o reagente que inicia a reação. A equipe técnica deve estar atenta à magnitude do branco, pois esta pode contribuir para o erro total do método.

### SENSIBILIDADE E LIMITE DE DETECÇÃO

A IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) define:

- Sensibilidade Analítica – é a capacidade de um procedimento analítico em gerar um sinal para uma definida mudança de quantidade e o ângulo de inclinação da curva de calibração.
- Limite de detecção – é a menor concentração ou quantidade que um método pode detectar com certeza para um dado procedimento analítico. Ele depende da amplitude da leitura do branco e da precisão desta medida.

Ambos os termos são relacionados à sensibilidade de um método. Na prática, o que se busca é um elevado nível de sensibilidade analítica e um baixo limite de detecção.

A sensibilidade de uma prova refere-se à probabilidade de um resultado ser positivo na presença da doença, isto é, a porcentagem de resultados obtidos com a realização da prova, em uma população constituída apenas de indivíduos afetados da doença para a qual o teste deve ser aplicado.

### INTERFERENTES

São substâncias, de origem endógena ou exógena, que podem potencialmente interferir em procedimentos de medida.

Entre elas: metabólitos produzidos em condições patológicas (exemplo: diabetes mellitus, mieloma múltiplo), produtos empregados como terapêutica (exemplo: drogas, plasma, nutrição parenteral), substâncias ingeridas pelos pacientes (exemplo: álcool, alimentos) etc.

A interferência pode ocorrer em qualquer uma das três fases do exame. Na fase Pré-analítica pode ser uma alteração química do analito (exemplo: hidrólise, oxidação), uma alteração física (exemplo: desnaturação proteica), evaporação ou diluição, contaminação com outros analitos (exemplo: hemólise), dentre outros.

Os mecanismos de interferência<sup>32</sup> podem ser os mais diversos: produtos químicos reagindo por competição ou inibição, interferências físicas com a matriz da amostra (viscosidade, turbidez, força iônica), inibição enzimática, reação cruzada etc.

### (1) Medicamentos e outras drogas

Os medicamentos podem induzir interferências “in vivo” e “in vitro” nos parâmetros laboratoriais. Além da finalidade terapêutica, existem situações onde pessoas saudáveis fazem uso de medicamentos, tais como vitaminas e contraceptivos orais, bem como para fins recreacionais<sup>4</sup>. As interferências analíticas muitas vezes são caracterizadas por reações cruzadas e geralmente dependentes da metodologia utilizada<sup>16</sup>. Já os efeitos fisiológicos dos medicamentos caracterizam-se pela indução e inibição enzimáticas, competição metabólica e devida à própria ação farmacológica da droga administrada<sup>16</sup>.

Inúmeras drogas, quando administradas por via intramuscular, podem causar irritação muscular e, como consequência, elevar os níveis das enzimas CPK, aldolase e desidrogenase láctica no plasma<sup>15, 16</sup>. Dentre os fármacos associados à elevação da atividade enzimática, incluem-se os analgésicos, os antibióticos, os diuréticos e anestésicos, entre outros<sup>15,16</sup>. A elevação da atividade enzimática pode persistir por vários dias após aplicação de uma única dose.

Os diuréticos tiazídicos, além de reduzir os níveis de potássio, podem causar hiperglicemia e reduzir a tolerância à glicose, principalmente em diabéticos<sup>15, 16</sup>. Além disso, também podem causar elevação na uréia e no ácido úrico, por diminuir o fluxo plasmático renal e a filtração glomerular, em consequência da redução do volume plasmático<sup>15,16</sup>. Muitos pacientes em tratamento prolongado com fenitoína, apresentam redução do cálcio e fósforo séricos e elevação das atividades da fosfatase alcalina e gamaglutamil transferase<sup>15,16</sup>. A fenitoína induz a síntese de enzimas envolvidas na conjugação da bilirrubina, resultando na diminuição dos níveis séricos<sup>15,16</sup>.

Em relação ao uso de drogas recreacionais, destacam-se o álcool e o fumo. Mesmo o consumo esporádico de etanol pode causar alterações significativas e quase imediatas na concentração plasmática de glicose, de ácido láctico e de triglicérides, por exemplo<sup>15,16</sup>. O uso crônico é responsável pela elevação da atividade da gama glutamiltransferase, entre outras alterações<sup>15,16</sup>.

O tabagismo eleva a concentração de hemoglobina, o número de leucócitos, das hemácias e o volume corpuscular médio. Pode ser observada a redução nos níveis de HDL-colesterol e elevação de outras substâncias como adrenalina, aldosterona, antígeno carcinoembrionário e cortisol<sup>15,16</sup>.

### (2) Hemólise

A hemólise caracteriza-se pela tonalidade avermelhada do soro ou plasma, observada após a centrifugação do sangue. Deve-se à presença de hemoglobina livre. A hemólise leve, em geral, tem pouco efeito sobre a maioria dos exames, mas se for de intensidade significativa causa aumento na atividade plasmática de algumas enzimas, como aldolase, AST, fosfatase alcalina, desidrogenase láctica e nas concentrações de potássio, magnésio e fosfato<sup>6,9,15</sup>.

Na dosagem da hemoglobina glicada, as doenças que cursam com anemia hemolítica ou estados hemorrágicos podem resultar em valores inapropriadamente diminuídos por encurtarem a sobrevida das hemácias<sup>5</sup>. As situações que interferem na sobrevida das hemácias, na realidade, diminuem sensivelmente o poder diagnóstico da hemoglobina glicada em refletir a média ponderada dos níveis progressos de glicose. Tais situações não devem ser consideradas como interferentes diretos sobre a metodologia utilizada<sup>5</sup>.

### (3) Lipemia

A turbidez do soro ou plasma é importante interferente que pode afetar o resultado final de um ensaio, pois diversos parâmetros laboratoriais em bioquímica são medidos, por exemplo, através de métodos colorimétricos ou turbidimétricos, ou seja, a medição da tonalidade da cor resultante da reação química ou a quantificação do grau de turbidez. O exemplo clássico deste tipo de interferência diz respeito à elevação dos níveis de triglicérides no soro, caracterizando a lipemia.



Este pode ocorrer apenas no período pós-prandial ou de forma contínua nos pacientes portadores de algumas dislipidemias e faz com que o aspecto do soro ou do plasma se altere, passando de límpido para algum grau variado de turbidez, podendo chegar a ser leitoso<sup>6,17</sup>.

A avaliação do nível de LDL-colesterol, por meio da fórmula de Friedewald, não é possível quando o nível de triglicérides no soro supera a concentração de 400 mg/dL. Os métodos diretos para dosagem do LDL-colesterol foram desenvolvidos visando suprir a limitação da fórmula para cálculo das frações do colesterol<sup>12</sup>.

A hipertrigliceridemia pode interferir em algumas metodologias para dosagem da hemoglobina glicada, produzindo resultados falsamente elevados<sup>5</sup>.

#### (4) Hemoglobinopatia e hemoglobina glicada

Uma situação especial de interferência é descrita na dosagem da hemoglobina glicada. A interpretação correta do resultado da dosagem deste tipo de hemoglobina é dependente do perfil de hemoglobina, pois a formação da hemoglobina glicada depende da presença de hemoglobina A. Quando existe uma queda nos níveis de hemoglobina A, em função da presença de hemoglobina variante (hemoglobinopatia heterozigótica) como por exemplo: hemoglobina S, C, Graz, Sherwood Forest, D e Padova, podem ser observados valores falsamente elevados ou diminuídos de hemoglobina glicada, conforme a metodologia utilizada<sup>5</sup>. O método de HPLC pode identificar a presença de alguns tipos de hemoglobina anômala, permitindo uma análise mais crítica do resultado obtido<sup>5</sup>. Já a quantificação da hemoglobina glicada não é aplicável nas hemoglobinopatias homozigóticas, independente da metodologia utilizada, em função da ausência de hemoglobina A5.

## ESPECIFICIDADE

O termo Especificidade Analítica está relacionado à exatidão e se refere à capacidade de um método em determinar exclusivamente o analito, sem que haja reação com outras substâncias relacionadas<sup>18</sup>.

A especificidade de uma prova refere-se à probabilidade de que um resultado seja negativo na ausência da doença, isto é, a percentagem de resultados negativos obtidos com a realização da prova, em uma população constituída de indivíduos que não têm a doença para a qual o teste foi aplicado.

Os conceitos de sensibilidade e especificidade podem ser facilmente entendidos a partir de uma relação, considerando que o resultado de um teste somente pode ser expresso como positivo ou negativo e o estado de saúde de um indivíduo como portador ou não portador de uma doença (tabela 1).

Tabela 1: Resultados de um teste laboratorial e interpretação em relação à condição do paciente

Resultado do teste	Condição do paciente doente	Condição do paciente não doente
Positivo	Verdadeiro Positivo (VP)	Falso Positivo (FP)
Negativo	Falso Negativo (FN)	Verdadeiro Negativo (VN)

Em geral há antagonismo entre sensibilidade e especificidade, pois o aumento de sensibilidade pode aumentar a ação de interferentes induzindo maior frequência de resultados falso positivos. Na prática laboratorial, caracteristicamente, busca-se um meio-termo onde os testes laboratoriais tenham suficiente sensibilidade, sem muita perda de especificidade.

Tabela 2: Cálculo da Sensibilidade e da Especificidade		
Característica do Teste	Fórmula	Percentual
Sensibilidade	$S = VP / (VP + FN)$	$S\% = S \times 100$
Especificidade	$VN / (VN + FP)$	$E\% = E \times 100$

De fato, um teste ideal seria aquele 100% sensível e 100% específico. Infelizmente esta situação ideal não é possível, pois não existe até o presente momento uma reação que resulte sempre positivo nos casos de doença e sempre negativo nos indivíduos que não têm a doença.

### VALOR PREDITIVO

Outro conceito importante diz respeito ao valor preditivo positivo e negativo de um teste. O valor preditivo positivo de um resultado laboratorial é definido como sendo a probabilidade de que um resultado positivo seja verdadeiro, ou seja, represente a presença da doença. Já o valor preditivo negativo refere-se à probabilidade de que um resultado negativo seja verdadeiro.

O valor preditivo de uma determinada doença é determinado pelo teorema de Bayes, sendo que para o cálculo considera-se a sensibilidade e a especificidade do teste com a prevalência da doença no grupo examinado.

Tabela 3: Cálculo dos valores preditivos	
Característica	Fórmula
Valor preditivo positivo (VPP)	$\frac{P \times \text{sensibilidade}}{(P \times \text{Sensibilidade}) + (1 - P) \times (1 - \text{Especificidade})}$
Valor preditivo negativo (VPN)	$\frac{P \times \text{especificidade}}{(1 - P) \times \text{Especificidade} + P \times (1 - \text{Sensibilidade})}$

P representa a prevalência da doença na população em que o teste é aplicado

### VALOR DE REFERÊNCIA

A interpretação dos resultados de exame laboratorial decorre da comparação do resultado observado na amostra do paciente com o intervalo de referência fornecido no laudo.

O termo "intervalo de referência" ou "valor de referência", antigamente conhecido como "valor ou faixa normal", geralmente é estabelecido estudando-se um grupo de controle constituído de indivíduos clinicamente "normais". Após tratamento estatístico, os resultados centrais são aqueles que melhor preenchem o critério de "normalidade" para determinado parâmetro laboratorial<sup>2,10</sup>. Para o estabelecimento do intervalo de referência, 2,5% dos valores extremos observados neste grupo são excluídos e, portanto 5,0% dos indivíduos clinicamente classificados como "normais" estarão acima ou abaixo dos limites do intervalo de referência<sup>2,10</sup>.

A conclusão imediata para esta definição é de que, um em cada 20 pacientes considerados como “normais” poderão apresentar resultados fora dos intervalos de referência, sem necessariamente apresentar a doença<sup>2,10</sup>. De forma análoga, quando o médico solicita um perfil de 20 parâmetros laboratoriais, um destes exames poderá apresentar resultado fora do valor referencial e o paciente não ser portador da moléstia diretamente relacionada àquele exame de valor alterado.

Um bom exemplo para ilustrar esta situação diz respeito ao diagnóstico laboratorial do diabetes. Um dos critérios estabelecidos pela *American Diabetes Association* (ADA) para o diagnóstico do diabetes mellitus no adulto não gestante está na determinação sanguínea da glicose de jejum<sup>1</sup>. Um resultado inferior a 100 mg/dL afasta a possibilidade de diabetes. Dois resultados sequenciais, em momentos distintos, iguais ou superiores a 126 mg/dL confirma o diagnóstico de diabetes mellitus<sup>1</sup>. A dúvida diagnóstica situa-se no intervalo de concentração entre 100 e 125 mg/dL, onde a dosagem da glicose não é capaz de discriminar a presença ou ausência da doença, sendo classificada como glicose de jejum inapropriada ou pré-diabetes<sup>1</sup>. A perda da sensibilidade e especificidade diagnóstica é evidente, obrigando ao médico assistente a indicação de um exame com maior poder discriminatório denominado teste oral de tolerância à glicose ou teste de sobrecarga à glicose. Um nível de glicose plasmático inferior a 140 mg/dL ao final de 2 horas, pós sobrecarga com 75 gramas de glicose, representa uma resposta normal<sup>1</sup>. Já um valor maior ou igual a 200 mg/dL caracteriza o paciente como sendo diabético<sup>1</sup>. Porém, níveis situados entre 140 e 199 mg/dL enquadram o paciente num segundo tipo de indefinição, agora denominada de intolerância à sobrecarga de glicose<sup>1</sup>. Nesta situação há necessidade de um acompanhamento mais cuidadoso, pois este paciente apresenta elevado risco de desenvolvimento do diabetes. Este estado também pode ser rotulado de pré-diabetes.

Recentemente a ADA estabeleceu valores percentuais de hemoglobina glicada para o diagnóstico de diabetes mellitus. Pelo novo critério o diabetes pode ser diagnosticado quando o nível de hemoglobina glicada apresentar valor maior ou igual a 6,5%, confirmado numa segunda dosagem. Valores entre 5,7% e 6,4% caracterizam o pré-diabetes<sup>1</sup>.

Um método laboratorial “perfeito” seria aquele em que não houvesse a possibilidade de sobreposição entre valores obtidos em indivíduos normais com os portadores de doença. Infelizmente, a maioria dos exames não permite que se estabeleça um valor limítrofe único para definição dos estados de saúde e doença. A impossibilidade de um diagnóstico nos pontos limítrofes do intervalo de referência deve-se, em parte, à variabilidade biológica inerente a todos os seres humanos, bem como pela limitação de qualquer método laboratorial em fornecer um resultado numérico absoluto<sup>6,15</sup>.

## OBJETIVOS ANALÍTICOS

É importante entender que o valor numérico de um exame de laboratório agrega um percentual de variação, o qual decorre do chamado erro aleatório ou acidental e do erro sistemático<sup>14</sup>.

Os erros aleatórios não são passíveis de serem identificados, pois ocorrem ao acaso e, portanto, não podem ser corrigidos. Estes ocorrem, principalmente, durante a fase de processamento e manipulação da amostra. A magnitude do erro aleatório, também denominado de imprecisão, pode ser caracterizada através de medidas sucessivas de uma mesma amostra, para um mesmo parâmetro<sup>14</sup>. Do ponto de vista matemático, a medida desta variabilidade pode ser calculada pelo coeficiente de variação (CV), por meio da relação entre o valor do desvio padrão e da média aritmética<sup>14</sup>. Baixo percentual de coeficiente de variação demonstra elevada reprodutibilidade do sistema analítico.

Os erros sistemáticos são aqueles que ocorrem de maneira regular e constante, resultando na perda da exatidão<sup>14</sup>. A participação num programa de ensaio de proficiência permite avaliar a magnitude do erro sistemático, ou seja, a inexatidão do sistema analítico.

Para tanto, o laboratório deve efetuar o cálculo do erro sistemático (bias), que corresponde à diferença entre o valor obtido pelo laboratório na avaliação da amostra do ensaio de proficiência, com o valor médio calculado a partir dos resultados enviados por todos os laboratórios participantes.

A somatória do erro sistemático com o erro aleatório resulta no chamado erro total<sup>14</sup>.

A importância da determinação do erro total na análise laboratorial foi incorporada nas recomendações do *National Cholesterol Education Program* (NCEP), dos Estados Unidos, para avaliação do desempenho analítico nas dosagens de lípidos e lipoproteínas<sup>11,13</sup>. O valor percentual do erro total é calculado através da seguinte equação matemática<sup>11,12</sup>.

$$\text{Erro total} = \% \text{ Bias} + (1,96 \times \text{CV})$$

Os percentuais de erro total, bias e CV aceitáveis estão descritos na [tabela 4](#).

Tabela 4: Recomendações do <i>National Cholesterol Education Program</i> (NCEP) para desempenho analítico nas dosagens de lípidos e lipoproteínas.			
	Erro total (%)	Bias (%)	CV (%)
Colesterol total	< 8,9	< 3	< 3
HDL-colesterol	< 13	< 5	< 4
LDL-colesterol	< 12	< 4	< 4
Triglicérides	< 15	< 5	< 5

Os resultados das dosagens bioquímicas geralmente são expressos quantitativamente, facilitando a comparação com os valores limítrofes definidos pelo intervalo de referência. Porém, confundem sobremaneira o raciocínio clínico quando resultam valores limítrofes ou incapazes de discriminar uma situação de saúde ou doença. Deve-se sempre considerar a necessidade de repetição do exame numa situação de dúvida ou inconsistência com os dados clínicos, bem como a indicação de um teste com maior poder discriminatório.

Na definição do limite de referência, sempre busca-se um equilíbrio entre a sensibilidade e especificidade. Quanto mais estreita for a faixa de referência, maior será a especificidade e menor a sensibilidade.

## SELEÇÃO E QUALIFICAÇÃO DE FORNECEDORES<sup>9</sup>

A gestão adequada de suprimentos na Medicina Laboratorial tem implicações técnicas, econômicas e estratégicas. Isto porque no seu desempenho há a necessidade do atendimento de requisitos específicos, sempre aliados à qualidade tanto dos produtos como dos serviços. Os custos precisam ser compatíveis com o orçamento estabelecido.

O processo de qualificação de fornecedores é uma atividade complexa, em razão da necessidade de estabelecer, validar e aplicar os critérios de avaliação e capacitação técnica e financeira dos proponentes.

A confiabilidade neste processo decorre da sua eficiência e eficácia através da aquisição de serviços ou produtos solicitados dentro de suas especificações, na entrega em quantidades adequadas e dentro dos prazos definidos. Além de facilitar a implantação das inovações tecnológicas que acontecem no laboratório após as compras.

Todo produto seja direto ou indireto, influencia na qualidade do Laboratório. Entende-se por produto direto todo aquele utilizado como base para a elaboração da produção. Indireto é o produto utilizado como apoio. Do ponto de vista estratégico, comprar bem também significa manter equilibradas as finanças e perpetuar as vantagens competitivas já alcançadas pelo laboratório.

O objetivo que se pretende alcançar ao implantar um sistema de qualificação de fornecedores é minimizar os riscos de uma relação tumultuada entre o comprador e o fornecedor de produtos ou serviços. Isto se dá através da introdução de técnicas simples e eficientes.

## CICLO DE COMPRAS

O ciclo de compras do laboratório corresponde às seguintes atividades:

- Inventário de estoques.
- Levantamento das necessidades de aquisição.
- Solicitação e aprovação.
- Cotação de compras.
- Negociação com fornecedores.
- Realização da aquisição propriamente dita.
- Monitoração das entregas.
- Recebimento de produtos e/ou serviços.
- No caso de produtos, o armazenamento após incorporação ao estoque.
- Avaliação e melhorias.
- Acompanhamento e controle dos indicadores de desempenho.
- Elaboração e divulgação de relatórios de consumo.
- Seleção, qualificação e avaliação dos fornecedores.

A gestão de suprimentos pode ser realizada de maneira centralizada pela equipe responsável pelas aquisições ou descentralizada quando os gestores de diferentes processos têm autonomia para realizar as compras. O nível de controle a ser exercido nestas situações será compatível com a complexidade do material ou serviço e do seu reflexo na produção laboratorial.

Em relação aos fatores que afetam as estratégias de compras, devem ser considerados os seguintes aspectos:

- Porte do laboratório.
- Estrutura organizacional.
- Nível burocrático praticado.
- Tempo ou grau de agilidade para a realização de uma compra não prevista.
- Poder de barganha com os fornecedores.
- Homogeneidade nas relações com os fornecedores.
- Tipo de controle que se pretende sobre os fornecedores.
- Distância geográfica.
- Volume de compras.

## IDENTIFICAÇÃO DA NECESSIDADE DE COMPRAS

A identificação acontece após a realização de inventários periódicos de estoques (físicos ou virtuais) ou quando surge uma necessidade de aquisição de um novo produto ou serviço.

## SOLICITAÇÃO E APROVAÇÃO

A solicitação pode partir dos consumidores internos ou ser realizada por equipe específica, com base na movimentação de estoques registrada no sistema de informações laboratorial. O registro de solicitação feito pelo consumidor deve explicitar com detalhes o que deverá ser adquirido, descrevendo os produtos ou serviços, quantidades necessárias, tipos de embalagens, acondicionamento e aplicações destes no laboratório, se possível especificando-se marcas e eventuais fornecedores.

É importante enfatizar a necessidade da realização de testes prévios dos novos produtos antes de solicitá-los, apontando aos compradores os resultados das avaliações. Ao solicitar um insumo novo, é recomendável que o solicitante indique: prazo para atendimento da necessidade; nome do produto; descrição; tamanho/código e cor; modelo; quantidade; potenciais fornecedores e autorização pelo responsável.

Quando houver qualquer tipo de restrição a fornecedores ou produtos, esta precisa estar identificada de maneira clara no sistema de informações da instituição, com as devidas justificativas. A aprovação do pedido ocorrerá após a realização das análises, avaliação do orçamento e das necessidades do serviço.

## COTAÇÕES

As cotações visam confrontar as condições ofertadas por diferentes fornecedores, buscando otimizar os recursos disponíveis. Atualmente existe a possibilidade da pesquisa por meios eletrônicos (exemplo: via e-mail), minimizando os prazos do ciclo de compras.

Sempre que possível, devem ser realizadas cotações com três diferentes fornecedores, levando-se em consideração o preço, o prazo de entrega e as condições de pagamento.

Os resultados obtidos devem ser registrados e analisados. Após análise inicial, negociações podem ser realizadas em busca das melhores condições para aquisição. Havendo retificação de propostas, tornando-as mais vantajosas, a consolidação do resultado final será necessária, antes da aprovação.

## AQUISIÇÃO

A aquisição dos produtos/serviços é feita com base na lista de fornecedores qualificados.

Para a efetivação da compra, é necessário que uma autorização de fornecimento seja emitida com as devidas especificações para que o fornecedor não tenha dúvidas em relação ao produto a ser fornecido.

Antes da emissão da autorização de fornecimento faz-se uma análise minuciosa dos dados de aquisição. Todo o processo de aquisição deve ser registrado, seja no formato físico ou eletrônico.

A equipe de compras deve verificar periodicamente se os produtos estão sendo entregues de acordo com os prazos acordados. Ao serem detectadas pendências, o fornecedor deverá ser comunicado a fim de justificar o motivo do atraso e o fato deve ser devidamente registrado. Este registro tem o objetivo de monitorar o desempenho do fornecedor. Se houver necessidade de cancelar uma autorização, o registro deve ser mantido.

## BASES CONTRATUAIS

Previamente ao início do fornecimento, transcorre-se a etapa do estabelecimento das bases contratuais. Neste processo deve ser considerando os seguintes aspectos:

- Detalhamento em relação aos serviços e/ou produtos.

- Os responsáveis de ambas as partes.
- Os direitos, deveres e obrigações das partes envolvidas.
- Prazos.
- Valores contratados e eventuais aditamentos.
- Formas de pagamento.
- Critérios de avaliação e sua periodicidade.
- Mecanismos de controle.
- Regras para a prorrogação contratual sem que haja interrupções.
- Definição das multas por descumprimento de cláusulas.
- Regras para o rompimento contratual e o foro para eventuais relações litigiosas.

## RECEBIMENTO

O processo de recebimento dos produtos/serviços deve ser registrado. O material recebido deve ser classificado como aprovado, reprovado ou aceito sob condições especiais. Estes registros são úteis na avaliação dos fornecedores.

## ARMAZENAMENTO

Todos os produtos devem ser sistematicamente inspecionados a fim de garantir as especificações segundo o fabricante. Questões de organização & métodos, segurança e higiene devem ser consideradas no manuseio dos materiais armazenados, assim como aquelas devidas ao controle das condições ambientais (temperatura, umidade e iluminação).

Para produtos químicos, o armazenamento deve respeitar o Plano de Higiene Química da instituição.

Estes devem ser colocados em armários específicos para produtos inflamáveis ou explosivos. Atenção: deve-se respeitar as questões e compatibilidade química para o seu armazenamento. O local de armazenamento para este tipo de produto deve ser ventilado e, sempre que necessário, deve-se realizar medições para detecção de vazamento de gases. A sinalização nesta área é de primordial importância!

Recomenda-se que o fluxo de materiais obedeça à regra PEPS, ou seja, "Primeiro que Entra é Primeiro que Sai".

## SELEÇÃO, AVALIAÇÃO, QUALIFICAÇÃO E DESQUALIFICAÇÃO DE FORNECEDORES

A seleção e a qualificação de fornecedores requerem verificação da competência aos aspectos produtivos, administrativos, financeiros e mercadológicos. Esta verificação deve ser conduzida pelas equipes técnicas e de compras. Nesta etapa sugere-se uma tabulação prática e eventuais comparações entre fornecedores da mesma categoria. É importante o conhecimento das potencialidades e das restrições do fornecedor. Uma vez cadastrados e enquadrados na listagem de fornecedores qualificados, estes podem ser classificados nas seguintes categorias:

- Parceiros: Fornecedores que mantêm um compromisso empresarial caracterizado pela afinidade e confiança.
- Preferenciais: Fornecedores que apresentam um nível superior de desempenho.
- Qualificados: Fornecedores que atendem às especificações com algum diferencial. Oferecem outros serviços agregados, certificados ou acreditados, possuem experiência e apresentam um currículo diferenciado, além de boa avaliação de desempenho e boa saúde financeira.
- Cadastrados: Fornecedores que atendem ao nível mínimo de exigências para habilitação e especialização.

A política deve ser de aproximação com os fornecedores, estabelecendo-se metas e prazos com acompanhamento periódico. As relações devem basear-se na cooperação e na confiança do tipo "ganha-ganha", visando o estabelecimento de parcerias.

Os planos conjuntos de desenvolvimento devem estar focados em produtos, preço, prazo, promoção, pontos de venda/canal de distribuição, utilidade, valor agregado, comunicação, disponibilidade, segurança e tecnologia.

A comunicação deve ocorrer entre as partes sempre que não conformidades forem detectadas.

A análise e a tomada de ações devem ser realizadas a fim de evitar reincidências. Regras claras devem existir para situações de “quarentena”, quando as avaliações não estiverem enquadradas como satisfatórias.

### PARAMETRIZAÇÃO DA INTRODUÇÃO DE UM NOVO SISTEMA ANALÍTICO

A criação de um procedimento específico para seleção e qualificação de um novo sistema analítico a ser implantado no laboratório clínico auxilia na padronização desta atividade, bem como estabelece os critérios e diretrizes para a escolha de um método adequado que garanta a eficiência do processo e a racionalização dos custos.

A [tabela 5](#) descreve os principais itens a serem considerados na elaboração deste procedimento.

Tabela 5: Itens a serem avaliados na seleção e qualificação de sistema analítico	
Item	Características a serem analisadas
1. Princípio do método	Avaliar as referências bibliográficas originais e publicações acerca do desempenho e comparações com outras metodologias.
2. Reagentes	Observar as quantidades fornecidas e o rendimento por conjunto diagnóstico (“kit”). Estudar as condições de armazenamento dos reagentes em relação à apresentação das embalagens para cálculo do espaço que será ocupado no almoxarifado ou câmara fria. Restrições de temperatura, umidade e luz ambiente antes e após abertura das embalagens.
3. Estabilidade	Avaliar a estabilidade dos reagentes e demais materiais que compõem o conjunto diagnóstico.
4. Biossegurança	Avaliar o potencial de dano à saúde do trabalhador e os procedimentos de segurança para o manuseio dos reagentes.
5. Resíduos	Determinar o tipo, a quantidade e o modo correto para manuseio e descarte dos resíduos gerados.
6. Amostra	Tipo de amostra, condições para coleta do material biológico, volume de amostra, necessidade de anticoagulantes e preservativos, condições de armazenamento e conservação da amostra.
7. Desempenho analítico	Avaliação da exatidão, precisão, sensibilidade e especificidade. Análise dos potenciais interferentes.
8. Intervalo de referência do método	Fonte ou estudo que gerou o valor de referência. Valores observados em indivíduos saudáveis e doentes. Eventual necessidade de estabelecer o intervalo de referência para o laboratório.
9. Protocolo para realização do teste	Avaliar todos os procedimentos técnicos requeridos para realização do teste.
10. Equipamentos	Equipamentos necessários para utilização do conjunto diagnóstico. Se houver a necessidade de instalar um novo equipamento no laboratório verificar disponibilidade de espaço e requisitos para instalação.
11. Recursos humanos	Tempo necessário para execução do teste. Grau de habilidade exigido para realização do método.
12. Fornecedor	Avaliar a disponibilidade e o nível do suporte técnico e a capacidade de manter um fornecimento regular dos suprimentos por parte do fornecedor.
13. Custo	Análise do custo global e o valor que o laboratório irá receber e/ou cobrar.



## CONCLUSÃO

O capítulo abordou a importância do exame laboratorial para a assistência à saúde e, por consequência, como os sistemas analíticos subsidiam a confiança que o corpo clínico precisa ter nos resultados recebidos.

A inovação na área diagnóstica é frequente. Fatores como a competitividade e a atualização tecnológica levam os serviços de medicina laboratorial a buscarem permanentemente novos métodos e/ou equipamentos com tecnologia de ponta para manterem sua posição no mercado ou assegurarem uma vantagem competitiva em relação à concorrência.

Um fato fica bastante claro: não se deve introduzir um novo sistema analítico no laboratório sem que haja, previamente à sua colocação na rotina diagnóstica, um estudo completo envolvendo as etapas de seleção e avaliação.

A fase de seleção requer requisitos ligados ao corpo clínico que utiliza os serviços do laboratório, requisitos técnicos e tópicos ligados à administração e às finanças do negócio.

Foram discutidos parâmetros de desempenho que devem ser considerados na seleção de um método, tendo sido destacados: exatidão, precisão, sensibilidade analítica, especificidade analítica, recuperação analítica, valores de referência, limite de detecção, interferentes e robustez.

A escolha de um novo sistema analítico é de responsabilidade de um grupo de trabalho multidisciplinar, resultando na agregação de valor ao serviço de medicina laboratorial no momento da discussão da oportunidade de introduzir-se ou não uma inovação na rotina diagnóstica.

A etapa de avaliação deve ser criteriosa, imparcial e feita por equipe gabaritada para tal tarefa. O capítulo discutiu a seleção e qualificação de fornecedores.

O ciclo de compras foi estudado em cada uma de suas etapas. Uma vez decidido que haverá uma inovação, cabe a escolha de um fornecedor qualificado para que a compra seja efetuada.

No ato do recebimento do sistema analítico, deve-se proceder a sua inspeção antes da instalação ou incorporação ao serviço.

A importância das condições de acondicionamento e estocagem foi descrita e discutida neste capítulo.

## EXEMPLO DE ROTEIRO PARA INTRODUÇÃO DE NOVA TECNOLOGIA OU METODOLOGIA<sup>9</sup>

A seguir um exemplo de roteiro<sup>9</sup>, sugerido por Mendes, para a introdução de nova tecnologia ou metodologia que auxilia no processo de tomada de decisões.

Tipo ( ) Equipamento ( ) Nova Metodologia

Serviço/Seção/Setor

Data

Emitente

Nome do Equipamento (informar o nome, modelo, nome do fabricante / nova tecnologia)

Escopo de utilização (defina a abrangência do novo equipamento)

Justificativa (devem ser fornecidos detalhes, como se seguem)

- 1- Objetivo da compra, enfatizando os problemas
- 2- Interesses que podem ser beneficiados ou prejudicados pela aquisição tais como: pacientes, médicos, Laboratório, Governo Estadual, Sociedade, Patologia Clínica Nacional, Parceiros Comerciais. Listar os benefícios com a implantação do equipamento.
- 3- Explicar a razão para a aquisição, considerando:
  - A tecnologia já é firmada?
  - O equipamento em questão auxiliará no desenvolvimento futuro da nova metodologia de ensaio e exames?
- 4- Prazo para aquisição: informar a data desejada para iniciar as operações com este equipamento considerando os trâmites de um processo de compras do laboratório
- 5- Forneça dados numéricos quanto:
  - 5.1- ao volume de exames que este equipamento ou novo método realizará
  - 5.2- à produtividade técnica do aparelho segundo o fabricante e/ou segundo um usuário
- 6- O solicitante deverá discriminar detalhadamente a modalidade sugerida para a incorporação deste novo equipamento/método, especificando:
  - 6.1- quem realizará o negócio
  - 6.2- leasing alienação fiduciária
  - 6.3- compra de insumos por determinação. Obrigando instalação do equipamento desejado
  - 6.4- locação de aparelhos
  - 6.5- aquisição (compra)
  - 6.6- empréstimo
  - 6.7- doação
  - 6.8- demonstração

7- Faça a descrição detalhada do equipamento considerando:

- 7.1- dimensões do aparelho e as condições da área para recebê-lo
- 7.2- condições de instalações (elétricas, hidráulicas, qualidade da água como reagente a ser empregada, esgoto, umidade, temperatura ambiente, isolamento acústico, lógico e interação com o meio ambiente (poluição, biossegurança etc) necessária para a sua eventual instalação)
  - 7.2.1- encaminhar à Engenharia Clínica, paralelamente, com a finalidade de obter as condições ideais para instalações de equipamentos, quando pertinente
- 7.3- fundamentos da tecnologia solicitada e alternativa existente, quando pertinente
- 7.4- descrição de todas as condições metrológicas ao mesmo
- 7.5- apontamentos sobre manutenções preventivas periódicas (pelo operador e terceiros) assistência técnica (manutenção corretiva)
- 7.6- anexar comprovação da idoneidade e da capacitação do: fabricante, distribuidor, assistência científica e técnica
- 7.7- definir quais os insumos, produtos correlatos (descartáveis, por exemplo), controles e calibradores além das atuais condições de armazenamento de insumos e produtos que este novo equipamento/método necessitará:
  - identificar os aspectos ambientais e o consumo de recursos naturais (energia elétrica, água, combustível), incluindo a atualização de licenciamentos
  - identificar os produtos químicos controlados que serão usados e a necessidade de obtenção de licenciamentos junto à Polícia Civil, Federal e Ministério do Exército
- 7.8- apresentar sugestão do plano de treinamento dos funcionários da área para operar o referido equipamento/método, descrevendo os pré-requisitos exigidos para esta tarefa
- 7.9- descrever detalhadamente as condições de descarte de efluentes, emissões atmosféricas, ruídos, resíduos biológicos, químicos e outros resíduos perigosos procedentes deste equipamento, o seu impacto no meio ambiente e no local de trabalho em termos de riscos à segurança do trabalhador. Apontar os mecanismos de controle ambiental exigidos na operação deste equipamento
- 7.10- descrever mecanismos de contingência para eventuais paradas deste equipamento/método
- 7.11- apontar o tempo de garantia fornecido pelo fabricante e os itens inclusos nesta garantia (tratando-se de equipamentos)
- 7.12- apresentar concomitantemente 03 (três) orçamentos descrevendo as condições do equipamento e da negociação proposta
- 7.13- demonstrar a integração do novo aparelho/método com os já existentes e o sistema de informática instalado quando requerido
- 7.14- definir a destinação dos equipamentos existentes em caso de substituição
- 7.15- definir exigência de manuais de procedimentos, operações e de manutenção, em português

- 8- O solicitante deverá demonstrar um relatório da análise de custo / benefício apontando, quando necessário:
- 8.1- as operações do laboratório ligadas à solicitação: fluxograma, medição discriminada pelo período de um semestre anterior à esta data, carga de trabalho, horários de pico da rotina, testes mais realizados e proporção de testes de urgência em relação à rotina
  - 8.2- as necessidades de volume de amostra, o número de exames por pacientes e o tipo de testes solicitados quando apropriado
  - 8.3- considerações sobre o quadro funcional em relação a: número de funcionários, qualificações, cargas horárias e sua distribuição e produtividade de área técnica
  - 8.4- custos atuais pertinentes à solicitação, discriminando-os em: fixos, variáveis e totais
  - 8.5- sempre que aplicável, demonstrar indicadores numéricos relativos à solicitação
  - 8.6- os cenários previstos em relação à produção desta máquina/deste método para os próximos três anos, tais como: a produção aumentará em que proporção, os serviços solicitantes estão em expansão, a proporção de pacientes será crescente, haverá alteração da atual composição de solicitantes destes exames, este equipamento possibilitará a introdução de novos analitos na rotina diagnóstica, no cotidiano diminuirá ou não o tempo de expedição de laudos, com este equipamento haverá redução da burocracia em termos de documentos de registros, este equipamento se pagará por si só e em quanto tempo ocorrerá a sua amortização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes-2010. *Diabetes Care* 2010; 35 (Suppl 1):S11-61.
2. Andriolo A. Princípios básicos de medicina laboratorial. In: Schor N, editor. *Guias de medicina ambulatorial e hospitalar UNIFESP-EPM. Medicina Laboratorial*. 2ª. ed. São Paulo: Manole, 2008, p.1-10.
3. Bonini, P; Plebani. M.; Ceriotti, F; Rubbioli, F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem* 2002; 48:691-8.
4. COMISSÃO DE COLETA DE SANGUE VENOSO DA SBPC/ML. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso*. São Paulo: Manole, 2009. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/profissional/noticia.diverso.php?tp=3>. Acesso em 04 jul. 2010.
5. GRUPO INTERDISCIPLINAR DE PADRONIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA – A1C. *Posicionamento oficial – 2009. Atualização sobre hemoglobina glicada (A1C) para avaliação do controle e para o diagnóstico do diabetes: Aspectos clínicos e laboratoriais*. 3ª.ed. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/profissional/noticia.diverso.php?id=55&tp=3>. Acesso em 04 jul. 2010.
6. Guder WG; Narayana S; Wisser H; Zawta B. *Samples: from the patient to the laboratory. The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results*. 2nd ed. Darmstadt: Cit Verlag GMBH, 2001.
7. Markin RS; Whalen SA. *Laboratory automation: trajectory, technology and tactics*. *Clin Chem* 2000; 46:764-71.
8. McCall RE; Tankersley CM. *Phlebotomy essentials*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
9. Mendes ME; Gartner MT; Sumita N.M.; Sánchez, P.B. *Gestão por processos no Laboratório Clínico. Uma abordagem Prática*. São Paulo:EPR Editora, 2007.
10. Painter PC. *Method evaluation and technology assessment*. In: Lewandrowski, K, editor. *Laboratory management & clinical correlations*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 122-51.
11. Rifai N; Warnick GS. Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors In: Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; Bruns, D.E., editors. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 4th ed. St Louis: Elsevier Saunders, 2006. 903-81.
12. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da sociedade brasileira de cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2001; 77: 1-48. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2001001500001&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2001001500001&lng=es&nrm=iso). doi: 10.1590/S0066-782X2001001500001. Acesso em 04 jul. 2010.
13. Us Department Of Health And Human Services; Public Health Service; National Institutes Of Health; National Heart, Lung, And Blood Institute. *Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report*. *Circulation* 2002; 106:3143-421.
14. Wians JR, FH; Koch DD; Haara A. *Quality control and quality assurance*. In: Lewandrowski, K, editor. *Laboratory management & clinical correlations*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 81-106.
15. Young DS, Bermes E.W. *Preanalytical variables and biological variation*. In: Burtis, CA; Ashwood, ER; Bruns, D.E., editors. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 4th ed. St Louis: Elsevier Saunders, 2006. 449-473.

16. Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 4th ed. Washington: AACC Press, 1995.
17. Young D.S. Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests. 2nd ed. Washington: AACC Press 1997.
18. International Organization of Standardization (ISO). International Vocabulary of Basic and general terms in Metrology. Geneva, Switzerland: ISO,1993.
19. Quixabeira VBL, Saddi VA. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão de literatura. RBAC 2008;40 (3):199-202.
20. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia, PE: W. B. Saunders Company,1999.
21. Watts D, Finney DL, Lonie B. Integrating technology assessment into the capital budgeting process. Healthcare Financial Management 1993; February: 21-23.
22. Travis EM. Clinical laboratory management. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins,1997.
23. Serra CRB. Contribuição das proteínas de fase aguda na monitorização das doenças reumáticas. Rev. Bras. Reumatol. 1997 Maio-Jun;37(3):152-8.
24. Eadie MJ. Therapeutic drug monitoring—antiepileptic drugs. Br J Clin Pharmacol. 1998 September; 46(3): 185–193.
25. Morris G. Immunosuppressant drug monitoring: is the laboratory meeting clinical expectations? Ann Pharmacother. 2005 Jan;39(1):119-27.
26. Ramalho AS; Magna LA. Aconselhamento genético do paciente com doença falciforme. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007 July/Sept ;29(3): 229-232.
27. Clark W, Dufour DR. Contemporary practice in clinical chemistry Washington, DC: AACC Press, 2006.
28. Department of Health and Human Services. Medicare, Medicaid and CLIA Programs: laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications. Final Rule. Fed Regist 2003;68:3639-714.
29. Programa de Acreditação em Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, 2010.
30. College of American Pathologists. Checklists for Accreditation, 2010.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline-Second edition EP5-A2: Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; CLSI, Wayne, PA, USA; 2004.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline-Second edition EP7-A2: Interference testing in clinical chemistry; CLSI, Wayne, PA, USA; 2005.
33. Assadi, FK. Value of urinary excretion of microalbumin in predicting glomerular lesions in children with isolated microscopic hematuria. Pediatric Nephrology 2005; Aug 20(8); 1131-1135.
34. Gadelha CAG, Quental C, Fialho BC. Saúde e inovação: uma abordagem sistêmica das indústrias da saúde. Cad. Saúde Pública, 2003; Jan-Jun 19(1):47-59.
35. Jacob E, Anzalone T, Sarkozi L. Immunoprecipitation method for CK-MB analysis Re-Evaluated: influence of CK-BB and macro CK on Blank activities. Clin Chem 1988;34(3):585-588.
36. Christensoen RH, Vaydia H, Landt I, Bauer RS, Green SF, Apple FA, Jacob A, Magneson GR, Nag S, Wu AHB, Azzazy HME. Standardization of Creatinine Kinase-MB (CK-MB) mass assays: The use of recombinant CK-MB as a reference material. Clin Chem 1999;45(9): 1414-1423.



## Capítulo 2

# VALIDAÇÃO DE SISTEMA ANALÍTICO

Um sistema analítico ideal seria aquele com elevado grau de exatidão, precisão e confiabilidade, com limite de detecção em zero, sem qualquer interferente e que apresentasse 100% de sensibilidade e especificidade. Infelizmente este sistema ainda não foi disponibilizado para as rotinas diagnósticas. Como o laboratório dos sonhos ainda está longe da realidade, é preciso que se conheçam as limitações dos testes, assim como os seus parâmetros de desempenho clínico e analítico para prestar serviços laboratoriais de qualidade. É necessário definir especificações adequadas e padronizadas no laboratório para avaliar os sistemas analíticos disponíveis no serviço<sup>1</sup>.

Os avanços tecnológicos<sup>2</sup> nos sistemas automatizados e a evolução de reagentes permitiram redução da imprecisão e aumentaram a confiabilidade nos resultados, porém os erros nesta fase ainda chegam a aproximadamente 13%, segundo dados de literatura<sup>3</sup>.

A necessidade de acompanhamento terapêutico demanda a escolha da melhor metodologia disponível, que possa ser facilmente implantada no laboratório e que atenda às necessidades do corpo clínico.

As boas práticas em Laboratórios Clínicos identificam<sup>6,7</sup>, reduzem ou eliminam as fontes de erros potenciais. Como variáveis que influenciam a fase analítica podem ser citados: equipamentos, reagentes, interferentes, calibração e manutenção de equipamentos e qualidade da água (grau de pureza), temperatura ambiente, materiais de controle e calibradores, bem como a estabilidade da amostra.

Para reduzir a possibilidade de erros durante a fase analítica é necessário realizar todo tipo de esforços. É importante selecionar processos e definir procedimentos para permitir um desempenho adequado. Alguns aspectos são relevantes nesta escolha: condições de coleta, material biológico a ser analisado, intervalo analítico, limite de detecção, linearidade, exatidão, precisão, especificidade, objetivos analíticos, análise de interferentes, nível de desempenho desejado, mecanismos de controle interno e externo, valores críticos, mecanismos de contingência e carga de trabalho. À aplicação prática destes fundamentos denomina-se avaliação de um método e ela deve ser realizada antes da introdução na rotina diagnóstica.

A elaboração de procedimentos operacionais padronizados para utilização na rotina também deve preceder a implantação de uma nova metodologia. É recomendável que o seu conteúdo seja detalhado, com especificações de todas as fases da confecção do exame laboratorial. Por fim, cabe aos gestores garantir que os exames sejam realizados estritamente dentro dos protocolos estabelecidos.



A validação de um método consiste na realização de uma série de experimentos, com a finalidade de documentar o seu desempenho em relação a: exatidão, precisão e intervalo analítico, além de capacitar os profissionais naquele novo sistema, antes da sua implantação na rotina.

A análise de desempenho obtida em uma validação permite dimensionar os erros presentes, para determinar com segurança se estes afetam ou não os resultados. Em última análise, permite concluir se um método, procedimento, sistema, equipamento ou processo, funciona da forma esperada e proporciona o resultado adequado.

Para este procedimento deve-se selecionar o método, definir os requisitos da qualidade a serem atendidos, estimar seu erro analítico, comparar os erros obtidos com o erro máximo aceitável e associar aspectos analíticos com os clínicos para avaliar a correspondência dos dados com o desfecho clínico.

Habitualmente o fabricante do produto informa suas características de desempenho do ponto de vista clínico e de validação estatística. Apesar da confiabilidade nas informações do fabricante, isto não é suficiente para a sua implantação na rotina laboratorial. Para isto, é necessário um processo de verificação e validação no laboratório<sup>3</sup>.

Nos EUA os requisitos do CLIA de abril de 2003 para aprovação de métodos pelo FDA (*Food and Drugs Administration*)<sup>4</sup> solicitam a demonstração de que o laboratório atinge especificações de desempenho comparáveis às estabelecidas pelo fabricante para a calibração, o sistema de controle de qualidade, a exatidão, a precisão e o intervalo de relato clínico (CRR). Exige ainda a verificação dos valores de referência preconizados pelos fabricantes com a população atendida pelo laboratório e que todas estas ações sejam documentadas. Estas exigências consideram que condições na indústria diagnóstica podem ser diferentes daquelas observadas na prática laboratorial, gerando resultados díspares dos esperados.

No Brasil o uso predominante de sistemas abertos amplia substancialmente as combinações de reagente e equipamento e a diferença dos processos. A necessidade da validação é reforçada, visto que além da validação dos fabricantes ocorrer sob condições distintas, na maior parte das vezes é feita com um conjunto analítico (equipamento, reagente, calibrador etc.) distinto do laboratório.

Em 18 de setembro de 1998 foi criado o ABNT/CB-36 Comitê Brasileiro de Análises Clínicas e Diagnóstico in vitro, representante oficial e exclusivo da ISO no Brasil, incluindo o ISO/TC 212 para elaborar as Normas Técnicas do setor. Um de seus sub-comitês (SC.36.03) trabalha com a normalização para os produtos de diagnóstico in vitro e já elaborou duas normas: a NBR 14711:2001 Diagnóstico in vitro – recomendações e critérios para aquisição, recepção, transporte e armazenamento de produtos<sup>5</sup>; e a NBR 14864:2002 – Diagnóstico in vitro – Procedimentos para a validação de reagentes ou sistemas de diagnóstico<sup>10</sup>.

A Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) lançou em 2003 o seu "Guia Para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos"<sup>15</sup>, que traz orientações sobre este assunto. Em 2005 A ANVISA publicou a RDC302, que regulamenta o funcionamento de laboratórios clínicos e cita a necessidade de validação para metodologias próprias (*in house*).

As normas internacionais<sup>7</sup>, nacionais<sup>5,6</sup> e de sistema da qualidade<sup>8</sup> destacam a importância da validação de métodos analíticos nas condições de cada laboratório, garantindo a uniformidade dos resultados.

A avaliação de um método requer conhecimentos e habilidades para um bom desempenho técnico<sup>4</sup>, a utilização de equipamentos e materiais disponíveis no laboratório e o uso de ferramentas estatísticas que permitam definir a conduta em relação aos resultados obtidos.

Este capítulo discutirá a avaliação de um sistema analítico no laboratório clínico, fornecendo informações e um roteiro básico para uma abordagem prática. Estas orientações também visam a organização do pessoal técnico especializado para responder às demandas do corpo clínico em relação ao desempenho do sistema analítico.

## APLICABILIDADE DO CAPÍTULO

Para alcançar uma determinada finalidade clínica, pode-se optar por métodos quantitativos ou qualitativos e ainda métodos próprios (*in house*) ou comerciais.

Os métodos quantitativos são utilizados para qualquer analito que exija uma quantificação. Uma de suas vantagens é que eles podem ser avaliados por meios matemáticos ou de ferramentas estatísticas para julgar o desempenho analítico e clínico do método estudado.

Os métodos qualitativos são utilizados em várias propostas clínicas, cuja resposta que se espera é qualitativa, para os quais a quantidade presente não é exigida para responder à indagação do clínico. Seu uso pode ser descrito para a triagem (exemplo: VDRL - *Veneral Disease Research Laboratory* - para testar a sorologia da sífilis), para o diagnóstico (exemplo: culturas microbiológicas para o diagnóstico de uma infecção bacteriana, com suspeita clínica) e para a confirmação de doenças (exemplo: FTA-ABS – *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*) - para confirmar a triagem feita com VDRL.

Neste capítulo são abordados exclusivamente métodos quantitativos, sejam eles próprios ou comerciais. Para a validação de métodos qualitativos, sugere-se a leitura do documento CLSI EP12 A2<sup>14</sup>.

Sobre métodos próprios (*in house*), acrescenta-se ainda a necessidade de padronizar e documentar todo o processo, incluindo a descrição das etapas, a especificação e sistemática de aprovação de insumos, reagentes, equipamentos e instrumentos, além da própria sistemática de validação. Conforme preconizado pela RDC302/2005, deve-se manter registros de todo o processo, especificando-se no laudo que o teste é preparado e validado pelo próprio laboratório.

## CONCEITOS E DEFINIÇÕES

**Média Aritmética:** é a medida de tendência central mais comum para um conjunto de dados. É obtida através da divisão entre a soma dos dados pela quantidade dos mesmos.

**Variância:** é uma medida de dispersão dos dados em relação à média. A variância é expressa pelo quadrado da unidade de medida dos dados.

**Desvio-padrão (DP):** é uma medida de dispersão calculada através da raiz quadrada da variância. Usado para melhor interpretar a dispersão dos dados já que é expresso na unidade de medida original dos mesmos.

**Coefficiente de variação (CV):** é uma medida relativa de dispersão. É obtido pela divisão entre o desvio padrão e a média aritmética dos dados. É a expressão mais usual da imprecisão.

**Especificidade:** capacidade do método em detectar o analito de interesse na presença de outros componentes da matriz.

**Seletividade:** capacidade de detecção de substâncias.

**Sensibilidade:** concentração Limite do Branco definida como a mais baixa e significativamente diferente de zero. São sinônimos deste termo: concentração mínima detectável, sensibilidade analítica, limite mínimo de detecção e limite baixo de detecção. Limite de quantificação é definido como o menor valor de concentração que pode ser medido com precisão, sinônimo de sensibilidade funcional. Normalmente é maior que a sensibilidade analítica.

**Exatidão:** corresponde à capacidade do método em apresentar resultados próximos do valor verdadeiro. Segundo a IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) a exatidão é a concordância entre o valor medido de um analito e seu valor real. A inexactidão de um método pode se obter empregando-se os conceitos de erro sistemático (BIAS) ou erro total.

**Intervalo Analítico de Medidas (AMR)<sup>16</sup>:** é definido pela IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) como o intervalo de concentração no qual a quantificação da amostra é realizada sem qualquer modificação. Compreende o menor valor detectável (sensibilidade do método) e o valor máximo detectável (linearidade). Amostras com resultados fora desta faixa devem ser diluídas ou concentradas para apresentarem valores dentro deste intervalo.

## PLANEJAMENTO

Como qualquer atividade dentro do serviço de Medicina Laboratorial, a avaliação bem sucedida de um novo sistema analítico deve começar pelo seu planejamento, que precisa estar em consonância com os objetivos estratégicos definidos pela direção do serviço.

Este planejamento<sup>11</sup> tem requisitos especiais em relação aos demais planos gerenciais. É considerado um elemento decisivo na estratégia dos laboratórios para enfrentar as crescentes exigências dos consumidores por melhor nível de qualidade, maior variedade de exames e entregas de resultados mais confiáveis.

Ele deve ser encarado como o delineamento de um novo experimento, ou seja, testes conduzidos de uma forma planejada, em que variáveis controladas são alteradas, de modo a avaliar o seu impacto sobre as respostas<sup>12</sup>.

Um sistema analítico bem implementado tem a clara definição dos seus objetivos e dos parâmetros que podem medir seu desempenho. Mantém um intenso programa de treinamento dos colaboradores sobre os objetivos e funcionamento do sistema e possui uma base de dados precisa e atualizada.

### Responsabilidade

A direção do laboratório deve definir os responsáveis por conduzir e executar os experimentos de validação de um novo sistema analítico. Cabe a esta mesma direção realizar a análise crítica dos resultados e decidir sobre a aplicabilidade ou não da nova rotina de trabalho.

### Estruturação da validação

Em relação à estruturação da validação, cabe aos responsáveis definirem:

- A distribuição de tarefas, com nível de responsabilidade e autoridade.
- O cronograma de trabalho, com reuniões ao longo da validação para verificação do andamento das atividades.
- Os recursos que serão necessários.
- A infraestrutura requerida para que a validação seja adequadamente realizada.
- Quais ferramentas estatísticas serão empregadas.
- Os objetivos analíticos para o novo sistema.
- O nível de erro aceitável.
- Como serão discutidas as eventuais necessidades de ajuste no plano inicial.
- Como serão feitas a análise dos resultados e a elaboração do relatório de desempenho contendo as conclusões.

A avaliação bem sucedida de um sistema analítico passa pela aplicação de uma perspectiva clínica à tarefa, pela definição prévia dos objetivos analíticos e pela condução da fase de experimentação com rigor para coletar os dados necessários, usar a ferramenta estatística adequada para se estimar os erros de forma correta, gerar conclusões objetivas a respeito do novo sistema analítico estudado.

### Propriedades do sistema analítico

A validação fornece evidências de que um sistema apresenta desempenho dentro das especificações da qualidade, de maneira a fornecer resultados válidos.

As propriedades relacionadas ao desempenho do sistema analítico<sup>4</sup> são: exatidão, precisão, sensibilidade analítica, especificidade analítica, recuperação analítica, intervalo analítico de medida, valores de referência, limite de detecção, interferentes, estabilidade de reagentes, robustez e interação com amostras.

A legislação americana<sup>15</sup>, para laboratórios de médio e grande porte, e a brasileira<sup>5</sup>, sem distinção por tamanho, exigem que os laboratórios verifiquem o desempenho dos ensaios em uso nos laboratórios. Os parâmetros de avaliação são:

- Carreamento: estudo da contaminação entre amostras de concentrações diferentes em sistemas automatizados.
- Estabilidade de amostra: estudo da variação de analitos em diferentes condições de armazenamento ao longo do tempo.
- Interferências: verificação da interferência causada por substâncias endógenas ou exógenas quando presentes na amostra.
- Intervalo de normalidade (verificação de valores de referência): estudo dos limites clínicos.
- Linearidade: estudo da capacidade do método em gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, dentro de uma faixa analítica especificada.
- Precisão do processo analítico (repetitividade e reprodutibilidade): estudo do erro aleatório do processo, baseado no desvio-padrão de medidas repetidas.
- Recuperação: estudo do erro sistemático proporcional a partir da adição exógena ao analito da amostra.
- Robustez: estudo da sensibilidade de um processo frente a pequenas variações.
- Sensibilidade analítica: estudo da capacidade do método de distinguir com confiança concentrações mínimas.

Neste capítulo serão apresentados protocolos para estudo de precisão, recuperação, estabilidade, linearidade e carreamento. O estudo da estabilidade das amostras é uma complementação da validação, especialmente importante na implementação de um novo ensaio, visto que degradação do analito ou dos constituintes da matriz durante a estocagem ou análise podem afetar a exatidão dos resultados.

A Calibração será citada com algum detalhamento por ser um requisito importante para o início de um processo de validação. Nela será descrita uma forma simples de determinar a sensibilidade analítica. Para um estudo detalhado e definição dos limites de detecção e quantificação, deve-se consultar o documento EP17A do CLSI.

A interferência é um parâmetro previsto, contudo, de complexa implementação. Um breve resumo foi incluído para o melhor entendimento. O intervalo de normalidade e a robustez não serão discutidos. Para estes estudos recomenda-se o protocolo descrito no documento DOQ-CGCRE-008 do Inmetro.

Quando se trata da validação de um sistema analítico novo, que funcionará em paralelo com outro para os mesmos exames, a equiparação entre os sistemas faz parte do processo de validação. Este tema é abordado no capítulo 3 deste livro.

## ESPECIFICAÇÕES ANALÍTICAS DE QUALIDADE

### Erro total (ET)

Cada resultado liberado pode ser mais ou menos inexato e impreciso. Cada resultado individual contém uma combinação de erro sistemático (inexatidão) e do erro aleatório (imprecisão), que denomina-se erro total (ET).

Em um processo sob controle, o erro total esperado dentro de uma probabilidade determinada pode ser estimado pela fórmula descrita na [figura 1](#):

$$ET = \text{Viés} + Z \times CV$$

Onde:

Viés representa a estimativa do erro sistemático

CV é a estimativa do erro aleatório

Z é um fator relativo ao nível de confiança desejado

Figura 1: Cálculo do erro total

O valor de Z pode ser encontrado na tabela da distribuição normal padronizada. Por exemplo, o multiplicador para estimar o erro aleatório com 95% de confiança (bicaudal) é 1,96.

O erro aleatório de um processo pode ser obtido da variação do controle interno (CV). O viés (*bias* em inglês) pode ser obtido a partir de ensaio de proficiência, quando este apresenta uma estimativa de erro sistemático, ou ainda considerando que o erro relativo de cada medida ( $[\text{Resultado-valor esperado}] \times 100 / \text{valor esperado}$ ) é o erro total da medida e que a média destes erros representa uma estimativa do erro sistemático.

O erro sistemático não é objeto de estudo durante a validação. Nela são estudadas a imprecisão e a linearidade com base no erro total e coeficiente de variação.

### Erro total aceitável (ETA) e imprecisão aceitável

O erro total aceitável (ETA) para um determinado analito pode ser definido com base na variabilidade biológica, variabilidade analítica e utilidade médica. O comitê técnico ISO TC212 e membros do *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) elaboraram um documento com estas e outras possibilidades para a determinação da variabilidade do processo<sup>21</sup>.

Nos EUA a CLIA contém uma lista de analitos e erros totais admissíveis em caráter compulsório. No Brasil a ANVISA possui esta mesma lista, contudo ainda em caráter voluntário para a habilitação de provedores de ensaio de proficiência clínicos. Por exemplo: no Brasil e nos EUA o limite determinado para Potássio é 0,5mmol/L. Para Sódio é 4mmol/L nos EUA e 8mmol/L no Brasil. Para glicose o limite aceito determinado pela ANVISA é 13%, enquanto no CLIA está determinado 10% ou 6mg/dL (em concentrações inferiores a 60mg/dL).

O ETA pode ser usado como critério de análise da verificação de calibração, linearidade e precisão. O *College of American Pathologists* recomenda que o erro sistemático não ultrapasse 50% ETA e o erro aleatório (imprecisão) 25% ETA.

Especificações da qualidade, quando baseadas em variação biológica, podem ser obtidas a partir das componentes intra e inter-indivíduo, expressas em coeficiente de variação (CVi e CVg, respectivamente)<sup>20</sup>. Para diversos ensaios já existem definidos requisitos de erro aleatório (imprecisão), erro sistemático (inexatidão) e erro total. Para a imprecisão, por exemplo, há três níveis de desempenho com base na variação intra-indivíduo:

- Imprecisão ótima quando menor que 0,25CVi
- Imprecisão desejável quando menor que 0,50CVi
- Imprecisão mínima quando menor que 0,75CVi

A especificação mínima é o menor nível de exigência para um laboratório que ainda não consegue o nível desejável. O laboratório que já supera a imprecisão desejável deve ter como meta atingir o nível ótimo.

## CALIBRAÇÃO<sup>5</sup>

A calibração relaciona-se à exatidão e consiste num conjunto de operações que estabelece, sob condições especificadas, a relação entre os valores indicados por um sistema de medição e a concentração conhecida de um analito (calibrador).

O resultado da calibração permite estabelecer a correlação com as concentrações das amostras de rotina, ou seja, a curva de calibração representa a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito, para uma faixa de concentração na qual o método pode ser aplicado.

Este procedimento deve ser realizado no início do estudo de validação, com calibradores de concentrações conhecidas. Para definir adequadamente a relação entre a concentração e a resposta do sistema analítico, o gráfico analítico deve ser construído, utilizando-se valores dentro do intervalo analítico de medida, analisados em duplicata e em ordem aleatória.

Espera-se que o gráfico apresente uma relação linear que pode ser traduzida pela equação  $F(x) = B + Sx$ . Na qual B corresponde à média das medidas do branco, S à sensibilidade do método e F(x) à concentração do analito.

Em alguns casos a relação pode não ser linear, como por exemplo, em análises eletroquímicas, íons seletivos ou com o uso de bio-sensores. Nestes casos, a FDA recomenda que os resultados sejam analisados por métodos estatísticos (regressão linear pelo método dos mínimos quadrados) e que seja usado o modelo mais simples que adequadamente descreve a relação concentração-resposta (o que pode incluir tratamento para linearizar os dados).

A ANVISA segue as recomendações da FDA apontadas acima e acrescenta que devem ser apresentados os coeficientes linear e angular, o intercepto da reta e que o coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) deve ser igual ou superior a 0,98.

Determina ainda que o desvio relativo ao ponto de calibração frente à concentração nominal do limite inferior de quantificação não deve ultrapassar 20% e que o desvio dos demais pontos deve ser de até 15%. Tais critérios devem ser respeitados pelos pontos extremos, sendo tolerado que nos demais pontos, até dois pontos de seis, extrapolem tais limites.

Contudo, sistemas analíticos automatizados já costumam apresentar uma programação interna referente à sistemática de calibração e os fabricantes já fornecem kits calibradores adequados a esta programação. Esta programação pode incluir números diferentes de calibradores em concentrações distintas, as concentrações esperadas, tratamento estatístico e critérios de aceitação pré-definidos. Cada laboratório deve avaliar se tais práticas atendem ao preconizado pela Anvisa e se preenchem os requisitos para as especificações de qualidade planejadas para o próprio serviço.

Com base na calibração é possível também definir o limite de detecção (LD)<sup>23,24</sup>, que corresponde à menor quantidade do analito que pode ser detectada de maneira confiável e distinta da concentração zero.

Existem na literatura várias definições para o LD, que muitas vezes é considerado como sinônimo de sensibilidade. Uma forma de estimá-lo baseia-se no coeficiente angular da reta de calibração ( $s$  - inclinação da reta) e no desvio-padrão da leitura do branco (DP), obtido a partir de 10 replicatas, pelas fórmulas  $LD = 3DP/S$ .

## ESTUDO DA PRECISÃO<sup>3</sup>

Esta deve ser a primeira propriedade a ser verificada na validação. O documento do CLSI EP5-A2<sup>3</sup> define a precisão como uma concordância entre resultados de medidas independentes obtidos sob condições estipuladas.

A repetibilidade de resultados corresponde à concordância entre resultados de sucessivas medidas do mesmo analito, obtidos sob as mesmas condições de medida<sup>13</sup>.

Entende-se como reprodutibilidade de resultados<sup>3</sup> a concordância entre resultados do mesmo analito, realizada sob condições de medida alteradas.

Embora não seja a nomenclatura normalizada, é comum a repetitividade ser descrita como precisão intraensaio e a reprodutibilidade como a precisão interensaio.

A precisão pode ser estudada utilizando-se materiais de controle interno, como os que comumente acompanham os reagentes, desde que estes não sofram efeito matriz. Quando há possibilidade de efeito matriz ou os controles diferem muito da matriz da rotina, é recomendado o uso de amostras de pacientes.

A determinação simples da precisão pode ser obtida para uma verificação rápida do processo. Contudo, tal modelo já não é considerado suficiente para determinar a validação da precisão analítica, no qual se busca determinar variação intra-corrída (dentro das corridas – *within run*), inter-corrída (entre corridas - *between run*), inter-dia (entre os dias – *between day*) e total, para avaliar o desempenho intracorrída e interlaboratório (total).

O documento EP5-A2<sup>3</sup> determina uma verificação preliminar da precisão (intraensaio) para identificar alguma discrepância grosseira frente ao esperado e necessidade de ajustes no sistema antes de prosseguir com um estudo mais longo (completo). Este estudo pode ainda ser a base para um critério de identificação de *outlier* no estudo completo, que se segue e que estima as diferentes componentes de precisão citadas<sup>6</sup>.

O documento EP15-A2 apresenta um protocolo otimizado frente ao estudo completo de precisão do EP05-A2, baseada no teste Qui-quadrado, que compara as precisões intracorrída e intralaboratório obtidas pelo laboratório frente a apresentada pelo fabricante, desde que o último tenha adotado o EP5-A2 para determiná-las.

Há ainda a possibilidade do laboratório adotar o teste F para comparar as variâncias de um sistema novo frente à do sistema atual, o que confere maior segurança à troca de sistema ou à homogeneidade dos mesmos quando usados concomitantemente.

### PRECISÃO INTRAENSAIO (SIMPLES)

O estudo de precisão intraensaio (repetitividade simples) pode ser realizado, com a análise dois ou mais níveis de controle, com vinte repetições no mesmo dia. Para minimizar erros devido à presença de interferentes (corrente elétrica, variação de temperatura etc.) é recomendado dividir as repetições em duas corridas analíticas. Os resultados devem ser obtidos de maneira idêntica, no mesmo equipamento, com o mesmo reagente, mesmo lote, realizado pelo mesmo operador e durante um curto espaço de tempo.

Com base nos resultados obtidos, deve-se calcular a média, desvio-padrão e coeficiente de variação do estudo e comparar o resultado esperado com a especificação definida. Os níveis de imprecisão aceitáveis podem ser determinados frente ao erro total aceitável (até 25% ETa), diretamente da imprecisão baseada em variação biológica ou ainda a recomendação da ANVISA<sup>3</sup> de que sejam menores que 15% na mesma corrida analítica.

Para aprovar o sistema analítico, espera-se que a imprecisão encontrada seja menor ou igual à especificação da qualidade definida pelo laboratório para o sistema.

No exemplo 1 é descrito um modelo de repetitividade (precisão simples).

### PRECISÃO PRELIMINAR

O CLSI EP05-A2 recomenda um estudo preliminar com materiais em ao menos duas concentrações em uma única corrida com 20 replicadas, ou uma batelada completa (quando menor que 20). As medidas de variabilidade obtidas neste estudo (variância, DP ou CV) já poderão indicar alguma discrepância frente ao esperado e necessidade de ajustes no sistema antes de prosseguir com um estudo mais longo.

Tais dados também serão úteis para identificar outlier no estudo completo. O DP calculado, multiplicado por um fator de significância (5,5 para 99,9% de nível de confiança ou outro determinado pelo laboratório) fornecerá um valor que determinará a diferença máxima entre as replicatas de cada corrida. Quando a diferença entre um par de dados for superior a este valor, estes devem ser excluídos do experimento, tendo cuidado para não rejeitar mais de 5% das corridas.

O laboratório que não achar necessário o estudo preliminar pode realizar um protocolo similar, com minimamente oito replicatas, para determinar o DP usado no critério de detecção de outlier (conforme adotado no EP Evaluator), ou ainda adotar critérios mais simples para este fim definidos na literatura, como média  $\pm 3DP$ , sem realização do protocolo preliminar.

### PRECISÃO INTRA E INTERENSAIO (COMPLETA) segundo EP05-A2

O estudo de precisão intra e interensaio (repetitividade e reprodutibilidade) pode se realizado com os mesmos materiais de controle adotados para a repetitividade, com a análise de dois ou mais níveis, em duplicata, durante vinte dias. Para materiais com baixa estabilidade, ou urgência na liberação do estudo, pode-se realizar o estudo em cinco dias, realizando as dosagens em duplicada em dois momentos diferentes do dia.

Com base nestes dados devem ser calculadas as médias, desvios-padrão e coeficientes de variação intra-corrída (dentro das corridas – *within run*), inter-corrída (entre corridas - *between run*), inter-dia (entre os dias – *between day*) e total, conforme fórmulas determinadas no CLSI EP05-A2 ou variações destas determinadas na literatura.

Para avaliar a precisão, pode-se adotar critérios estatísticos, clínicos ou os dois em conjunto. Estatisticamente o laboratório deve comparar a precisão (CV) intracorrída e total (intralaboratório) obtida no laboratório para cada nível com a do fabricante. Se na comparação direta os CVs do laboratório forem menores ou iguais ao do fabricante, a precisão pode ser considerada dentro do esperado. Se forem maiores, deve-se proceder o teste do Qui-Quadrado para determinar se esta diferença é significativa, conforme modelo descrito no EP05-A2.

O critério clínico se aplica apenas à precisão total (intralaboratório) obtida no laboratório, que não deve ultrapassar 25% do ETA.

O exemplo 2 apresenta uma avaliação completa (precisão total).

### PRECISÃO INTRA E INTERENSAIO (COMPLETA) segundo EP15-A2

O estudo de precisão intracorrída e intralaboratório (total) simplificado pode ser adotado se estes mesmos dados foram obtidos pelo fabricante com base no EP05-A2. Neste caso, pode-se realizar com os mesmos materiais de controle adotados para os estudos anteriores, com a análise de dois ou mais níveis, em uma corrida diária em triplicata, durante cinco dias.

Com base nestes dados devem ser calculadas as médias, desvios-padrão e coeficientes de variação intra-corrída e total, conforme fórmulas determinadas no CLSI E15-A2 ou variações destas determinadas na literatura.

Neste caso a avaliação da precisão é comparativa e feita por concentração (nível). Se na comparação direta os CVs do laboratório forem menores ou iguais ao do fabricante, a precisão pode ser considerada dentro do esperado. Se forem maiores, deve-se proceder o teste do Qui-Quadrado para determinar se esta diferença é significativa, conforme modelo descrito no EP05-A2.

### PRECISÃO ENTRE SISTEMAS ANALÍTICOS

Para comparar o desempenho de um sistema novo frente a um já adotado na rotina do laboratório, pode-se ainda fazer a comparação da precisão de cada sistema a partir das análises simultâneas dos materiais nos dois sistemas.

O teste estatístico adequado para este propósito é o teste F para igualdade entre duas variâncias populacionais. A hipótese nula do teste afirma que as variâncias dos dois sistemas são iguais. A estatística de teste é obtida por:

$$F = (\text{maior desvio-padrão})^2 / (\text{menor desvio-padrão})^2$$

Para verificar qual valor de F pode ser aceito, utiliza-se os valores críticos de F com nível de significância de 5%.

O F crítico é obtido através da tabela da distribuição F (facilmente encontrada na internet) com base nos graus de liberdade (n-1) das duas variâncias comparadas. Quando o F calculado é menor que o F crítico, pode-se concluir não haver diferença entre as variâncias ao nível de significância de 5%.

Por tratar-se de uma comparação de variâncias recomenda-se analisar os mesmos materiais (para garantir concentrações próximas), as concentrações relevantes para o processo (como os próximos dos níveis de decisão), ter um bom número de dados (minimamente 20 para garantir a representatividade dos resultados) e verificar nos dados brutos a presença de *outliers*, adotando métodos para sua detecção, eliminação ou redução do impacto.

Esta comparação pode ser realizada individualmente com a precisão intra-corrída, inter-corrída, inter-dia e total. Quando há diferença significativa entre as variâncias, o laboratório deve avaliar se a maior variação está no sistema novo para não implementar um sistema que apresenta desempenho inferior ao já em uso.

Contudo, é importante comentar que um estudo de equiparação entre sistemas analíticos apresenta uma análise de comportamento mais completa.

O exemplo 3 apresenta um caso de comparação entre sistemas analíticos.



## ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS<sup>1,5</sup>

Estudos de estabilidade das amostras são importantes para definir um prazo adequado para a realização do exame e o prazo máximo para sua repetição, quando necessário.

Três materiais provenientes de pacientes (soro), abrangendo valores no intervalo de linearidade do sistema analítico (baixo, médio e alto), com matrizes similares devem ser selecionados. Para a realização deste teste pode também ser confeccionado um *pool* (baixo, médio e alto), especialmente se a matriz não for soro, como LCR ou urina.

O estudo consiste em analisar as amostras selecionadas, previamente analisadas e com valores conhecidos, estocadas em temperatura ambiente (22°C a 26°C), geladeira (2°C a 8°C) e câmara fria (-20°C).

As amostras devem ser dosadas em duplicata em períodos de 7, 30, 60 e 90 dias, e os resultados médios analisados frente à perda percentual da concentração obtida no tempo zero.

Para analitos e matrizes em que a estabilidade é reduzida ou sua estabilidade frente a determinadas condições de temperatura já é conhecida, pode-se adaptar o protocolo. Por exemplo, dosagens diárias por cinco dias em duplicata apenas à temperatura ambiente e de geladeira.

O laboratório deve definir qual a variação aceitável para o seu processo. Esta especificação pode ser determinada com base na experiência, com foco no impacto para a interpretação médica. Pode ser o erro total ou a imprecisão baseada na variação biológica ou até a imprecisão real obtida pelo laboratório no estudo da imprecisão.

Cabe comentar apenas que o critério de imprecisão tende a ser o mais rígido. A imprecisão obtida por variação biológica só pode ser usada quando a imprecisão real do laboratório é menor ou igual à mesma. Já a imprecisão do laboratório, quando adotada, significa que não é aceito nenhum nível de variação da amostra (a variação aceita se restringe à variação do processo).

O exemplo 4 apresenta um estudo de estabilidade.

## ESTUDO DE RECUPERAÇÃO<sup>5</sup>

Recuperação é a capacidade de um método analítico medir um analito corretamente, quando uma quantidade conhecida de analito é adicionada à amostra.

Para o estudo de recuperação deve-se selecionar uma amostra com concentração conhecida do analito, preferencialmente com valor baixo, e três materiais com concentração conhecida, diferentes (baixo, médio e alto) e dentro da linearidade do sistema analítico. Estes materiais podem ser amostras de paciente com valor conhecido, materiais de controle ou ainda soluções preparadas.

A amostra deve ser dividida em três partes e a cada uma deve-se adicionar o material previamente selecionado (baixo, médio e alto). As três amostras finais devem ser analisadas com cinco repetições.

Calcula-se a quantidade percentual recuperada pelo processo através da fórmula:

$$\% \text{ Recuperação} = [(\text{valor obtido} - \text{valor esperado}) / \text{valor esperado}] \times 100$$

Deve-se ter em conta que o valor esperado deve ser determinado considerando as concentrações iniciais dos materiais e as diluições feitas com a mistura. São considerados valores de recuperação aceitáveis níveis próximos a 100%, podendo variar de 80 a 120% de recuperação, em relação ao valor esperado.

O exemplo 5 apresenta um estudo de recuperação.

## ESTUDO DE LINEARIDADE<sup>5,17</sup>

Linearidade é a capacidade do método de gerar resultados linearmente, proporcionais à concentração do analito.

Para o estudo da linearidade pode-se fazer diluições seriadas de uma amostra de concentração baixa e uma amostra de concentração alta. Serão obtidos valores intermediários separados por intervalos constantes desde que ao final as amostras tenham valores dentro do AMR, incluindo valores próximos da menor e maior concentração, e limites de decisão médica.

Para a verificação da linearidade, diluições devem ser feitas com cinco valores distribuídos no AMR, com dosagens em duplicata. Para validação de metodologia *in house* ou de métodos modificados, recomenda-se ampliar para ao menos sete diluições dosadas em duplicata ou triplicata. Para estabelecer o intervalo de linearidade (não apenas verificar um intervalo já estabelecido), recomenda-se de 9 a 11 diluições com duas a quatro replicatas de cada valor. Um número maior de replicatas pode ser requerido para alguns analitos, conforme avaliação do responsável pelo estudo.

A **tabela 1** apresenta o esquema de diluição necessário ao estudo de verificação de linearidade. A qualidade desta diluição é fundamental para garantir que a variabilidade dos dados se deve unicamente ao processo analítico. O fato torna imprescindível o uso de pipetas calibradas.

Tabela 1: Diluição de amostras para estudo de linearidade			
Amostra preparada	Diluição	Concentração relativa	Valores Esperados
D1	Amostra baixa pura	0	C1 – concentração conhecida da amostra
D2	3 partes da amostra baixa e 1 parte da amostra alta	0,25	$\frac{(3 \times C1) + (1 \times C5)}{4}$
D3	2 partes da amostra baixa e 2 partes da amostra alta	0,50	$\frac{(2 \times C1) + (2 \times C5)}{4}$
D4	1 parte da amostra baixa e 3 partes da amostra alta	0,75	$\frac{(1 \times C1) + (3 \times C5)}{4}$
D5	Amostra alta pura	1,00	C5 - concentração conhecida da amostra

A concentração relativa é uma concentração proporcional das amostras, onde zero é o menor valor obtido nas replicatas e 1 o maior valor.

As amostras preparadas (D1 a D5) devem ser analisadas em duplicata para obter um valor médio. O valor teórico deve ser obtido pelas fórmulas apresentadas na Tabela 1, para então comparar os valores obtidos na prática e os valores esperados calculados (teóricos) pelo cálculo da diferença percentual de cada amostra preparada: (valor médio obtido/valor teórico) x100.

A partir das replicatas destas diluições, elabora-se um gráfico de dispersão (resultados obtidos versus resultados esperados) e procede-se à regressão linear, para a qual comumente obtém-se uma relação linear de primeiro grau.

Tradicionalmente a linearidade poderia ser avaliada pela análise visual do gráfico de dispersão, no qual espera-se que os pontos estejam próximos da reta de regressão. A forma mais objetiva de avaliar, no entanto, é por critérios estatísticos e clínicos.

A ANVISA determina que havendo relação linear aparente na análise gráfica, o laboratório deve proceder a regressão linear e determinar o coeficiente de correlação, a interseção, o coeficiente angular, soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear, o desvio padrão relativo e adotar um coeficiente de correlação de Pearson (*r*) mínimo de 0,99 como critério aceitável. Quando a relação não for linear, deve-se realizar transformações matemáticas.

O CLSI determina um método estatístico mais elaborado, com critérios de decisão estatísticos e clínicos. Segundo o CLSI EP6, deve-se começar por identificar a presença de *outlier*, o que pode ser feito por uma análise visual do gráfico de dispersão ou baseada em algum método estatístico, e então avaliar o impacto de alguma exclusão de dados, considerando a possibilidade de recomençar o estudo se mais de um ponto for identificado como tal.

Uma análise de erro aleatório (repetitividade) deve ser feita para garantir que a imprecisão presente estará sob controle e não reduzirá a capacidade do teste para a identificação de não linearidade. Para isto deve-se definir previamente o erro aleatório aceitável (por exemplo, baseado na imprecisão por variação biológica ou ETa do ensaio de proficiência – 25% do ETa).

A repetitividade pode ser obtida com um cálculo simples do coeficiente de variação, baseado nas diferenças das duplicadas: (1) calcular a diferença relativa de cada diluição: diferença de cada duplicata dividida pela média; (2) elevar as diferenças relativas ao quadrado; (3) somar todos os resultados; (4) dividir o valor total por dez (cinco diluições x duas replicatas); e (5) tirar a raiz do produto final.

Com a repetitividade sob controle, deve-se proceder à regressão polinomial para o 1º, 2º e 3º grau e proceder ao teste t para avaliar qual representa melhor os dados, conforme polinômios e a análise descrita na [tabela 2](#).

Tabela 2: Polinômios e Teste t		
Grau	Polinômio	Análise do Teste t
Primeiro	$Y = a + bx$	Para cada variável (a, b, c e d) é calculado um valor p que deve ser interpretado como significativo quando menor que 0,05.
Segundo	$Y = a + bx + cx^2$	Se a variável d do polinômio de 3º é significativa, a equação de 3º é a melhor representação da relação x e y. Caso contrário, elimina-se este polinômio e verifica-se a equação de 2º. Se a variável c do polinômio de 2º é relevante, esta é a equação alvo. Caso contrário, a equação de primeiro grau (linear) é a que melhor descreve a relação x e y, segundo critérios estatísticos
Terceiro	$Y = a + bx + cx^2 + dx^3$	

Contudo, deve-se considerar que se trata de um teste estatístico que indica que algum nível de não linearidade foi detectado, devendo ser avaliado se este nível de não linearidade é amplo o suficiente para afetar resultados de pacientes. Para isto, deve ser calculado o desvio de linearidade (DL) para cada diluição e compará-los com a meta determinada (por exemplo, o critério clínico baseado em erro sistemático: 50% do ETA definido pelo laboratório).

$$DL = [Y(\text{melhor polinômio}) - Y(\text{polinômio de 1º grau})] * 100 / Y(\text{polinômio de 1º grau})$$

Se para todos os pontos o DL for inferior à meta, pode-se considerar haver relação linear entre x e y. Caso contrário deve-se verificar as possíveis causas (como preparação da amostra, interferência, calibração etc.) e eliminá-las para repetir o estudo. Ou ainda, verificar se a diferença não está em uma das concentrações extremas. Neste caso, pode-se considerar eliminar o ponto com DL muito grande e refazer a análise estatística com uma redução da faixa de leitura linear do sistema analítico.

O exemplo 6 apresenta um estudo de linearidade.

## ESTUDO DE CARREAMENTO

Os analisadores automáticos modernos utilizam sistemas robóticos de pipetagem e sistemas de lavagem de cubetas, desenhados para manter um fluxo contínuo de amostras, dispensação de reagentes, limpeza das amostras e dos reagentes nas probes e cubetas.

Assim podem realizar uma ampla variedade e quantidade de exames. Os analisadores geralmente têm 1- 2 *probes* para dispensar reagentes, as quais são expostas numa sucessão rápida e grande de diferentes reagentes, o mesmo ocorrendo com as cubetas.

Um problema real nestes analisadores é o *carreamento* (*carryover*) de reagente de um ensaio inicial que pode ser levado a outra reação, contaminando o teste imediatamente seguinte. A lavagem ineficaz das cubetas pode deixar resíduos de um teste e contaminar o próximo a ser realizado na mesma cubeta. O carreamento entre amostras deve ser o mínimo possível.

Em alguns casos a existência de *carryover* não afeta os resultados dos pacientes, nem traz consequências clínicas, entretanto, o arraste pode resultar em erro sistemático positivo ou negativo, produzindo resultados falsos positivos ou negativos com repercussões clínicas adversas aos pacientes, representando um fenômeno de erro analítico. Para compreender esta fonte de erro nos sistemas analíticos e garantir que eles estão dentro dos limites permitidos deve-se cumprir um protocolo de inspeções e verificações periódicas de *carryover*.

Nos analisadores automatizados há mecanismos para mantê-los sob controle, tais como: materiais especiais na composição de probes, troca de ponteiras entre as pipetagens seriadas ou incorporação de estações de lavagens para a probe de amostras.

Cabe ao fornecedor do equipamento efetuar as verificações necessárias e assegurar que os procedimentos operacionais em relação às lavagens e reagentes sejam realizados pela assistência técnica periodicamente.

São preparadas para o teste 11 alíquotas de uma amostra com concentração de valor conhecido baixo (B) e 10 alíquotas de uma amostra com valor conhecido alto (A), estas amostras são analisadas sequencialmente:

- |                         |                           |                         |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 1. três amostras baixas | 5. quatro amostras baixas | 9. uma amostra baixa    |
| 2. duas amostras altas  | 6. duas amostras altas    | 10. duas amostras altas |
| 3. uma amostra baixa    | 7. uma amostra baixa      | 11. uma amostra baixa   |
| 4. duas amostras altas  | 8. duas amostras altas    |                         |

Calculam-se as médias das concentrações de todas as amostras baixas analisadas após uma amostra baixa (B-B) e a média das concentrações de amostras baixas após amostra alta (A-B). É ainda calculado o DP das leituras B-B e o carreamento é obtido pela diferença entre as médias de B-B e A-B.

Como critério de aceitação adota-se um carreamento de até três desvios padrões das leituras B-B.

O exemplo 7 apresenta um estudo de carreamento.

## ESTUDO DA ROBUSTEZ<sup>5,22</sup>

Robustez é a capacidade de método em resistir a pequenas e deliberadas variações nas condições analíticas como: condições ambientais, fator humano, variações entre lotes de reagentes ou materiais empregados. Na rotina, esta propriedade do processo deve ser monitorada por controles internos, preferencialmente com análise estatística e gráficos de controle.

A avaliação da robustez indica os fatores que podem influenciar significativamente na resposta do sistema analítico estudado. Ela reflete a dimensão de problemas quando o processo é realizado em diferentes condições. Em última análise, um método robusto tem a habilidade de fornecer resultados inalterados quando sujeito a pequenas mudanças.

Para métodos cromatográficos<sup>22</sup> o estudo da robustez pode analisar a possível influência de pequenas variações ocasionadas pela alteração na proporção da composição da fase móvel, na vazão, estudando-se diferentes volumes por minuto, na temperatura do forno, no tempo de sonicação para preparação das amostras e em diferentes lotes da coluna utilizada como fase estacionária. Por exemplo: variações da proporção entre os componentes da fase móvel. Segundo o trabalho de Lavras<sup>22</sup> foram realizadas análises com tampão fosfato de potássio monobásico pH 3,0: acetonitrila nas proporções de 62:38 (v/v); 60:40 (v/v); e 58:42 (v/v).

O documento do Inmetro DOQ-CGCRE-008 – Orientações sobre validações de métodos de 2003, sugere experimentos para este fim, como teste t ou gráfico de *youden*, para comparabilidade dos resultados obtidos antes e depois de introduzir uma variável intencionalmente.

## ESTUDO DE INTERFERENTES<sup>18</sup>

Os interferentes são substâncias, de origem endógena ou exógena, que podem potencialmente interferir em procedimentos de medida.

A interferência pode ocorrer em qualquer uma das três fases do exame.

Os mecanismos pelos quais a interferência pode ocorrer são os mais diversos: produtos competição ou inibição química, interferências com a matriz da amostra (viscosidade, turbidez), inibição enzimática ou reação cruzada.

Os medicamentos podem induzir interferências *in vivo* e *in vitro* nos parâmetros laboratoriais.

A lipemia, a hemólise e a icterícia são interferentes comuns a muitos sistemas analíticos. O uso de brancos de soro pode diminuir a interferência.

Em muitas ocasiões a análise de interferentes é complexa, devendo-se adicionar as substâncias a serem testadas às amostras de valores conhecidos. A amostra sem adição do interferente é utilizada como controle. As substâncias a serem testadas são adicionadas em diferentes concentrações às amostras teste, realizadas em replicatas, mínimo de cinco, para se obter valores estatisticamente significativos.

O documento do CLSI EP7-P *Interference Testing in Clinical Chemistry*<sup>18</sup> reproduz tabelas que permitem obter o número de replicatas em função do nível de erro desejado.

## CONCLUSÃO

As ferramentas de validação são aplicáveis em laboratórios clínicos e permitem diminuir os custos com erros, evitando insegurança, desperdícios e retrabalho.

A avaliação em conjunto das informações obtidas durante a validação permite a observação adequada do desempenho de um método e a correta tomada de decisão para introduzi-lo na rotina do laboratório.

Uma vez estabelecido, o método deve ter mecanismos de controles bem definidos para avaliar a eficiência do método ao longo do tempo.

Assim, são recomendados os controles internos para avaliar o desempenho da precisão diária e exames de proficiência para avaliação da exatidão do método em determinados períodos.

A linearidade e a calibração devem ser verificadas a cada seis meses e o *caryover* pelo menos uma vez ao ano, segundo recomendações do Colégio Americano de Patologistas.

Estas verificações periódicas permitem identificar limitações do método ao longo do tempo, bem como identificar desgastes nos sistemas analíticos (equipamentos) utilizados.

De acordo com o propósito do método, alguns parâmetros apresentados podem deixar de ser avaliados.

A exatidão e precisão são parâmetros que devem ser sempre estudados, exceto para métodos qualitativos, garantindo a segurança dos resultados relatados.

## EXEMPLO 1

### ESTUDO DE PRECISÃO INTRAENSAIO (REPETITIVIDADE SIMPLES)

Um laboratório deseja estudar a precisão do seu sistema analítico para ferritina sérica, dosada por ensaio imunoturbidimétrico, em analisador bioquímico automatizado, com insumos, calibradores e controles do mesmo fornecedor.

Para realizar o estudo de precisão simples (intraensaio) o laboratório selecionou uma única amostra com valor normal e dosou em vinte replicadas e dois momentos diferentes do dia, somando 40 medidas ao final, conforme resultados apresentados na [tabela E1.1](#). A especificação de qualidade determinada para o estudo foi baseada na variação biológica, cujo coeficiente de variação desejado é de no máximo 7,1.% (metade da variação biológica intra-indivíduo).

**Tabela E1.1: Dados do estudo de precisão em duas corridas analíticas (N = 1-20 e 21-40)**

N	Resultado	N	Resultado	N	Resultado	N	Resultado
1	23,0	11	21,0	21	23,2	31	21,2
2	22,7	12	21,0	22	23,1	32	21,2
3	22,0	13	21,0	23	21,0	33	21,1
4	22,0	14	22,5	24	23,2	34	21,1
5	20,0	15	22,3	25	23,1	35	21,1
6	20,0	16	22,4	26	23,1	36	21,2
7	21,0	17	22,5	27	21,2	37	21,2
8	21,0	18	22,5	28	21,0	38	20,8
9	22,5	19	22,6	29	21,0	39	21,0
10	22,5	20	22,6	30	21,3	40	21,0

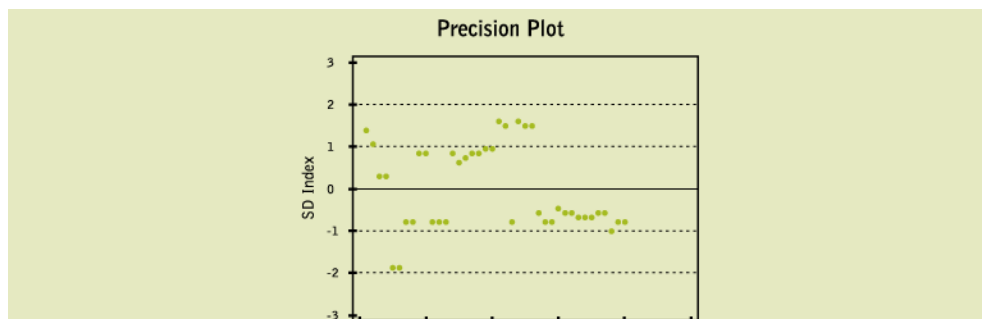
O software EP Evaluator 9 foi utilizado para a realização do estudo. Nele foram calculadas a média, o desvio padrão, o coeficiente de variação e demais dados apresentados da [tabela E1.2](#).

**Tabela E1.2: Resumo estatístico do estudo de precisão simples**

Dado	Resultado	Dado	Resultado
Média	21,73ng/mL	IC 95% Média	21,44 a 22,02
Desvio Padrão (DP)	0,92ng/mL	IC 95% DP	0,75 a 1,18
Coefficiente de Variação	4,2%	Intervalo $\pm 2DP$	19,89 a 23,57

IC – Intervalo de confiança

O gráfico de precisão apresentado na [figura E1.1](#) foi elaborado para apresentar a dispersão dos dados. Trata-se de um gráfico de dispersão no qual foram lançados os índices de desvio de cada medida ( $[\text{resultado}-\text{média}]/\text{desvio-padrão}$ ). Nele é possível perceber que todos os dados encontravam-se dentro de dois desvios padrões.



O coeficiente de variação apresentado (4,2%) é menor que a especificação definida (7,1%), portanto a precisão encontra-se dentro do limite proposto.

## EXEMPLO 2

### ESTUDO DE PRECISÃO (REPETITIVIDADE E REPRODUTIBILIDADE)

Um laboratório deseja estudar a precisão do seu sistema analítico para ferritina sérica, dosada por ensaio imunoturbidimétrico, em analisador bioquímico automatizado, com insumos, calibradores e controles do mesmo fornecedor.

Para realizar o estudo de precisão intraensaio e interensaio o laboratório selecionou duas amostras com concentrações distintas, dosou oito vezes em uma única corrida para obter os dados preliminares e seguiu dosando diariamente em duplicata por vinte dias, somando 40 dosagens ao final, conforme resultados apresentados na [tabela E2.1](#).

Tabela E2.1: Dados iniciais do estudo de precisão completa

Dia	Amostra 1		Amostra 2	
Estudo preliminar	23,0 – 22,07 – 20,6 – 21,8 – 22 – 22,1 – 22,3 – 22		192,2 – 199,3 – 204,2 – 197,5 – 197 – 201,11 – 194,6 – 196,5	
1	22,07	e 21,0	205,07	e 204,69
2	22,50	e 21,40	205,53	e 204,60
3	21,60	e 21,30	191,58	e 186,93
4	19,80	e 19,50	208,32	e 205,53
5	21,20	e 22,30	199,39	e 204,60
6	21,60	e 21,30	186,00	e 187,86
7	21,10	e 21,20	200,88	e 198,09
8	21,44	e 22,00	167,49	e 204,60
9	21,80	e 22,00	201,81	e 199,02
10	19,20	e 19,90	184,14	e 181,35
11	20,00	e 19,10	202,74	e 204,60
12	22,00	e 22,05	204,60	e 205,07
13	21,70	e 21,40	186,00	e 177,63
14	22,05	e 22,01	177,17	e 181,35
15	22,10	e 22,00	191,00	e 195,30
16	19,05	e 19,50	209,25	e 199,02
17	22,40	e 22,10	178,56	e 185,07
18	20,60	e 20,10	200,88	e 198,09
19	20,00	e 20,20	197,16	e 207,39
20	18,01	e 22,00	196,23	e 215,23

Da bula do fabricante do sistema foram retirados os dados de variação intraensaio e total apresentados na [tabela E2.2](#). A especificação de qualidade clínica determinada para o estudo foi baseada na variação biológica, cujo coeficiente de variação desejado é de no máximo 7,1% (metade da variação biológica intra-indivíduo).

Tabela E2.2: Dados da bula do Fabricante			
Dado	Média	DP (CV) IntraCorrida	DP (CV) Total
SORO 1	19,4 ng/mL	0,57 (3,0%)	0,97 (5,0%)
SORO 2	232 ng/mL	7,31 (3,1%)	12,29 (5,3%)

O software EP Evaluator 9 foi utilizado para a realização do estudo. Nele foi calculado o intervalo máximo entre as duplicatas a cada corrida (DP do estudo experimental multiplicado por 5,5) e para cada concentração (amostra 1 e 2) foi identificado um par de dados a serem excluídos (20ª dia da amostra 1 e 8º dia da amostra 2), dentro do máximo permitido (5% de 20 pares).

Tabela E2.3: Resumo estatístico do estudo de precisão completa			
Dado		Amostra 1	Amostra 2
CRITÉRIO DE REJEIÇÃO	DP estudo preliminar	0,666	3,745
	DP x 5,5	3,663	20,598
ESTUDO DE PRECISÃO	Média	21,12	196,519
	Precisão Intracorrida - DP (CV%)	0,403 (1,9%)	4,630 (2,4%)
	Precisão Total - DP (CV%)	1,054 (5,0%)	10,218 (5,2%)
TESTE QUI-QUADRADO	Precisão Intracorrida - DP	0,718	9,207
	Precisão Total - DP	1,210	15,261
	Critério Clínico - DP total	1,871	17,327

A precisão (DP) intracorrida e total foi calculada para cada concentração e comparada à do fabricante. Ambas foram menores que a precisão declarada pelo fabricante, como demonstrado na [tabela E2.3](#). Frente ao requisito estatístico estes dados já seriam suficientes para aprovar a precisão. Se as estimativas de desvio-padrão do laboratório fossem maiores que a do fabricante, seria necessário realizar o teste Qui-quadrado para determinar se tal diferença era significativa. Como o EP Evaluator faz este cálculo automaticamente, os DP máximo calculados pelo teste Qui-quadrado foram apresentados também.

A precisão total atendeu ao critério clínico para as duas concentrações, nas quais ficou abaixo do requisito (5,0% e 5,2% frente a 7,1%).

O gráfico de precisão de cada concentração apresentado na [figura E2.1](#) foi elaborado para apresentar a dispersão dos dados. Trata-se de um gráfico de dispersão, no qual foram lançados os índices de desvio de cada medida ([Resultado-média]/desvio-padrão), organizadas por dia e diferenciadas por corrida. Nele é possível perceber que todos os dados encontravam-se dentro de dois desvios padrões.

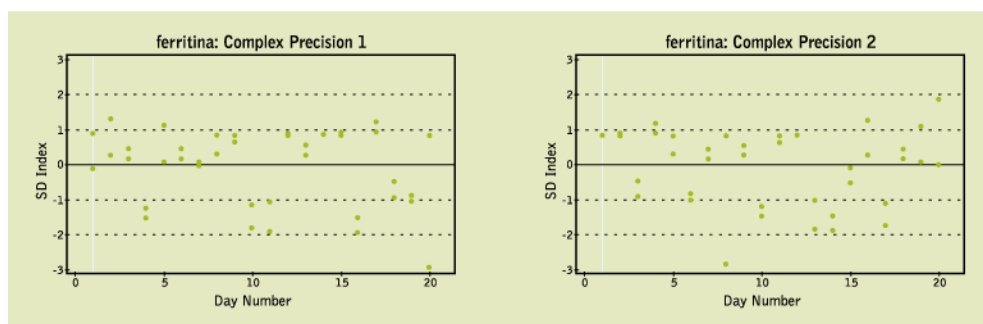


Figura E2.1: Gráfico de Dispersão do índice de desvio das duas amostras estudadas.



## EXEMPLO 3

### ESTUDO DE PRECISÃO ENTRE SISTEMAS ANALÍTICOS

Um laboratório deseja validar a precisão de um novo sistema analítico (SA2) frente ao sistema em uso (SA1), considerando que ambos permanecerão em uso na rotina para a dosagem de fósforo sérico. Para isto, selecionou três níveis de controle e os dosou por cinco dias, em duas corridas diárias com seis replicatas em cada sistema. Calculou as variâncias de cada controle com n igual a 60, conforme a [tabela E3.1](#) apresenta os dados obtidos, o F calculado (quadrado da maior variância dividida pelo quadrado da menor variância) e o F crítico tabelado.

Tabela E3.1: Comparação entre as variâncias obtidas nos testes de interensaio para fósforo sérico no laboratório em dois sistemas analíticos (SA1 e SA2).

Nível de Controle	variância SA1	variância SA2	F calculado	F crítico
Baixo	0,0030	0,0031	1,01	1,32
Médio	0,1410	0,1230	1,15	1,32
Alto	0,4260	0,4190	1,01	1,32

O valor calculado para F menor que o F crítico para os três níveis de controle demonstra não haver diferença significativa entre as precisões interensaio. Isto indica que a precisão dos sistemas não é estatisticamente diferente.

## EXEMPLO 4

### ESTUDO DE ESTABILIDADE DE AMOSTRA

Um laboratório desejava realizar estudos de estabilidade de plasma para a dosagem de ácido micofenólico. Para isto, selecionou três amostras de pacientes com valores distintos e preparou 13 alíquotas sem nenhum tipo de conservante. Uma dosou imediatamente em duplicata para obter o valor esperado. As demais alíquotas dividiram igualmente para conservação à temperatura ambiente (22-26°C), de geladeira (2-8°C) e de câmara-fria (-20°C). Após períodos de 7, 30, 60 e 90 dias de conservação uma alíquota foi dosada em duplicata.

Para este ensaio foi determinado que uma variação de 10% nos resultados seria aceitável.

Tabela E4.1: Dados iniciais do estudo de estabilidade

Material	Dosagem inicial	7 dias	30 dias	60 dias	90 dias
<b>AMBIENTE</b>					
Baixo	3,3 e 3,1	3,10 e 2,91	2,87 e 3,11	3,20 e 2,80	2,98 e 2,81
Médio	8,4 e 8,6	8,25 e 8,48	8,23 e 8,51	7,86 e 8,09	7,60 e 7,83
Alto	13,1 e 13,5	12,92 e 13,09	12,90 e 13,29	13,15 e 12,99	12,95 e 2,401
<b>GELADEIRA</b>					
Baixo	-	3,47 e 2,85	3,21 e 3,05	2,74 e 3,58	2,75 e 3,33
Médio	-	8,31 e 9,24	8,34 e 9,22	7,93 e 8,80	7,67 e 8,51
Alto	-	14,47 e 12,83	13,02 e 14,45	14,73 e 12,73	12,15 e 14,50
<b>CÂMARA-FRIA</b>					
Baixo	-	2,90 e 3,11	2,90 e 3,10	2,99 e 2,81	2,98 e 2,80
Médio	-	8,32 e 8,51	8,22 e 8,41	7,90 e 8,09	7,62 e 7,80
Alto	-	12,89 e 13,28	12,96 e 13,35	12,90 e 13,30	12,08 e 12,45

A [tabela E4.1](#) apresenta as dosagens iniciais obtidas. A [tabela E4.2](#) apresenta a média das dosagens iniciais (valor esperado) e o percentual de perda após períodos de 7, 30, 60 e 90 dias armazenado em temperatura ambiente, geladeira e câmara-fria.

Tabela E4.2: Resumo Estatístico do estudo de estabilidade					
Material	Valor esperado	Perda em 7 dias	Perda em 30 dias	Perda em 60 dias	Perda em 90 dias
<b>AMBIENTE</b>					
Baixo	3,2	-6,1%	-6,6%	-6,3%	-9,6%
Médio	8,5	-1,6%	-1,5%	-6,2%	-9,2%
Alto	13,3	-2,2%	-1,5%	-1,7%	-4,7%
<b>GELADEIRA</b>					
Baixo	3,2	-1,2%	-2,2%	-1,1%	-4,9%
Médio	8,5	3,2%	3,3%	-1,6%	-4,8%
Alto	13,3	2,6%	3,3%	3,2%	0,2%
<b>CÂMARA-FRIA</b>					
Baixo	3,2	-6,1%	-6,3%	-9,4%	-9,8%
Médio	8,5	-1,0%	-2,2%	-5,9%	-9,3%
Alto	13,3	1,6%	1,1%	1,5%	1,0%

Os resultados apresentados na [tabela E4.2](#) demonstram que a perda foi maior para valores mais baixos e que uma menor porcentagem de perda ocorre em até 30 dias. Após este prazo as perdas em amostras de baixa concentração podem estar próximas de 10%. Assim, o laboratório determinou que o tempo máximo para a realização deste exame seria de 30 dias, embora a perda máxima não tivesse sido ultrapassada nos períodos testados.

## EXEMPLO 5 ESTUDO DE RECUPERAÇÃO

Um laboratório que deseja verificar a recuperação do seu sistema analítico para ácido micofenólico (MPA) selecionou um plasma de paciente sem a presença deste analito, dividiu em três alíquotas e em cada uma adicionou uma determinada quantidade do calibrador, de forma a ter como valor esperado 2, 5 e 10  $\mu\text{g/mL}$  de MPA.

Cada amostra preparada (baixa, média e alta) foi dosada cinco vezes, conforme dados apresentados na [tabela E5.1](#), em seguida a concentração obtida (média) foi comparada à esperada para o cálculo da recuperação, transcrito na [tabela E5.2](#).

Tabela E5.1: Dados iniciais do estudo de recuperação (n=5)			
Dosagens	Baixa	Média	Alta
1	2,10	5,22	9,88
2	2,30	5,18	9,31
3	2,16	5,20	9,52
4	2,12	4,95	9,79
5	2,28	5,33	9,67

Todos os valores de recuperação estão compreendidos entre 80% e 120%, o que permite concluir que o sistema apresentou uma boa capacidade de recuperação.

Tabela E5.2: Resumo estatístico do estudo de recuperação

Concentração esperada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Concentração obtida ( $\mu\text{g/mL}$ )	CV obtido	Recuperação
2,0	2,19	4,2%	109,3%
5,0	5,18	2,7%	103,5%
10,0	9,63	2,3%	96,3%

## EXEMPLO 6

### ESTUDO DE LINEARIDADE

Abaixo é descrito um exemplo de Estudo de Linearidade para a dosagem de Sirolimus por quimioluminescência, em equipamento automatizado Dimension/Siemens.

Um laboratório que desejava estudar a linearidade da dosagem de Sirolimus por quimioluminescência em um sistema analítico fechado novo (equipamento, reagente e insumos específico para uso conjunto), selecionou duas amostras de paciente, uma com ausência do analito e outra com uma concentração elevada, determinada previamente em um sistema similar já em uso no laboratório, no valor de 28,63 ng/mL.

Para este experimento adotou-se um Erro Sistemático de 6% e um Erro Aleatório de 3%, com base num ETa definido em 12% com base nos requisitos acordados com o corpo clínico atendido pelo laboratório.

Com estes materiais procedeu-se às diluições para formar cinco níveis, que foram dosados conforme os resultados apresentados na [tabela E6.1](#). O estudo foi realizado no Microsoft Excel® e confirmado com o EP Evaluator 9.

Tabela E6.1: Dados iniciais do estudo de linearidade

Diluição	Valor Esperado	1° Resultado	2° Resultado	Média
1	0	0,00	0,00	0,000
2	7,16	7,22	7,00	7,110
3	14,32	14,12	13,96	14,040
4	21,47	22,72	23,17	22,945
5	28,63	31,79	31,19	31,490

A proximidade dos resultados em duplicata e sua aproximação do valor teórico permitem concluir não haver outlier a ser eliminado do estudo. A repetitividade estimada (1,4%) foi abaixo do admitido (3%) e esta foi considerada sob controle.

Tabela E6.2: Estatística Descritiva do estudo de linearidade

	1	2	3	4	5
<b>REPETITIVIDADE</b>					
Média	0	7,110	14,040	22,945	31,490
Diferença das Duplicatas (Dif)	0	-0,220	-0,160	0,450	-0,600
Dif % (Dif x 100/média)	0	-3,09	-1,14	1,96	-1,91
Somatório (todas das Dif% <sup>2</sup> )	1,84				
Repetitividade (raiz(somatório/10))	1,36				
<b>REGRESSÃO</b>	<b>Polinômio 1º Grau</b>	<b>Polinômio 2º Grau</b>		<b>Polinômio 3º Grau</b>	
R <sup>2</sup>	0,9966	0,9993		0,9993	
R <sup>2</sup> ajustado	0,9961	0,9991		0,9989	
Erro padrão	0,7313	0,3607		0,3880	
Equação Teórica	Y = a + bx	Y = a + bx + cx <sup>2</sup>		Y = a + bx + cx <sup>2</sup> + dx <sup>3</sup>	
Variável a (valor p)	-0,6480 (0,1444)	0,0455 (0,8549)		0,0646 (0,8205)	
Variável b (valor p)	1,1012 (0,0000)	0,9074 (0,0000)		0,8884 (0,0001)	
Variável c (valor p)	-	0,0068 (0,0014)		0,0086 (0,3540)	
Variável d (valor p)	-	-		0,0000 (0,8337)	

Como as variáveis  $c$  e  $d$  da equação de 3º grau não foram significativas (apresentaram valor  $p > 0,05$ ), este polinômio foi descartado. Como a variável  $c$  do polinômio de 2º grau foi significativa (valor  $p < 0,05$ ) deve-se considerar o melhor polinômio. Para testar a relevância da curva polinomial frente ao polinômio linear, calculou-se o desvio de linearidade (DL) para todos os pontos.

Tabela E6.3: Desvio de Linearidade			
Valor Esperado	Y(x) 1º Grau	Y(x) 2º Grau	Diferença % [(2º-1º/1º)]x100
0,00	-0,648	0,046	-
7,16	7,237	6,890	-4,8%
14,32	15,121	14,428	-4,6%
21,47	22,995	22,648	-1,5%
28,63	30,880	31,574	2,2%

Considerando que o DL do primeiro ponto não é representativo (devido à leitura ser equivalente a zero), os desvios de linearidade dos demais pontos ficaram dentro da meta definida (6%), portanto a não linearidade detectada não é considerada relevante clinicamente e a regressão de primeiro grau (linear) pode ser usada.

O EP Evaluator apresentou os mesmos resultados acima. A única diferença é que, ao invés de apresentar diretamente o valor  $p$ , apresenta no relatório a Estatística  $T$ , que para este número de pontos só é considerado relevante quando acima de 2,25.

A análise tradicional do gráfico de dispersão elaborado no EP Evaluator, apresentada na [figura E6.1](#) demonstra grande proximidade dos valores com a reta de regressão.

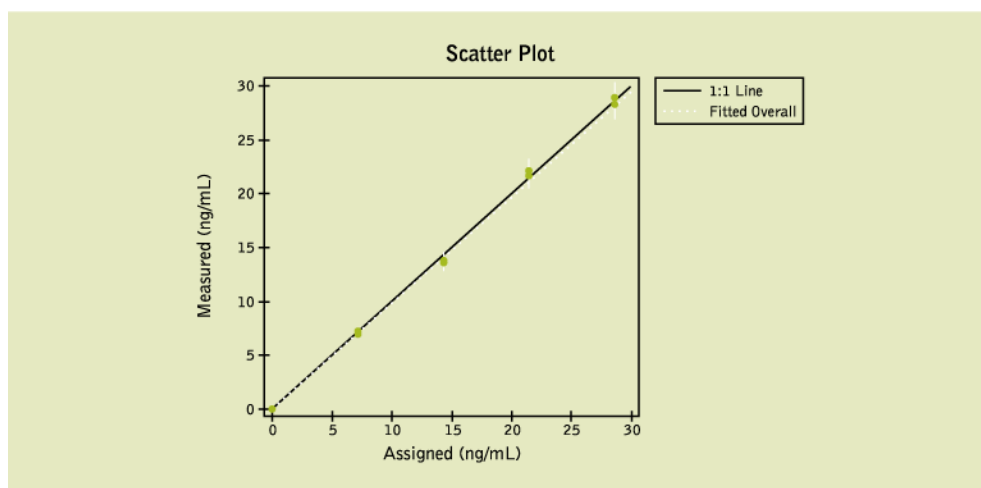


Figura E6.1: Gráfico de Dispersão do estudo de linearidade

## EXEMPLO 7

### ESTUDO DE CARREAMENTO

Um laboratório deseja fazer o estudo de carregamento de um novo sistema analítico em implementação na rotina para a determinação de ferritina por eletroquimioluminescência. Para isto selecionou duas amostras e preparou doze alíquotas de cada: um baixo intermediário de 11,5ng/mL e uma alta intermediária de 790 ng/mL.

As dosagens foram realizadas na sequência determinada para o protocolo, cujos resultados são apresentados na [tabela E7.1](#).

Tabela E7.1: Resultados e resumo estatístico do estudo de carregamento				
Dosagem	Amostra	Resultados	Baixo-Baixo B>B	Alto-Baixo A>B
1	Baixo 1	11,76	-	-
2	Baixo 2	12,80	12,80	-
3	Baixo 3	11,74	11,74	-
4	Alto 1	787,60	-	-
5	Alto 2	786,00	-	-
6	Baixo 4	11,54	-	11,54
7	Alto 3	803,00	-	-
8	Alto 4	806,70	-	-
9	Baixo 5	10,78	-	10,78
10	Baixo 6	10,00	10,00	-
11	Baixo 7	11,70	11,70	-
12	Baixo 8	11,80	11,80	-
13	Alto 5	807,40	-	-
14	Alto 6	794,20	-	-
15	Baixo 9	11,32	-	11,32
16	Alto 7	780,30	-	-
17	Alto 8	805,80	-	-
18	Baixo 10	11,64	-	11,64
19	Alto 9	790,70	-	-
20	Alto 10	809,20	-	-
21	Baixo 11	11,55	-	11,55
Média B>B				11,608
Média A>B				11,366
Carreamento (média A>B – média B>B)				-0,242
Desvio Padrão B>B				1,009
Desvio Padrão A>B				0,348
Erro permitido (3 desvios padrões de B>B)				3,025

Com base no carregamento e erro permitido calculado é possível aprovar o estudo, visto que o carregamento (0,242) está dentro do erro permitido (3,025).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Painter PC. Method evaluation and technology assessment. In: LEWANDROWSKI, K, editor. Laboratory management & clinical correlations. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 122-151.
2. Markin RS; Whalen SA. Laboratory automation: trajectory, technology and tactics. Clin Chem 2000; 46:764-71
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline- EP5 - A2; Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement methods; Approved Guideline - Second Edition, CLSI, Wayne, PA, USA; 2004.
4. Department of Health and Human Services. Medicare, Medicaid and CLIA Programs: laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications. Final Rule. Fed Regist 2003;68:3639-714.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamentos ICdBL. Resolução n.899, 29 de maio de 2003, determina a publicação do "Guia para a validação de métodos analíticos e bioanalíticos" [citado em 23 jun. 2003]. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br).
6. Programa de Acreditação em Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, 2010.
7. College of American Pathologists. Checklists for Accreditation, 2010.
8. ABNT NBR NM ISO 15189:2008, Laboratórios de análises clínicas – Requisitos de especiais de qualidade e competência.
9. NBR 14711:2001- Diagnóstico in vitro – recomendações e critérios para aquisição, recepção, transporte e armazenamento de produtos.
10. NBR 14864:2002 – Diagnóstico in vitro – Procedimentos para a validação de reagentes ou sistemas diagnósticos.
11. Mendes, M.E.; Gartner, M.T.; Sumita, N.M.; Sánchez, P.B. Gestão por processos no Laboratório Clínico. Uma abordagem Prática. São Paulo: EPR Editora, 2007.
12. Rotondaro RG (coordenador), Ramos AW. Seis Sigma: estratégia gerencial para melhoria de processos, produtos e serviços- Melhorando o processo: delineamentos de experimentos. São Paulo: Atlas, 2002.
13. International Organization of Standardization (ISO). International Vocabulary of Basic and general terms in Metrology. Geneve, Switzerland: ISO, 1993
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). User protocol for evaluation of qualitative test performance; Approved Guideline- Second Edition. EP12-A2; CLSI, Wayne, PA, USA; 2008.
15. Department of Health and Human Services. Medicare, Medicaid and CLIA Programs: laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications. Final Rule. Fed Regist 2003;68:3639-714.
16. Skendzel LP, Barner RN, Platt R. Medically useful criteria for analytical performance of laboratory tests. Am J Clin Pathol 1985;83:200- 205.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute C. Approved Guideline- EP6-P; Evaluation of Linearity of quantitative Analytical Methods - Third Edition, CLSI, Wayne, PA, 2004
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline-Second edition EP7-A2: Interference testing in clinical chemistry; CLSI, Wayne, PA, USA; 2005.
19. Bland JM AD. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet. 1986;1:307-10.
20. Frase, Callum G; Biological Variation: from principles to practice; AACC Press, 2001.
21. Kenny D, Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Kallner A. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. Consensus agreement. Scand J Clin Lab Invest. 1999;59:585.
22. Lavra ZMM, Rolim Neto PJ, Silva RMF, Medeiros FPM. Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação simultânea de lamivudina, zidovudina e nevirapina em comprimidos dose-fixa combinada por cromatografia líquida de alta eficiência. Quím. Nova 2008;31(5): 969-974.
23. Amrinbruster DA, Tillman MD, Hubbs LM. Limit of Detection (LOD)/Limit of Quantitation (LOQ): Comparison of the Empirical and the Statistical Methods Exemplified with GC-MS Assays of Abused Drugs. CLIN. CHEM. 1994;40(7), 1233-1238.
24. Burtis CA, Ashoowd ER, Tietz, NW. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Third Edition Philadelphia, PE.; WB Saunders Company, 1999.



## Capítulo 3

# EQUIVALÊNCIA DE SISTEMA ANALÍTICO

Pelas características do sistema de saúde atual, os pacientes precisam interagir em diferentes locais para completar a totalidade da atenção à saúde que necessitam, implicando muitas vezes em recorrer a vários serviços de Patologia Clínica. Deste modo, eles podem apresentar resultados de exames laboratoriais, confeccionados em diferentes serviços dentro de um mesmo sistema de saúde. O ideal seria que estes resultados fossem compilados, revisados, consolidados e ficassem disponíveis aos médicos em qualquer localidade onde o paciente fosse atendido, infelizmente isto não ocorre nos dias atuais. A continuidade do atendimento, com qualidade e segurança, requer que a comparabilidade de resultados, produzidos por diferentes sistemas analíticos de medida, seja realizada periodicamente.

Na Medicina Laboratorial a padronização assegura resultados exatos, os quais são necessários ao gerenciamento de doenças ou para a tomada de condutas. Esta acurácia permite a coleta de dados provenientes de diferentes fontes, para que sejam identificadas as necessidades em termos de saúde pública ou o monitoramento de programas de saúde pública, assim como a avaliação da efetividade destes programas.

No nível da pesquisa, os resultados exatos produzidos em diferentes centros possibilitam uma translação eficiente dos achados da pesquisa para informações úteis à assistência ao paciente<sup>1</sup>.

O exemplo mais conhecido deste impacto e de sua importância foi a padronização das medidas de colesterol, cujos esforços iniciais datam da década de 1960, época em que havia uma falta de comparabilidade de resultados nos estudos clínico epidemiológicos. Surgiu daí o *Cooperative Cholesterol Standardization Program*, que desenvolveu a hierarquia para aprovação de métodos e materiais para as dosagens de colesterol. Esta padronização foi empregada nos estudos subsequentes para a identificação de risco de doença coronariana.

Em 1985 o *National Heart, Lung and Blood Institute National* deu início ao *Cholesterol Education Program* (NCEP) na busca de redução dos níveis séricos de colesterol, o que contribuiria para a diminuição da morbidade e mortalidade por doença coronariana<sup>2</sup>. Em 1988 o Conselho de especialistas para tratamento de Adultos (ATP) do NCEP descreve uma estratégia nacional, baseada em evidências científicas, afirmando que ao reduzir os elevados níveis séricos de colesterol, o risco de doença coronariana também seria diminuído. Este ATP classifica as concentrações de colesterol em três níveis: desejável quando inferior a 200mg/dL; limítrofe entre 200-239 mg/dL; e alto quando superior a 240 mg/dL.



Um novo desafio foi lançado pelo NCEP: *Know Your Number And Do Something About It* era o início de uma mensagem educativa aos americanos a respeito da importância de reduzirem os níveis colesterolêmicos<sup>3</sup>. Foi um sucesso e a associação entre os níveis séricos de colesterol e risco de doença coronariana tornou-se uma das relações mais conhecidas entre os profissionais de saúde e o público leigo em todo o mundo. Tornou-se uma prioridade de saúde pública.

Enquanto o ATP deliberava sobre a redução da morbi-mortalidade da doença coronariana, o NCEP convencionou-se com o *Laboratory Standardization Panel* (LSP) para avaliar o nível de confiabilidade das dosagens de colesterol nos EUA. Deste trabalho resultaram dois relatos descrevendo o estado destas dosagens e a necessidade de adequar os níveis de precisão e exatidão dos testes de colesterol. O primeiro concluiu que a qualidade era inadequada e recomendava especificações analíticas de precisão e exatidão<sup>4</sup>. No segundo artigo o LSP 5 fazia várias recomendações definindo objetivos que deveriam ser atingidos para as dosagens de colesterol em laboratórios americanos, tais como: atingir uma precisão global consistente com níveis inferiores a 3% de coeficientes de variação; que o erro sistemático (bias) em relação aos valores reais não deveria exceder 3%; adotar pontos de decisão segundo o ATP, uniformizando-os para todos os laboratórios americanos; e estabelecer que todas as dosagens de colesterol deveriam ser padronizadas e rastreáveis ao *National Reference System for Cholesterol* (NRS/CHOL)<sup>5</sup>, que foi estabelecido pelo CLSI, como parte do *National Reference System for the Clinical Laboratory*.

Para assegurar o sucesso destes esforços, o NCEP recomendou que todas as dosagens de colesterol fossem padronizadas e rastreáveis a um sistema de referência comum, o qual foi estabelecido pelo programa de padronização do *Cholesterol do Center for Disease Control and Prevention* (CDC)<sup>7</sup>.

Cabe lembrar que a exatidão de um método depende da relação entre o resultado do paciente e o padrão aceito pela hierarquia de métodos e materiais<sup>8</sup>. Para o colesterol a hierarquia de métodos foi definida pelo NRS/CHOL<sup>9</sup>. Uma vez que as bases estavam lançadas, estes conceitos de padronização no laboratório clínico foram estendidos a outros analitos<sup>10</sup>.

Importante esclarecer que se considera neste documento como sistema analítico de medida o conjunto de procedimentos de trabalho, equipamentos, reagentes, ou suprimentos necessários para a realização do ensaio e a geração do seu resultado.

Acrescentando-se que procedimento de medida compreende um conjunto de atividades para a realização do método, tornando compreensível ao operador como executar a dosagem daquele analito naquele sistema analítico<sup>11</sup>.

Deve-se entender comparabilidade como a concordância de resultados de pacientes obtidos para um analito utilizando-se diferentes procedimentos, dentro de um sistema de atenção à saúde. Destaque-se que os resultados devem ser considerados como comparáveis quando as diferenças não excederem um valor crítico previamente estabelecido pelo critério de aceitação<sup>12</sup>.

Um dos objetivos da Medicina Laboratorial é tornar possível a comparação entre resultados de amostras de pacientes, independente da instituição que os tenha gerado.

O perfil demográfico (aumento da população e ampliação de idosos) associado a vários fatores econômicos, tais como a globalização, a alta competitividade, a busca por menores preços, têm direcionado a Patologia Clínica para a redução da força de trabalho, com incremento da produtividade<sup>13</sup>, a ampliação e o desenvolvimento da automação, a integração e a consolidação de plataformas. Consequentemente surgiram serviços de grande porte, manipulando elevado volume de amostras com grande workload, tanto na esfera pública como na privada.

Um dos modelos mais comumente observados na prática operacional corresponde a um grande laboratório central, realizando exames para serviços interligados a uma rede de laboratórios satélites ou regionais, os quais formam um menu restrito, seja em regime de urgência ou na rotina<sup>13</sup>, realizados em múltiplos equipamentos, como por exemplo equipamentos de *back up* ou em atividade junto ao leito do paciente (*point of care testing* - POCT) .

Surge assim, a necessidade de processar, em paralelo, exames em mais de uma plataforma, comparando-se os resultados obtidos, dentro de faixas de variação consideradas como aceitáveis. Estes resultados precisam constantemente ser avaliados e os desempenhos destes sistemas analíticos devem ser equivalentes, demonstrando-se um alinhamento aceitável entre métodos e/ou equipamentos distintos. Isto assegura que eventuais diferenças nos resultados sejam decorrentes das terapêuticas instituídas e não de variações entre sistemas analíticos em uso no laboratório.

Esta demonstração deve ser realizada com frequência planejada, seguindo padrões de realização sistematizados, os quais podem ser executados atendendo a uma gama de metodologias distintas<sup>14</sup>, tais como a comparação de resultados de pacientes, comparação de desempenhos de controle de qualidade interno, troca de amostras de pacientes e resultados de ensaios de proficiência<sup>15</sup>.

Não há um procedimento de consenso para demonstrar a comparabilidade de resultados de pacientes para amostras dosadas em diferentes sistemas de medida. Há uma variedade de abordagens para a frequência de realização do teste, o número e o tipo de amostras a serem testadas (ao acaso, concentrações altas/baixas ou no valor médio da faixa de trabalho), critérios de avaliação e aceitação dos resultados da comparação.

O termo comutabilidade foi inicialmente descrito para a capacidade de se possuir propriedades interensaios comparáveis em materiais de referência, de calibração ou de controle, demonstradas por amostras clínicas autênticas, quando medidas por mais de um sistema analítico<sup>17</sup>.

As normas ISO 15194:200218 e 17511:200319 expandiram este 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 um determinado analito.

Um material de referência é tipicamente utilizado para estabelecer ou verificar a rastreabilidade de um procedimento de medida na avaliação do valor real, ou o que representa a melhor estimativa do valor real, correto ou verdadeiro.

Quando se pretende medir um material de referência em métodos de rotina laboratorial, a comutabilidade deve ser validada em todas as metodologias, nas quais serão empregadas aquele material, incluindo-se um método de referência, quando aplicável.

A importância da comutabilidade para a harmonização de dados entre laboratórios é extrema durante o tratamento do paciente, onde pequenos bias nos ensaios podem causar grande impacto na avaliação do paciente. Isto é particularmente verdadeiro nos resultados de exames para avaliação do metabolismo dos lípidos e lipoproteínas, para os quais há faixas estreitas de aceitação e classificação para a prevenção e o tratamento de doenças cardiovasculares<sup>20</sup>.

Ressalte-se que os programas de acreditação de serviços de Medicina Laboratorial tanto no nível internacional através do CAP *Accreditation*, como nacionalmente pelo Programa de Acreditação em Laboratórios Clínicos (PALC) da SBPC/ML (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica /Medicina Laboratorial), têm solicitado este teste de comparabilidade dentro dos seus requisitos.

O documento GP31 do CLSI 49 descreve como uma das etapas da boa aplicação do parque tecnológico o teste de comparabilidade entre equipamentos em uso na mesma rotina diagnóstica. Mendes<sup>30</sup> ressalta que a gestão de equipamentos adequada para o laboratório clínico deve contemplar esta prática operacional.

As Boas Práticas em Laboratório Clínico (BPLC)<sup>18</sup> requerem que materiais de referência a serem utilizados na rotina laboratorial tenham informações sobre comutabilidade inclusas no certificado de análise ou etiqueta do produto<sup>21</sup>. Assim, os provedores de materiais de referência para calibração de rotinas diagnósticas deveriam validar seus produtos como um pré-requisito<sup>22</sup>.

Este capítulo propõe-se a apresentar o assunto de comparabilidade de resultados entre distintos sistemas analíticos de medida, de maneira objetiva, clara e prática, facilitando a sua compreensão para aplicação na rotina laboratorial.



## ESTABELECIMENTO DO PROTOCOLO DE COMPARABILIDADE

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. Os requisitos regulamentares e de acreditação devem ser incorporados, pois a verificação de comparabilidade é considerada como uma boa prática de laboratório clínico.

### CAUSAS DE NÃO COMPARABILIDADE DE RESULTADOS

Na estruturação do planejamento deste protocolo as potenciais causas de não comparabilidade dos resultados de amostras de pacientes devem ser consideradas.

São apontadas a seguir algumas das causas prováveis de diferenças observadas entre resultados provenientes de mais que 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 - diluições ou tempo de incubação, por exemplo.
- 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.

### RISCOS NO PLANEJAMENTO DO PROTOCOLO

Para avaliar os riscos de resultados não compatíveis impactarem nos pacientes, deve-se considerar o dano potencial, a frequência de ocorrência, o grau de severidade e os mecanismos de controle existentes para prevenir a sua ocorrência<sup>23</sup>. Cabe à direção do serviço de medicina laboratorial avaliar a probabilidade de resultados não comparáveis ocorrerem, analisar as alternativas existentes e promover medidas preventivas a fim de evitar a sua ocorrência ou minimizar os danos eventuais<sup>24</sup>.

A frequência de realização de ensaios de comparabilidade dependerá da avaliação de riscos e da relação custo/efetividade<sup>12</sup>.

### O QUE CONSIDERAR DURANTE O PLANEJAMENTO

O protocolo para a abordagem de comparabilidade de um exame varia de acordo com o consumo de reagentes, tempo para obtenção dos reagentes, condições de estocagem, transporte, análise das amostras e o tempo despendido na avaliação da comparabilidade de resultados.

Pela influência que podem exercer, alguns fatores operacionais precisam ser considerados: a disponibilidade de colaboradores para a realização desta tarefa, a estabilidade de amostras adequadas para serem testadas, a capacidade de estocagem de amostras de pacientes, os locais onde serão realizados os testes, o custo dos reagentes e a possibilidade de associar o teste de comparabilidade à verificação do intervalo analítico de medidas - AMR (que corresponde à faixa de valores, na qual determinado analito pode ser medido numa amostra diretamente, sem necessidade de concentração, diluição ou pré-tratamento).

## FREQUÊNCIA DE REALIZAÇÃO

O protocolo de comparabilidade<sup>12</sup> em relação à frequência de realização pode categorizar o monitoramento em:

- Frequente (comparações diárias ou semanais, por exemplo): quando o sistema analítico é instável e o risco de resultados não comparáveis na interpretação clínica é alto.
- Periódico (4 vezes ao ano ou bianual): quando o sistema analítico é estável e o risco na interpretação clínica devido a resultados não comparáveis é baixo.
- Testes por causas especiais: são realizados para situações de alerta quando se deseja um maior grau de confiança estatístico<sup>25</sup>. Os objetivos de empregá-los são: quando há falha nos monitoramentos periódicos ou frequentes; na investigação e resolução de inadequações nos ensaios de proficiência; nos desvios do monitoramento estatístico de um parâmetro (exemplo: a média móvel na Hematologia); quando há resultados inaceitáveis de controle de qualidade; ou nas mudanças de lotes de reagentes ou calibradores.

Deve-se atentar para a existência de algumas situações que justifiquem a verificação da comparabilidade fora do planejamento: após a resolução de problema em um ou mais equipamentos, realização de um grande serviço de manutenção, troca de algum componente do(s) equipamento(s), atualização de software ou indagações do corpo clínico a respeito da exatidão dos resultados.

## ERROS ALFA E BETA NO PLANEJAMENTO

Na etapa de planejamento recomenda-se que se estabeleça as ferramentas estatísticas que serão utilizadas, os níveis de tolerância aceitáveis para erros do tipo I ou do tipo II, a necessidade ou não de replicatas e o tamanho da amostragem<sup>12</sup>.

Os erros do tipo I são definidos como um julgamento incorreto que decorre de uma associação encontrada entre variáveis estudadas, entretanto, na verdade, esta relação é inexistente. São também denominados falsos positivos ou erros alfa.

O erro do tipo II, falso negativo ou erro beta, decorre de uma conclusão obtida a partir da constatação de falta de associação entre as variáveis estudadas, que efetivamente existe.

Note que uma amostra de número limitado amplia a possibilidade de ocorrerem os erros do tipo II, enquanto comparação numa frequência muita elevada, para ensaios estáveis, pode ampliar o número de falsos positivos (erro tipo I).

O gestor do laboratório deve considerar que, na implantação da equivalência entre sistemas analíticos, os custos iniciais serão maiores devido à menor periodicidade de aplicação das comparações. Com o decorrer do tempo, quando as melhorias vão sendo implantadas após as análises dos resultados, haverá economia de recursos, pois a comparabilidade poderá ter sua frequência diminuída e um padrão superior de desempenho poderá ser alcançado.

## SELEÇÃO DE AMOSTRAS

A comutabilidade é a equivalência das relações matemáticas entre os resultados obtidos de diferentes procedimentos de medidas para um material de referência e amostras representativas de indivíduos saudáveis e doentes para um determinado analito<sup>26</sup>.

Este é um requisito fundamental para evitar a introdução involuntária, e às vezes indetectável, do viés (*bias*) nos resultados do acompanhamento ambulatorial de pacientes, especialmente quando não se utiliza material de referência.

Diferentes procedimentos estatísticos são usados para avaliar a comutabilidade. Todos se baseiam na determinação das relações matemáticas e distribuição dos resultados observados nas dosagens de amostras nativas de pacientes medidas por dois ou mais procedimentos de medida, determinando se o material de referência é um membro desta distribuição.

A literatura é rica em exemplos de como fazer para avaliar a equivalência entre sistemas analíticos, que diferem basicamente pelo número de amostras usadas para estabelecer o estudo.

O documento do CLSI EP 09-A2, que trata de comparações entre métodos e estimativa de viés com o uso de amostras<sup>16</sup>, apresenta um rigoroso protocolo que requer esforços para a sua execução na prática. Ele foi estabelecido para a comparação de dois métodos com unidades de medida similares e requer uma comparação com mais de 40 amostras em duplicata, num intervalo de até duas horas entre elas, para ao menos dois métodos por experimento. O documento esclarece que a qualidade do estudo de comparação de métodos pressupõe amostras adequadamente dosadas, com boa distribuição dos resultados e com valores dentro do intervalo analítico de medidas (AMR).

Quando a comparabilidade for realizada versus o método de referência, o procedimento pode obedecer ao conteúdo do documento do CLSI EP14-A2<sup>27</sup>.

### MATERIAL DE REFERÊNCIA (MR)

Os materiais de referências são definidos como materiais suficientemente homogêneos e estáveis em relação a uma ou mais propriedades específicas (quantitativas ou qualitativas), que foram estabelecidas como aptas para serem utilizadas em procedimentos de medida<sup>11</sup>.

Trata-se de um termo genérico empregado para todos os materiais utilizados:

- Na calibração de procedimentos de medida.
- Na avaliação da veracidade dos resultados obtidos nestes procedimentos.
- Para assinalar valores de outros materiais.
- Como controle de qualidade.
- Na verificação de equiparação entre sistemas analíticos de medida.

Este termo, MR, abrange: calibradores específicos para determinados métodos, controles reais e materiais de referência certificados (MCC)<sup>28</sup>. A principal diferença entre estes materiais está no grau de incerteza do valor assinalado, isto é, os MCC são os que apresentam menor nível de incerteza.

Uma variedade de nomes tem sido dada para estes materiais: materiais de referência primários/secundários, calibrador primário/secundário. Todos compilados e harmonizados pelo CLSI, que os divulga de forma gratuita em seu site, num esforço de uniformização<sup>29</sup>.

### AMOSTRAS DE PACIENTES

As amostras ideais para estudos de comparação são as nativas de pacientes, coletadas e processadas de acordo com a estabilidade dos requisitos de cada analito.

Deve-se evitar o uso exclusivo de amostras que sabidamente contenham substâncias interferentes, pois o objetivo do estudo é analisar amostras típicas da rotina.

Uma outra possibilidade é a utilização de um pool de amostras de pacientes cuja principal limitação é não representar adequadamente as amostras individuais. Lembrando que durante o seu preparo pode ocorrer a precipitação de algumas proteínas, ou ligação a elas por outros analitos, além da diluição inespecífica de algumas substâncias para níveis que não venham a interferir com o método utilizado. Assim, o pool de amostras nativas pode ser uma boa alternativa para os estudos de diferenças de calibração (bias) entre sistemas analíticos. Esta tática foi utilizada no documento para a comparação de métodos para a dosagem de cálcio ionizado sérico<sup>30</sup>.

Quando se utiliza esta abordagem deve-se considerar as variáveis pré-analíticas e as condições adequadas de estocagem das amostras de pacientes contendo determinado analito a ser comparado (refrigeração, congelamento / descongelamento).

Cuidados no transporte das amostras de pacientes devem ser adotados para garantir a estabilidade do analito de interesse e prevenir a evaporação na amostra. O tempo transcorrido para o transporte entre o local de envio das amostras e aquele onde ocorrerá a análise para o estudo<sup>12</sup> deve ser motivo de atenção pela equipe do laboratório.

## USO DE MATERIAIS DE CONTROLE

O uso de material de controle de qualidade pode ser aceito para a realização do estudo sob algumas circunstâncias.

Em situações onde os equipamentos são idênticos e usam os mesmos lotes de reagentes, há uma boa probabilidade de haver uma relação entre os resultados do material de controle e os obtidos nas amostras de pacientes em cada equipamento. Isto acontece porque qualquer viés devido ao efeito da matriz das amostras estará associado com os resultados não comutáveis do material de controle se o equipamento e os reagentes forem os mesmos<sup>31</sup>.

**Atenção:** 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, há grande probabilidade dos resultados de material de controle não terem relação com os resultados de amostras de pacientes. Nestes casos, conclusões errôneas podem ser obtidas no estudo. A ausência de diferenças entre material de controle e amostras de pacientes nestas situações pode representar um falso negativo, devido ao mascaramento do efeito matriz<sup>12</sup>.

Há circunstâncias nas quais a estabilidade pré-analítica de um analito é um fator limitante para o estudo. Nestes casos, o material de controle pode ser a opção mais viável para a realização do estudo. Entretanto, na interpretação dos resultados desta abordagem deve-se considerar as limitações citadas.

## CUIDADOS PARA A REALIZAÇÃO DO ESTUDO

Toda a equipe envolvida deve ser avisada sobre a data de início dos testes. Para a realização do estudo, deve-se planejar e prover os recursos necessários. Dentre eles:

- Definir os responsáveis pela realização do estudo.
- Definir os locais e os equipamentos a serem comparados.
- Prover os insumos, calibradores e controles necessários.
- Preparar, acondicionar e identificar as 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, software estatístico etc.).
- Determinar os critérios de aceitação, considerando a relevância clínica do analito e o impacto da sua variação aceita no resultado laboratorial.

Na realização do estudo é importante atentar para:

- Registrar os resultados e demais dados brutos de forma a garantir a rastreabilidade dos dados do estudo.

- Comparar os resultados com base no protocolo de avaliação estatística selecionado e critérios de aceitação.
- Havendo não conformidades, ações corretivas devem ser desencadeadas e seguidas da realização de uma nova comparação.

Modelos de registro do estudo são apresentados nos anexos 1 e 2.

## MÉTODOS ESTATÍSTICOS

O estudo de comparabilidade tem como base aplicações estatísticas. Para desmistificar deve-se ter em mente que na análise dos dados do teste de comparabilidade nem sempre são necessárias sofisticadas e complicadas análises estatísticas.

O primeiro passo consiste na definição das ferramentas a serem utilizadas diante do critério de avaliação escolhido, o que deve ocorrer na fase de planejamento do protocolo de comparabilidade.

Na etapa de análise dos dados a primeira conduta refere-se à elaboração de tabelas e gráficos, seguida da estatística descritiva.

Compreende-se por estatística descritiva dos dados o cálculo de média, mediana, desvio padrão, variância, assimetria (grau de assimetria da distribuição dos dados), curtose (grau de achatamento da curva de distribuição dos dados) e valores mínimo e máximo, entre outros.

Os gráficos comumente adotados são histograma, box plot e gráfico de dispersão dos dados.

Alguns conceitos e ferramentas são descritos a seguir.

### TESTE DE HIPÓTESE<sup>37,38</sup>

No teste de hipótese estabelece-se uma hipótese de nulidade (o mais comumente empregado é que nela os métodos estudados produzam resultados equivalentes) e ela é testada. Calculando-se a estatística pode-se confirmá-la ou rejeitá-la. O nível de significância precisa ser estabelecido previamente para determinar a probabilidade de rejeitar incorretamente a hipótese de nulidade, quando ela é verdadeira. Este é o chamado erro do tipo I ou falso positivo ou erro alfa.

O poder do teste corresponde à probabilidade de rejeitar a hipótese nula quando ela é falsa. O poder de um teste é uma propriedade do desenho da hipótese e é útil na compreensão da confiabilidade da hipótese formulada. Ao aceitar-se incorretamente a hipótese de nulidade, quando ela é na realidade falsa, implica em cometer-se o erro do tipo II ou falso negativo.

O Erro Beta é função de quatro fatores:

- Nível de significância (alfa).
- Grau de erro no estabelecimento da hipótese de nulidade.
- A variância dos métodos testados.
- O tamanho da amostra.

No desenho do protocolo de comparabilidade, estes dois tipos de erros devem ser estimados para aumentar a confiabilidade do teste.

Esta é a base para diversos testes estatísticos descritos neste capítulo que retornam a probabilidade (valor p) de determinado evento ocorrer e diferem pelo modelo matemático adotado. Entre eles: *Anderson Darling*, *Teste F*, *Bartlett*, *Levene*, *Kruskal-wallis* e *Tukey*.



## DIAGRAMA DE CAIXAS OU BOX PLOT

O diagrama de caixas ou *box plot* é uma representação gráfica da distribuição dos dados, construída com base no valor mínimo, primeiro quartil (Q1) ou 25º percentil, segundo quartil (Q2) ou mediana, terceiro quartil (Q3) ou 75º percentil e valor máximo, como apontado na [Figura 1](#).

Para interpretar o gráfico, deve-se entender que:

- A caixa central inclui os 50% dos dados centrais.
- Os bigodes (*whiskers*) mostram a amplitude dos dados, isto é a diferença entre o maior e o menor valor, excluindo *outlier*.
- A simetria é indicada pela caixa e bigodes (*whiskers*) e pela localização da média. Quando existe simetria, espera-se média e medianas iguais, Q1 e Q3 equidistantes da média e valores mínimos e máximos equidistantes da média.
- É relativamente fácil comparar grupos, construindo diagramas lado a lado.
- Os valores que se distanciam do restante do conjunto de dados são denominados dispersos (*outliers*).

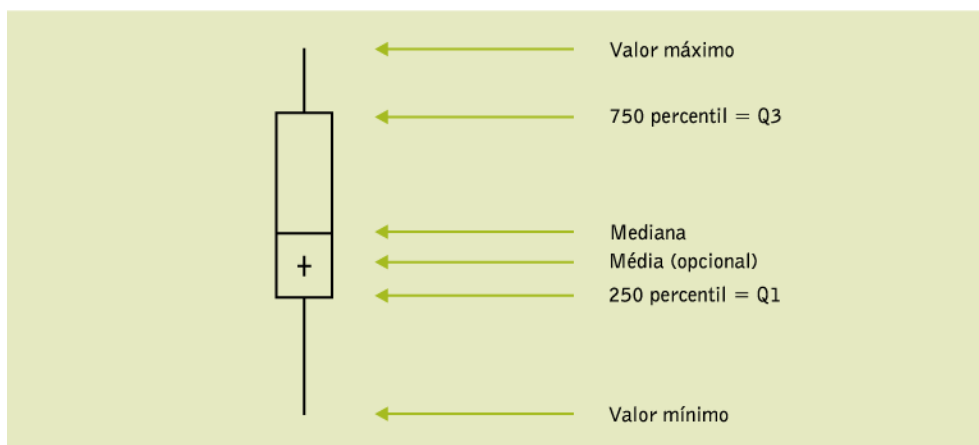


Figura 1: Um exemplo do box plot

A simples observação destes dados pela direção do laboratório pode ajudar no encaminhamento ou não para a aplicação de outras ferramentas mais sofisticadas.

O Box plot é extremamente útil para uma análise exploratória dos dados por permitir uma excelente visualização da dispersão e simetria. Contudo, a sua construção depende do uso de softwares estatísticos. Já sua estatística descritiva é facilmente obtida em qualquer software (Excel® e similares).

## COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ( $r$ )<sup>37,38</sup>

Este coeficiente é uma medida da intensidade da associação existente entre as duas variáveis quantitativas comparadas.

Pode variar de -1 até +1. Valores negativos indicam um tipo de relação inversa, enquanto valores positivos demonstram haver uma relação direta.

O valor máximo é obtido quando todos os pontos do diagrama de dispersão estão em um alinhamento perfeito, significando uma correlação perfeita positiva entre as duas variáveis

## COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO ( $R^2$ )<sup>37,38</sup>

O coeficiente de determinação é o quadrado do coeficiente de correlação de Pearson e informa a proporção da variância de Y explicada pela influência linear de X, em relação à variação total. Seu menor valor é zero, quando a relação linear com X em nada explica a variação de Y, e o maior é um, quando a variação de Y é integralmente explicada pela relação linear com X.

## ANÁLISE DE BLAND ALTMAN

Quando se busca saber se dois sistemas são equivalentes e se um poderia substituir o outro, o coeficiente de correlação não responde a estas questões.

O gráfico de Bland-Altman<sup>39,40</sup> avalia a concordância entre dois sistemas (X e Y) a partir da visualização da dispersão das diferenças entre as duas variáveis ( $d = X - Y$ ) e a média da duas ( $[X + Y]/2$ ).

Neste gráfico é possível visualizar o viés (quando as diferenças se afastam de zero), a dispersão (referente dos pontos ao redor da média), além dos outliers e tendências. Assim há a possibilidade de obter a relação das discordâncias entre os sistemas avaliados.

Para avaliar se a diferença entre os sistemas está relacionada à concentração pode-se verificar se a correlação entre as diferenças e as médias é nula (por exemplo: Correlação de *Pearson* ou *Spearman*, cujo valor  $p > 0,05$  indica não haver correlação)<sup>41</sup>. Se houver diferença pode-se uniformizar os dados e usar no lugar do viés o viés percentual, a razão  $x/y$  ou o logaritmo do viés para realizar o estudo.

A hipótese de o viés ser igual a zero pode ser testada pelo teste t com amostras pareadas, para o qual um valor p maior que 0,05 indica viés nulo.

Para testar se o viés tem uma distribuição normal, pode-se adotar *Anderson-Darling*, *Kolmogorov-Smirnov*, *Shapiro-Wilk*, entre outros. Se a distribuição não for normal deve-se adotar uma abordagem não paramétrica<sup>41</sup>. Quando o viés apresenta uma distribuição normal, limites de concordância aceitáveis podem ser obtidos a partir da média e do desvio-padrão do viés pela fórmula:

Limite de concordância = média do viés  $\pm$  1,96 x desvio padrão do viés

Uma recomendação do autor é realizar o estudo de repetitividade quando existirem replicações de cada método.

Idealmente, espera-se que a média do viés esteja próxima de zero e que 95% dos dados (viés) encontrem-se dentro dos limites de concordância<sup>41</sup>.

Para aplicação clínica, os limites de concordância devem ser avaliados do ponto de vista clínico, ou seja, se aquelas diferenças dadas pelos limites podem ser consideradas aceitáveis do ponto de vista clínico. A diferença aceitável deve ser estabelecida no planejamento do protocolo de comparabilidade<sup>43</sup>.

Para facilitar a aplicação deste teste há um software livre, de procedência austríaca, denominado R disponível em <http://www.R-project.org><sup>42</sup>.

## ANÁLISE DE REGRESSÃO

Há vários modelos matemáticos disponíveis para análises de regressão. Os mais utilizados em medicina laboratorial são a regressão linear simples (mínimos quadrados)<sup>37,38</sup>, os de *Passing-Bablok*<sup>45,46,47</sup> e *Demming*.

Esses métodos assumem condições na comparação entre métodos diferentes entre si, que podem ter impacto nos resultados obtidos com a análise de regressão.

### (1) REGRESSÃO DE DEMING<sup>52,53,54</sup>

O termo regressão de Deming é utilizado em medicina laboratorial para tratar de análise de regressão onde o erro ao acaso para ambos os métodos comparados é levado em conta<sup>52</sup>. Ele é primariamente usado quando o desvio padrão é constante, com a razão entre os desvios padrão conhecida<sup>53</sup>. Ela assume que as variâncias são iguais entre os dois sistemas analisados e minimiza as distâncias dos pontos ortogonais à reta de regressão<sup>54</sup>.

A regressão de Demming utiliza algoritmo de regressão ortogonal, assumindo que a imprecisão está presente em ambos os métodos comparados. É a opção mais adequada quando são comparados dois métodos com erro analítico proporcional (situação provavelmente mais frequente em química clínica)<sup>44</sup>.

### (2) REGRESSÃO DE PASSING BABLOK<sup>45,46,47</sup>

Trata-se de um procedimento não paramétrico para regressão linear que não considera a distribuição das amostras nas duas variáveis e a medida de erros.

É um tipo de regressão para comparação de dois métodos analíticos, que determina o viés (erro sistemático), sem assumir que os erros de medição possuam uma distribuição uniforme. O método é robusto contra a presença de outliers.

Em seu algoritmo matemático, suporta imprecisão (variância) não constante em ambos os métodos comparados.

### (3) REGRESSÃO LINEAR PELO MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS<sup>37,38</sup>

No estudo de regressão linear simples avalia-se uma possível dependência de uma variável quantitativa (y) em função de outra (x). O objetivo deste estudo, que pode ser explicativo ou preditivo, é avaliar a relação matemática indicativa de causa-efeito ou permitir que em futuras observações das variáveis X possa-se prever o resultados correspondentes de Y.

Como condição básica para este tipo de comparação deve-se assumir que os erros do modelo têm média nula, não estão relacionados e têm variância constante. Lembrando que os erros do modelo têm distribuição normal e pressupondo que um dos métodos é o de referência.

Esta relação é expressa por uma equação matemática simples. Se o gráfico de y em função de X se aproxima de uma reta, a equação que o representa é de primeiro grau, do tipo :  $Y = a + bX$ , para a qual "Y" é a variável dependente; "a" é o parâmetro ou coeficiente linear, "b" é o parâmetro ou coeficiente angular, e "X" é a variável independente.

### ANÁLISE DE RESÍDUOS<sup>37,38</sup>

A análise de resíduos testa a validade das pressuposições para a regressão, isto é, a variabilidade que não é explicada pela regressão, calculando-se os resíduos para cada valor de y.

Os resíduos representam a diferença entre aquilo que foi realmente observado e o que foi previamente estipulado pelo modelo de regressão.

Espera-se que os resíduos fiquem distribuídos aleatoriamente em torno do zero. Para isto, pode-se fazer uma simples análise visual do gráfico de resíduos versus valores esperados. A normalidade pode ser verificada através do gráfico de probabilidade normal dos resíduos, onde os pontos devem se aproximar de uma reta. É possível também efetuar um teste de normalidade dos resíduos, como *Anderson Darling* (AD).

## ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA)<sup>37,38</sup>

É um método estatístico para comparar as médias de vários grupos.

Ela decompõe em vários 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.

Um dos modelos mais simples é a análise de variância dos dados a um critério de classificação denominada "Anova de fator único" (*ONE WAY ANOVA*).

Neste modelo a variação global é subdividida em duas frações. A primeira é a variação entre as médias dos vários grupos que, quando comparada com a média geral, representa o efeito dos diferentes tratamentos. A outra variação é observada entre as unidades experimentais de um mesmo grupo com relação à média desse grupo. Tratam-se das diferenças individuais ou aleatórias nas respostas. Resumindo: Variação total = variação entre tratamentos + variação dentro dos tratamentos

A variação "Entre" deve ser maior que a variação "Dentro". Isto equivale a dizer que se espera que a razão entre a variação Entre e Dentro (denominada de razão F de variâncias, simbolizada por "F") seja sempre maior que 1,0. 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 (valor  $p < 0,05$ ).

A identificação de diferenças particulares entre médias, tomando-as 2 a 2, deve ser feita usando um teste de comparação múltipla entre as médias. Os mais comuns são *Tukey*, *Fisher*, *Student-Newman-Keuls*, *Correção de Bonferroni* (que corrige o alfa), *HSU*, *LSD*, *Dunnett* e *Scheffe*.

## TESTE DE TUKEY<sup>37,38</sup>

É um complemento à ANOVA que faz a comparação múltipla entre médias para determinar quais grupos diferem entre si, tomados 2 a 2.

Neste teste, cada par de sistemas analíticos é comparado separadamente e intervalos de confiança são obtidos. Alguns sistemas apresentam também os valores p.

Os sistemas podem ser considerados com comportamento similar, quando o intervalo calculado contiver o valor zero e apresentar valor p maior que 0,05.

## ANÁLISE DO ÍNDICE DE ERRO<sup>56</sup>

Este é um método de análise baseado em erros pré-definidos, normalmente critérios clínicos, como erro total admitido (ETa). Sua utilização é simples e aplica-se a dois ou mais sistemas. Baseia-se no gráfico de dispersão das medidas e no gráfico do índice de erro.

Para um estudo representativo é importante selecionar amostras para cobrir ao máximo a faixa de leitura do sistema, especialmente valores de decisão médica, distribuídas uniformemente.

Para efeitos de comparação, no gráfico de dispersão deve-se traçar uma linha diagonal (inclinação de 45°) que determina resultados idênticos para os analisadores e duas retas que representem o erro total admissível máximo e mínimo. Se pelo menos 95% dos pontos estiverem compreendidos entre as duas retas (ETa máximo e mínimo) os dois sistemas são considerados clinicamente equivalentes. A mesma interpretação pode ser obtida analisando o gráfico de índice de desvio, no qual índices de desvio de -1 e +1 representam o ETa mínimo e ETa máximo, respectivamente.

## SELEÇÃO DE MÉTODO ESTATÍSTICO

A seleção do método estatístico depende da quantidade de sistemas analíticos e dos tipos de amostras (uma ou várias) envolvidos no estudo. Também depende do critério selecionado para a avaliação dos resultados: estatístico ou clínico.

Para a comparação de dois sistemas analíticos em um tipo de amostra de paciente (com valores próximos da média do intervalo analítico de medida – AMR - do método analisado ou distribuído ao longo do intervalo analítico), habitualmente emprega-se uma análise de regressão linear com a análise de resíduos. Conforme o tipo de regressão selecionada, esta inclui em sua análise o teste T e o teste F por uma análise de variância (ANOVA) específica, que permite a conclusão do estudo por critérios estatísticos.

Outra opção é a análise de concordância de Bland-Altman, cuja análise do viés frente à média pode ser mais eficiente para determinar a equivalência entre sistemas e ainda permite uma comparação direta com critérios clínicos. Neste caso é importante determinar se há correlação entre a média e o viés e se o viés apresenta distribuição.

Para a análise com base em critérios clínicos, recomenda-se realizar o estudo com base no índice de erro para compará-lo ao erro admissível determinado para o experimento.

Os exemplos 3, 4 e 6 apresentam exemplos práticos de comparação entre dois sistemas analíticos. O exemplo 3 contém um exemplo de aplicação e critérios estatísticos. O exemplo 6 inclui a análise considerando critérios clínicos. O exemplo 4 apresenta a análise de Bland-Altman, que agrega critérios estatísticos e clínicos.

Para a comparação de três ou mais sistemas analíticos com um ou mais tipos de amostras, a ANOVA é um método estatístico eficiente e usual que compara as médias de vários grupos de dados. Ela pode ser complementada com estatística de *Tukey* ou similar para determinar qual grupo de dados apresenta diferença frente aos demais.

Embora seja esperada a aplicabilidade destes métodos para a maior parte dos processos laboratoriais, é importante comentar que a ANOVA e *Tukey* pressupõem variâncias homogêneas entre os grupos de dados.

O comportamento das variâncias pode ser verificado por testes simples, como *Bartlett* ou *Levene*. Nestes testes, quando se obtém um valor p maior que 0,05 (para intervalo de confiança de 95%) pode-se considerar variâncias homogêneas.

A ausência de homogeneidade (valor p menor que 0,05 no teste de *Bartlett* ou *Levene*), que pode ocorrer quando há estudos de equiparação entre sistemas analíticos distintos, indica que deve-se selecionar outros métodos para a comparação das médias, como *Kruskal-Wallis* (teste não paramétrico em que valor p maior que 0,05 indica homogeneidade de médias) ou aplicações específicas da ANOVA para variância não homogênea (disponível apenas em softwares estatísticos, como SPSS)<sup>NOTA1</sup>.

Para a análise de múltiplos sistemas e/ou tipos de amostras com base em critérios clínicos recomenda-se realizar um estudo com base no índice de erro, similar ao adotado para apenas dois instrumentos.

Os exemplos 5 e 7 apresentam modelos práticos de comparação entre três sistemas analíticos. O exemplo 5 contém um modelo integralmente baseado nas análises estatísticas descritas. O exemplo 7 inclui a análise considerando o erro total admissível, o que agrega critérios clínicos à análise de comportamento dos dados.

NOTA1 - SPSS é a sigla de Statistical Package for the Social Sciences, um software estatístico científico da SPSS Inc. Informações sobre ele podem ser obtidas no site <http://www.spss.com.br>.

## CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO

Não há um critério universalmente aceito para avaliar resultados de testes de comparabilidade, cabe à direção do laboratório determinar os limites de aceitação para as diferenças observadas entre os diferentes sistemas analíticos em uso para um mesmo analito.

Os critérios podem variar de analito para analito dependendo de referências bibliográficas, de estudos clínicos, dados de variação biológica e dados de ensaios de proficiência. O objetivo primário é a concordância de resultados dos diferentes sistemas analíticos com situações clínicas nas quais os resultados são interpretados. Acrescente-se que as características de desempenho do sistema analítico também devem ser consideradas no estabelecimento dos critérios de aceitação.

Os objetivos analíticos para a comparabilidade de resultados variam dependendo do uso clínico do resultado e podem ser definidos utilizando-se aspectos clínicos, a opinião de especialistas ou abordagem estatística. Uma maior concordância entre os resultados é requerida quando o resultado é usado para identificar alterações nos resultados de exames do paciente ao longo do tempo *versus* o resultado no momento do estabelecimento do diagnóstico.

No documento de consenso<sup>51</sup> resultante do trabalho do comitê técnico ISO TC212 - Objetivos analíticos de desempenho baseados nas necessidades médicas e de membros da *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC), foi proposta uma hierarquia para o estabelecimento de critérios para a avaliação do desempenho e a comparabilidade de sistemas analíticos de medida:

1. O mais alto padrão seria a avaliação baseada nos estudos clínicos. Tais como objetivos analíticos para a hemoglobina A1c<sup>32</sup> e para a monitorização terapêutica da teofilina sérica<sup>33</sup>.
2. Uma abordagem alternativa é a realização de questionário aos clínicos, determinando sua expectativa frente à qualidade analítica para agregar confiança nos exames utilizados para o acompanhamento dos seus pacientes.
3. Baseando-se na variação biológica intra e inter-indivíduo, que determina três níveis de erro aleatório, erro sistemático e erro total (ET) aceitáveis<sup>34,35</sup>.
4. Uso de referências com recomendações de especialistas. Como o *National Cholesterol Education Program* que aceita bias entre métodos para o Colesterol inferiores a 3% entre 200 – 240 mg/dL. Ou a IV Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia<sup>36</sup>, que define coeficientes de variação biológica, analítica e total para triglicérides respectivamente de: 22,6%; 5%; 27,6%.
5. Desempenho baseado por organismos de acreditação, como o *Royal College of Pathologists of Australasia* e a *Association of Clinical Biochemists*, que permitem variações de colesterol de  $\pm 0,5\%$  para valores superiores a 387 mg/dL.
6. Com base no desempenho aceitável em ensaio de proficiência (EP). Neste caso pode-se entender que o limite aplicado à média para calcular o intervalo de resultados aceitos no EP equivale ao erro total admissível.

Em todas as propostas acima, o critério estatístico é substituído por critérios clínicos que determinam o erro admissível para o estudo de equiparação.

Para usar este conceito é necessário compreender que os resultados individuais contêm uma parcela de erro aleatório e outra de erro sistemático que somadas representam o erro total. Para manter o processo sob controle, adota-se ferramentas de controle que monitoram sua magnitude e demonstram quando atingem níveis inaceitáveis.

O controle interno é uma ferramenta de uso frequente (por exemplo: dois níveis diariamente) para o qual se determina um coeficiente máximo de variação esperado (erro aleatório). Já o ensaio de proficiência possui frequência menor e deve ser usado continuamente para identificar o erro sistemático

(tendências a partir de duas medidas). Para este, comumente são adotados requisitos individuais (avaliação independente de cada resultado), que consistem no erro total admissível (ETa).

Considerando que todas as propostas do comitê técnico da ISO TC212 convergem para a definição de ETas por analito, diferindo apenas na base usada para tal definição, deve-se analisar cuidadosamente a magnitude deste valor e sua representatividade frente à realidade analítica do laboratório.

Os provedores de ensaio de proficiência definem seus ETas com base na variação biológica, na relevância clínica ou na variação mediana dos resultados dos laboratórios ao longo do tempo. Estes valores podem ser próximos para alguns analitos e muito distintos para outros.

Um laboratório que possuir um sistema analítico robusto, com excelente reprodutibilidade (erro aleatório baixo), poderá estar adotando um critério clínico muito frouxo frente à sua capacidade analítica. De forma análoga, um critério clínico (por exemplo: alguns parâmetros de variação biológica) poderá ser muito rígido para a realidade analítica do laboratório.

## CONCLUSÃO

A comparabilidade de sistemas analíticos de medida é uma necessidade dadas as características do atual modelo de atendimento do nosso sistema de saúde.

Ela significa maior nível de confiabilidade e rastreabilidade aos resultados de exames laboratoriais realizados em múltiplas plataformas de um mesmo laboratório ou a partir de diversos serviços de Medicina Laboratorial.

Ela possibilita uma maior segurança ao médico no decorrer da assistência ao paciente, seja na etapa de diagnóstico, após a instituição da terapêutica necessária ou na fase de monitoramento continuado.

O estudo de comparabilidade requer um protocolo bem planejado. Quanto maior o seu detalhamento, melhores serão os resultados obtidos.

Este tipo de avaliação requer um profundo conhecimento dos métodos ou dos equipamentos a serem analisados por parte da equipe técnica do laboratório.

Outro ponto a se ressaltar são os materiais biológicos empregados para a realização dos testes, que assumem uma grande importância nos resultados obtidos. Sejam eles materiais de referência, amostras de pacientes ou material de controle, carecem de cuidados adicionais por parte dos responsáveis pela execução do protocolo de comparação. Este zelo estende-se durante a sua obtenção, na etapa do manuseio, no seu acondicionamento e transporte ou mesmo na interpretação dos seus resultados.

O texto discutiu também a importância dos aspectos estatísticos da avaliação do teste de comparabilidade, apontando as principais ferramentas que podem ser utilizadas, descrevendo-as de maneira sucinta e objetiva.

Este documento apresenta uma sugestão de hierarquização no estabelecimento de critérios para a avaliação do desempenho e a comparabilidade de sistemas analíticos de medida, com base em recomendações internacionais.

Ao longo de todo o processo a equipe do laboratório deve considerar as causas de não comparabilidade de resultados e as suas repercussões clínicas, buscando alternativas para reduzi-las ou neutralizá-las. Se isto não for possível, definir e implementar um plano de ação sistematizado e bem organizado diante da não comparabilidade, para que as suas consequências não afetem a segurança dos pacientes, nem lhes tragam danos.

# EXEMPLO 1

## REGISTRO DE EQUIPARAÇÃO DE DOIS SISTEMAS COM DUAS AMOSTRAS

Verificação de Comparabilidade de Resultados de Pacientes				
Data: _____		Local: _____		
Nº de amostras: 2		Nº de replicatas: _____		
Sistema Analítico comparado (descrever nome, marca, lote): _____				
Equipamentos utilizados: _____				
Metodologia empregada: _____				
Conjunto Diagnóstico: _____				
Calibradores: _____				
Controles Internos: _____				
Replicatas	Analisador 1		Analisador 2	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
Análise Estatística: _____ Análise Crítica dos Resultados Obtidos: _____ Responsáveis: _____				



## EXEMPLO 2

# REGISTRO DE EQUIPARAÇÃO DE TRÊS SISTEMAS COM UMA AMOSTRA

Verificação de Comparabilidade de Resultados de Pacientes			
Data: _____		Local: _____	
Nº de amostras: 1		Nº de replicatas: _____	
Sistema Analítico comparado (descrever nome, marca, lote): _____			
Equipamentos utilizados: _____			
Metodologia empregada: _____			
Conjunto Diagnóstico: _____			
Calibradores: _____			
Controles Internos: _____			
Replicatas	Analisador 1	Analisador 2	Analisador 3
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
Análise Estatística: _____			
Análise Crítica dos Resultados Obtidos: _____			
Responsáveis: _____			

## EXEMPLO 3

### ESTUDO DE EQUIPARAÇÃO ENTRE DOIS SISTEMAS COM BASE EM CRITÉRIOS ESTATÍSTICOS

Dois sistemas analíticos distintos, um analisador de eletrólitos (A1) e um analisador bioquímico automatizado contendo eletrodo ion seletivo para sódio (A2) com calibradores, controles e insumos do mesmo fabricante são usados simultaneamente em uma mesma área do laboratório.

Para verificar comparabilidade dos dois analisadores, foram selecionadas 20 amostras de pacientes que, ao serem testadas nos dois equipamentos, apresentaram os resultados mostrados na [tabela E3.1](#).

**Tabela E3.1: Dados da dosagem de sódio em soro em 20 amostras em 2 analisadores (A1 e A2).**

Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	150	151	11	138	140
2	148	150	12	157	155
3	132	132	13	132	135
4	115	114	14	138	137
5	159	159	15	131	132
6	140	139	16	160	160
7	142	140	17	112	112
8	136	137	18	136	137
9	120	120	19	155	153
10	136	137	20	139	142

As análises estatísticas foram realizadas com o Software Minitab 15.0, cuja estatística descritiva é apresentada na [tabela E3.2](#).

O teste de normalidade proposto por Anderson Darling (AD) foi aplicado para a distribuição dos dados de cada analisador e conforme valor p apresentado ( $> 0,05$ ) pode-se concluir tratar de populações normais e proceder a análise pareada dos dois analisadores a partir da regressão linear pelo método de mínimos quadrados, ANOVA e a correlação de Pearson.

A equação obtida neste estudo demonstra que há forte relação linear, devido ao alto valor obtido pelo coeficiente de correlação de Pearson ( $R=0.994$ , altamente significativo a 5%). Este resultado indica que os dados seguem o comportamento aproximado de uma reta (veja figura 1) e assim, um modelo de regressão linear descreve corretamente as comparações entre os dois equipamentos. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi alto (98.7%), o que indica que 98.7% da variação dos resultados do analisador 1 é explicada pela relação com os resultados do analisador 2.

Tabela E3.2: Resumo Estatístico

DADOS INICIAIS		Analizador A1	Analizador A2		
Normalidade (Anderson Darling) - valor p		0,322	0,180		
N (número de medidas)		20	20		
Média		138,80	139,10		
Desvio padrão		13,55	13,40		
Mediana		138,00	138,00		
Intervalo de Confiança da média		132,46 a 145,14	132,83 a 145,37		
Intervalo de Confiança da mediana		132,94 a 146,59	135,47 a 148,12		
Intervalo de Confiança do desvio-padrão		10,31 a 19,79	10,19 a 19,58		
<b>REGRESSÃO</b>		<b>Resultados</b>			
Equação		$Y(A1) = -0,936 + 1,005X(A2)$			
Erro Padrão A1		1,56576			
R <sup>2</sup>		98,70%			
R <sup>2</sup> ajustado		98,70%			
Variáveis		Constante: Coef (-0,936); SE Coef (3,744); T (-0,25); P(0,80500) A2: Coef (1,00457); SE Coef (0,0268); T (37,49); P(0,00000)			
<b>ANOVA</b>	<b>gl</b>	<b>SQ</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Fatores	1	3445,1	3445,10	1405,24	0,00000
Resíduos	18	44,1	2,50		
Total	19	3489,2			

No gráfico da [figura E3.2](#) percebe-se que os resíduos estão distribuídos aleatoriamente em torno do zero e entre -3 e 3. O gráfico de probabilidade normal (Figura E3.3) demonstra que os resíduos seguem uma distribuição normal, já que os pontos estão bem próximos da reta. Estes comportamentos validam a aplicação da regressão.

Analisando a ANOVA (valor  $p < 0,05$ ), rejeita-se a hipótese nula de que o coeficiente angular da reta de regressão é igual a zero, concluindo-se com risco de 5% que há regressão linear entre os analisadores A1 e A2.

Com base em todos estes dados é possível concluir que há forte correlação entre os resultados dos dois equipamentos.

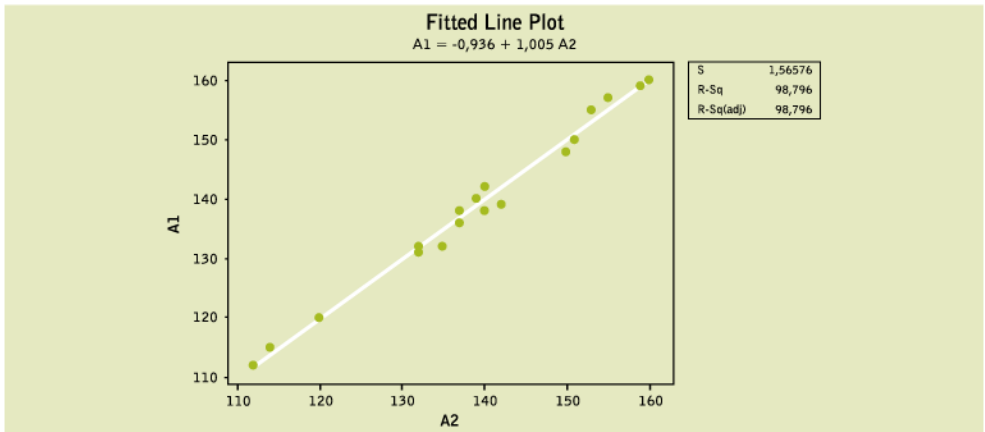


Figura E3.1: Gráfico de regressão

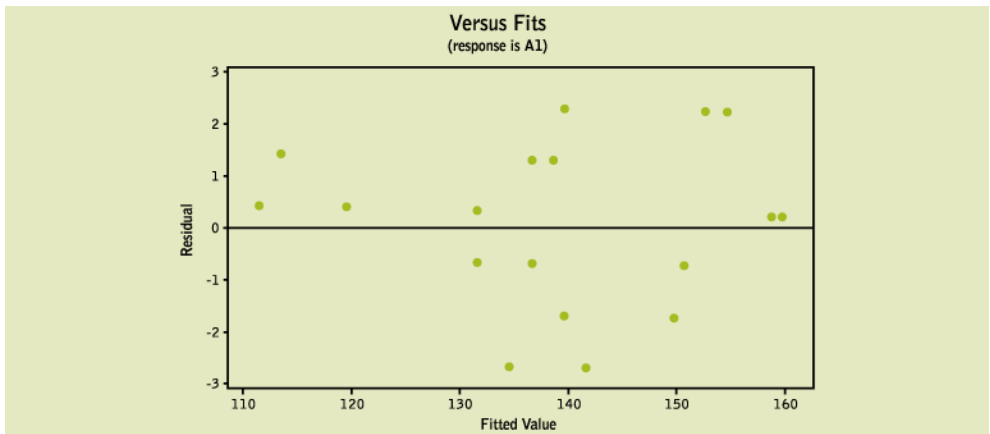


Figura E3.2: Gráfico dos resíduos

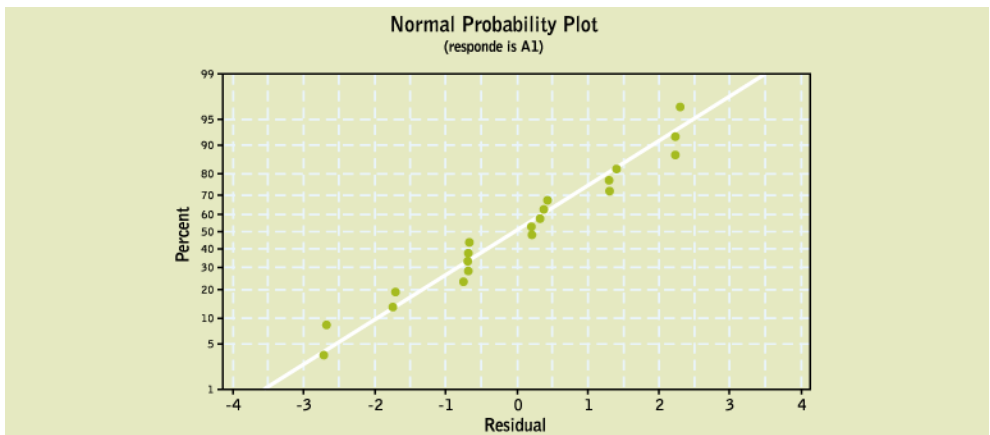


Figura E3.3: Gráfico da probabilidade normal

## EXEMPLO 4

### ESTUDO DE EQUIPARAÇÃO ENTRE DOIS SISTEMAS COM BASE EM CRITÉRIOS ESTATÍSTICOS E CLÍNICOS

Outra opção para avaliar os resultados apresentados no exemplo 3, seria analisar os resultados usando o modelo proposto por Bland-Altman. Para isto foi calculado o viés dos resultados (A1-A2) e a média dos resultados  $([A1+A2]/2)$ . A ausência de correlação entre o viés e a média foi verificada pelo teste de Spearman (valor  $p > 0,05$ ). O teste de normalidade (valor  $p > 0,05$ ) demonstrou que o viés segue uma distribuição normal. Com base neste comportamento pode-se elaborar o gráfico de Bland-Altman apresentado na Figura A3.4, sem necessidade de tratamentos para uniformização dos dados.

O resultado do teste t apresentado na [tabela E4.1](#) demonstra que o viés se aproxima de zero.

Tabela E4.1: Resumo Estatístico para Bland-Altman).

DADOS	Resultado
Teste Anderson-Darling (normalidade do viés)	0,267
Teste Spearman (correlação do viés com a média)	0,463
Teste t amostra única (viés nulo)	0,390
Viés médio	-0,300
Desvio padrão do viés	1,525
Limite de concordância (LCI e LCS)	-3,29 a 2,69
Intervalo de confiança do viés (IC 95%)	$\pm 0,714$
Intervalo de confiança do limite de concordância	$\pm 0,583$

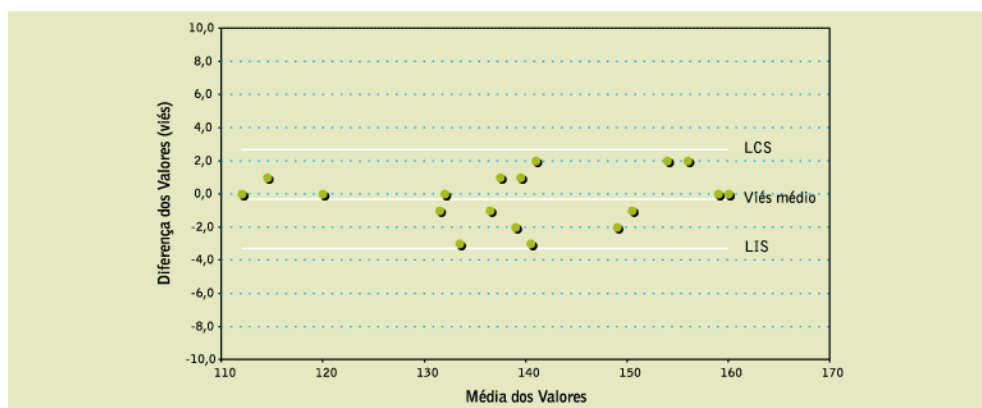


Figura E4.1: Gráfico de Bland-Altman

Segundo critérios estatísticos, é possível verificar no gráfico de Bland-Altman (figura E4.1), que o viés médio se aproxima de zero (confirmado pelo resultado do teste t) e que as diferenças entre os sistemas respeitam o limite de concordância calculado. Desta forma, os sistemas demonstram comportamento similar.

Deve-se ainda avaliar se tal critério está compatível com os requisitos clínicos. Considerando o limite de concordância inferior (-3,29) e a menor concentração estudada (112), tem-se uma variação máxima admitida de 2,94% entre os sistemas para sódio serico. Se este valor for inferior ao que o laboratório considera aceitável, os sistemas encontram-se equiparados.

## EXEMPLO 5

### ESTUDO DE EQUIPARAÇÃO ENTRE TRÊS SISTEMAS COM BASE EM CRITÉRIOS ESTATÍSTICOS

Um laboratório possui três sistemas analíticos em uso na rotina diagnóstica para a dosagem de sódio em soro, instalados num mesmo local, que funcionam como back up um do outro. Dois sistemas (A1, A2) correspondem ao mesmo analisador de eletrólitos, utilizando calibradores, controles e insumos do mesmo fabricante e o terceiro (A3) a outra marca para o qual espera-se comportamento similar.

Para a realização do estudo, foram selecionadas 20 amostras de pacientes e dosadas nos três analisadores, conforme dados apresentados na tabela E5.1.

Tabela E5.1: Dados da dosagem de sódio em soro em 20 amostras em 3 analisadores (A1, A2 e A3).

Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	150	151	151	11	138	140	142
2	148	150	152	12	157	155	157
3	132	132	134	13	132	135	135
4	115	114	161	14	138	137	139
5	159	159	162	15	131	132	131
6	140	139	139	16	160	160	162
7	142	140	143	17	112	112	113
8	136	137	137	18	136	137	136
9	120	120	123	19	155	153	153
10	136	137	138	20	139	142	143

As análises estatísticas foram realizadas com o Software Minitab 15.0. Inicialmente foram realizados os testes de Bartlett e Levene para verificar a homogeneidade das variâncias (valor  $p > 0,05$ ). O teste de normalidade proposto por Anderson Darling (AD) foi aplicado para a distribuição dos dados de cada analisador e conforme valor  $p$  apresentado ( $> 0,05$ ) pode-se concluir tratar de populações normais.

Procedeu-se a análise de variância (ANOVA fator único) para as séries de dados dos três analisadores. Empregou-se o teste de Tukey com intervalo de confiança de 95% para todas as amostras pareadas. O nível de significância estabelecido foi de 5% para a determinação do valor descritivo  $p < 0,05$ .

A análise de variância testa a hipótese de que as médias das três populações são iguais (valor  $p > 0,05$ ). Para uma investigação pareada foi utilizado um método de comparação múltipla Tukey. O resultado destas análises é apresentado na [tabela E5.2](#).

O valor  $p$  obtido na análise de variância (0,616) demonstra que não há diferença estatisticamente significante entre os resultados dos três equipamentos.

Esse resultado é ratificado pelos testes de Tukey, que na comparação par a par de todos os analisadores envolvidos obteve intervalos que continham o valor zero. Isso indica não haver diferença significante entre as médias dos analisadores para o intervalo de confiança adotado. Portanto, é possível concluir que, para o conjunto de dados apresentados e critérios definidos, os três analisadores apresentam resultados similares.

Tabela E5.2: Resumo Estatístico

Tabela E5.2: Resumo Estatístico				
<b>HOMOGENEIDADE DAS VARIÂNCIAS</b>				<b>Valor p</b>
Bartlett				0,984
Levene				0,995
<b>DADOS INDIVIDUAIS</b>		<b>Analisador A1</b>	<b>Analisador A2</b>	<b>Analisador A3</b>
Normalidade (AD) valor p		0,322	0,180	0,414
Média		138,80	139,10	142,55
Desvio padrão		13,55	13,40	13,01
Mediana		138,00	138,00	140,50
Intervalo de Confiança:				
Média		132,46 a 145,14	132,83 a 145,37	136,46 a 148,64
Mediana		132,94 a 146,59	135,47 a 148,12	136,24 a 151,76
Desvio padrão		10,31 a 19,79	10,19 a 19,58	9,89 a 19,00
<b>ANOVA</b>	<b>gl</b>	<b>SQ</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>
Fatores	2	174	87	0,49
Resíduos	57	10118	178	
Total	59	10292		
<b>TUKEY (IC95%)</b>		<b>Diferença de Média</b>	<b>Limite Inferior</b>	<b>Limite Superior</b>
Comparação A1-A2		0,30	-9,83	10,43
Comparação A1-A3		3,75	-6,38	13,88
Comparação A2-A3		3,45	-6,68	13,58

## EXEMPLO 6

# ESTUDO DE EQUIPARAÇÃO ENTRE DOIS SISTEMAS COM BASE EM CRITÉRIOS CLÍNICOS

Um laboratório realiza a dosagem de ácido úrico sérico pelo método colorimétrico – uricase em dois analisadores bioquímicos de um mesmo modelo, utilizando os mesmos calibradores, controles e reagentes e insumos.

Os dois equipamentos foram instalados no mesmo local. Para proceder a verificação de comparabilidade foram selecionadas 20 amostras e dosadas nos dois sistemas. O resultados obtidos são apresentados na [tabela E6.1](#).

**Tabela E6.1: Dados da dosagem de ácido úrico sérico em 20 amostras em 2 analisadores (A1 e A2).**

Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	2,5	2,6	11	6,0	6,2
2	3,4	3,5	12	4,0	4,2
3	4,5	4,6	13	6,5	6,8
4	4,4	4,5	14	8,7	9,0
5	4,4	4,5	15	5,7	5,9
6	5,5	5,7	16	4,5	4,6
7	10,0	10,3	17	6,6	6,8
8	5,7	5,9	18	6,0	6,2
9	3,7	3,8	19	2,7	2,7
10	5,9	6,1	20	3,9	3,9

O laboratório determinou como requisito um critério clínico no qual definiu um erro total admissível (ETa) de 15%, baseado no limite determinado pela Anvisa no Brasil (Reblas/GGLAS).

O estudo foi realizado no software EP Evaluator 9, que adotou a regressão de Deming, elaborou o gráfico de dispersão dos dados dos dois analisadores ([figura E6.1](#)) e o gráfico do índice de erro ([figura E6.2](#)). O índice de erro adotado equivalente ao índice de desvio adotado no Ensaio de Proficiência da ControlLab e SBPC/ML e do CAP: [(resultado-média)/ETa].

A [tabela E6.2](#) apresenta o resumo estatístico dos dados. A equação obtida na regressão de Deming teve coeficiente de determinação alto ( $R^2 = 99.97\%$ ), o que indica que praticamente toda a variação de A2 é explicada pela relação linear com a variável A1 e que estas variáveis são quase perfeitamente correlacionadas.

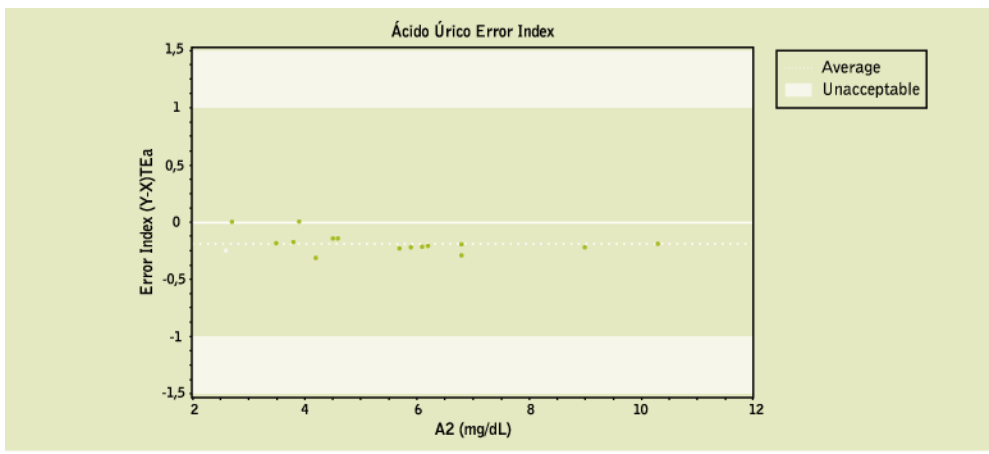
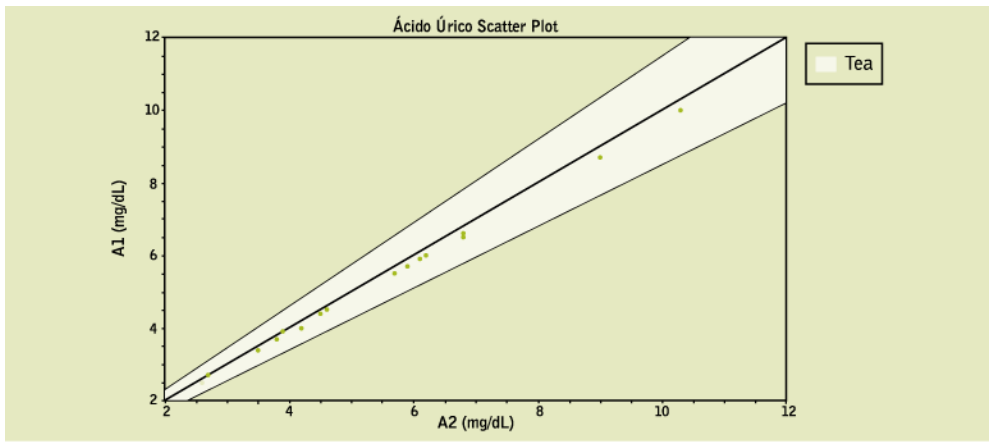
O gráfico de dispersão apresentado na [figura E6.1](#) demonstra que todos os dados ficaram dentro do ETa estipulado. Da mesma forma o gráfico do índice de erro ([figura E6.2](#)) demonstra que embora o erro apresente uma tendência negativa, seus valores são muito inferiores ao ETa.

Com base nesta análise, é possível concluir que há forte correlação entre os resultados dos analisadores A1 e A2 e que frente a critérios clínicos os resultados dos analisadores são aproximadamente iguais.



Tabela E6.2: Resumo estatístico

DADOS INDIVIDUAIS	Analizador A1 (Y)	Analizador A2 (X)
Média	5,23	5,39
Desvio padrão	1,86	1,93
Faixa de dados	2,5 a 10,0	2,6 a 10,3
<b>REGRESSÃO de DEMING</b>		<b>Resultados</b>
Equação	$A1 = 0,050 + 0,961A2$	
Erro Padrão Y	0,05	
R <sup>2</sup>	99,97%	
<b>ÍNDICE DE ERRO</b>		<b>Resultados</b>
Média	-0,19	
Faixa	-0,32 a 0,00	
Dados > ETa	nenhum	



## EXEMPLO 7

## ESTUDO DE EQUIPARAÇÃO ENTRE TRÊS SISTEMAS COM BASE EM CRITÉRIOS CLÍNICOS

Um laboratório deseja verificar a comparabilidade de três sistemas analíticos usados para a dosagem de  $pO_2$  em sangue venoso. Trata-se de três analisadores de gases similares, do mesmo fabricante, que utilizam os mesmos calibradores, controles e insumos.

Vinte amostras de pacientes foram selecionadas e analisadas nos três sistemas, conforme dados apresentados na [tabela E7.1](#).

Tabela E7.1: Dados da dosagem de  $pO_2$  em sangue venoso em 20 amostras e 3 analisadores (A1, A2 e A3).

Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	28,8	28,6	29,1	11	54	52,4	51,5
2	19	19,6	19,1	12	23,6	23,8	23,3
3	47,6	46,3	46,6	13	45,4	44,4	45,1
4	49,6	51,3	48,6	14	32,7	31,9	31,5
5	56,9	57,4	59,2	15	35,1	34,9	34,7
6	63,6	63,9	62,2	16	54,2	52,1	50,9
7	36,6	39,5	40,4	17	83,8	81,2	81,6
8	35,6	34,1	34,9	18	37,8	33,8	37
9	19,9	20,1	21,7	19	81,9	79	78,3
10	20,2	20,1	19,7	20	35,7	34,5	32,85

O laboratório determinou como requisito um critério clínico no qual definiu um erro total admissível (ETa) de 17%, baseado no limite determinado pela Anvisa no Brasil (Reblas/GGLAS) para  $pO_2$ .

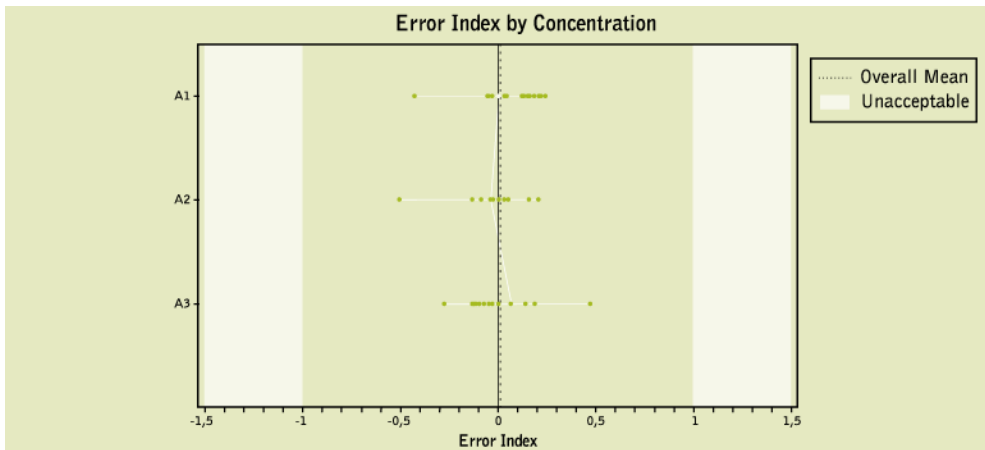
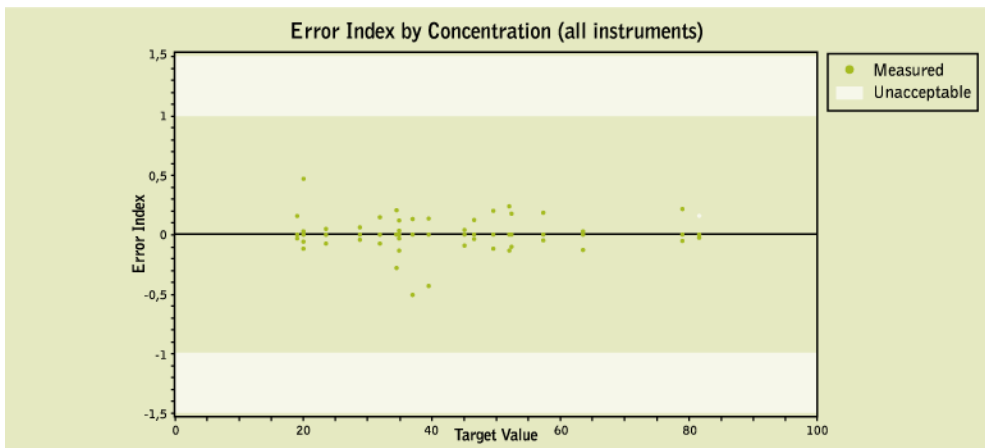
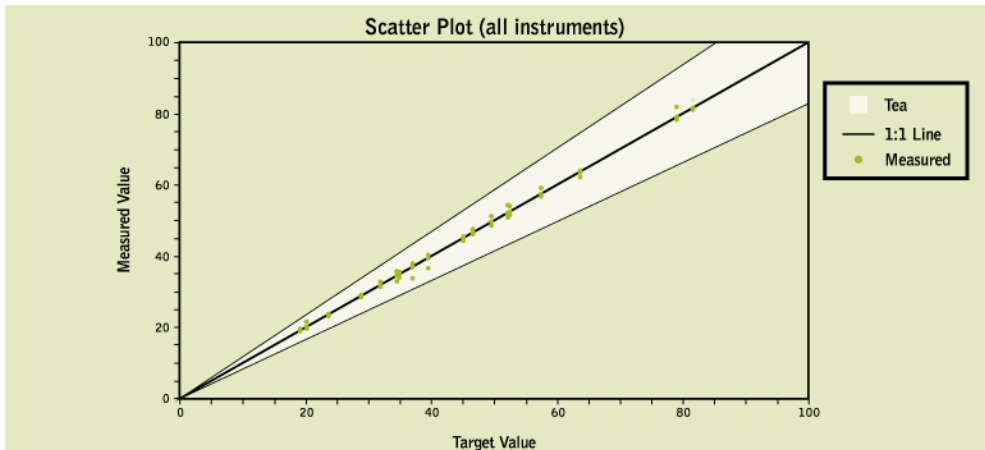
O estudo foi realizado no software EP *Evaluator* 9, que elaborou o gráfico de dispersão dos dados dos três analisadores ([figura E7.1](#)) e o gráfico do índice de erro por concentração ([figura E7.2](#)) e por instrumento ([figura E7.3](#)). Nenhum dos equipamentos foi considerado como referência, assim os dados foram analisados considerando como valor alvo a média dos analisadores para cada amostra.

A [tabela E7.2](#) apresenta o resumo estatístico dos dados. O gráfico de dispersão apresentado na [figura E7.1](#) demonstra que todos os dados ficaram dentro do ETa estipulado. Da mesma forma os gráficos de índice de erro demonstram não haver tendência e que os erros são muito inferiores ao ETa.

Pelo exposto, é possível concluir frente aos critérios clínicos que os resultados dos analisadores são aproximadamente iguais.

Tabela E7.2: Resumo estatístico

DADOS INDIVIDUAIS		Analísador A1	Analísador A2	Analísador A3	
Média		43,1	42,5	42,4	
Desvio padrão		18,7	18,2	17,9	
Faixa de dados		19,0 a 83,8	19,6 a 81,2	19,1 a 81,6	
ÍNDICE DE ERRO		Analísador A1	Analísador A2	Analísador A3	Geral
Média		0,05	0,02	0,01	0,01
Faixa		-0,43 a 0,24	-0,51 a 0,20	-0,28 a 0,47	-0,51 a 0,47
Dados > ETa		nenhum	nenhum	nenhum	nenhum



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vesper HW, Miller WG, Myers GL. Reference Materials and Commutability. *Clin Biochem Rev* 2007;Nov 28:139-147.
2. Rifai N, Cooper GR, Brown WV, Friedewald W, Havel RJ, Myers GL et al. *Clinical Chemistry journal* has contributed to progress in lipid and lipoprotein testing for fifty years. *Clin Chem* 2004;50:1861-70.
3. The Expert Panel. National Cholesterol Education Program. Report of the National Cholesterol Education Program Expert panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. *Arch Intern Med* 1988;148:36-9.
4. Laboratory Standardization Panel. Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States: a report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. *Clin Chem* 1988;34:193-201.
5. Laboratory Standardization Panel. Recommendations for improving cholesterol measurement: a report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH publication 90-2964. Bethesda, MD:NIH, February 1990.
6. Vanderlinde RE, Bowers GN Jr, Schaffer R, Edwards GC. The National Reference System for Cholesterol. *Clin Lab Med* 1989;9:89-104.
7. Duncan IW, Mather A, Cooper GR. The procedure for the proposed cholesterol reference method. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, 1988.
8. Bowers GN Jr. Accuracy and blood cholesterol measurements. *Clin Chem* 1988;34:192.
9. Myers GL, Kimberley MM, Waymack PP, Smith J, Cooper GR, Sampson EJ. A reference method laboratory network for cholesterol: a model for standardization and improvement of clinical laboratory measurements. *Clin Chem* 2000;46(11):1762-1772.
10. Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States: a report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. *Clin Chem* 1988;34:193-201
11. International Organization of Standardization (ISO). International Vocabulary of Basic and general terms in Metrology. Geneva, Switzerland: ISO, 1993
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline C54-A: Volume 28 Number 19. Verification of comparability of patient results within one health care system, CLSI, Wayne, PA, USA; 2008.
13. Mendes ME, Gartner MT, Sumita NM, Sánchez PB. Gestão por processos no Laboratório Clínico. Uma abordagem prática. São Paulo: EPR Editora Ltda., 2006. p.17-18.
14. Calleja J. Parallel processing and maintaining adequate alignment between instruments and methods. *Clin Biochem Rev* 2008 (Aug); 29 Suppl(i): S71-S77.
15. Miller WG. Specimens materials, target values and commutability for external quality assessment (proficiency testing) scheme. *Clin Chim Acta* 2003;327:25-37.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline EP 09-A2: Volume 22 Number 19 Method Comparison and Bias Estimation using patients samples, CLSI, Wayne, PA, USA; 2002.
17. Rej R. Accurate enzyme activity measurements. Two decades of development in the commutability of enzyme quality control materials. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:352-64.
18. International Organization of Standardization (ISO). In vitro diagnostic systems - measurement of quantities in samples of biological origin - description of reference materials. ISO 15194:2002. Geneva, Switzerland: ISO, 2002.

19. International Organization of Standardization (ISO). In vitro diagnostic systems/medical devices measurement of quantities in biological samples - metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. ISO 17511:2003. Geneve, Switzerland: ISO,2003.
20. Baadenhuijsen H, Steigstra H, Cobbaert C, Kuypers A, Weykamp C, Jansen R. Commutability assessment of potential reference materials using a multicenter split-patient-sample between-field-methods (Twin-Study) design: study within the Framework of the Dutch Project "Calibration 2000". Clin Chem 2002;48(9):1520-1525.
21. Miller WG, Myers GL, Rej R. Why commutability matters? Clin Chem 2006;52:553-554 (editorial).
22. Bais R. What information should manufactures provide on their procedures? Clin Chem 2006;52:1624-5.
23. ABNT ISO 31000:2009, Gestão de riscos - Princípios e diretrizes.
24. ABNT AMN ISO/TS 22367:2009, Laboratório clínico — Redução do erro através da gestão de riscos e melhoria contínua (ISO/TS 22367:2008, IDT).
25. Linnet K. The exponentially weighted moving average( EWMA) rule compared with traditionally used quality control rules. Clin Chem Lab Med. 2006;44:396-399.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved guideline C37-A. Preparation and Validation of commutable frozen serum pool as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures; CLSI, Wayne, PA, USA;1999
27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline EP14-A2: Evaluation of matrix effects; CLSI, Wayne, PA, USA; 2005.
28. Emons H. The "RM family"- Identification of all its members. Accred Qua Assur 2006;10:690-1.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Harmonized Terminology Database. [http://www.clsi.org/source/custom/termsall.cfm?Section=Harmonized\\_Terminology\\_Database](http://www.clsi.org/source/custom/termsall.cfm?Section=Harmonized_Terminology_Database) (Acessado em 25/06/2010).
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Standard C39-A: A designated comparison method for the measurement of ionized calcium in serum; CLSI, Wayne, PA, USA;2000.
31. Lawson NS, Williams TL, Long T. Matrix effects and accuracy assessment. Identifying matrix-sensitive methods from real-time proficiency testing data. Arch Pathol Lab Med. 1993; 117:401-411.
32. Larsen ML, Fraser CG, Hyltoft Petersen PH. A comparison of analytical goals for haemoglobin A1c assays derived using different strategies. Ann Clin Biochem.1991;28:227-278.
33. Jenny RW. Analytical goals for determination of theophylline concentration in serum. Clin Chem 1991;37:154-158.
34. Ricós C, Juvany R, Jiménez CV, Perich C, Minchinela J, Hernández A, Simón M, Alvarez V. Procedure for studying commutability validated by biological variation. Clin Chim Acta 1997; 288:73-83.
35. Ricós C, Iglesias N, Garcia-lario JV, et al. Within subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. Ann Clin Biochem. 2007;44:343-352.
36. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC. IV Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivo Bras de Cardiol 2007(Abril):88 Supl 1:1-19. 23.
37. Calegar-Jacques, SM. Bioestatística Princípios e Aplicações. Porto Alegre,RS: Art Medica Editora SA; 2004.
38. Viera S. Bioestatística: tópicos avançados. Rio de Janeiro, RJ: Editora Campos;2003.

39. Altman DG, Bland JM. Measurement in Medicine: The analysis of method comparison studies. *Journal of Royal Statistical Society. Series D (The Statistician)* 1983;32(3):307-17.
40. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research*. 1999;8(2):135-60.
41. Dewitte K, Fierens C, Stockl D, Thienpont LM. Application of the Bland Altman Plot for Interpretation of method-comparison studies: a critical investigation of its practice. *Clin Chem* 2002;48(5):799-801 (letter).
42. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing (internet). Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; Available from <http://www.R-project.org>.
43. Hirakata VN, Camey SA. Análise de concordância entre métodos de Bland Altman. *Rev HCPA* 2009;29(3):261-268.
44. Berlitz F, Haussen ML. Seis sigma no laboratório clínico: impacto na gestão de performance analítica dos processos técnicos. *J Bras Patol Med Lab*. 2005;41(5):1-14.
45. Passing H, Bablok J. New biomedical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. *Clin Chem Biochem* 1983;21(11):709-720.
46. Passing H, Bablok J. Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample sizes. *Clin Chem Biochem* 1984; 22(6): 431-445.
47. Passing H, Bablok J. A general regression procedure for method transformation. *Clin Chem Biochem* 1988; 26(11): 783-790.
48. ABNT NBR NM ISO 15189:2008, Laboratórios de análises clínicas – Requisitos de especiais de qualidade e competência.
49. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Approved Guideline GP31-A: Volume 29 Number 11 - Laboratory Instrument Implementation, Verification, and Maintenance, Approved Guideline Third Edition, CLSI, Wayne, PA, USA; 2009.
50. Mendes ME. Gerenciar equipamentos para reduzir prazos e custos. *Boletim Control Lab Qualifique*; 2010;28 (JanFevMar).
51. Kenny D, Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Kallner A. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. Consensus agreement. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999; 59:585.
52. Martin RF. General Deming regression for estimating systematic Bias and its confidence interval in method-comparison studies. *Clin Chem* 2000;46(1):100-104.
53. Linnet K. Evaluation of regression procedures for methods comparison studies. *Clin Chem* 1993;39(3):424-432.
54. Stockl D, Dewitte K, Thienpont LM. Validity of linear regression in method comparison studies: is it limited by the statistical model or the quality of the analytical input data? *Clin Chem* 1998;44(11):2340-2346.
55. Ricos et al. Criteria for evaluating performance in EQA in European countries. *Eur J Clin Chem Biochem* 1996; 34:159-165.
56. Rhoads, DG. EP Evaluator R Release 9 User's Manual (electronic). Rhoads Associates /Data Innovations Inc., 2009.



## Capítulo 4

# COMPARAÇÃO INTRALABORATORIAL EM MICROSCOPIA

A padronização em microscopia no laboratório clínico é uma ação importante dentro da garantia da qualidade de resultados. O número de variáveis é grande quando se pensa em todo o processo, que começa com a coleta do material biológico, passa pela confecção e coloração das lâminas, capacitação dos microscopistas e termina na liberação do laudo<sup>1, 2, 3, 4</sup>.

Todas as etapas do processo necessitam de ações de controle. Contudo, a mais importante e que apresenta maior dificuldade de padronização é a de treinamento dos microscopistas. Neste aspecto, devem ser consideradas duas características: a capacidade de detectar as estruturas, que trata da exatidão, e a reprodutibilidade entre os observadores, que trata da precisão. Um bom grau de exatidão é obtido com a padronização dos processos envolvidos na análise e com o contínuo treinamento dos microscopistas. A precisão é obtida com ações para uniformização dos resultados produzidos por microscopistas, conforme o tipo de análise microscópica: qualitativa ou quantitativa. O importante após a avaliação é detectar a fonte (causa raiz) de variabilidade e planejar ações corretivas para promover a melhoria contínua<sup>5,6</sup>.

Ações de controle devem permear todas as etapas do processo de análise, com o propósito de garantir a qualidade do resultado final e, em última instância, beneficiar o paciente. Neste capítulo são abordadas diferentes sistemáticas de realização de comparações entre microscopistas, como forma de avaliar a reprodutibilidade dos mesmos e garantir maior uniformidade dos laudos emitidos.





## ANÁLISE GERAL DO PROCESSO

O processo de análise por microscopia possui cinco pontos-chaves: requisição e material biológico, reagentes e corantes, coloração e exame da lâmina, gestão dos microscópios e treinamento. Os principais cuidados para garantir a qualidade de cada um estão descritos abaixo.

### 1. Requisição e material biológico

A requisição deve conter todos os dados sobre o paciente, um resumo das principais alterações clínico-laboratoriais e as hipóteses diagnósticas. A conduta do microscopista durante a análise pode se modificar dependendo dos dados clínicos. Por exemplo, pode ser necessário pesquisar estruturas que normalmente não são pesquisadas e realizar colorações específicas para facilitar a identificação de determinadas estruturas.

Dentre os aspectos importantes relacionados com o material biológico estão:

- A rastreabilidade do material coletado, isto é, hora de coleta, de entrada no laboratório e da manipulação do material.
- A qualidade do material, ou seja, se o material é adequado para análise. Por exemplo, quando é coletado um escarro para citologia ou pesquisa de bacilo álcool ácido resistente constituído predominantemente por saliva, deve haver uma observação no laudo quanto à restrição deste material ou até mesmo considerar a impossibilidade de realizar o exame.
- As condições de identificação e de preservação do material, como temperatura, integridade do recipiente e seleção correta do recipiente, para o exame.

### 2. Reagentes e Corantes

Os reagentes e corantes devem ser armazenados conforme orientação dos fabricantes em frascos adequados, mantidos em temperatura controlada, identificados corretamente e utilizados dentro do prazo de validade. Os profissionais mais experientes recomendam ter estoque e volume para suprir no máximo seis meses, o que mantém uma reposição constante e evita o desperdício (descarte de material vencido).

### 3. Coloração e exame das lâminas

A coloração é de suma importância no exame microscópico. Uma coloração de má qualidade e diferenças entre colorações feitas por diferentes profissionais pode dificultar a identificação de estruturas e confundir os microscopistas. Para uma boa qualidade e uniformidade das colorações é necessário ter os procedimentos escritos e treinar todos os funcionários envolvidos no processo.

Outra conduta recomendada, e muito útil em microbiologia, parasitologia e citoquímicas em hematologia, é incluir lâminas de controle positivas e negativas na bateria de coloração de lâminas de pacientes.

### 4. Gestão dos Microscópios

O microscópio é o instrumento do microscopista. Qualquer problema com ele pode induzir o observador a erro durante a análise. Para garantir uma boa capacidade de resolução, diminuição de defeitos e quebras, deve-se fazer um planejamento de manutenções preventivas para os microscópios, incluindo ações realizadas pelo próprio observador e por um técnico especializado<sup>7</sup>.

As manutenções podem ser divididas em diárias, mensais e semestrais. A manutenção diária deve incluir a limpeza das objetivas com álcool isopropílico antes do uso e a verificação da tomada e do regulador de voltagem após o uso. A manutenção mensal deve incluir a limpeza das oculares com *airbrush*, da plataforma de lâminas, do condensador e das demais partes do microscópio. Também devem ser feitas a verificação da iluminação e a centralização do foco. Estas manutenções podem ser realizadas pelos próprios microscopistas.

A manutenção semestral deve envolver a desmontagem do sistema de lentes, o que requer um técnico especializado. Todas as atividades devem ser registradas em planilha própria ou em aplicativo informatizado para manter um histórico do equipamento.

## 5. Treinamento

Manter um adequado padrão de competência entre os microscopistas é vital para a qualidade dos resultados que envolvem a microscopia. O laboratório deve estabelecer um programa de manutenção da competência com reavaliação periódica e um programa de integração de novos microscopistas. Desta forma, os mais experientes e os mais novos, poderão manter o mesmo padrão de competência, acima de um padrão mínimo estabelecido<sup>8</sup>.

Os treinamentos devem abranger teoria e prática. Recomenda-se realizar treinamentos em pequenos grupos (no máximo 12 pessoas), principalmente na abordagem prática, para uma atenção mais individualizada e para sanar as dúvidas. É importante que o laboratório mantenha uma biblioteca de lâminas e/ou materiais para os treinamentos práticos.

Uma cultura de aprimoramento contínuo permite aproveitar oportunidades do dia-a-dia para a manutenção da competência. Por exemplo, toda vez que surgir um caso raro, uma estrutura diferente ou morfológicamente didática, deve-se separar este caso e promover uma discussão entre os microscopistas dos aspectos teóricos e práticos relacionados ao achado.

É recomendado realizar uma avaliação dos treinamentos proporcional ao tema abordado e à carga horária realizada. Esta avaliação permite perceber o grau de aproveitamento, ajuda no planejamento dos próximos treinamentos e permite conhecer a competência de cada microscopista.

O Programa de Competência para Detecção de Malária ministrada pela Organização Mundial de Saúde<sup>9</sup> possui um modelo de avaliação de competência de microscopista que pode ser útil. Trata-se de um treinamento teórico-prático com duração de cinco dias, cuja avaliação consiste na análise de 20 lâminas num tempo máximo de 10 minutos por lâmina. Os casos incluem parasitas comuns, raros e lâminas negativas (cinco). Mediante a comparação dos resultados frente ao esperado, o microscopista é classificado conforme a [tabela 1](#).

Os gestores devem ter a visão de que a melhor exatidão e a melhor precisão só são alcançadas com treinamentos regulares. A partir desta premissa, devem considerar o tamanho da equipe e a complexidade do exame para definir um programa de capacitação eficaz sempre que a avaliação e classificação de competência forem necessárias.

**Tabela 1: Avaliação Final de Competência adotado pela OMS num Programa de Competência para Detecção de Malária**

Avaliação	Exatidão na identificação das espécies	Quantificação dos parasitas
Perito	≥ 90%	≥ 50%
Referência	≥ 80%	≥ 40%
Avançado	≥ 70%	≥ 30%
Em treinamento	< 70%	< 30%

## MODELOS ESTATÍSTICOS PARA COMPARAÇÃO

### TABELA DE RÜMKE

Mesmo em esfregaços sanguíneos perfeitos, a contagem diferencial está sujeita a erros da distribuição aleatória. No dia-a-dia, é importante saber qual a variação possível de ocorrer na contagem diferencial de um determinado paciente, se analisado por diferentes profissionais e o quanto dessa variação é atribuído ao acaso.

O microscopista e o médico que analisam e interpretam os resultados devem estar cientes das possíveis fontes de erro, especialmente os erros devidos ao acaso na distribuição das células.

A **tabela 2**, construída por C.L Rümke<sup>10</sup> (1960), com contagens para 100, 200, 500 e 1.000 leucócitos, apresenta faixas de contagens esperadas, com um intervalo de confiança de 95%, para células leucocitárias em diferentes concentrações (percentual no sangue). Quanto maior o número (n) de células contadas, menor será a variação esperada para estas contagens e maior será a confiabilidade da estimativa.

Na rotina, quando há necessidade da contagem diferencial em microscópio, são contados normalmente 100 ou 200 leucócitos. Os analisadores hematológicos avaliam e contam no mínimo 10.000 leucócitos, ou seja, de 50 a 100 vezes mais células que o primeiro. A excelente precisão esperada dos analisadores hematológicos quando comparados à leitura em microscópio é facilmente confirmada na **tabela 2**.

Para  $n = 10.000$  as porcentagens foram determinadas pela aproximação de Freeman e Tukey<sup>11</sup>. A baixa reprodutibilidade da contagem diferencial em microscópio é mais observada em células com menor porcentagem no sangue (a), como no caso dos basófilos. Para aumentar a precisão da contagem dessas células seria necessário contar um maior número de células no diferencial.

A tabela de Rümke pode ser usada para a comparação entre microscopistas no acompanhamento de variações nas contagens de leucócitos de pacientes em tempos diferentes e para validar analisadores hematológicos (contagens automáticas) frente contagem microscópica (contagem manual). Este último pode ainda resultar na opção pela contagem microscópica como padrão se a comparação com a contagem automatizada não for satisfatória.

O exemplo 1 contém um modelo de aplicação deste modo de comparação.

Tabela 2: Percentagens de leucócitos determinadas pelas contagens diferenciais, com limites de confiança de 95%.					
a	n = 100	n = 200	n = 500	n = 1000	n = 10 000
0	0.0–3.6	0.0–1.8	0.0–0.7	0.0–0.4	0.0–0.1
1	0.0–5.4	0.1–3.6	0.3–2.3	0.5–1.8	0.8–1.3
2	0.0–7.0	0.6–5.0	1.0–3.6	1.2–3.1	1.7–2.3
3	0.6–8.5	1.1–6.4	1.7–4.9	2.0–4.3	2.6–3.4
4	1.1–9.9	1.7–7.7	2.5–6.1	2.9–5.4	3.6–4.5
5	1.6–11.3	2.4–9.0	3.3–7.3	3.7–6.5	4.5–5.5
6	2.2–12.6	3.1–10.2	4.1–8.5	4.6–7.7	5.5–6.5
7	2.9–13.9	3.9–11.5	4.9–9.6	5.5–8.8	6.5–7.6
8	3.5–15.2	4.6–12.7	5.8–10.7	6.4–9.9	7.4–8.6
9	4.2–16.4	5.4–13.9	6.6–11.9	7.3–10.9	8.4–9.6
10	4.9–17.6	6.2–15.0	7.5–13.0	8.2–12.0	9.4–10.7

Tabela 2 (continuação): Percentagens de leucócitos determinadas pelas contagens diferenciais, com limites de confiança de 95%.

15	8.6–23.5	10.4–20.7	12.0–18.4	12.8–17.4	14.3–15.8
20	12.7–29.2	14.7–26.2	16.6–23.8	17.6–22.6	19.2–20.8
25	16.9–34.7	19.2–31.6	21.3–29.0	22.3–27.8	24.1–25.9
30	21.2–40.0	23.7–36.9	26.0–34.2	27.2–32.9	29.1–31.0
35	25.7–45.2	28.4–42.0	30.8–39.4	32.0–38.0	34.0–36.0
40	30.3–50.3	33.2–47.1	35.7–44.4	36.9–43.1	39.0–41.0
45	35.0–55.3	38.0–52.2	40.6–49.5	41.9–48.1	44.0–46.0
50	39.8–60.2	42.9–57.1	45.5–54.5	46.9–53.1	49.0–51.0
55	44.7–65.0	47.8–62.0	50.5–59.4	51.9–58.1	54.0–56.0
60	49.7–69.7	52.9–66.8	55.6–64.3	56.9–63.1	59.0–61.0
65	54.8–74.3	58.0–71.6	60.6–69.2	62.0–68.0	64.0–66.0
70	60.0–78.8	63.1–76.3	65.8–74.0	67.1–72.8	69.0–70.9
75	65.3–83.1	68.4–80.8	71.0–78.7	72.2–77.7	74.1–75.9
80	70.8–87.3	73.8–85.3	76.2–83.4	77.4–82.4	79.2–80.8
85	76.5–91.4	79.3–89.6	81.6–88.0	82.6–87.2	84.2–85.7
90	82.4–95.1	85.0–93.8	87.0–92.5	88.0–91.8	89.3–90.6
91	83.6–95.8	86.1–94.6	88.1–93.4	89.1–92.7	90.4–91.6
92	84.8–96.5	87.3–95.4	89.3–94.2	90.1–93.6	91.4–92.6
93	86.1–97.1	88.5–96.1	90.4–95.1	91.2–94.5	92.4–93.5
94	87.4–97.8	89.8–96.9	91.5–95.9	92.3–95.4	93.5–94.5
95	88.7–98.4	91.0–97.6	92.7–96.7	93.5–96.3	94.5–95.5
96	90.1–98.9	92.3–98.3	93.9–97.5	94.6–97.1	95.5–96.4
97	91.5–99.4	93.6–98.9	95.1–98.3	95.7–98.0	96.6–97.4
98	93.0–99.9	95.0–99.4	96.4–99.0	96.9–98.8	97.7–98.3
99	94.6–99.9	96.4–99.9	97.7–99.7	98.2–99.5	98.7–99.2
100	96.4–100.0	98.2–100.0	99.3–100.0	99.6–100.0	99.9–100.0

a = percentual observado de determinado tipo de leucócitos  
n = número de leucócitos contados

## ESTATÍSTICA DE CHAUVENET

É importante para o Laboratório monitorar a capacitação dos seus microscopistas em casos interessantes, como lâminas anormais, menos rotineiras e com graus variados de complexidade.

A estatística de Chauvenet avalia a presença de leituras deslocadas (*outliers* - valores discrepantes) em um grupo de dados. Este método, utilizado inicialmente para a detecção de controles bioquímicos deslocados de um grupo de controles<sup>12</sup>, pode também ser aplicado na determinação de leituras microscópicas deslocadas, provenientes de um ou mais microscopistas.

$$\text{Fator da distribuição} = \frac{\text{desvio da média}}{\text{desvio padrão}} = \frac{|\text{valor} - \text{média}|}{\text{desvio padrão (DP)}}$$

$$\text{Intervalo de Chauvenet} = \text{média} \pm \text{fator de Chauvenet} \times \text{DP}$$

$$\text{Intervalo da Distribuição} = \text{média} \pm 2 * \text{DP}$$

\*aproximação de 1,96 (Nível de confiança de 95%)

Figura 1: Fórmulas de fatores e intervalos da Estatística de Chauvenet

A [figura 1](#) apresenta as fórmulas para a obtenção do fator da distribuição, do intervalo de Chauvenet e do intervalo da distribuição para um nível de confiança de 95%. A [tabela 3](#) apresenta os fatores de Chauvenet em relação ao número de participantes.

O fator de Chauvenet substitui a constante usada no intervalo de distribuição. Este fator tem uma relação direta com o número de participantes.

**Tabela 3: Fatores de Chauvenet em relação ao (n) número de participantes.**

n	Fator	n	Fator	n	Fator
2	1,15	9	1,91	35	2,45
3	1,38	10	1,96	40	2,5
4	1,54	12	2,04	50	2,58
5	1,65	15	2,13	75	2,71
6	1,73	20	2,24	100	2,81
7	1,8	25	2,33	200	3,02
8	1,86	30	2,4		

Este método pode ser aplicado a partir de leituras feitas por dois<sup>NOTA1</sup> microscopistas, com a expectativa de identificar a uniformidade dos profissionais quando seus dados estiverem dentro do intervalo de Chauvenet, ou identificar valores deslocados quando fora deste intervalo.

O fator de distribuição complementa a informação contida no intervalo de Chauvenet. Quando calculado com um valor fora do intervalo de Chauvenet resulta em um valor maior que o Fator de Chauvenet. O fator de distribuição deve ser calculado com base no valor apresentado pelo participante que está sendo avaliado, para dar uma noção da distância do seu resultado frente à média dos resultados, ou com base no valor mais afastado da média (maior ou menor), para demonstrar a discrepância deste valor em relação à média dos resultados.

O exemplo 2 contém um modelo da aplicação deste modo de comparação.

NOTA1 - Recomenda-se realizar com quatro ou mais microscopistas para uma melhor estimativa da média e desvio-padrão, que são dados bases para os demais cálculos do modelo estatístico, e pelo fator de Chauvenet ter relação direta com o número de participantes, principalmente para n menor que vinte.

## ESTUDO DE REPETITIVIDADE E REPRODUTIBILIDADE (R&R)

A análise de variância (ANOVA) é uma opção eficiente para este tipo de análise. Ela considera os principais componentes de variação (microscopista e amostras) e também a interação entre eles, o que enriquece a análise.

A partir dela é possível avaliar a repetitividade, que mostra o quanto são concordantes leituras repetidas em condições idênticas (pelos mesmos microscopistas), e a reprodutibilidade, que reflete o quanto as mesmas leituras podem ser concordantes quando obtidas em diferentes circunstâncias (diferentes microscopistas ou tempos diferentes).

Para isto realiza-se um estudo: Repetitividade e Reprodutibilidade (R&R), no qual um modelo específico da ANOVA fator duplo com interação é usado como método de análise: ANOVA Gage RR<sup>13</sup>.

Na análise da variância espera-se avaliar se há diferença significativa entre amostras, entre microscopistas e na interação microscopista-amostra (por exemplo, valor  $p < 0,05$ ). Quando a diferença na interação é insignificante deve-se refazer o estudo sem interação. Alguns softwares sugerem ou adotam um valor  $p$  fixo para determinar se a interação é ou não significativa. Quando o valor  $p$  for superior a 0,25, por exemplo, o Minitab sugere considerar a interação não significativa.

Na análise de contribuições de variações, espera-se avaliar os percentuais de contribuição das variâncias da R&R e das amostras. Da mesma forma, analisar o percentual de variação total destes componentes com base no desvio-padrão de cada um.

Por tratar-se de uma seleção de amostras diferentes de pacientes, é esperada diferença significativa entre estas. Também se espera que a contribuição da variação das amostras seja significativamente maior que a variação de repetitividade e reprodutibilidade. Valores tipicamente adotados pela indústria automobilística para a tolerância do %RR de variação total são: até 10% aprovado, entre 10% e 30% aceitável conforme a aplicação, e acima de 30% reprovado. Para a área de Medicina Laboratorial é necessário realizar um estudo para estabelecer esses valores.

A **figura 2** apresenta os gráficos resultantes deste estudo que permitem mais algumas análises:

- Gráfico das Médias (Xbar chart) – apresenta a média das leituras de cada microscopista para cada amostra e as relaciona à repetitividade do processo representada pelas linhas de controle. Idealmente espera-se verificar o mesmo comportamento para os microscopistas. A maior parte dos pontos deve ficar fora da faixa de controle (quando há boa repetitividade do processo, ou seja, uma faixa muito estreita frente à variação das amostras).
- Gráfico de Amplitude (R chart) – apresenta a amplitude das leituras (diferença entre as leituras máximas e mínimas) realizadas por cada microscopista para cada amostra e as relaciona com a amplitude média (linha de controle central) e amplitudes máximas e mínimas esperadas. Quanto mais próxima de zero a diferença, menor a dispersão das leituras do microscopista e melhor é o resultado.
- Gráfico por amostra – apresenta todas as leituras feitas pelos microscopistas por amostra, o que permite analisar a consistência do processo. Este deve identificar diferenças entre as amostras (neste caso os resultados não devem estar alinhados) e apresentar distribuição dos resultados similar para as diferentes amostras. Comportamento distinto pode demonstrar a necessidade de melhor padronização do processo e diferenças pontuais para determinadas “concentrações”.
- Gráfico por microscopista – permite analisar a reprodutibilidade do processo ao apresentar o box plot das leituras de cada microscopista e uma linha ligando as médias. A similaridade entre os resultados dos microscopistas produz uma linha horizontal totalmente alinhada.
- Gráfico de Interações – apresenta a interação microscopista-amostra a partir da média de cada amostra, o que permite avaliar visualmente se a leitura dos microscopistas é influenciada pelas amostras. Quando as linhas dos diferentes microscopistas estão sobrepostas ou alinhadas, deve-se entender que o comportamento não variou, portanto o microscopista não apresenta interação com a amostra (não influencia na leitura). Quando as linhas apresentam comportamento diferente há maior possibilidade de interação microscopista-amostra significativa, o que deve ser confirmado pelo valor  $p$  da interação.

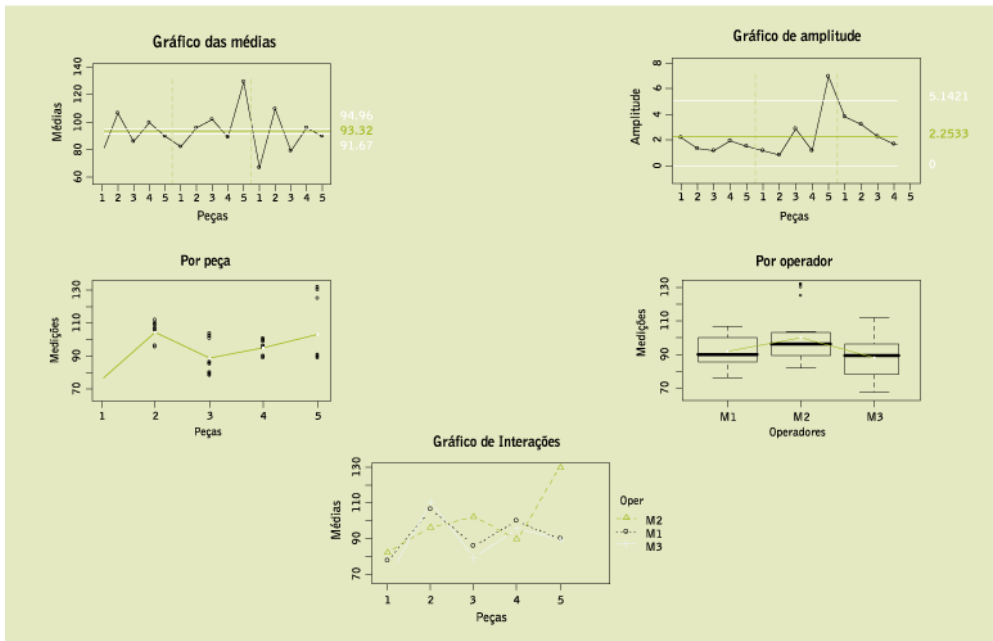


Figura 2: exemplos de gráficos do estudo R&R

A única recomendação a ser observada para a realização deste experimento é determinar um número de amostras e microscopistas cujo produto seja igual ou maior que 15 (exemplo: cinco amostras analisadas por três microscopistas), para evitar que uma restrição matemática invalide o estudo de reprodutibilidade.

O exemplo 3 contém um modelo de aplicação deste modo de comparação.

### ESTATÍSTICA KAPPA

O coeficiente Kappa é usado, em geral, para dados nominais e fornece uma idéia do grau de concordância entre dois observadores independentes que realizam uma mesma análise. O teste Kappa é uma medida de concordância interobservador, que avalia o grau de concordância além do que seria esperado tão somente pelo acaso.

Tabela 4: Classificação de concordância frente ao valor de Kappa <sup>(34)</sup>

Valor de Kappa	Concordância
< 0,00	Sem concordância
0,00 - 0,19	Mínima
0,20 - 0,39	Discreta
0,40 - 0,59	Moderada
0,60 - 0,79	Boa
0,80 - 1,00	Ótima



Para este teste, sugere-se usar um número de amostras maior do que 5, visto que o valor de Kappa depende da proporção de indivíduos em cada categoria. Os valores de Kappa para concordância variam de menor que 0 a 1 (tabela 4).

Matriz de comparação		Observador 2		Total
		Característica 1	Característica 2	
Observador 1	Característica 1	A	B	A + B = M1
	Característica 2	C	D	C + D = M0
Total		A + C = N1	B + D = N0	N

Fórmulas para cálculo do Coeficiente Kappa <sup>(15)</sup>:  
 Concordância observada (CO) = (A+D)/N  
 Concordância esperada (CE) = [(N1/N) x (M1/N)] + [(N0/N) x (M0/N)]  
 Kappa (K) = (CO-CE)/(1-CE)

Figura 3: Matriz de Comparação e Fórmulas para uso do Valor Kappa

Para o cálculo manual do valor de Kappa<sup>NOTA2</sup>, a Figura 3 apresenta a matriz de comparação e as fórmulas de cálculo, para os quais A, B, C e D apresenta o número de casos (lâminas analisadas) em que os observadores concordaram ou discordaram frente às características analisadas e N0, N1, N, M0 e M1 são somas:

- A – nº casos em que os observadores identificaram a característica 1;
- B - nº casos em que observador 1 identificou a característica 1 e observador 2 identificou a característica 2;
- C - nº casos em que observador 1 identificou característica 2 e o observador 2 identificou a característica 1;
- D - nº casos em que os observadores identificaram a característica 2;
- N – número de casos (M0 + M1 = N0 + N1).

Existem algumas opções de estatística Kappa. Acima foi descrito o índice Kappa de Cohen, que é empregado para verificar o grau de concordância entre apenas duas variáveis. O anexo 4 contém um exemplo da aplicação deste método de comparação.

O anexo 5 contém um exemplo de aplicação da estatística Kappa formulada por Fleiss, por tratar de uma análise mais complexa, onde mais de duas variáveis são comparadas, conjugada a testes de hipótese.

## CRITÉRIOS DE ACEITABILIDADE E LIMITES DE VARIAÇÃO MICROSCÓPICA NA DUPLA OBSERVAÇÃO INDEPENDENTE

Cabe aos gestores do laboratório definirem qual protocolo melhor atende à sua necessidade em cada exame. A escolha do critério a ser usado depende do número de exames da rotina e do número de microscopistas. Durante este capítulo foram descritos alguns protocolos que podem ser úteis. Na tabela 5 são apresentados critérios de aceitabilidade para diversos exames laboratoriais, cuja característica em avaliação possa ser analisada em dupla observação independente.

NOTA2 - Existem softwares estatísticos livres que realizam os testes estatísticos descritos. Um deles está disponível no site do Laboratório de Epidemiologia e Estatística (LEE) do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia<sup>19</sup>, que recebe o apoio da Fundação Adib Jatene. [www.lee.dante.br/pesquisa/kappa/index.html](http://www.lee.dante.br/pesquisa/kappa/index.html)

Tabela 5: Critérios de Aceitabilidade e Limites de Variação para dupla observação independente.

Exame	Característica	Critérios e Recomendações
Hemograma (Leucograma)	Contagens hematológicas	Tabela de Rümke com contagem de 100 a 200 leucócitos por amostra
Prova de Falcização	Positiva ou negativa	Concordância morfológica ou Kappa. Para $n \geq 5$ , recomenda-se usar Kappa.
Cariótipo Banda G	Normal ou alterado	Concordância morfológica da patologia nos casos alterados ou Kappa. Para $n \geq 5$ , recomenda-se usar Kappa.
Fosfatase Alcalina Leucocitária	Escore normal, elevado ou baixo	Analisar 100 neutrófilos por amostra e considerar uma variação aceitável de até $\pm 20$ entre os valores do escore do paciente observados por dois microscopistas.
Pesquisa de Hematozoários	Positiva ou negativa	Concordância morfológica ou Kappa. Para $n \geq 5$ , recomenda-se usar Kappa.
Hemoglobina Fetal em Lâmina	Positiva ou negativa Se positiva, informar a porcentagem de hemácias positivas em relação ao total de Hemácias	Varição aceitável até $\pm 10$ células entre os valores do paciente, observado por dois microscopistas na análise de 100 hemácias. Se houver discordância entre os dois microscopistas, recomenda-se a opinião de um terceiro.
Pesquisa de Células de Sézary	Positiva ou negativa Se positiva, informar a porcentagem de células de Sézary em relação ao total de linfócitos	Varição aceitável de $\pm 5$ células entre os valores do paciente, observados por dois microscopistas na análise de 100 linfócitos. Se houver discordância entre os dois microscopistas, recomenda-se a opinião de um terceiro.
Reação de Perls	Ferro normal, ferro baixo, ferro elevado.	Varição de até $\pm 10$ células entre os valores do paciente para sideroblastos e até $\pm 10$ células para sideroblastos em anel, observados entre os dois microscopistas. Se houver discordância entre os dois microscopistas, recomenda-se a opinião de um terceiro.

Tabela 5 (continuação): Critérios de Aceitabilidade e Limites de Variação para dupla observação independente.

Exame	Característica	Critérios e Recomendações
Citologia de Líquidos Cavitários	Contagem diferencial de leucócitos e células mesoteliais e avaliação da presença de bactérias e células neoplásicas.	Contagem celular: variação até $\pm 10$ células entre os valores do paciente observados pelos dois microscopistas. Presença de bactérias: concordância morfológica entre os dois microscopistas - negativa ou positiva. Presença de células neoplásicas: concordância morfológica - negativa ou positiva entre os dois microscopistas. Se houver discordância entre os dois microscopistas, recomenda-se a opinião de um terceiro.
Estudo da Segmentação de Neutrófilos	Contagem do número de lobos em 100 neutrófilos	Contagem de Arnetz: variação de até $\pm 5$ células entre as duas leituras para número de lobos $> 5\%$ . Média de Herbert: variação até $\pm 0,3$ lobos/neutrófilos na média, entre as duas leituras. Índice de Segmentação de Neutrófilos (ISN): variação de até $\pm 5\%$ entre as duas leituras para ISN. Se houver discordância entre os dois microscopistas, recomenda-se a opinião de um terceiro.
Mielograma	Contagem de pelo menos 300 células nucleadas e avaliação qualitativa da celularidade, contaminação e megacariócitos	Celularidade: concordância entre os dois observadores: hipocelular, normocelular, hipercelular. Contaminação com sangue periférico: concordância entre os dois observadores (escassa, moderada, intensa). Relação G/E: concordância entre os dois observadores (normal entre 2/1 a 4/1). Granulócitos: variação até $\pm 10$ células no total de células entre os dois observadores. Eritroblastos: variação até $\pm 10$ células no total de precursores eritróides, entre os dois observadores. Linfócitos (adultos): número normal (5 a 20%). Plasmócitos e Monócitos: concordância entre os dois observadores – ausentes, normal (1 a 3%), elevada ( $> 3\%$ ). Megacariócitos: normocelular, hipercelular, hipocelular. Conclusão: concordância morfológica e clínica (normal ou alterado) com concordância morfológica no alterado. Se houver discordância entre os dois microscopistas, recomenda-se a opinião de um terceiro.

Nota: Os limites aqui fornecidos são empíricos e podem ser modificados para mais ou para menos, a critério do laboratório.

## TABELAS PARA COMPARAÇÃO DA MICROSCOPIA E AUTOMAÇÃO

Embora este capítulo trate exclusivamente da comparação entre microscopistas, optou-se por abordar rapidamente esta sistemática de comparação entre microscopista e equipamento, por ser muito útil na rotina laboratorial.

Dorsey<sup>16</sup>, em 1963, elaborou a [tabela 6](#) para avaliar o total de leucócitos fornecidos pelo aparelho analisando em esfregaço corado frente ao número de leucócitos por campo, com aumento de 400X (sem óleo).

Tabela 6: Controle do número de Leucócitos, aumento 400 X	
Número médio de leucócitos por campo	Intervalo de leucócitos por mm <sup>3</sup>
2 a 4	4.000 – 7.000
4 a 6	7.000 – 10.000
6 a 10	10.000 – 13.000
10 a 20	13.000 – 18.000

Pode-se também avaliar números de leucócitos e plaquetas em esfregaço corado, com imersão em óleo e por mm<sup>3</sup> fornecidos pelo aparelho, conforme [tabela 7](#).

Tabela 7: Número de plaquetas e Leucócitos do aparelho avaliados pelo esfregaço corado (aumento de 1000X, com óleo) <sup>37</sup>		
Número médio de Plaquetas ou Leucócitos por campo (1000X)	Contagem Leucocitária em mm <sup>3</sup>	Contagem Plaquetária em mm <sup>3</sup>
1 a 4	2.000 - 8.000	30.000 – 60.000
4 a 6	8.000 – 12.000	60.000 – 90.000
6 a 10	12.000 - 20.000	90.000 - 150.000
10 a 20	20.000 – 40.000	150.000 – 300.000

Esta é uma comparação simples, na qual se pode avaliar as contagens totais de leucócitos e plaquetas, realizando a contagem no equipamento e por microscopia. Pode-se também verificar se eles têm correspondência com os apresentados nas Tabelas 6 e 7. Por exemplo, se ao ler as plaquetas de uma amostra o microscopista encontrou uma média de 9 plaquetas por campo, é esperado que o equipamento tenha dado uma leitura entre 90mil a 150mil plaquetas/mm<sup>3</sup>.

## RECOMENDAÇÕES PARA EXAMES SEM CONTROLE EXTERNO (SEM ENSAIO DE PROFICIÊNCIA)

O ensaio de proficiência é uma ferramenta de controle importante que permite a comparação com o mercado (outros laboratórios) de forma prática e contínua e agrega análises diferenciadas e muitas vezes difíceis de serem obtidas de outra forma. Assim, laboratórios devem priorizar a participação sempre que disponível.

Para exames ainda sem ensaio de proficiência, o laboratório deve criar na rotina metodologias alternativas (Programa Alternativo de Controle) para suprir esta deficiência. As metodologias alternativas recomendadas são:

1. Controle Duplo Cego: consiste em duplicar uma amostra. Estas são identificadas de formas diferentes e encaminhadas para análise. Guardar as lâminas, quando possível, documentar e registrar os resultados para comparação posterior da conformidade.

2. Comparação entre dois ou mais observadores independentes: usada principalmente em leituras de lâminas com diagnósticos de alta complexidade. Dois ou mais microscopistas realizam as leituras das mesmas lâminas, de forma independente, evitando que a leitura de um influencie a do outro, com o propósito de minimizar ou resolver as discordâncias. Guardar as lâminas, quando possível, documentar e registrar os achados para uso do coordenador e auditores da qualidade.
3. Uso de lâminas controle positiva e negativa: em técnicas com análise morfológica, o controle pode ser substancialmente melhorado através do uso de lâminas controle, positiva e/ou negativa, incluídas no meio da rotina. Guardar as lâminas controle, quando possível, documentar e registrar os achados para uso do coordenador e auditores da qualidade.
4. Controle Interlaboratorial: realizar periodicamente com um grupo de laboratórios conhecidos, se possível com o mesmo nível de qualidade, para avaliar exames de realização microscópica complexa. Guardar as lâminas, quando possível, documentar e registrar os achados para uso do coordenador e auditores da qualidade.
5. Apoio e intercâmbio morfológico: incentivar a consulta de atlas, Internet, intercâmbio entre os microscopistas do setor nos casos mais complexos, para apoio técnico e treinamento contínuo.
6. Correlação Clínica e Laboratorial: quando possível, realizar correlação do resultado com outros exames e dados clínicos do paciente para observar se há concordância entre os exames.

## CONCLUSÃO

A comparação entre microscopistas é importante para a padronização dentro do laboratório, especialmente pela variabilidade e subjetividade da análise.

Uma ação importante que visa diminuir estes componentes é o treinamento, este deve ser regular abrangendo reciclagem e novos conceitos.

Neste capítulo foram apresentadas algumas ferramentas estatísticas para comparação em microscopia, selecionadas por sua praticidade e simplicidade, para serem utilizadas por qualquer laboratório. Com isto, espera-se contribuir com um componente de objetividade na avaliação dos resultados comparados.

Pensando sempre em melhoria contínua, a comparação em microscopia é uma atividade importante que deve ser aplicada em todo laboratório para padronizar e melhorar a qualidade dos resultados dos exames disponibilizados para o paciente.

## EXEMPLO 1

### COMPARAÇÃO BASEADA NA TABELA DE RÜMKE

Um laboratório deseja avaliar a capacitação de um novo estagiário após um período de experiência inicial. O profissional recebe duas lâminas de rotina para realizar a contagem diferencial com 100 células (n) e uma única leitura por lâmina.

Para efeito de comparação o coordenador, um microscopista experiente e já capacitado, realiza três leituras independentes de cada uma das lâminas passadas ao iniciante, também com  $n = 100$ . As médias de cada tipo celular são calculadas, para posterior comparação com as contagens do estagiário, como demonstrado na [tabela E1.1](#).

**Tabela E1.1: Contagem diferencial de leucócitos do estagiário e coordenador (n=100).**

Leucócito	Média (%) do Coordenador (a) Lâmina 1	Estagiário (%) Lâmina 1	Média (%) do Coordenador (a) Lâmina 2	Estagiário (%) Lâmina 2
Bastonete	2	1	8	10
Segmentado	15	13	75	71
Eosinófilo	2	1	0	0
Basófilo	0	0	0	0
Linfócito	20	23	14	17
Monócito	1	0	3	2
Blasto	60	62	0	0

A média do coordenador corresponde à primeira coluna da tabela de Rümke (a), e espera-se que as contagens do estagiário estejam contidas nas faixas apresentadas para  $n = 100$ . Se o coordenador encontrou 2% de bastonetes da primeira lâmina, segundo a tabela 2, o estagiário terá uma contagem satisfatória se apresentar uma leitura entre 0% e 7%.

Assim, o coordenador pode concluir que, frente à sua leitura média, o estagiário apresentou leituras satisfatórias, dentro da faixa sugerida por Rümke.

## EXEMPLO 2

### COMPARAÇÃO BASEADA NA ESTATÍSTICA DE CHAUVENET

Um gestor seleciona três casos para avaliar a presença de *outliers* nas contagens de eritrócitos em urina, realizada em câmara de Neubauer por 5 microscopistas (4 experientes e 1 iniciante). A [tabela E2.1](#) abaixo resume os achados.

Tabela E2.1: Urina I - Contagem de eritrócitos (por ml) em câmara de Neubauer

Dado	Urina 1	Urina 2	Urina 3
Microscopista 1	9.800	7.000	19.000
Microscopista 2	9.500	6.700	17.000
Microscopista 3	10.000	6.000	19.000
Microscopista 4	9.100	6.000	18.000
Microscopista 5	6.700	3.300	6.000
Média	9.020	5.800	15.800
Desvio-Padrão	1.340	1.464	5.540
CV	14,8	25,2	35,0
Fator de Chauvenet para n = 5	1,65	1,65	1,65
Fator da Distribuição (média – menor valor)/DP	1,73	1,70	1,76
Intervalo de Chauvenet (média $\pm$ 1,65xSD)	6.808 a 11.231	3.383 a 8.216	6.657 a 24.942

Microscopistas 1 a 4 = experientes    Microscopista 5 = iniciante

As três leituras do microscopista 5 ficaram fora do intervalo de Chauvenet, o que demonstra que seus valores estavam deslocados dos demais microscopistas. Como esperado, o fator de distribuição foi maior que o Fator de Chauvenet. Os valores encontrados demonstram que este deslocamento está um pouco acima do aceito (1,65xDP), ainda abaixo de dois desvios padrões.

Conclui-se que o microscopista 5 (iniciante) necessita de mais treinamento para executar este exame, a fim de se equiparar aos outros 4 microscopistas.

## EXEMPLO 3

### COMPARAÇÃO BASEADA NO ESTUDO DE R&R

Três microscopistas da Citologia analisaram, em duplicata, cinco líquidos pleurais com predomínio linfocitário para avaliação da R&R. Para a análise da Repetitividade as leituras foram realizadas uma após a outra, com pequena diferença de tempo, no mesmo dia. Já as leituras para a Reprodutibilidade ocorreram, no dia seguinte. Os resultados das leituras microscópicas são descritos na [tabela E3.1](#). O estudo foi elaborado no Minitab 15 (*Gage R&R Study Crossed*), para um nível de confiança de 95% em todos os testes de hipóteses realizados.

**Tabela E3.1: Contagem de linfócitos (mm<sup>3</sup>) em cinco líquidos pleurais realizada em duplicata, por três microscopistas (M1, M2 e M3) no mesmo dia e no dia seguinte.**

Amostra	Microscopista	1º Dia	1º Dia	2º Dia	2º Dia
		1ª Medida	2ª Medida	1ª Medida	2ª Medida
1	M1	40	44	32	49
2	M1	98	95	92	110
3	M1	220	215	236	226
4	M1	120	118	135	129
5	M1	180	192	201	171
1	M2	36	25	31	48
2	M2	90	87	99	102
3	M2	233	210	241	205
4	M2	124	105	110	119
5	M2	184	136	195	192
1	M3	32	55	32	45
2	M3	99	114	98	101
3	M3	223	248	235	229
4	M3	125	135	120	126
5	M3	195	165	191	165

A [tabela E3.2](#) apresenta o resumo estatístico do estudo. A análise da ANOVA com interação demonstrou não haver interação entre amostra e microscopista (valor  $p > 0,05$ ) e o estudo foi refeito com ANOVA sem interação. Neste novo estudo a diferença entre microscopistas não foi significativa (valor  $p > 0,05$ ), demonstrando homogeneidade entre as leituras dos microscopistas.

Ao analisar os componentes de variação ([tabela E3.2](#) e gráfico *Components of variation* da [figura E3.1](#)), nota-se que a variação total tem forte influência da amostra (98,62%). O percentual de variação total da repetitividade e reprodutibilidade é de 16,57%.

**Tabela E3.2: Achados estatísticos do estudo R&R.**

ANOVA	Valor p	Interpretação
<b>ANOVA com interação:</b>		
Diferença entre amostras	0,000	Significativa
Diferença entre microscopistas	0,011	Significativa
Diferença na interação microscopistas - amostras	0,967	Não significativa
<b>ANOVA sem interação:</b>		
Diferença entre amostras	0,000	Significativa
Diferença entre microscopistas	0,079	Não Significativa
<b>Variação</b>		<b>Resultado</b>
<b>Contribuição da variação (variância):</b>		
Contribuição da variação da Repetitividade		2,54%
Contribuição da variação da Reprodutibilidade		0,21%
Contribuição da variação de amostra		97,25%
<b>Porcentagem de variação total (desvio padrão):</b>		
Repetitividade e Reprodutibilidade *R&R)		16,57%
Repetitividade		15,93%
Reprodutibilidade		4,59%
Microscopista		4,59%
Amostra		98,62%



A **Figura E3.1** apresenta os gráficos resultantes da análise. O gráfico de amplitude (R Chart) apresenta uma dispersão entre os dados dentro do intervalo de controle e bem próximo entre M1 e M3, com alguma diferença para o M2, embora insignificante frente à análise do valor p anterior. O gráfico por amostra, que demonstra proximidade entre os resultados para cada amostra e capacidade de identificar as diferenças de cada uma. Finalmente, o gráfico por microscopista, que apresenta médias muito próximas entre microscopistas.

O gráfico de interação demonstra linhas sobrepostas, confirmando a ausência de interação que pudesse contribuir para a variação nas contagens. O gráfico das médias (Xbar) novamente demonstra o comportamento similar entre as médias dos microscopistas, com variação das amostras significativamente maior que a repetitividade do processo (intervalo de controle), conforme esperado para um processo com bom desempenho.

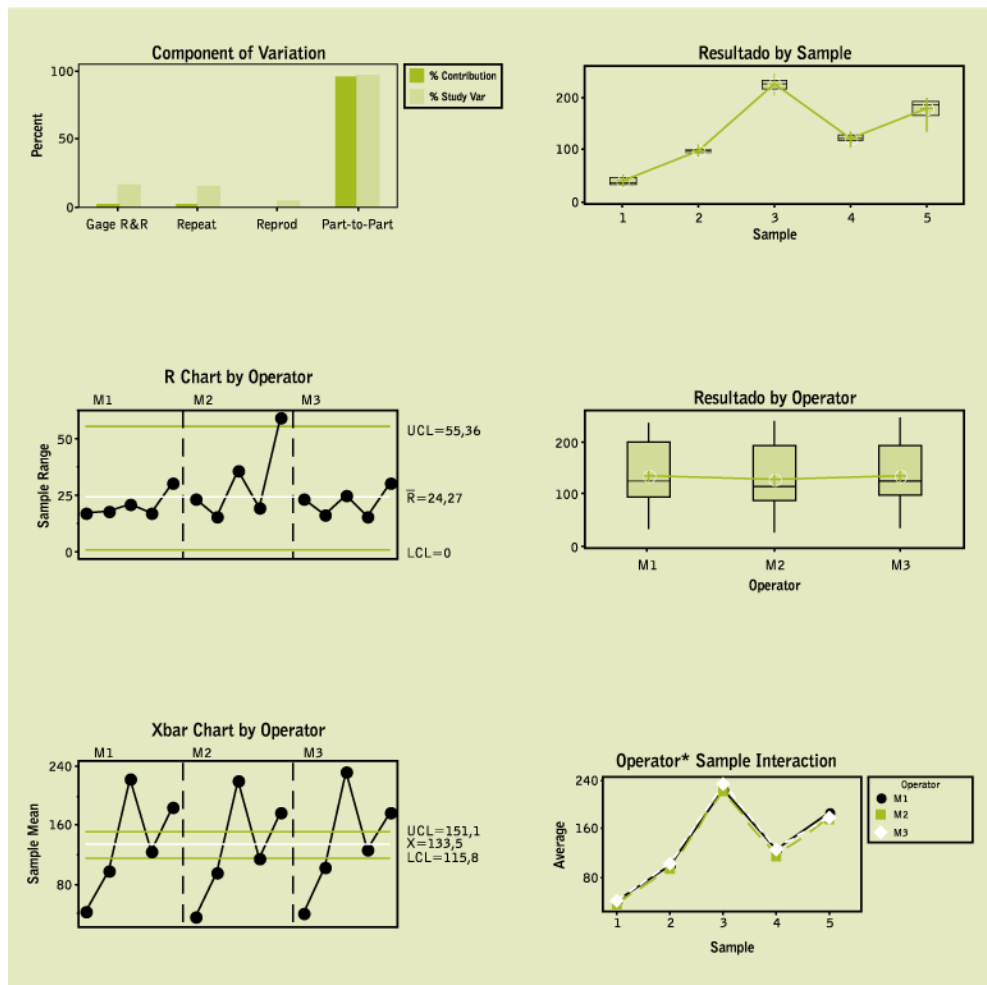


Figura E3.1: gráficos R&R.

## EXEMPLO 4

### COMPARAÇÃO BASEADA NO KAPPA DE COHEN

Dois microscopistas de um laboratório analisaram 10 amostras de protoparasitológicos para investigar a presença ou ausência de helminto nas fezes. Na tabela E4.1 são apresentados os resultados das análises e na figura E4.1 a Matriz de Comparação e os cálculos para obtenção do valor Kappa.

**Tabela E4.1: Resultados das análises de 10 protoparasitológicos examinados por dois microscopistas na pesquisa de helmintos**

Amostra	Observador 1	Observador 2	Amostra	Observador 1	Observador 2
1	Com	Com	6	Sem	Com
2	Com	Com	7	Sem	Sem
3	Sem	Com	8	Com	Com
4	Com	Com	9	Com	Com
5	Com	Com	10	Com	Com

Com = amostra com helminto ; Sem = amostra sem helminto

Comparando o valor Kappa calculado (0,41117), com a classificação apresentada na tabela 4, pode-se concluir haver uma concordância moderada, cabendo ao laboratório definir se este grau de concordância é satisfatório ou não.

Matriz de comparação		Observador 2		Total
		Casos com helminto	Casos sem helminto	
Observador 1	Casos com helminto	7	0	7
	Casos sem helminto	2	1	3
Total		9	1	N

**Cálculos:**  
 Concordância observada (CO) =  $(7+1)/10 = 0,8$   
 Concordância esperada (CE) =  $[(9/10) \times (7/10)] + [(1/10) \times (3/10)] = 0,66$   
 Kappa (K) =  $(CO-CE)/(1-CE) = (0,8-0,66)/(1-0,66) = 0,4117$

Figura E4.1: Matriz de Comparação e Cálculo do Valor Kappa

## EXEMPLO 5

## COMPARAÇÃO BASEADA NO KAPPA DE FLEISS

Na validação de uma nova coloração bacteriológica, dois microscopistas experientes realizaram 30 leituras de forma independente e em duplicata, de esfregaços de materiais biológicos corados com o corante tradicional (padrão ouro) e o novo corante em análise. O estudo estatístico dos resultados foi realizado pelo software Minitab 15 (*Attribute Agreement Analysis*), considerando-se zero (0) a leitura negativa e um (1) a positiva, conforme [tabela E5.1](#).

Tabela E5.1: Resultados das leituras microscópicas negativas (0) e positivas (1)

Lâmina	M1 Leitura 1	M1 Leitura 2	M2 Leitura 1	M2 Leitura 2	Padrão
1	1	1	1	1	1
2	0	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	1	0	0
7	1	1	1	1	1
8	0	0	0	0	0
9	1	1	1	1	1
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	1	1	1	0	1
13	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0
21	1	1	1	1	1
22	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0
30	1	1	1	1	1

Microscopista 1 = M1, Microscopista 2 = M2, Padrão = coloração tradicional

Como os resultados das leituras são qualitativos foi utilizado o coeficiente Kappa para verificar o grau de concordância entre as leituras dos microscopistas. Seis comparações foram realizadas calculando-se o valor de Kappa e testes de hipóteses foram feitos para verificar a significância dos mesmos.

Se o valor p encontrado for menor que o nível de significância  $p = 0,05$ , aceita-se a hipótese alternativa ( $H_a$ ) de que existe concordância entre as leituras dos microscopistas (entre si mesmo, entre um e outro e entre eles e o padrão) e rejeita-se a hipótese nula ( $H_0$ ) de que não existe concordância.

Na [figura E5.1](#) apresenta a concordância entre microscopistas (*appraisers*) e microscopistas versus padrão (*standard*). Na [tabela E5.2](#) é apresentado o resumo dos achados estatísticos de R&R por atributos (dados não quantitativos).

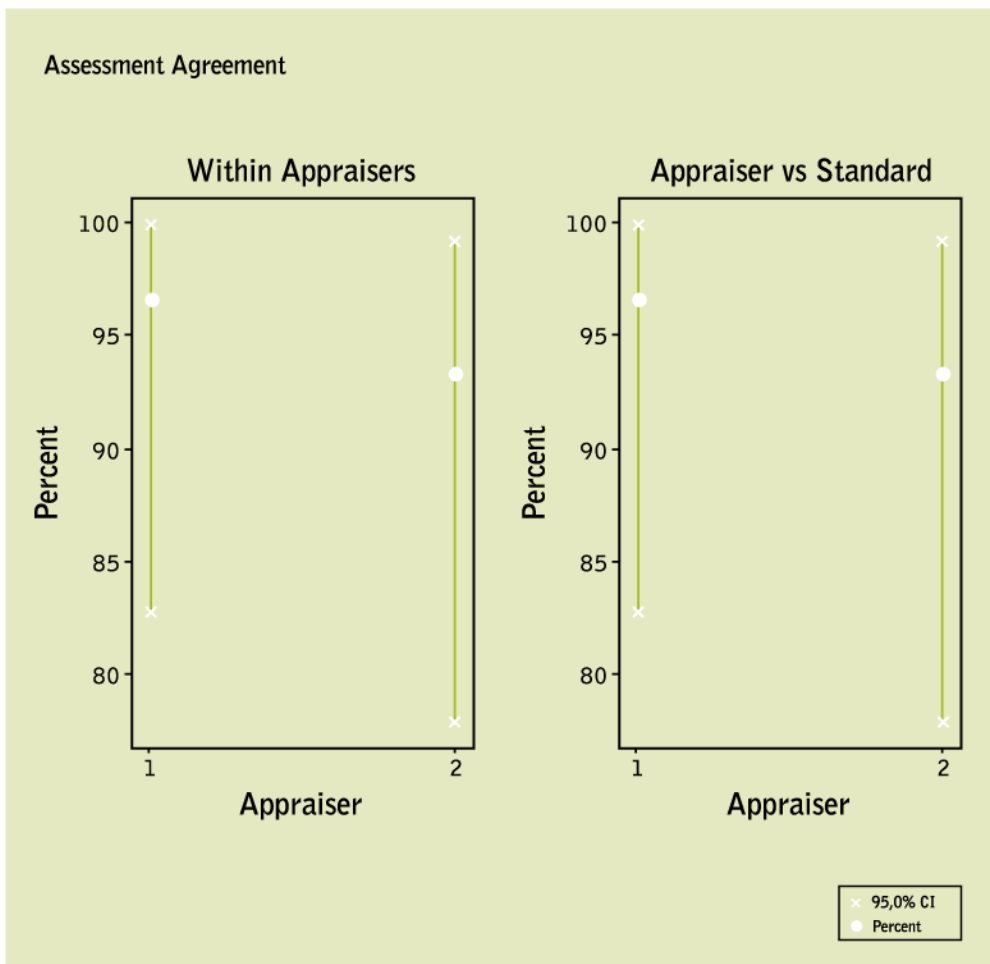


Figura E5.1: Concordância entre microscopistas e entre microscopistas e padrão

Tabela E5.2: R&amp;R - Análise por atributos. Achados estatísticos das leituras microscópicas.

Análise	Coeficiente Kappa	Valor p	Concordância		Concordância esperada* (%)
			N	%	
<b>Microscopista contra si mesmo</b>					
M1 x M1	0,90180	0,0	29	96,67	82,78-99,92
M2 x M2	0,79166		28	93,33	77,93-99,18
<b>Microscopista vs padrão</b>					
M1 x P	0,950900	0,0	29	96,67	82,78-99,92
M2 x P	0,895242		28	93,33	77,93-99,18
<b>Entre os dois microscopistas</b>					
M1 x M2	0,848421	0,0	27	90,0	73,47-97,89
<b>Microscopistas x Padrão</b>					
M1.M2 x P	0,923071	0,0	27	90,0	73,47- 97,89

N = total de concordâncias frente ao total de amostras analisadas

\* Nível de Confiança de 95%

Os percentuais de concordância apresentados na [figura E5.1](#) demonstram estar dentro dos percentuais esperados. Nas seis comparações, o coeficiente Kappa calculado foi alto suficiente para que a hipótese nula ( $H_0$ ) fosse sempre rejeitada (valor  $p = 0,0$  em todos os casos) e aceitar a hipótese alternativa ( $H_a$ ). Portanto, existe concordância entre as leituras dos microscopistas em todas as variáveis analisadas (entre si e entre eles e o padrão), o corante novo passou no teste e os microscopistas possuem boa R&R.

Este exemplo tratou de validar um novo corante. Contudo, poderia ter sido realizado sem variar o corante para avaliar o desempenho dos dois microscopistas (Repetitividade e Reprodutibilidade – R&R).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tuberculosis part II: Microscopy Quality Control. Weyer K. SA HealthInfo, 2006.
2. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute – Body Fluid Analysis for Cellular Composition; Approved Guideline – H56-A, Vol.26 No.26
3. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute – Urinalysis; Approved Guideline – Third Edition – GP16-A3, Vol.29 No.4
4. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute – Reference Leukocyte (WBC) Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods; Approved Standard – Second Edition. H20-A2, Vol. 27 No.4
5. Standardization and quality control of quantitative microscopy in pathology. Becker Jr. R.L. Journal of Cellular Biochemistry; 53:199-204, 2004.
6. Microscopy Quality Control in Médecins Sans Frontières Programs in Resource-Limited Settings Klarkowski D.B. PloS Med 7(1):e1000206,2010.
7. Hematologia Prática. Lewis S.M., Bain B.J. 9ª Edição Artmed Editora, 2006. p.511-521.
8. Bone Marrow Pathology. Foucar K. ASCP Press, 2001. p. 46-54.
9. Informal Consultation on quality control of malaria microscopy. World Health Organization. Geneva 03/03/2006.
10. Variability of results in differential counts on blood smears. Rümke, C.L. Triangle, 4:156, 1960.
11. Clinical and Diagnosis Management by Laboratory Methods. Henry, J.B. 19 th edition, 1996. W.B. Saunders Company, p.582-584.
12. Lynch's Medical Laboratory Technology. Raphael, S.S. Igaku-Shoin/ Saunders International Edition. W.B. Saunders Company. 1983, p.47-48.
13. Desvendando o Minitab. Campos, M.S. Qualitymark Editora Ltda, Rio de Janeiro, p.129-142, 2003.
14. The measurement of observer agreement for categorical data. Landis JR, Koch GG. Biometrics 1977; 33:159-174.
15. Understanding interobserver agreement: The Kappa Statistic. Vieira, A.J., Garrett, J.M. Farm Med 2005; 37(5): 360-363.
16. Quality control in hematology. Dorsey, D.B. Am.J.Clin.Pathol. 40:457-464, 1963.
17. Hematology: a combined theoretical & technical approach. Simmons, A. Philadelphia, W.B. Saunders, 1989, p. 191.
18. Laboratório de Epidemiologia e Estatística do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Análise de Concordância Kappa. São Paulo, Brasil; Disponível em <http://www.lee.dante.br/pesquisa/kappa/index.html> . Consulta efetuada em 28/06/2010.



## Capítulo 5

# INDICADORES DE DESEMPENHO DA FASE ANALÍTICA

Uma das frases mais lúcidas e conhecidas em administração é “Quem não mede não gerencia”, profetizada por Kaoru Ishikawa, um dos mais célebres gurus da qualidade. Verdadeiramente, sem medir o desempenho de nossos principais processos, qualquer decisão a ser tomada fica baseada apenas em impressões ao invés de dados, comprometendo o sucesso do processo decisório e, por vezes, do negócio como um todo.

Um sistema de medição de desempenho adequadamente estruturado em uma empresa permite a tomada de decisão baseada em fatos e dados, isto é, respaldada por informações que representem com adequada exatidão o real desempenho dos processos, ampliando a probabilidade de êxito do processo gerencial.

As primeiras iniciativas ligadas ao monitoramento de desempenho no laboratório clínico foram identificadas no final da década de 1980, nos Estados Unidos, predominantemente impulsionadas por requisitos de agências regulatórias e acreditadoras<sup>1</sup>, tais como CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*) e a JCAHO (*Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations*), por exemplo. A partir destas iniciativas, uma tendência para o desenvolvimento e implementação de um sistema de medição de desempenho baseado em indicadores, principalmente visando a melhoria do nível de qualidade dos serviços oferecidos aos clientes, pode ser identificada nos laboratórios clínicos.

De forma genérica e simplificada, os indicadores de desempenho de uma empresa podem ser estratificados em três diferentes níveis: estratégico, tático/gerenciais e operacionais.

Indicadores estratégicos focam nos objetivos “de alto nível” da organização, frequentemente relacionados a aspectos de mercado, avaliando as condições da empresa em competir no mesmo (participação de mercado etc.). Indicadores táticos avaliam aspectos internos da organização, mais fortemente ligados às operações e utilização dos recursos da empresa (produtividade, rotatividade de pessoal etc.). Por sua vez, os indicadores operacionais estão focados no desempenho dos processos de negócio, monitorando a capacidade destes em atender aos requisitos exigidos pelos clientes e demais partes interessadas.

Os indicadores operacionais, mais especificamente os relacionados à fase analítica do processo nos laboratórios clínicos, serão o foco deste capítulo.





## PROCESSOS

Não existe um produto ou serviço oferecido por uma empresa que não tenha sido gerado a partir de um processo<sup>2</sup>. Processo pode ser definido como uma atividade ou um conjunto destas que utiliza insumos (recursos), adiciona valor a estes, gerando um produto ou serviço que será oferecido a clientes específicos.

No laboratório clínico o principal processo de negócio pode ser dividido em três diferentes etapas: obtenção de uma amostra biológica (espécime diagnóstico), seu processamento analítico e liberação de resultado laboratorial correspondente. Estas diferentes etapas são frequentemente denominadas Fase Pré-Analítica, Fase Analítica e Fase Pós-Analítica, respectivamente.

Embora o foco deste capítulo seja o monitoramento de desempenho da fase analítica, cabe salientar que, segundo estudos que têm sido publicados na última década<sup>3</sup>, a fase Pré-analítica é a mais sujeita a erros (cerca de 60% dos erros identificados no laboratório), seguida pela fase Pós-analítica (19 a 47% dos erros) e depois pela fase analítica (menos de 15% dos erros). Essa probabilidade menor de erros na fase analítica pode ser explicada por vários fatores, entre eles a constante evolução tecnológica dos laboratórios clínicos nas últimas décadas, permitindo maior padronização e controle dos procedimentos analíticos. Cabe salientar, entretanto, que essa previsão de melhor desempenho da fase analítica está associada à premissa de utilização de sistemas analíticos fechados (reagentes, calibradores e controles validados previamente pelo fabricante para utilização em sistema analítico específico). Adicionalmente, devemos mencionar que, para obter um desempenho analítico conforme o citado em literatura, devemos ter atenção especial aos fatores citados nos capítulos anteriores deste livro, tais como aspectos de seleção e validação dos sistemas analíticos, por exemplo.

Mesmo com todos estes aspectos e premissas respeitados, em razão do desempenho da fase analítica do processo no laboratório clínico estar diretamente relacionado à qualidade do produto oferecido aos pacientes e, assim, impactando diretamente na satisfação destes clientes, esta fase deve ser continuamente monitorada.

## INDICADORES DE DESEMPENHO

Indicadores são dados numéricos (métrica) que, quando obtidos de forma padronizada e confiável, permitem avaliar o desempenho de um processo frente a um desempenho esperado (meta). Via de regra, indicadores de desempenho de processos objetivam identificar possíveis inconsistências ou oportunidades de melhoria no desempenho dos processos, permitindo intervenções visando manutenção ou melhoria no atendimento dos requisitos dos clientes.

Para que possa exercer a sua função com plenitude, um bom indicador de desempenho deve atender a algumas características essenciais:

- Um indicador de desempenho deve ser específico. Um indicador deve monitorar uma característica ou métrica específica de um processo, viabilizando a padronização adequada da coleta dos dados e a análise dos resultados.
- Um indicador de desempenho deve ser mensurável. Se não há como medir efetivamente a característica pretendida em um determinado processo, não há como gerar dados visando ao seu monitoramento.
- Um indicador de desempenho deve ser representativo. Um bom indicador deve avaliar o processo de forma representativa, isto é, utilizando métrica de desempenho que seja aplicável para a ampla maioria dos produtos gerados e para toda a amplitude do período de operação do processo avaliado.

- Um indicador de desempenho deve permitir ações de melhoria nos processos. A principal função de um indicador é identificar oportunidades de melhoria de desempenho. Assim, um bom indicador deve permitir de forma clara e objetiva a necessidade de intervenções em um processo, com a utilização de metas que permitam essa visualização de níveis críticos de desempenho.
- Todo indicador de desempenho deve ter uma meta. Monitorar desempenho sem uma meta para confrontar esse desempenho inviabiliza intervenções nos processos, contrariando a sua principal função que é a de gerar oportunidades de melhoria. A definição de uma meta para desempenho de um processo deve ser criteriosa, podendo ser baseada em histórico anterior do mesmo processo, recomendações de literatura ou, conforme atualmente é mais recomendado, baseado em informações comparativas (*Benchmarking*). O assunto será detalhado neste capítulo.
- Um indicador deve monitorar processos controlados. Indicadores somente são úteis no monitoramento de desempenho de processos sob controle, isto é, adequadamente padronizados e controlados, sendo sujeitos apenas a causas aleatórias de variação. Monitorar processos ainda não adequadamente controlados implica em análises pouco confiáveis e tomada de decisão sem adequada efetividade.
- Um indicador deve ser fácil de entender e acordado entre as partes. Um indicador ideal deve permitir que qualquer pessoa envolvida com o processo seja capaz de analisar o mesmo e identificar possíveis necessidades de melhoria de desempenho. Adicionalmente, um indicador, antes de ser implementado, deve ter o acordo de todas as partes envolvidas com o processo a ser monitorado. Isso é essencial para que todas estas partes identifiquem prontamente as necessidades de aprimoramento no processo e estejam adequadamente comprometidas com as melhorias.

## INDICADORES NO LABORATÓRIO

A tarefa crítica no monitoramento de processos é a seleção dos indicadores mais adequados a serem monitorados. Nesse momento torna-se oportuno lembrar o objetivo primordial para monitorar processos: verificar o atendimento dos requisitos/necessidades dos clientes.

Assim, para assegurar que os processos estão atendendo adequadamente às necessidades dos nossos clientes, é preciso primeiramente identificar o que estes últimos esperam do laboratório clínico.

Pode-se resumir os requisitos dos clientes quanto a um determinado produto ou serviço através de três diferentes dimensões: qualidade, prazo e preço. Traduzindo essas dimensões para a visão de processos, dois aspectos são identificados para avaliar o desempenho deste: eficácia (qualidade) e eficiência (prazo e custo).

Eficácia pode ser identificada pela capacidade do processo em gerar produtos ou serviços dentro das especificações, isto é, que atenda às exigências dos clientes. Eficiência está relacionada à adequada utilização de recursos pelos processos, visando também o atendimento das exigências dos clientes.

Resumindo: exclusivamente falando do processo analítico, o que o cliente espera do laboratório clínico?

Provavelmente a resposta mais adequada seria: resultado laboratorial correto, entregue no menor prazo possível e com adequado preço. Entendendo o atendimento das necessidades dos clientes como a função primordial dos processos e o monitoramento desse atendimento como essencial para garantir a competitividade do laboratório clínico, pode-se utilizar esses requisitos dos clientes como base para a seleção de indicadores de desempenho da fase analítica no laboratório clínico.

A seguir serão exploradas possibilidades de indicadores de desempenho para monitorar a fase analítica no laboratório clínico.

## INDICADORES DE QUALIDADE ANALÍTICA

A qualidade analítica pode ser traduzida como a capacidade de fornecer resultados laboratoriais compatíveis com a condição clínica do paciente. Na prática laboratorial isso pode ser obtido pela liberação de resultados laboratoriais dentro de padrões pré-estabelecidos de exatidão e precisão.

Exatidão pode ser entendida como a capacidade do método ou processo em obter, para determinado analito, resultados idênticos ao real existente na amostra biológica em análise.

Precisão pode ser entendida como a capacidade do método ou processo em reproduzir adequadamente resultados, para determinado analito, em determinações distintas.

Como avaliar na prática essas características?

### IMPRECISÃO ANALÍTICA

A precisão analítica é comumente avaliada via procedimentos denominados “Controle de Qualidade”, ou como geralmente é reconhecido: “Controle de Qualidade Interno”. Estes procedimentos incluem o processamento de amostras controle, na maioria das vezes com valores conhecidos do analito em questão, em paralelo às amostras de pacientes. Os resultados dessas amostras são inseridos em gráficos de controle, onde são avaliados frente a limites de aceitação pré-estabelecidos. Analisadas de forma periódica, o processamento das amostras controle permite avaliar, em um determinado período, a imprecisão do método utilizado para o analito em questão, isto é, a sua reprodutibilidade. Como monitorar a imprecisão dos métodos utilizados em nosso laboratório? Conforme foi citado anteriormente, através de indicadores.

Resultados laboratoriais quantitativos apresentam comumente uma distribuição normal (curva de *gauss*) e, por isso, pode-se adotar como medida de tendência central a média aritmética e como medida de dispersão o desvio-padrão e o coeficiente de variação (CV).

As principais características estatísticas utilizadas na avaliação da imprecisão analítica e as fórmulas mais utilizadas estão descritas na [Figura 1](#).

Média Aritmética	$\bar{\chi} = \frac{\chi_1 + \chi_2 + \dots + \chi_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \chi_i$
Desvio Padrão	$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\chi_i - \bar{\chi})^2}$
Coeficiente de Variação	$CV = (s / \bar{\chi}) \times 100$
Onde	$\chi_i$ = cada dado / evento individual $\bar{\chi}$ = média aritmética dos valores de $\chi_i$ $n$ = n° de eventos / dados $s$ = desvio padrão

Figura 1: Fórmulas Básicas

O coeficiente de variação (CV) exibe, geralmente de forma percentual, a imprecisão do método em determinações distintas.

Assim, uma boa prática de gerenciamento da fase analítica deve incluir avaliação periódica dos CV dos ensaios laboratoriais realizados, o que pode ser padronizado com um indicador relacionado a essa característica.

Passo a passo:

- Identificar o ensaio/analito a monitorar.
- Identificar a periodicidade de monitoração (Ex.: analitos realizados diariamente podem ter ciclo de avaliação mensal; analitos processados com menor frequência podem ter ciclos mais amplos).
- Calcular o CV para o período de monitoração definido, por nível de concentração do analito (de acordo com a amostra controle utilizada). Deve-se ter atenção ao tamanho da amostra utilizada para cálculo do CV, visto que um número pequeno de dados implica em maior erro estatístico e, conseqüentemente, em inconsistência do indicador. Normalmente são necessários ao menos 20 resultados de corridas analíticas distintas para o cálculo de CV do ensaio.
- Inserir os valores de CV do analito em gráfico (tipo barras, por exemplo), no eixo "Y", plotando o período de coleta dos dados no eixo "X".
- Sinalizar no gráfico o valor meta para CV do analito em questão, permitindo análise crítica dos valores obtidos na rotina e identificação de necessidade de melhoria no processo correspondente.

A **Figura 2** apresenta um modelo de gráfico de barras para monitoração do indicador de imprecisão de um laboratório que realiza TSH (tirotropina) diariamente, utiliza dois níveis de controle interno e determinou um indicador de imprecisão mensal, cuja meta era não ultrapassar um CV médio de 4,8%, baseada na variação biológica para performance ótima<sup>19</sup>.

Os resultados apresentados neste exemplo demonstram que até maio o ensaio estava dentro da meta proposta.

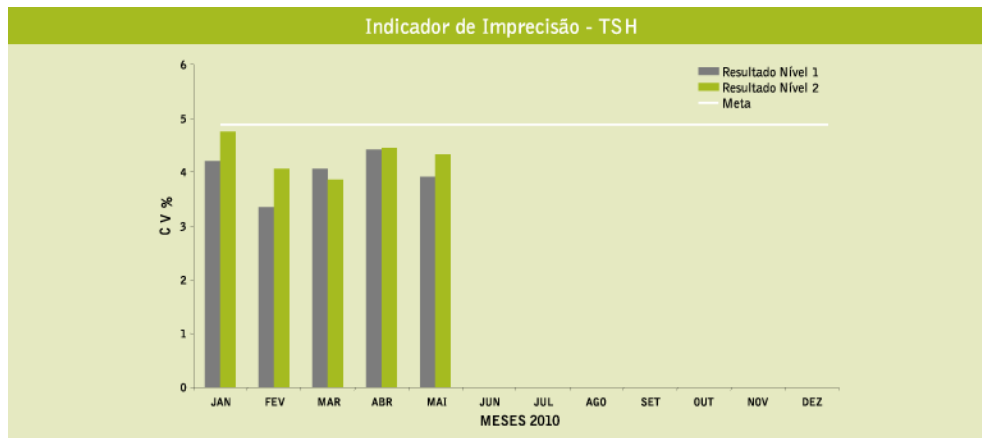


Figura 2: Exemplo de Gráfico para Indicador de Imprecisão

Outra apresentação complementar ao indicador anteriormente mencionado é uma consolidação deste para um grupo de ensaios/analitos. Pode-se gerar e monitorar um indicador que avalie o CV de um perfil de ensaios ou de ensaios realizados em uma determinada área do laboratório. Neste caso, gera-se um indicador que controla o percentual de ensaios que apresentam seu CV dentro dos limites pré-estabelecidos para os mesmos.

Passo a passo:

- Identificar o grupo de ensaios/analitos a monitorar.
- Identificar a periodicidade de monitoração (geralmente mensal).
- Contar o número de ensaios que apresentaram CV dentro dos limites pré-estabelecidos no período em questão.
- Calcular o percentual de ensaios que apresentaram CV dentro dos limites.
- Inserir o percentual em gráfico (tipo barras, por exemplo), colocando no eixo "Y" o percentual de adequação e plotando o período de coleta dos dados no eixo "X".

A apresentação alternativa para o indicador de imprecisão analítica não dispensa o monitoramento da imprecisão via indicador de desempenho inicialmente abordado, visto que esta última apresentação não tem detalhamento do CV por analito, o que é uma análise essencial para o laboratório clínico.

A **Figura 3** apresenta um modelo de gráfico de barras para monitoração do indicador geral de imprecisão do setor de Bioquímica de um laboratório, que inclui todos os controles internos realizados pelo setor. Considerando que para este indicador a meta era manter 90% dos analitos dentro das metas de imprecisão individual de cada um, pode-se concluir que a meta do setor foi alcançada em todos os meses monitorados.

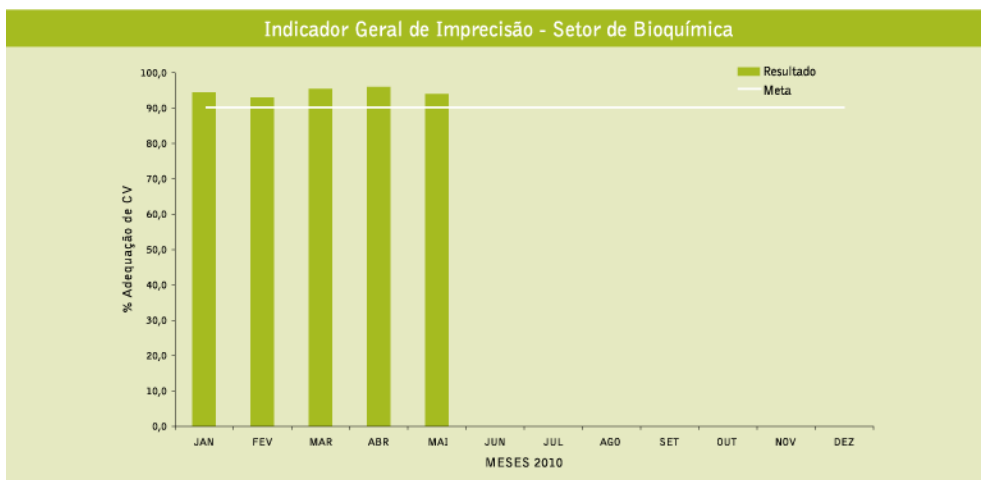


Figura 3: Exemplo de Gráfico para Indicador Geral de Imprecisão

Uma alternativa aos gráficos é o monitoramento da imprecisão analítica com utilização de tabela. Nessa tabela pode-se ter os analitos listados numa primeira coluna e os dados de CV apresentados nas demais colunas, conforme a periodicidade de monitoração adotada.

Para facilitar a visualização dos analitos com desempenho inaceitável em termos de imprecisão e a identificação da necessidade de intervenção/ melhoria no processo, sugere-se a apresentação dos dados de CV em cores distintas, de acordo com o atendimento ou não das metas de CV específicas para cada analito.

Por fim, cabe salientar que os exemplos citados neste tópico são adequados para a ampla maioria dos ensaios quantitativos, entretanto, alguns ensaios que não apresentam o comportamento quantitativo podem ser facilmente normalizados, como o caso de crescimento bacteriano e biologia molecular, quando aplicado logaritmo. Outros, como contagem microscópica em pequenas quantidades, não têm esta possibilidade e devem ser analisados e acompanhados de forma específica. Para estes o indicador de imprecisão proposto não se aplica.

## INEXATIDÃO ANALÍTICA

A inexactidão analítica, via de regra, é avaliada via procedimentos denominados “Ensaio de Proficiência” ou alternativas similares.

Programas de Ensaio de Proficiência (EP) avaliam o desempenho analítico do laboratório em comparação com outros laboratórios, padrões de referência e/ou laboratórios de referência<sup>4</sup>. Essa sistemática serve como uma validação externa da qualidade dos resultados laboratoriais, avaliando a exatidão desses resultados, beneficiando os clientes do laboratório e a própria empresa.

Na prática, ensaios de proficiência envolvem o recebimento de materiais para análise de valores desconhecidos, que devem ser processados pelo laboratório avaliado nas mesmas condições aplicadas às amostras de pacientes. Os resultados obtidos para esses materiais controle são enviados ao provedor do programa.

Cada laboratório é avaliado comparando-se seu resultado frente à média do seu grupo de comparação. De acordo com o desvio (diferença entre o resultado do laboratório e a média do grupo de laboratórios comparados) apresentado pelo laboratório avaliado para esta amostra controle, o resultado é classificado como aceitável ou não.

Vários programas de proficiência estão disponíveis no mundo. No Brasil, podemos destacar os Ensaio de Proficiência da ControlLab.

Uma boa prática com relação aos EP é manter um indicador que permita avaliar de forma global e sistêmica o desempenho do laboratório frente a estes programas. Embora o indicador não substitua a necessidade de avaliar criteriosamente cada resultado do EP, este permite ao gestor uma visão ampliada do nível de qualidade dos processos analíticos do laboratório, que pode detectar oportunidades de melhoria nos mesmos para manter e ampliar a qualidade oferecida aos clientes.

Um indicador de desempenho básico e que reflita o desempenho do laboratório é extremamente simples de ser implementado.

Passo a passo:

- Identificar quais ensaios/analitos a monitorar (que estão sendo avaliados periodicamente por programas EP ou por comparação alternativa com outros laboratórios).
- Identificar qual a visão gerencial que se deseja ter quanto a estes ensaios: agrupados por setor técnico, por perfil de testes, por módulo do EP etc.
- Identificar a periodicidade de monitoração com atenção para a representatividade do indicador frente à quantidade de análises envolvidas. Recomenda-se ter ao menos 20 resultados no período.
- Identificar o número de resultados aceitáveis e não aceitáveis nas avaliações por grupamento e periodicidade definida.
- Inserir percentual de resultados aceitáveis (frente ao total avaliado) em gráfico (tipo barras, por exemplo), colocando no eixo “Y” o percentual de adequação e plotando o período de coleta dos dados no eixo “X” (ciclos de avaliação do programa).
- Determinar uma meta a ser alcançada. Os programas de proficiência costumam fornecer uma meta de desempenho global para o laboratório, pela qual estes são avaliados como proficientes ou não ao final de um período pré-determinado de avaliação. Boas práticas, entretanto, sugerem que, dentro de suas capacidades e estratégias específicas, os laboratórios desenvolvam metas próprias que podem vir a ser mais exigentes para estas avaliações, estimulando processos de melhoria contínua.

A Figura 4 apresenta um modelo de gráfico de barras para monitoração do indicador de inexactidão do setor de Imunoquímica de um laboratório. Neste indicador são monitorados 20 ensaios, trimestralmente. O EP adotado ocorre em ciclos trimestrais e para cada ensaio remete três materiais, o que resulta em 60 resultados a cada período. O laboratório adotou como meta 80%, baseado nos critérios da ANVISA/GGLAS 02/43 e obteve desempenho dentro do esperado no período analisado. Contudo, seu desempenho demonstra que esta meta pode ser mais alta, o que chama a atenção para a necessidade de revê-la.

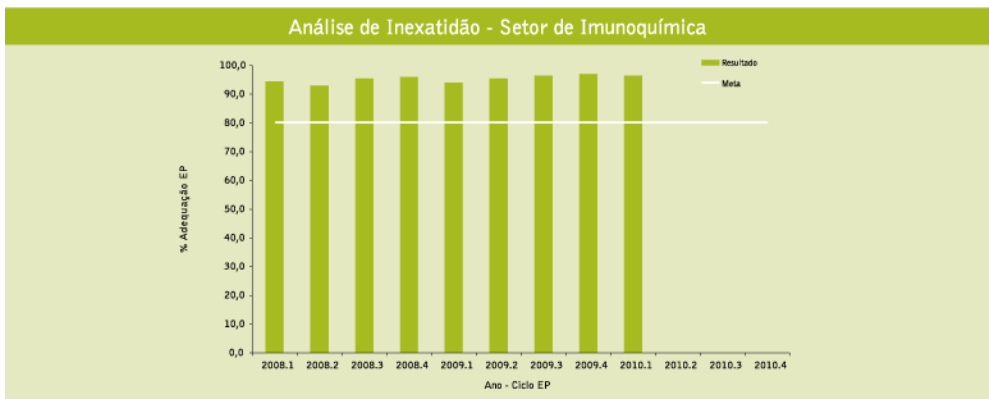


Figura 4: Exemplo de Gráfico para Indicador de Inexactidão

Neste momento cabe enfatizar uma questão importante. Embora o indicador acima descrito, que monitora o percentual de adequação dos testes laboratoriais em ensaios de proficiência, seja eficiente para a análise crítica da inexactidão analítica, o mesmo não pode ser considerado como suficiente para resolver todas as questões relativas ao tema.

Por exemplo, imagine uma situação em que um laboratório obtenha 98% de adequação em ensaios de proficiência ao longo dos últimos seis meses. Entretanto, os 2% de inadequação foram identificados sempre para um mesmo ensaio e, mais especificamente, para um mesmo nível de concentração do analito. Nesse caso, pode-se considerar que os 98% de adequação são suficientes para assegurar que a inexactidão analítica dos testes nesse laboratório estão sob controle? Evidentemente que não.

Qual a consequência disso? Não se pode monitorar apenas o percentual de adequação dos ensaios nos ensaios de proficiência. Embora essa visão gerencial sistêmica seja muito útil, é preciso complementá-la com uma análise mais profunda, analito a analito, visando detectar problemas pontuais de inexactidão analítica, que podem estar “mascarados” na visão mais ampla do indicador anteriormente descrito.

Os provedores costumam apresentar relatórios consolidados frente ao nível de desempenho do laboratório. A ControlLab, por exemplo, possui um relatório cumulativo que apresenta para cada ensaio as avaliações (adequados e inadequados e o grau de acerto por ensaio), que pode ser a fonte de dados para o cálculo do indicador anteriormente proposto. Existe também o relatório gerencial, que acumula anualmente as avaliações do laboratório e apresenta o total de ensaios avaliados, o percentual de ensaios que atingiram o grau de desempenho determinado pela ANVISA/REBLAS e o percentual de ensaios que ficaram fora (estes também são listados no relatório). Este relatório oferece uma opção ao indicador proposto, que identifica quantos ensaios apresentam maior incidência de erro.

Um indicador que pode auxiliar no monitoramento dos resultados do EP, oferecendo uma visão mais profunda dos resultados, é o indicador de SDI. Este, na verdade, extrapola o conceito tradicional de indicador, que é o de fornecer uma visão mais ampla e gerencial do desempenho de um processo.



Isso porque o mesmo indicador não é único, mas sim um conjunto de vários indicadores analíticos de inexatidão, um para cada analito avaliado.

Antes de exemplificar a formatação desse indicador, é necessário esclarecer o significado do termo SDI. Trata-se de um índice utilizado para normalizar os resultados do Ensaio de Proficiência<sup>5</sup>, isto é, como os resultados individuais são relacionados a uma concentração específica do analito, este índice converte o desvio apresentado pelo laboratório frente à média do grupo comparativo, para cada amostra, em uma métrica que permite comparar os desvios apresentados para várias amostras e concentrações do mesmo analito e entre diferentes analitos. O termo SDI é a abreviação de *Standard Deviation Index*<sup>NOTA1</sup> e pode ser traduzido como o índice de desvio do resultado frente ao considerado como REAL (média dos participantes comparados). Este índice representa o número de desvios padrões que separam o resultado do laboratório avaliado da média obtida pelos laboratórios comparados. A métrica SDI é obtida pela fórmula:

$$SDI = (\text{seu resultado} - \text{media do grupo}) / DP \text{ grupo}$$

Como podem ser gerados indicadores para essa métrica de SDI, avaliando com maior profundidade os resultados do EP, isto é, monitorando o desempenho do processo analítico para a característica inexatidão dos testes laboratoriais?

Passo a passo:

- Identificar qual o ensaio a monitorar e coletar os resultados dos últimos ciclos de Teste de Proficiência (SDIs) para o mesmo.
- Inserir os valores de SDI <sup>NOTA2</sup> (para todas as amostras de cada ciclo) em gráfico (tipo barras, por exemplo), colocando no eixo "X" os SDIs (com sinais "-" ou "+", de acordo com o posicionamento do resultado do laboratório frente à média do grupo) e plotando a identificação do ciclo e amostra no eixo "Y".
- Na sinalização da meta podemos utilizar duas variantes. A primeira seria padronizar essa meta em termos de número de desvios padrões aceitáveis para o analito, por exemplo:  $\pm 2$  SDI. A segunda alternativa seria utilizar os limites máximos de desvios padronizados pelo programa de proficiência ou o erro total baseado na variação biológica<sup>19</sup>.

A Figura 5 apresenta um modelo de gráfico de barras para monitoração do indicador de inexatidão de TSH, considerando uma meta de variação de até  $\pm 2$ SDI e os resultados de um EP com três ciclos anuais e cinco análises por ciclo.

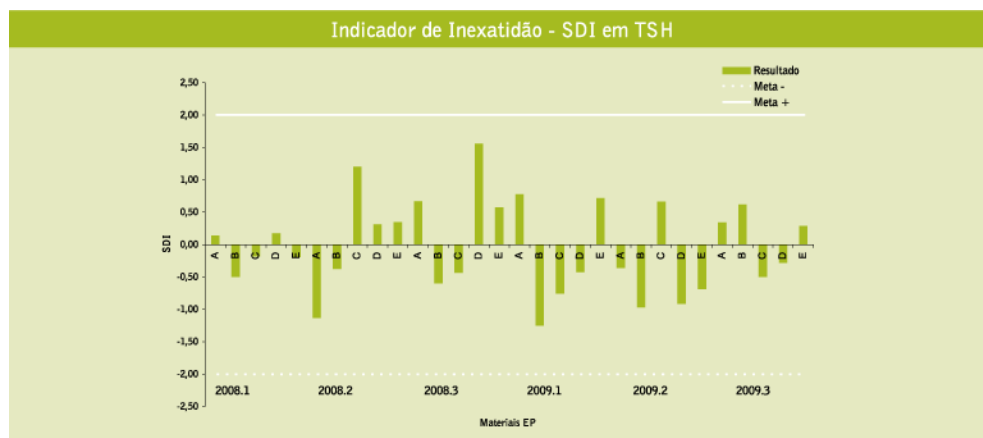


Figura 5: Exemplo de Gráfico para Indicador de Inexatidão por Ensaio

NOTA 1 - O termo "SDI", também reconhecido como "escore Z", é o método clássico de definição de desempenho em ensaios de proficiência, na qual geralmente uma variação de até  $\pm 2$ DP é o limite aceitável. Entretanto, provedores de EP têm migrado atualmente para versões adaptadas dessa métrica, substituindo na fórmula de cálculo o DP do grupo comparativo por limite fixo de desvio, baseada em Erro Total permitido para o ensaio.

## INDICADORES DE PRAZO

O prazo para disponibilidade de resultados laboratoriais é uma das necessidades mais manifestadas pelos clientes quando contratam os serviços de um laboratório clínico. Seja a necessidade do menor prazo possível originada de uma necessidade médica ou a partir de um exclusivo desejo do cliente. O não atendimento dessa exigência está entre as principais reclamações de clientes na maioria dos laboratórios. Assim, o monitoramento do processo frente à característica “tempo” é uma necessidade de todos os laboratórios e pode ser operacionalizada através de indicadores de desempenho.

Embora muitas referências cite o TAT (tempo total de processo) como um indicador Pós-Analítico, este envolve o monitoramento de todas as fases do processo no laboratório e não somente a fase Pós-Analítica. Este indicador foi incluído neste capítulo em razão da fase analítica ter grande impacto nas definições e no atendimento dos prazos de entrega de resultados, especialmente no caso de exames com menor demanda (rotinas pontuais) ou de tempo de processo analítico mais prolongado.

Existem dois níveis possíveis de monitoramento para a característica de processo “tempo” no laboratório clínico. A primeira é a questão “tempo de processo”, mais conhecido como TAT (*turnaround time*), que se refere ao tempo consumido em todas as etapas do processo em um laboratório desde o atendimento ao cliente até a disponibilização do resultado a este cliente ou seu médico.

O TAT é uma das métricas que fornece a eficiência do processo, que só permite acessar o grau de atendimento às necessidades dos clientes quanto ao aspecto “tempo” se a meta de TAT estiver perfeitamente ajustada aos prazos de entrega de resultados prometidos aos clientes. Dessa forma, o monitoramento do nível de atendimento do prazo de entrega de resultados laboratoriais será o foco dos indicadores propostos a seguir, e não especificamente do TAT, que pode ser um monitoramento adicional a ser realizado pelo laboratório.

Para facilitar a discussão do tema, o assunto foi estratificado em duas abordagens principais. A primeira se refere ao atendimento do prazo de fornecimento de resultados de exames críticos ou urgentes, geralmente relacionadas a exames hospitalares. A segunda se refere ao atendimento dos prazos acordados com os clientes para entregas de resultados de rotina, geralmente relacionados a exames ambulatoriais (laboratórios independentes). Embora discutidos de forma paralela, em termos de construção do indicador de desempenho, a situação é similar, sendo o passo a passo proposto de forma conjunta para as duas situações.

### ATENDIMENTO DE PRAZO DE ENTREGA DE EXAMES URGENTES

Embora não exclusiva destes laboratórios, a questão do atendimento dos prazos de liberação de exames urgentes está mais relacionada a laboratórios que atendem clientes hospitalares.

O primeiro ponto a tratar visando operacionalizar o monitoramento é definir (caso essa definição ainda não exista) qual o grupo de exames que devem ser considerados urgentes pelo laboratório e qual o tempo para liberação destes respectivos resultados. Essa definição deve ser feita em consenso com o hospital para o qual se presta o serviço (Diretoria Médica do Hospital, por exemplo).

A partir dessa definição, o laboratório deve formatar ou ajustar o processo interno para atender a essas especificações (tempo de fornecimento de resultados) para os exames acordados. A partir disso, pode-se gerar um indicador para monitorar esse processo.

NOTA 2 - Este índice ou um índice similar é normalmente fornecido pelo provedor no relatório de avaliação do laboratório que pode optar por usá-lo diretamente.

Cabe salientar que, embora o propósito do capítulo seja abordar a fase analítica, a visão que se deve ter do tempo de fornecimento de resultados urgentes deve incluir o tempo total de processo, isto é, idealmente desde o recebimento da solicitação médica até a disponibilização do resultado para o médico. Entretanto, é viável, além de monitorar o tempo total de processo, dividir esse monitoramento em duas fases: Pré-Analítica (do recebimento da solicitação médica até o recebimento da amostra na área técnica do laboratório) e Analítica (do recebimento da amostra até a liberação de resultado). Essa divisão é útil quando as equipes e/ou gestão são distintas: Atendimento (enfermagem, coletadores etc.) e Técnica. Entretanto, o indicador relativo ao tempo de atendimento global do processo deve ser mantido para monitorar o atendimento à expectativa do cliente.

Outra ponderação importante cabe à etapa final do processo de exames urgentes. Em muitas situações esse processo inclui a entrega do resultado de forma "verbal" antes da entrega do mesmo em meio físico ou via sistema informatizado. Neste caso, o ideal é que o tempo de entrega considerado no indicador seja até esse momento, visto que esse momento formaliza o cumprimento do acordado com o cliente, isto é, encerra o processo do ponto de vista do cliente, mesmo que o laboratório ainda tenha atividades por executar (emissão do laudo, inclusão no prontuário médico etc.).

### ATENDIMENTO DE PRAZO DE ENTREGA DE EXAMES AMBULATORIAIS

Outra visão de monitoramento do prazo de entrega de exames pode ser aplicada a todos os laboratórios. A contratação dos serviços pelo cliente é a primeira e importante fase do processo que direcionará todas as etapas seguintes. Isso acontece no momento do atendimento, onde o cliente apresenta suas necessidades, desde a requisição médica até as exigências de prazo e forma de entrega dos resultados laboratoriais. A partir desse momento o laboratório tomará todas as providências para que estas necessidades do cliente sejam atendidas. Evidentemente, para que o atendimento do prazo de entrega dos resultados seja monitorado, um indicador de desempenho é, mais do que útil, indispensável.

A formatação desse indicador segue as mesmas orientações do indicador anterior. Entretanto, deve-se dar atenção especial a uma questão em particular: como definir um resultado laboratorial como entregue fora do prazo?

Embora esta pareça uma questão simples, por vezes há dificuldade na definição. O que se deseja para o processo é atender as necessidades dos clientes acordadas no momento da contratação. Assim, o prazo que deve ser monitorado deve ser esse. Se o laboratório promete a entrega de um resultado para o dia seguinte à coleta até as 18h30, deve assegurar que este esteja disponível ao cliente na data e hora acordada. Assim, não importa se o cliente recebeu ou acessou esse resultado exatamente nessa data e horário acordado.

Muitas vezes se verifica o monitoramento de indicadores de prazo utilizando um critério divergente para definir o que está fora do prazo. Alguns laboratórios preferem definir um exame fora do prazo quando o cliente solicita o resultado ou tenta acessar esse sem que o mesmo esteja disponível. Entretanto, o acesso do cliente pode ocorrer vários dias após o prazo acordado, o que prejudica a avaliação de desempenho do processo. Nesse modelo, a adequação de desempenho é mais uma questão de casualidade do que de eficiência do processo. Em outras palavras, o processo do laboratório pode estar consistentemente não atendendo aos prazos acordados com os clientes, entretanto estes podem, em determinado período, ou por hábito local, estar acessando seus resultados dias após a data acordada no atendimento inicial. Nesse caso, o indicador de prazo estará apresentando um desempenho adequado do processo, mas existirá grande probabilidade de frustrar e gerar insatisfação nos clientes que desejarem acessar seus resultados no prazo acordado.

Assim, resultados entregues fora do prazo se referem a resultados não disponíveis aos clientes no prazo inicialmente acordado com os mesmos, independente de terem sido efetivamente retirados ou acessados pelos clientes especificamente na data/hora acordados no atendimento.

## CONSTRUÇÃO DO INDICADOR DE DESEMPENHO

Os principais passos para a construção de um indicador para monitorar o prazo de entrega de resultados, urgentes ou ambulatoriais, são:

- Coletar dados referentes ao número de resultados liberados dentro do tempo máximo pré-estabelecido frente ao número total de resultados liberados no período. Os resultados podem agrupar dados de diferentes exames de urgência (exames urgentes hospitalares), de todo o menu de exames do laboratório (exames ambulatoriais) ou de um grupo considerado mais crítico.
- Inserir percentual de resultados liberados dentro do prazo acordado (frente ao total de resultados liberados) em gráfico (tipo barras, por exemplo), colocando no eixo "Y" o percentual de resultados no prazo e plotando o período de coleta dos dados no eixo "X" (normalmente mensal).
- Definir e sinalizar no gráfico a meta de atendimento de prazo proposta para o processo de fornecimento de resultados laboratoriais. Essa meta pode ser estabelecida utilizando dados históricos do laboratório para esse processo ou, o que é preferido, metas baseadas em informações comparativas (*Benchmarks*) ou ainda baseadas em acordo específico formalizado com o hospital, no caso de exames urgentes hospitalares.

A Figura 6 apresenta um modelo de gráfico de barras para monitoração do indicador de prazo de entrega de resultado de um laboratório. Este laboratório controla o prazo de todos os exames realizados frente ao prazo prometido ao cliente no atendimento, conforme registro de prazo prometido (data e horário), forma de entrega (retirado no laboratório, acesso no site ou entrega ao médico e/ou no domínio) e registro de liberação informatizado (informação de retirada, de acesso no site, de entrega). A meta determinada pelo laboratório foi de 95%, o que não foi atendido apenas no último mês de monitoração, quando uma análise de possíveis causas e ações corretivas devem ser implementadas.

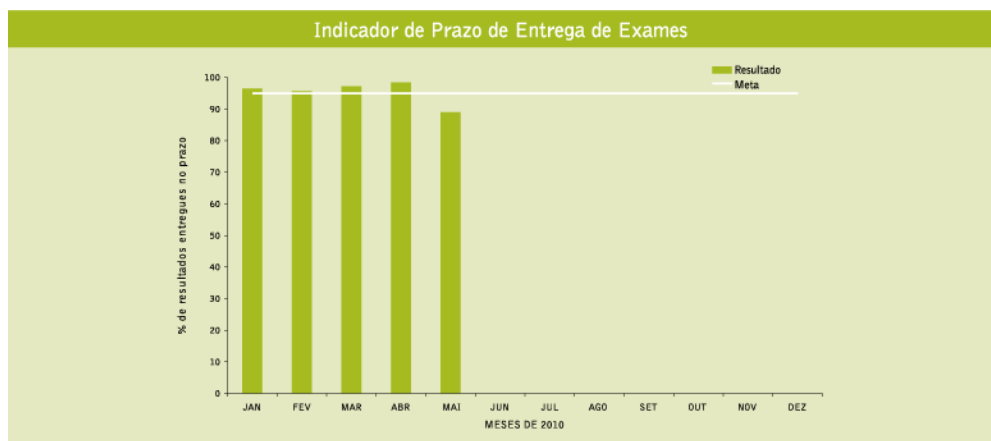


Figura 6: Exemplo de Gráfico para Indicador de Prazo

Por fim, cabe salientar que, embora possa ser implementado de forma simples na maioria dos laboratórios, o indicador de desempenho que avalia o prazo de entrega de exames exige a coleta e compilação sistemática de uma grande quantidade de dados. Assim, para que a implementação desse indicador seja factível, a disponibilidade de algum sistema informatizado que viabilize a coleta desses dados é premissa quase definitiva.

## INDICADORES DE CUSTO

Outra dimensão de desempenho do processo analítico a ser analisada e monitorada no laboratório clínico é o custo. O custo impacta muitas vezes na necessidade dos clientes (preço) e reflete diretamente várias questões relacionadas à eficiência do processo analítico, onde estão alocados os principais custos do laboratório clínico e, conseqüentemente, relacionados à sua competitividade e sobrevivência no mercado.

Para avaliar a eficiência do processo analítico em termos de custo, são propostos dois indicadores relacionados.

### PERDAS DE INSUMOS

Todos os profissionais com vivência no laboratório clínico têm a certeza de que nem sempre os custos estimados para a realização de um determinado teste laboratorial são efetivamente executados na prática. Além dos custos imprevistos, ocasionados por situações inesperadas ou pontuais, algumas outras situações que poderiam ser previstas nem sempre são adequadamente monitoradas pelos gestores da fase analítica no laboratório.

Por exemplo, quantas amostras de pacientes seu laboratório consegue processar com um kit de glicose com 100 testes? A resposta nem sempre será 100 amostras de pacientes. Conforme conhecimentos de rotina, várias situações implicam em perdas de insumos, ou melhor, na utilização dos insumos/kits para outras finalidades que não processar amostras de pacientes. Entre elas, pode-se mencionar: calibrações, controle de qualidade, repetições de testes e perdas propriamente ditas (relacionadas ao funcionamento inadequado de ensaios, equipamentos ou erros de procedimento). De acordo com o perfil de cada laboratório e suas características de processo, incluindo demanda de exames, frequência de realização de ensaios, prazos para entrega de exames etc., esse nível de perdas de insumos apresenta uma tendência de operação, que varia de analito para analito. Essa tendência e potenciais desvios da situação esperada devem ser monitorados pelos gestores e isso pode ser operacionalizado por indicadores de desempenho.

Passo a passo:

- Coletar, por ensaio laboratorial, dados referentes ao número de kits/testes consumidos no período.
- Coletar, por ensaio laboratorial, dados referentes ao número de amostras de pacientes processadas no período.
- Confrontar o número de amostras de pacientes processadas com o número de testes consumidos, obtendo o percentual de perdas de insumos para o ensaio em questão. Esse índice pode ser calculado através da seguinte fórmula:  

$$\% \text{ Perdas} = [1 - (\text{amostras processadas} / \text{testes consumidos})] \times 100$$
- Apresentar o percentual de perdas através de gráfico (por analito: perda percentual no eixo "Y" frente ao período avaliado no eixo "X") ou através de tabela (analitos listados na primeira coluna e perdas percentuais apresentadas nas colunas à direita, um período de coleta de dados por coluna).
- Sinalizar meta de desempenho desejada para cada ensaio laboratorial avaliado. No caso da apresentação em tabela, pode-se sinalizar com cor distinta os ensaios que exigem atenção especial ou intervenção visando a diminuição de perdas de insumos, facilitando a identificação da necessidade dessa ação corretiva.

A Figura 7 apresenta um modelo de gráfico de barras para monitoração do indicador de perda de insumos de TSH de um laboratório. O laboratório optou por monitorar este indicador com periodicidade semestral, determinou como meta manter as perdas abaixo de 10% e obteve sucesso nos quatro períodos analisados.

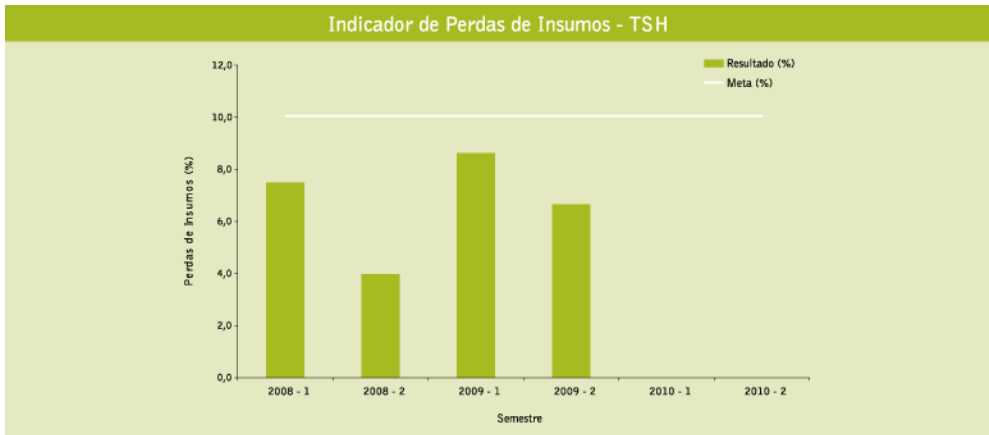


Figura 7: Exemplo de Gráfico para Indicador de Perda de Insumo

## ÍNDICE CUSTO/RECEITA

Outra visão que se pode ter da questão de custos relacionados à fase analítica é comparar o custo efetivo para cada ensaio laboratorial (incluindo as perdas discutidas no tópico anterior) às receitas obtidas com a realização destes respectivos ensaios junto aos clientes e demais pagadores. Esse é um indicador de relevante importância para os gestores nos laboratórios por avaliar o nível de custos relacionados aos processos desses ensaios e comparar esse às receitas, avaliando a viabilidade financeira de cada exame laboratorial e a adequação do processo analítico atual desse ensaio ao nível de recursos disponíveis para a sua realização.

Passo a passo:

- Coletar, por ensaio laboratorial, dados referentes ao custo variável efetivo no período.
- Coletar, por ensaio laboratorial, dados referentes às receitas obtidas para esse exame, no mesmo período.
- Confrontar os dados de custo e receitas, por exame laboratorial, obtendo um índice denominado "Índice Custo/Receita". Para obtê-lo basta dividir o custo efetivo do período pelas receitas do mesmo período.
- Apresentar os índices custo/receita numa planilha/tabela, com os ensaios laboratoriais dispostos na primeira coluna e os respectivos índices nas colunas à direita, com cada coluna representando o resultado de um período.

- Os níveis de desempenho e o atendimento de metas pré-estabelecidas podem ser sinalizados na planilha/tabela com diferentes cores, facilitando a identificação de situações onde seja necessária uma intervenção ou ação corretiva.

A **Figura 8** apresenta um modelo de uma planilha para monitoração do indicador de custo de nove ensaios de bioquímica e três imunoenaios, monitorados semestralmente, com o propósito de manter o índice de Custo/Receita (ICR) abaixo ou igual a 0,40 (Bioquímica) e 0,50 (imunoenaios). Em alguns períodos o ICR parece ter ultrapassado a meta e ações para seu controle parecem ter sido adotadas, visto que nos períodos seguintes este comportamento foi revertido.

Analito	2008.1	2008.2	2009.1	2009.2	2010.1	2010.2	Meta
G	0,23	0,29	0,35	0,33	0,39		< 0.40
C	0,30	0,22	0,56	0,30	0,20		< 0.40
TRI	0,19	0,20	0,32	0,35	0,33		< 0.40
CRE	0,25	0,44	0,33	0,28	0,36		< 0.40
URE	0,22	0,33	0,25	0,26	0,35		< 0.40
AST	0,25	0,35	0,19	0,17	0,39		< 0.40
ALT	0,35	0,33	0,39	0,33	0,35		< 0.40
ALB	0,29	0,25	0,22	0,19	0,36		< 0.40
AMI	0,26	0,35	0,39	0,19	0,33		< 0.40
TT3	0,39	0,55	0,36	0,39	0,42		< 0.50
TT4	0,45	0,60	0,36	0,33	0,44		< 0.50
TSH	0,44	0,40	0,37	0,38	0,45		< 0.50

Figura 8: Exemplo de Gráfico para Indicador de Custo

Um cuidado essencial deve estar presente à periodicidade de avaliação dos indicadores de custos. Diferente dos indicadores de qualidade e prazo, os indicadores de custo devem ser avaliados com períodos mais longos, em razão de efeitos de sazonalidade de demanda de exames e fatores como níveis de movimentação de estoque, entre outros. Um bom prazo para a maioria dos laboratórios de pequeno e médio porte é o semestral.

## METAS PARA INDICADORES

Para todo indicador é necessário definir uma meta para monitorar o desempenho de um processo (atendimento a uma especificação) e identificar a necessidade ou sinalizar a oportunidade de melhoria para esse mesmo processo. Definir uma meta significa comunicar a todos o que se deseja de um processo, isto é, para onde todos devem direcionar os seus esforços.

O estabelecimento de metas pode variar de acordo com o tipo do indicador e com a avaliação de risco do processo sob monitoramento<sup>6</sup>. Deve-se questionar se isto é crítico para a segurança do

cliente, se são esperados grandes impactos ou são aceitáveis pequenas melhorias incrementais (efetividade clínica, qualidade de serviços ou melhorias financeiras).

Metas intermediárias podem sinalizar pontos de progresso, sendo especialmente úteis em projetos de melhoria complexos.

Metas para indicadores devem ter limites definidos (pontos de decisão) que forneçam critérios de avaliação e planejamento de ações corretivas ou de melhoria.

As principais etapas ou questões no estabelecimento de metas de desempenho são descritas a seguir:

- Identificar o desempenho atual do processo. Os dados atuais indicam uma oportunidade de melhoria de desempenho do processo? Existe uma lacuna de desempenho que possa ser identificada por um limite pré-definido de ação (ponto de decisão)?
- Estabelecer metas apropriadas baseadas aos objetivos da empresa. Que métricas vão estar alinhadas com as estratégias e objetivos para obter e sustentar as melhorias? As metas são *drivers* de desempenho?
- O quanto é crítica a meta para a melhoria da segurança do paciente, efetividade clínica, qualidade do serviço ou benefícios em termos de custo?
- Metas devem ser viáveis de serem atingidas. Existem organizações similares à nossa atingindo objetivos/desempenhos similares? A nossa empresa tem recursos para obter pequenas ou significativas alterações no desempenho dos processos?
- Pesquisar padrões de mercado ou dados de literatura: existem *Benchmarks* referendados por evidências confiáveis?

O laboratório deve considerar cada uma das questões acima mencionadas antes de estabelecer metas para indicadores. Entretanto, deve-se salientar que nem todo indicador deve estar obrigatoriamente associado a uma meta que seja respaldada por dados de literatura ou a *Benchmarks* do mercado específico. No Brasil existe o Programa de Indicadores Laboratoriais da ControlLab com a SBPC/ML, que já contempla diversos indicadores. Contudo, estas informações nem sempre estão disponíveis ou nem sempre são acessíveis a todos. Entretanto, quando disponíveis, estas informações comparativas contribuem de forma diferenciada para a efetividade dos indicadores.

## PADRONIZAÇÃO DE INDICADORES

Com relação à padronização e implementação de indicadores de desempenho, podem ser citadas quatro etapas fundamentais, descritas a seguir.

### COLETA E TRATAMENTO DE DADOS

A primeira e mais crítica etapa na padronização dos indicadores de desempenho é a estruturação da coleta e tratamento dos dados que serão utilizados no indicador.



A primeira pergunta que deve ser feita é se o sistema de medição fornece dados confiáveis e padronizados que possam ser utilizados no indicador. Deve-se analisar o sistema de medição e verificar a acurácia e reprodutibilidade dos dados coletados a partir desse sistema antes de qualquer utilização desses dados em um indicador de desempenho.

A seguir deve-se questionar sobre a necessidade de tratamento dos dados coletados antes de inseri-los no indicador. Os dados serão agrupados por alguma característica especial (dia ou outro período de tempo que viabilize ou facilite a análise de desempenho, otimizando o processo de tomada de decisão)?

Na formatação do indicador de desempenho, após a adequada definição dos dados a serem coletados, bem como padronizado o sistema de medição, deve-se definir como serão tratados esses dados para a avaliação em termos de indicador de desempenho. Para isso, são necessárias definições relativas ao agrupamento dos dados (por período de tempo ou outra característica que justifique o seu agrupamento) ou análise individual destes, conforme necessidade para avaliação do indicador e do processo de tomada de decisão a partir deste.

## ANATOMIA DO INDICADOR

A segunda etapa refere-se à padronização propriamente dita do indicador de desempenho. Para padronizar de forma efetiva um indicador é preciso definir claramente a sua anatomia, ou seja, todas as informações pertinentes à sua construção e análise crítica.

As melhores práticas recomendam que a padronização do indicador seja realizada de maneira formal, se possível mediante documentação que permita acesso às principais informações por todos os envolvidos com a construção e análise do indicador. As principais informações necessárias nesse documento de padronização podem ser assim resumidas:

- Dados de identificação do indicador: código de identificação, nome, descrição, processo envolvido, abrangência (áreas da empresa envolvidas).
- Dados: fórmula de cálculo do indicador, unidade de medida, dados excluídos ou incluídos, origem dos dados (sistema de medição utilizado), tratamento dos dados.
- Controles: existência ou não de controle formal de processo adicionalmente ao indicador (controle estatístico do processo), metas ou faixas de avaliação, fonte da meta utilizada, Benchmark ou referências comparativas externas, ações corretivas padronizadas (quando pertinente).
- Apresentação, responsabilidade e comunicação: formatação do indicador (tipo de gráfico ou tabela modelo), periodicidade de atualização, responsabilidades (pela atualização, análise crítica e implementação de ações corretivas e/ou de melhoria), forma de comunicação (mural interno, intranet etc.).

A **Figura 9** apresenta um exemplo de padrão para Indicador de Prazo de entrega de exames críticos em uma unidade laboratorial hospitalar.

Laboratório "X" Ltda	Indicador de Desempenho	FOR-016 Versão 1																																							
<p><b>Indicador:</b> Prazo entrega de resultados hospitalares críticos - Hosp. Sta. Clara  <b>Nível:</b> Operacional (Rotina)  <b>Abrangência:</b> Áreas de Atendimento e Técnica (Unidade Hospitalar " Santa Clara")  <b>Processos envolvidos:</b> Atendimento, Coleta, Logística, Processamento Técnico, Pós-Análise  <b>Responsabilidade:</b> Dr. Joaquim Oliveira (Gerente de Atendimento)</p>		<p><b>Código:</b> I.001</p>																																							
<p><b>1. Indicador</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Descrição do Indicador:</b> Indicador de desempenho que avalia o nível de atendimento do prazo de entrega de resultados críticos do serviço de análises clínicas no Hospital Santa Clara.</li> <li>• <b>Fórmula de cálculo:</b> <math>(n^{\circ} \text{ de resultados críticos entregues no prazo acordado} / n^{\circ} \text{ total de resultados críticos entregues no período}) \times 100</math></li> <li>• <b>Unidade de Medida:</b> Percentual (%)</li> </ul>																																									
<p><b>2. Dados</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Dados incluídos ou excluídos:</b> Somente são incluídos nesse indicador resultados de exames críticos, que estão listados no documento interno POP-012.</li> <li>• <b>Origem e coleta dos dados:</b> Sistema interno (LabX), tela TEL-042, opção "Hosp. Sta. Clara".</li> <li>• <b>Tratamento dos dados:</b> Dados individuais (por exame), agrupados por período (mensal). Data e horário de entrega comparado com prazo acordado para cada exame específico. Geração dos dados para indicador via Excel (Gráfico).</li> </ul>																																									
<p><b>3. Controle</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Controle de Processo (Não realizado ou tipo de Controle realizado):</b> Não realizado</li> <li>• <b>Tipo de gráfico (barra, pontos, "pizza", etc.):</b> Gráfico de Barras (Excel)</li> <li>• <b>Meta:</b> 95% dos resultados entregues no prazo acordado</li> <li>• <b>Fonte da Meta:</b> Acordo com Diretoria Médica do Hospital Santa Clara para 2010-2011</li> <li>• <b>Última Revisão da meta em:</b> Reunião em 20/12/2009 por: Diretoria de Atendimento Hospitalar</li> <li>• <b>Benchmark / Referências Comparativas:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Benchmark:</b> Lab "Y" - Hosp. São Raimundo: 98%, média 2008.</li> <li>- <b>Comparação externa:</b> Programa de Indicadores Hospitalares do Vale do Paranhana (ciclos semestrais)</li> </ul> </li> </ul>																																									
<p><b>4. Análise Crítica, Ações Corretivas, Responsabilidade e Comunicação</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Análise Crítica:</b> Avaliar resultado mensal contra meta a Benchmark externo (Responsável: Gerente de Atendimento)</li> <li>• <b>Ações Corretivas:</b> &lt; 92%: Registrar NDP e iniciar TDP padrão, comunicando Diretoria de Atendimento Hospitalar, 92-94,9%: Identificar etapa do processo causadora do desvio e solicitar avaliação e ações imediatas pela área responsável, com registro via ACI.</li> <li>• <b>Periodicidade de atualização:</b> Supervisora de Atendimento Sr. - Posto Lab. Hosp. Sta. Clara</li> <li>• <b>Forma de comunicação:</b> Intranet da empresa - Módulo Indicadores de Processo</li> <li>• <b>Termos / Glossário:</b> NDP = Notificação de desvio de processo; TDP = Tratamento de desvio de processo; ACI = Ação corretiva imediata.</li> </ul>																																									
<p><b>5. Observações</b></p> <p>Em caso de resultados fora da meta pré-estabelecida para esse indicador em 3 meses consecutivos, agendar reunião com Diretoria Médica do Hospital Sta. Clara para apresentar Plano de Ação visando reestabelecimento do nível de serviço previamente acordado com essa instituição hospitalar.</p>																																									
<p><b>6. Exemplo de Apresentação</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Indicador - Prazo de Entrega de Exames - Laboratório "X" - Ano: 2009</b></p> <table border="1"> <caption>Dados do Gráfico de Apresentação</caption> <thead> <tr> <th>Mês</th> <th>Resultado (%)</th> <th>Meta (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>JAN</td><td>96.5</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>FEV</td><td>95.5</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>MAR</td><td>97.2</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>ABR</td><td>98.5</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>MAI</td><td>95.8</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>JUN</td><td>95.0</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>JUL</td><td>95.0</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>AGO</td><td>95.0</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>SET</td><td>95.0</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>OUT</td><td>95.0</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>NOV</td><td>95.0</td><td>95.0</td></tr> <tr><td>DEZ</td><td>95.0</td><td>95.0</td></tr> </tbody> </table>			Mês	Resultado (%)	Meta (%)	JAN	96.5	95.0	FEV	95.5	95.0	MAR	97.2	95.0	ABR	98.5	95.0	MAI	95.8	95.0	JUN	95.0	95.0	JUL	95.0	95.0	AGO	95.0	95.0	SET	95.0	95.0	OUT	95.0	95.0	NOV	95.0	95.0	DEZ	95.0	95.0
Mês	Resultado (%)	Meta (%)																																							
JAN	96.5	95.0																																							
FEV	95.5	95.0																																							
MAR	97.2	95.0																																							
ABR	98.5	95.0																																							
MAI	95.8	95.0																																							
JUN	95.0	95.0																																							
JUL	95.0	95.0																																							
AGO	95.0	95.0																																							
SET	95.0	95.0																																							
OUT	95.0	95.0																																							
NOV	95.0	95.0																																							
DEZ	95.0	95.0																																							
<p>Elaborado por: Dr. Joaquim Oliveira</p>		<p>Em: 28/12/2009</p>																																							

Figura 9: Modelo de Padronização de Indicador

## RESPONSABILIDADE

A clara definição de responsabilidade por cada indicador na empresa é condição essencial para o adequado monitoramento de desempenho. A princípio, a responsabilidade formal por um indicador não deve ser compartilhada, mesmo que o desempenho deste reflita um nível de desempenho de um processo compartilhado em diferentes áreas da empresa. Embora, nesse caso, vários gestores sejam na prática responsáveis por garantir o adequado desempenho desse processo, a responsabilidade formal para atualização, análise crítica e sinalização para a tomada de decisão deve estar sob responsabilidade de um único gestor. Essa individualização de responsabilidade visa assegurar a padronização e continuidade do processo de monitoramento de desempenho. Isso não prejudica a visão sistêmica de processos na organização, que é assegurada por um adequado processo de comunicação, conforme comentado a seguir.

## COMUNICAÇÃO

Um processo de comunicação organizado para os indicadores de desempenho é essencial para compartilhar informações relativas ao desempenho dos processos com todos os interessados. Isso é importante visando o alinhamento de todos os esforços na empresa para os objetivos e estratégias pré-estabelecidos.

A comunicação do indicador pode seguir ferramentas previamente estabelecidas na empresa, tais como: murais internos, informativos, intranet ou portal da empresa, reuniões gerenciais etc.

# MELHORIA DE PROCESSOS UTILIZANDO INDICADORES

Indicadores de desempenho têm uma função primordial: gerar melhorias nos processos, assegurando o atendimento ou superando as expectativas dos clientes.

Conforme comentado anteriormente, os indicadores de desempenho devem ter metas objetivamente definidas e comunicadas. De forma complementar, pode-se ter limites de decisão nesses indicadores, isto é, níveis de desempenho que devem sinalizar a necessidade de intervenção nesse processo, seja essa intervenção uma:

- Ação corretiva - quando o nível de desempenho do processo indicar o não atendimento dos requisitos acordados com o cliente ou esperados pela organização.
- Ação preventiva - quando o nível de desempenho estiver sinalizando para uma tendência para o não atendimento dos requisitos em períodos futuros.
- Melhoria - quando for detectada uma oportunidade de melhoria para o processo sob monitoramento. Por exemplo: necessidade de aproximação do nível atual de desempenho frente ao *Benchmark* comparativo utilizado.

A intervenção, seja esta corretiva, preventiva ou essencialmente melhoria, visa melhorar o nível atual de desempenho identificado pelo indicador. Embora muitas vezes haja tentação por soluções de problemas intuitivas e pouco estruturadas, as melhores práticas para melhoria de desempenho de processos recomendam a utilização de metodologias mais sistematizadas, objetivando obter maior efetividade.

Duas metodologias são mais utilizadas visando a resolução de problemas em processos: PDCA e DMAIC.

## PDCA

O Ciclo PDCA é um método gerencial de tomada de decisões para garantir o alcance das metas necessárias à sobrevivência de uma organização.

Foi desenvolvido na década de 1930 pelo americano *Shewhart*, porém o seu maior divulgador foi *Deming*. É também denominado método de solução de problemas, pois cada meta de melhoria tem origem em um problema que a empresa deve solucionar.

As etapas que compõe este ciclo são: Planejamento (P - *Plan*), Execução (D - *Do*), Verificação (C - *Check*) e Ação Corretiva (A - *Action*).

- **Planejamento (*Plan*):** Na etapa de planejamento são estabelecidas as metas e as formas de alcançá-las, porém, anterior a isto, é necessário observar o problema a ser resolvido, analisar o fenômeno e descobrir as causas do problema. Esta etapa é caracterizada como a de maior complexidade porque erros cometidos na identificação do problema e no delineamento de ações dificultarão o alcance dos resultados.
- **Execução (*Do*):** Na etapa de execução as tarefas planejadas na etapa anterior são colocadas em prática e dados são coletados para as análises da próxima etapa (verificação).
- **Verificação (*Check*):** Na etapa de verificação os dados coletados na etapa de execução são utilizados na comparação entre o resultado conquistado e a meta delineada. Caso a meta não tenha sido atingida deve-se retornar à fase de observação da etapa de planejamento, analisar novamente o problema e elaborar um novo plano de ação.
- **Ação (*Action*):** Na etapa de ação corretiva acontecem as ações de acordo com o resultado obtido. Se a meta foi conquistada, a atuação será de manutenção (adotar como padrão o plano proposto). Se a meta não foi conquistada, a atuação será de agir sobre as causas que impediram o sucesso do plano.

## DMAIC

O método DMAIC é baseado em uma estrutura semelhante ao PDCA. O ciclo DMAIC compreende cinco fases sequenciais:

- **Definição (*Define*):** Definição clara do problema, das expectativas dos clientes e dos objetivos do projeto de melhoria.
- **Medição (*Measure*):** Coleta de dados do processo atual, detalhando sua operação e nível de desempenho.
- **Análise (*Analyze*):** Analisar os dados coletados e definir as principais causas de variação atuando sobre o processo atual.
- **Melhoria (*Improve*):** Definir plano de ação visando remoção das causas-raízes do problema.
- **Controle (*Control*):** Controlar processo visando assegurar efetividade das melhorias implementadas.

Em razão da maior profundidade das análises e maior necessidade de recursos (tempo, pessoas etc.) para a sua operacionalização, o método DMAIC é mais utilizado para resolução de problemas mais complexos, recorrentes e de causas desconhecidas, ou onde uma grande melhoria de desempenho é necessária.

## MÉTRICA-SIGMA E INDICADORES

O conceito Seis Sigma foi desenvolvido primeiramente pela Motorola, na segunda metade da década de 1980, e posteriormente adaptado e utilizado por outras empresas de grande porte, como a IBM e a GE. Em uma primeira etapa, a metodologia Seis Sigma foi aplicada a processos de manufatura (produção), porém na década de 1990 passou também a ser utilizada por empresas da área de serviços, quando teve início seu emprego por alguns grandes hospitais nos EUA. Em razão da filosofia intrínseca aos serviços de saúde de sempre objetivar o erro zero e da emergente necessidade de redução de custos, a metodologia Seis Sigma tem despertado crescente interesse e, assim, vem adquirindo importância na área de medicina diagnóstica<sup>7</sup>.

De maneira geral, a filosofia Seis Sigma propõe a existência de uma correlação direta entre o número de produtos com defeitos, o percentual do faturamento desperdiçado com esses defeitos (perdas) e o nível de satisfação do cliente com o produto ou serviço. Ou seja, com a elevação da métrica sigma do processo, aumenta a eficiência e a eficácia deste, com conseqüente queda dos custos operacionais e elevação do nível de satisfação dos clientes<sup>7</sup>.

A estratégia Seis Sigma consiste em monitorar o processo, mantendo-o sob estabilidade e controle efetivo, atuando sobre suas causas de variações, com o objetivo de reduzir o número de defeitos nos produtos finais do processo até valores próximos de zero.

A abordagem Seis Sigma atua promovendo a melhoria do desempenho de processos através da metodologia DMAIC, apresentada no tópico anterior. Neste momento vamos focar nossa atenção para a métrica sigma.

A métrica sigma demonstra o grau no qual qualquer processo se desvia de sua meta, isto é, a capacidade do processo em gerar produtos dentro das especificações pré-definidas. Um processo “6-Sigma” é aquele que não produz mais que três ou quatro defeitos por milhão de oportunidades, onde defeito é definido como qualquer característica do produto fora das especificações percebidas pelo cliente.

A métrica sigma tem entre suas principais características a propriedade de normalizar o nível de desempenho entre diferentes processos, ou seja, viabilizar a comparabilidade entre processos distintos. Essa propriedade, em termos de medição de desempenho de processos através de indicadores, tem particular aplicação, principalmente em três aspectos, detalhados a seguir.

### AVALIAÇÃO DE IMPACTOS

Como já citado em vários momentos deste capítulo, uma das principais funções de um indicador de desempenho é monitorar os processos visando atender às expectativas ou requisitos dos clientes. Em vários dos indicadores sugeridos, encontram-se as métricas baseadas em percentuais.

Por exemplo, quando se fala em resultados entregues fora do prazo e obtém-se um desempenho de 97% de adequação, pode-se traduzir isso em três resultados entregues fora do prazo a cada 100 resultados entregues pelo laboratório. Na maioria das empresas esse desempenho poderia ser avaliado como adequado. Na visão da métrica-sigma, o desempenho de um processo tem como base o número de erros ou defeitos gerados pelo processo a cada milhão de produtos ou serviços fornecidos ao cliente. Embora pareça ser apenas uma questão de escala, a transformação do nível de desempenho para a base 10<sup>6</sup> fornece uma nova visão para quem avalia o desempenho do processo. No caso do exemplo citado, uma performance equivalente a 97% corresponde a um índice de erros de 30.000 DPMO (defeitos por milhão de oportunidades), ou seja, 30.000 resultados fornecidos fora do prazo a cada milhão de resultados fornecidos. Um milhão de resultados não é algo distante, ao menos para os grandes e médios laboratórios brasileiros, e esse desempenho significa na prática 30.000 clientes potencialmente insatisfeitos ou ao menos não adequadamente atendidos em suas necessidades. Assim, 97% de adequação no prazo de entrega de resultados pode ser entendido como um nível de desempenho desejável para o nosso processo?

## BENCHMARKING

Utilizando ainda o exemplo anterior, onde o indicador de desempenho para prazo de entrega de exames apresenta 97% de adequação, equivalente a 30.000 DPMO, em termos de métrica-sigma isso seria equivalente a 3,38 sigmas.

Uma das vantagens da conversão do nível de desempenho para a métrica-sigma é viabilizar a comparabilidade de desempenho entre diferentes processos. Essa possibilidade de comparação entre diferentes processos e entre processos similares em diferentes empresas permite outro nível de visão gerencial aos processos, viabilizando a detecção de oportunidades de melhoria com uma visão sistêmica de mercado.

Como forma de exemplificar essa propriedade da métrica-sigma, Dave Harrold<sup>9</sup> referenciou, em nível de desempenho baseado em métrica-sigma, alguns *Benchmarks* de desempenho:

- Contas de restaurantes, erro de prescrição médica e processamento de folha de pagamento: 2,9 sigma.
- Média das empresas nos Estados Unidos: 3,0 sigma.
- Movimentação de bagagens aéreas: 3,2 sigma.
- Empresas Líderes de mercado: 5,7 sigma.
- Acidentes aéreos na marinha americana: 5,7 sigma.
- Índice de mortalidade nos vôos domésticos: 6,2 sigma.

Evidentemente, os níveis de desempenho referenciais citados acima se referem ao desempenho de um processo específico (exemplo: processamento de folha de pagamento) ou ao desempenho global de seus principais processos (no caso da referência citada para as empresas líderes de mercado). Entretanto, a listagem acima exemplifica na prática como se podem comparar níveis de desempenho de processos distintos e entre empresas e mercados igualmente diferentes. Essa comparabilidade confere uma visão ampliada sobre o desempenho de um processo no laboratório, favorecendo a identificação de oportunidades de melhoria para estes processos, com perspectivas de ganhos para o cliente e, conseqüentemente, para a competitividade da empresa no mercado.

## DEFINIÇÃO DE METAS

Em termos de desempenho genérico de processos, a literatura refere que processos com desempenho inferior a 3-sigma são financeiramente inviáveis de serem controlados. Em outras palavras, devem ser alvo de projetos de melhoria de desempenho ou podem comprometer a empresa, tanto em termos de custo quanto em termos de satisfação de clientes. Essa relação é a base que pode orientar a definição de metas de desempenho para os processos, tanto no laboratório quanto em outras organizações.

No tópico referente à definição de metas para indicadores de desempenho comentou-se a necessidade de utilizar, quando disponíveis, *Benchmarks* para orientar a escolha das metas para desempenho de processos. A métrica-sigma pode ser uma grande aliada nessa iniciativa. Em vários dos indicadores sugeridos nesse capítulo, a utilização de *Benchmarks* de desempenho seria muito útil. Com a normalização do nível de desempenho através da métrica-sigma pode-se utilizar *Benchmarks* de outros serviços da área de saúde ou até mesmo de indústrias diferentes. Além disso, a utilização de metas baseadas em métrica-sigma sinaliza para as empresas de forma clara a relação entre nível de desempenho desejado e seus impactos em termos de clientes potencialmente insatisfeitos e com relação a custos desse patamar de performance.

## CONCLUSÃO

Atender às expectativas dos clientes é o principal passo para uma posição diferenciada em termos de competitividade no mercado. Isso não é diferente para o laboratório clínico, onde se vivencia um momento de intensa consolidação e elevada competitividade, em que atender às expectativas dos clientes e gerenciar os processos críticos é essencial. Revisitando a frase de Ishikawa, com a qual se iniciou esse capítulo, “Quem não mede não gerencia”, é vital para a gestão desses processos críticos a implantação de um sistema de medição confiável e capaz de identificar prontamente oportunidades de melhoria.

Melhorar continuamente os processos não é um privilégio de poucos, mas sim uma necessidade para todas as empresas. Isso porque as necessidades dos clientes mudam continuamente e, caso não haja agilidade e flexibilidade nos processos para atender a essa mudança contínua de requisitos, haverá perda de competitividade e, o mais importante, não atendendo de forma adequada os clientes e não cumprindo o papel da organização em sua plenitude.

O laboratório clínico tem um papel essencial no sistema de saúde. A maioria das decisões médicas é tomada utilizando as informações fornecidas pelos processos laboratoriais. Gerenciar adequadamente estes processos é vital para a segurança do paciente. Um sistema de indicadores adequadamente definido, padronizado e constantemente monitorado é o maior aliado nesse desafio diário que é gerenciar processos em um laboratório. Entretanto, o sistema de indicadores deve ter um foco primordial: estar alinhado à visão do cliente. Isto é, os processos devem ser monitorados pela visão do cliente, verificando constantemente se estão efetivamente gerando produtos e serviços que atendam às suas expectativas, sejam estes tantos os clientes finais (pacientes) quanto os clientes médicos. O cliente é a razão de ser de uma empresa e a principal razão para a sobrevivência desta.

Internamente, um sistema de medição, estruturado de forma adequada através de indicadores, viabiliza o alinhamento entre os recursos disponíveis e a estratégia da organização. Processo é a “ponte” entre a estratégia da organização e os recursos que esta dispõe (pessoas, equipamentos, tecnologia, recursos intangíveis). Assim, esse alinhamento entre a utilização de recursos e a consecução das estratégias é realizado por processos eficazes, o que deve ser monitorado por um sistema de medição estruturado. Medir é uma das formas de influenciar o comportamento das equipes e alinhar as pessoas aos objetivos e metas da organização. Medir é a forma para identificar ineficiência na alocação de recursos e na utilização destes pelos processos. Medir é a única forma de assegurar com que a empresa inteira esteja alinhada às estratégias e voltada para o cliente.

Implantar um sistema de medição não é tarefa simples, porém está ao alcance de todos.

Que este texto seja uma referência e estímulo inicial. Mãos à obra!

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nevalainen, D. et al. Evaluating Laboratory Performance on Quality Indicators with the Six Sigma Scale. *Arch Pathol Lab Med.* v. 124, 2000. p. 516-519.
2. Gonçalves, J. E. As empresas são grandes coleções de processos. *Revista de Administração de empresas.* v. 40. n.1. 2000. p. 6-19.
3. Lima-Oliveira, G. S. et al. Controle da qualidade na coleta do espécime diagnóstico sanguíneo: iluminando a fase escura de erros pré-analíticos. *J Bras Patol Med Lab.* v. 45 n. 6 p. 441-447.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Approved Guideline GP27-A2: Using Proficiency Testing to improve the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Second Edition, CLSI, Wayne, PA., 2007.
5. College of American Pathologists. Troubleshooting Guide for Proficiency Testing Data. July 2009. [http://www.cap.org/apps/docs/proficiency\\_testing/troubleshooting\\_guide\\_for\\_pt\\_data.pdf](http://www.cap.org/apps/docs/proficiency_testing/troubleshooting_guide_for_pt_data.pdf)
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Proposed Guideline GP35-P: Development and Use of Quality Indicators for Process Improvement and Monitoring of Laboratory Quality; Proposed Guideline - CLSI, Wayne, PA., 2010.
7. Berlitz, F.A. Haussen, M. L. Seis sigma no laboratório clínico: impacto na gestão de performance analítica dos processos técnicos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.* 41(5):301-312, Out. 2005.
8. Werkema, M. Ferramentas estatísticas básicas para o gerenciamento de processos. v. 2. Belo Horizonte: Fundação Christiano Ottoni, 1995.
9. Harrold, D. Designing for Six Sigma Capability. *Control Engineering*, Vol. 46, No. 1.
10. McCarty, T. et al. *The Six Sigma Black Belt Handbook.* McGraw-Hill Professional, 2004.
11. Perez-Wilson, M. Six Sigma: understanding the concepts, implications and challenges. 1998.
12. Rotondaro, R. Seis Sigma – Estratégia gerencial para a melhoria de processos. Atlas, 2002.
13. Berlitz, F. Incorporando conceitos de capacidade e métrica sigma aos indicadores de processo no laboratório clínico. 40º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial. Curitiba, 2006. Tema Livre 273.
14. Mendes ME, Gartner MT, Sumita NM, Sánchez PB. Gestão por processos no laboratório clínico: uma abordagem prática. São Paulo: EPR Editora Ltda., 2007.
15. Shewhart, W. A. *Economic Control of Quality of Manufactured Product.* New York, Van Nostrand, 1931.
16. Rummler G.; Brache A. *Melhores desempenhos das empresas.* São Paulo, Makron Books, 1994.
17. Montgomery D. *Introdução ao Controle Estatístico da Qualidade.* Rio de Janeiro, LTC, 2004. 4ª Ed.
18. Kirchner, M.J. ET AL. Quality indicators and specifications for key processes in clinical laboratories: a preliminary experience. *Clin Chem Lab Med.* 2007; 45(5): 672-7.
19. Fraser, C.G. *Biological variation: from principles to practice.* AACC Press, 2001.
20. Galoro, C. A. O.; Mendes, M. E.; Burattini, M. N. Applicability and potential benefits of benchmarking in Brazilian clinical laboratory services. *Benchmarking: An International Journal*, 2009; v. 16 n. 6, p.817-30.



## ERRATAS DA 1ª EDIÇÃO IMPRESSA

Localização	De	Para
Página 27 3º parágrafo	A importância da ... O valor percentual do erro total é calculado através da seguinte equação matemática <sup>11,12</sup> .	A importância da ... O valor percentual do erro total é calculado através da seguinte equação matemática <sup>11,12</sup> .
Página 27 3º parágrafo	O gráfico de Bland-Altman <sup>19,20</sup> , demonstrado na Figura 2, avalia a concordância ...	O gráfico de Bland-Altman <sup>19,20</sup> avalia a concordância ...
Página 75 9º parágrafo	Os sistemas podem ser considerados com comportamento similar, quando o intervalo calculado contiver o valor zero e apresentarem valor maior que 0,05.	Os sistemas podem ser considerados com comportamento similar, quando o intervalo calculado contiver o valor zero e apresentar valor p maior que 0,05.
Página 76 5º parágrafo	Os exemplos 3 e 5 apresentam exemplos práticos de comparação entre dois sistemas analíticos. O exemplo 3 contém um exemplo de aplicação e critérios estatísticos. O exemplo 5 inclui a análise considerando critérios clínicos.	Os exemplos 3, 4 e 6 apresentam exemplos práticos de comparação entre dois sistemas analíticos. O exemplo 3 contém um exemplo de aplicação e critérios estatísticos. O exemplo 6 inclui a análise considerando critérios clínicos. O exemplo 4 apresenta a análise de Bland-Altman, que agrega critérios estatísticos e clínicos.
Página 76 11º parágrafo	Os exemplos 4 e 6 apresentam modelos práticos de comparação entre três sistemas analíticos. O Exemplo 4 contém um modelo integralmente baseado nas análises estatísticas descritas. O exemplo 6 inclui a análise considerando o erro total admissível, o que agrega à análise de comportamento dos dados frente a critérios clínicos.	Os exemplos 5 e 7 apresentam modelos práticos de comparação entre três sistemas analíticos. O Exemplo 5 contém um modelo integralmente baseado nas análises estatísticas descritas. O exemplo 7 inclui a análise considerando o erro total admissível, o que agrega critérios clínicos à análise de comportamento dos dados.
Página 105 Tabela 5	Hemograma - Critérios e Recomendações: Tabela de Rümke com contagem de 100 a 200	Hemograma - Critérios e Recomendações: Tabela de Rümke com contagem de 100 a 200 leucócitos por amostra.
Página 123 Figura 1	Fórmula do coeficiente de variação: $CV = (s/\bar{X}) \times 100$	Fórmula do coeficiente de variação: $CV = (s/\bar{X}) \times 100$

A fase analítica avançou no controle das não conformidades graças à evolução robótica e do investimento nas pessoas, mas um percentual significativo de erros ainda ocorre nesta fase. É com elevada expectativa que damos boas vindas a este volume que trata da gestão da fase analítica voltada para a escolha, validação e avaliação dos sistemas analíticos. Parabéns aos autores e leitores.

**Adagmar Andriolo**  
Médico Patologista Clínico

É com redobrado entusiasmo que saúdo esta publicação e constato que a ControlLab não se afastou de sua missão de amparar e propiciar aos laboratórios ferramentas para exercerem a melhor prática relacionada. Num momento em que todas as atenções se voltam para a fase pré-analítica do processo laboratorial, esta publicação nos lembra que, em tempos de acelerado desenvolvimento científico e tecnológico, muito ainda há que se cuidar na fase analítica para assegurar os resultados confiáveis.

**Wilson Shcolnik**  
Diretor de Acreditação da SBPC/ML 2010-2011  
Gerente de Relações Institucionais do Grupo FLEURY

ISBN 978-85-63896-00-1



9 788563 896001

**Control Lab**

Endereço: Rua Ana Neri, 416 - 20911-442 - Rio de Janeiro - RJ  
Telefone: (21)3891-9900 Fax: (21)3891-9901  
Email: contato@controllab.com.br  
Site: www.controllab.com.br