

*Informe técnico*

## **Instituto Adolfo Lutz inicia produção do Controle de Qualidade interno para diagnóstico sorológico de sífilis**

### ***Instituto Adolfo Lutz starts internal Quality Control Production for serologic diagnosis of Syphilis***

**Márcia Jorge Castejon; Rosemeire Yamashiro; Elaine Lopes de Oliveira, Edilene Peres Real da Silveira; Carmem Aparecida de Freitas Oliveira**

Centro de Imunologia. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, Brasil

---

## **INTRODUÇÃO**

A sífilis continua sendo um problema mundial, avaliando-se em 12 milhões o número de pessoas infectadas todos os anos, apesar de existirem medidas de prevenção e opções de tratamento eficazes.<sup>1</sup>

A Organização Mundial da Saúde<sup>1</sup> estima 1 milhão de casos de sífilis por ano entre as gestantes e preconiza a detecção e o tratamento oportunos destas e de seus parceiros sexuais portadores da sífilis, considerando que a infecção pode ser transmitida ao feto, com graves implicações.<sup>2</sup> A eliminação da sífilis congênita e da transmissão vertical do HIV constitui uma prioridade para a América Latina e Caribe.<sup>2</sup>

O objetivo global é a eliminação da sífilis congênita como um problema de saúde pública. Isto pode ser conseguido com a redução da prevalência de sífilis em mulheres grávidas e com a prevenção da transmissão de mãe para filho. Um dos quatro pilares para a eliminação da sífilis congênita é aumentar o acesso e melhorar a qualidade de assistência materno-infantis, incluindo o diagnóstico laboratorial.<sup>1</sup>

A área laboratorial contou com importantes iniciativas que culminaram na implementação de programas de controle da qualidade, que

têm permitido padronizar metodologias, avaliar o desempenho laboratorial e solucionar problemas.<sup>3</sup> A implementação de programas de garantia da qualidade analítica confere aos laboratórios a capacidade de demonstrar a competência técnica e de estar habilitado para produzir resultados confiáveis e rastreáveis.<sup>4</sup>

O Instituto Adolfo Lutz (IAL) – órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) – tem contribuído para que ações sejam implementadas pelos laboratórios da sub-rede no estabelecimento de efetiva melhoria da qualidade do diagnóstico sorológico da infecção por HIV e sífilis no estado de São Paulo.

Os resultados de testes sorológicos são inteiramente dependentes da qualidade de medidas empregadas nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica; e a consistência na produção de bons resultados requer um programa global que inclui controle e monitoramento dos procedimentos executados em todas as etapas do processo.<sup>5-7</sup>

A inclusão de amostra de reatividade conhecida como controle de qualidade interno (CQI), durante os procedimentos da

fase analítica dos testes sorológicos, fornece parâmetros adicionais para validar os ensaios e para identificar as variações no desempenho dos conjuntos de reagentes diagnósticos de cada novo lote utilizado. Estas medidas contribuem para efetuar o monitoramento de erros aleatórios e sistemáticos, cuja detecção pode ser dificultada quando são empregados apenas os controles fornecidos nos conjuntos de reagentes diagnósticos.<sup>8-13</sup>

Desde 2009, o Centro de Imunologia (CIM) do IAL Central tem-se empenhado nas atividades de produção e distribuição de painéis de soros constituídos de amostras conhecidamente negativas e positivas quanto a ausência ou a presença de anticorpos anti-HIV. Estas amostras são os materiais de referência (MR) empregados para preparar o CQI positivo (soro fracamente reagente) para ser incluído em cada procedimento de ensaios sorológicos anti-HIV (CQI HIV) nas atividades de rotina dos laboratórios inscritos no Programa de Controle de Qualidade Interno, coordenado pelo IAL Central.<sup>3,14</sup>

Neste contexto, o Laboratório de HIV/Aids – CIM – IAL inicia o processo de transferência de tecnologia de produção de MR ao Laboratório de Sífilis – CIM – IAL para a implementação do Programa de Controle de Qualidade Interno de Sífilis. Deste modo, o IAL contribui no fortalecimento do plano de eliminação da sífilis congênita no estado de São Paulo.

## OBJETIVO

Atuar no estabelecimento de efetiva melhoria da qualidade do diagnóstico sorológico da infecção por sífilis no estado de São Paulo, por meio da padronização e validação do

CQI em ensaio de quimioluminescência anti-treponêmico para, posteriormente, ser distribuído aos laboratórios da sub-rede do estado de São Paulo.

## METODOLOGIA

### 1. Produção do CQI no IAL

O processo de produção do CQI engloba diversas atividades: o processamento e o fracionamento do insumo, os testes de homogeneidade e de estabilidade do soro, a embalagem e a escolha dos métodos de medição.<sup>15</sup>

Os procedimentos para a produção e distribuição desse MR estão de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para as Boas Práticas de Fabricação.<sup>16</sup>

### Obtenção de Plasma

O IAL Central tem contado com a colaboração da Hemorede – Coordenadoria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos da Saúde – Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCTIES/SES-SP), por meio do termo de responsabilidade firmado entre as instituições, para tornar viável a transferência de bolsas de plasma com sorologia positiva para sífilis e bolsas de plasma negativo para os marcadores preconizados pela legislação vigente para procedimentos hemoterápicos para CIM – IAL. Pelo acordo estabelecido, foi assegurada a obtenção de amostras biológicas para preparar materiais específicos, e para atender à demanda de soros controles para os procedimentos de CQI, no âmbito da sub-rede de laboratórios para o diagnóstico da infecção de sífilis no estado de São Paulo.<sup>15</sup>

### **Transformação de Plasma em Soro**

O processo de transformação do plasma em soro é realizado por meio da técnica de reclassificação ou trombinização, seguindo-se a metodologia recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) com modificações.<sup>15,17,18</sup>

### **Caracterização dos Soros**

A caracterização dos soros quanto a reatividade de anticorpos específicos anti-treponêmico é realizada pelo emprego de diferentes modalidades de testes imunodiagnósticos. Concomitantemente, são avaliados os painéis de referência para verificar o desempenho dos diferentes lotes dos conjuntos de reagentes diagnósticos utilizados, quanto às características de sensibilidade e de especificidade analíticas.

### **Fracionamento dos Soros**

Os soros preparados e caracterizados são distribuídos na quantidade de 0,5 mL em tubos para congelamento (“criotubos”), os quais são etiquetados, numerados e armazenados em *freezer* a -20°C em caixas para congelamento.

### **Testes de Homogeneidade e de Estabilidade**

Na produção dos lotes de soros, vários procedimentos são cumpridos para garantir a qualidade do produto, avaliando-se e controlando-se a adequação de homogeneidade e de estabilidade.<sup>19-21</sup>

### **Preparo do Painel CQI Anti-treponêmico**

A diluição ideal para os anticorpos anti-treponêmico nas amostras de soro é estabelecida, conforme preconizado no Manual

Técnico<sup>15,18</sup> para o preparo do CQI positivo (soro fracamente reagente), rotineiramente empregado no Laboratório de HIV/Aids – CIM – IAL. O *kit* de reagentes diagnóstico utilizado é o Advia Centaur – Syphilis (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc, NY, USA).

Para a diluição do CQI anti-treponêmico, os soros positivos (fortemente reagentes) são diluídos inicialmente em série (razão 10) em soros negativos, e a amostra de cada diluição é testada no *kit* de reagentes diagnóstico Advia Centaur - Syphilis. A melhor diluição da amostra selecionada para ser empregada como CQI é aquela em que o valor do índice obtido na reação de quimioluminescência é detectado na faixa de 1,5 a 4,5 vezes o valor do *cut-off* ou ponto de corte do teste (igual a 1,0). Esta faixa de reatividade facilita a percepção dos erros que possam ocorrer durante a realização dos ensaios. A quantidade de alíquotas encaminhada ao participante do Programa de Controle de Qualidade Interno depende da demanda mensal de exames de rotina do laboratório.

## **2. Participação dos Laboratórios no Programa CQI - IAL**

A participação no Programa de Controle de Qualidade Interno de Sífilis – IAL é restrita aos laboratórios da rede pública convidados pelo CIM – IAL. Após o convite, os laboratórios requerem a participação no Programa por meio de ofício do representante legal da respectiva unidade. Esse documento contém as informações que comprovam sua atividade na prestação de serviço para o diagnóstico laboratorial de sífilis (ensaio de quimioluminescência – Advia Centaur – Syphilis) junto à rede pública no estado de São Paulo.

### **Solicitação do CQI ao CIM – IAL**

Após a celebração do termo de responsabilidade junto ao IAL, no qual constam as responsabilidades técnicas de solicitação, cessão, transporte, recepção e utilização exclusiva para o CQI anti-treponêmico, os laboratórios participantes efetuam os pedidos ao CIM – IAL, por meio de documento específico – Formulário de solicitação e transferência de CQI anti-treponêmico pronto para uso devidamente preenchido.<sup>15</sup> O Formulário preenchido deve ser encaminhado ao IAL, pelo endereço eletrônico [cqisifilis@ial.sp.gov.br](mailto:cqisifilis@ial.sp.gov.br)

### **Transporte das Amostras CQI ao Laboratório Participante**

O laboratório participante é responsável pela retirada da amostra CQI no CIM – IAL e deve seguir as instruções documentadas quanto às condições de temperatura e ao padrão técnico para garantir a integridade e estabilidade do soro.<sup>20</sup>

### **Recebimento das Amostras CQI no Laboratório Participante**

No ato do recebimento do painel de soros (amostra CQI), o responsável técnico do laboratório participante deve verificar as condições de temperatura do material recebido e reportá-las no formulário específico (Formulário de solicitação e transferência dos soros) e, logo a seguir, encaminhá-lo ao CIM - IAL pelo e-mail [cqisifilis@ial.sp.gov.br](mailto:cqisifilis@ial.sp.gov.br)

### **Conservação do Material**

Ao receber o painel de soros CQI, o técnico do laboratório participante deve acondicioná-lo em *freezer* (aproximadamente -20°C) até o momento da realização dos ensaios.

### **Painel CQI Anti-treponêmico – Utilização na Rotina Laboratorial**

Uma alíquota do CQI anti-treponêmico “pronto para uso” no ensaio Advia Centaur – Syphilis – Siemens deve ser utilizada juntamente com os controles fornecidos pelo fabricante do conjunto de reagentes diagnóstico. Porém, antes de utilizar a amostra CQI na rotina diária, o laboratório deve estabelecer a faixa de variação aceitável para o lote de reagentes e para os equipamentos utilizados. Portanto, devem ser analisadas cinco alíquotas da amostra CQI para verificar se os resultados obtidos na reação estão dentro da faixa de reatividade recomendada, ou seja, de 1,5 a 4,5 vezes o valor do ponto de corte (igual a 1,00). Se os cinco valores do CQI anti-treponêmico estiverem na faixa recomendada, o próximo passo consiste em calcular a média dos cinco resultados obtidos e dos limites da variação aceitável para o CQI positivo (Limite inferior = média menos 25% e Limite superior = média mais 25%). Para esse procedimento, os Formulários – Validação e cálculo de variação aceitável CQI anti-treponêmico positivo em ensaio de quimioluminescência e Protocolo de resultados do CQI anti-treponêmico estão disponíveis em [www.ial.sp.gov.br](http://www.ial.sp.gov.br)

Os valores do CQI obtidos diariamente devem ser colocados nos gráficos de controle de qualidade (*quality control chart*) para serem analisados de acordo com os seguintes parâmetros:

1. Para que a reação seja considerada válida pelas medições (desempenho analítico adequado), os valores do CQI devem estar dentro dos limites aceitáveis e em torno da média.

2. Quando o valor do CQI diário estiver fora da variação aceitável ou demonstrar tendência dos resultados para o limite superior ou inferior, o técnico responsável deve analisar os dados e tomar medidas corretivas.

### Avaliação dos Resultados do CQI no CIM – IAL

O laboratório participante deve encaminhar os resultados obtidos na rotina e o gráfico

com análise crítica realizada pelo técnico responsável.

As informações acima ou as dúvidas referentes ao CQI anti-treponêmico devem ser encaminhadas ao CIM – IAL por e-mail a [cqisifilis@ial.sp.gov.br](mailto:cqisifilis@ial.sp.gov.br)

As análises desses dados possibilitam ao CIM – IAL verificar a reprodutibilidade dos resultados nos diferentes lotes do conjunto de reagentes diagnóstico, utilizados na rotina diagnóstica de sífilis nas unidades da Rede de Laboratórios do Estado de São Paulo.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organização Mundial de Saúde. Eliminação mundial da sífilis congênita: fundamento lógico e estratégia para ação. Geneva: OMS; 2008.
2. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico - Sífilis. Ano IV - Nº 1. Brasil; 2015.
3. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Campos AR, Sartorato MR, Cabral GB, et al. Implementação de controle de qualidade interno (CQI) nos ensaios sorológicos anti-HIV. Produção e distribuição de painéis de soro pelo Instituto Adolfo Lutz Central. *Bepa*. 2009; 6(65):30-2.
4. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO/IEC 17.025: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Brasil, 2005.
5. Cura E, Wendel S. Manual de procedimientos de control de calidad para los laboratorios de serologia de los bancos de sangre. Washington, DC: PAHO/HPC/HCT 94.21, 1994.
6. The Joint United Nations Programme on HIV/Aids (UNAIDS). HIV testing methods: UNAIDS Technical Update, 1997.
7. Center for Disease Control, Prevention and African Regional Office of the World Health Organization and Association of Public Health Laboratories. Guidelines for appropriate evaluations of HIV testing technologies in Africa, 2001.
8. Kudlac J, Hanan S, Mckee GL. Development of Quality Control Procedures for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Antibody Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol*. 1989; 27 (6):1303-06.
9. Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. HIV testing and quality control: A guide for laboratory personnel. Durham: Family Health International; 1991.
10. World Health Organization. Biosafety Guidelines for diagnostic and research laboratories working with HIV. Geneva; 1991. (WHO AIDS Series 9).
11. World Health Organization. Blood Safety and Clinical Technology: Quality Assurance and Accreditation Report of Intercountry Consultation. Yangon, 1999.
12. World Health Organization. World Health Day 2000: Strategies of Safe Blood Transfusion, 2000.

13. Center for Disease Control and Prevention. Newborn screening quality assurance program. 2005 Annual Summary Report, v. 3; 2006.
  14. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Ueda M. Implementation of a strategy for improving the serological diagnosis of HIV/AIDS by introducing the internal quality control. Rev Inst Adolfo Lutz. 2010; 69(2):157-64.
  15. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF. Manual técnico - Programa de controle de qualidade interno em ensaios sorológicos para HIV/Aids. [Acesso em 05 jul. 2016]. Disponível em: <http://ses.sp.bvs.br/lildbi/docsonline/get.php?id=6092>
  16. Ministério da Saúde. Portaria nº 686, de 27 de agosto de 1998. Determina o cumprimento das diretrizes estabelecidas das boas práticas de fabricação e controle em estabelecimentos de produtos para diagnóstico in vitro. [Acesso em 30 jun. 2016]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/686\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/686_98.htm)
  17. World Health Organization - WHO. Guidelines for organizing national external quality assessment schemes for HIV serological testing. UNAIDS 96.5, 1996.
  18. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Manual técnico para implementação do controle de qualidade interno nos procedimentos laboratoriais para diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV no estado de São Paulo. São Paulo: IAL; 2007. [Acesso em 01 jul. 2016]. Disponível em: [bvsalud.org](http://bvsalud.org)
  19. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO Guia 35: Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação. Brasil, 2012.
  20. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Aprova o regulamento para funcionamento do laboratório clínico e posto de coleta laboratorial.
- 
- 

**Correspondência/Correspondence to:**  
Instituto Adolfo Lutz – Central; Centro de Imunologia  
Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar – Cerqueira César  
CEP: 01246-000 – São Paulo/SP – Brasil  
Tel: (55) 11 3068-2885/2886  
E-mail: [mcastejon@ial.sp.gov.br](mailto:mcastejon@ial.sp.gov.br)