

## Relato de experiência

# Boas práticas de fabricação para a produção do material de referência para ensaios sorológicos no Instituto Adolfo Lutz

Good manufacturing practices for the production of reference material for serological assays at the Adolfo Lutz Institute

Márcia Jorge Castejon<sup>ID</sup>, Elaine Lopes de Oliveira<sup>ID</sup>

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

## Autor para correspondência

Márcia Jorge Castejon

E-mail: [marcia.castejon@ial.sp.gov.br](mailto:marcia.castejon@ial.sp.gov.br)

Instituição: Instituto Adolfo Lutz (IAL)

Endereço: Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar, CEP: 01246-000. São Paulo, São Paulo, Brasil

## Como citar

Castejon MJ, Oliveira EL. Boas práticas de fabricação para a produção do material de referência para ensaios sorológicos no Instituto Adolfo Lutz. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2024; 21: e41429.

doi: <https://doi.org/10.57148/bepa.2024.v.21.41429>

Primeira submissão: 11/11/2024 • Aceito para publicação: 26/11/2024 • Publicação: 03/12/2024

Editora-chefe: Regiane Cardoso de Paula

## Resumo

Este trabalho descreve os procedimentos metodológicos seguidos pelo Laboratório de Material de Referência do Centro de Imunologia – Instituto Adolfo Lutz na produção de material de referência (MR) com a qualidade e eficácia para assegurar a confiabilidade dos resultados sorológicos pelos laboratórios participantes dos Programas de Controle de Qualidade do Instituto Adolfo Lutz (PCQ/IAL). A produção do MR envolve um conjunto de medidas rigorosas para verificar e controlar todo o processo, desde o recebimento do plasma no laboratório até o produto final. O intuito é assegurar a máxima qualidade, prevenindo e identificando qualquer possível variação durante o processo. As amostras de controle de qualidade são fundamentais em laboratórios clínicos para maximizar a eficácia dos testes laboratoriais e reduzir custos operacionais desnecessários.

**Palavras-chave:** controle de qualidade, material de referência, boas práticas de fabricação, sorologia, laboratórios clínicos.

## Abstract

This work reports the procedures followed by the Reference Material Laboratory of the Immunology Center – Adolfo Lutz Institute in the production of reference materials (RM) with the quality and effectiveness to ensure the reliability of serological results by participant laboratories in the Quality Control Programs of the Adolfo Lutz Institute (PCQ/IAL). The RM production involves a set of measures to verify and control the entire process, from the incoming of the plasma into the laboratory to the final product. The aim is to ensure maximum quality, preventing and identifying any undesirable variation during the process. Quality control samples are critical in clinical laboratories to maximize the effectiveness of laboratory tests and minimize unnecessary costs.

**Keywords:** quality control, reference material, good manufacturing practices, serology, clinical laboratories.

## Apresentação

O controle de qualidade (CQ) é a etapa inicial de todo sistema de gestão implantado no laboratório, representando as ações desenvolvidas para determinar se um produto está de acordo com as especificações de qualidade. Controlar a qualidade na produção de um material de referência (MR) significa avaliar toda a cadeia de produção, da entrada do insumo no laboratório ao produto final.<sup>1</sup>

No Laboratório de Material de Referência do Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz (Lab MR/CIM – IAL), as boas práticas na produção do MR incluem, minimamente, estar em conformidade com os padrões estabelecidos pela ISO *Guide* 34<sup>2</sup> e ISO Guia 35,<sup>3</sup> adotando um conjunto de medidas para verificar, controlar e garantir a qualidade dos lotes de soro produzidos. Também são fundamentais o emprego de insumos e equipamentos qualificados, metodologias validadas, profissionais capacitados, procedimentos escritos e documentação rastreável. O intuito é assegurar a máxima qualidade durante a produção do MR, prevenindo e identificando qualquer possível variação ou erro durante o processo para que medidas corretivas sejam aplicadas.

Alguns pontos são destacados, como a melhora contínua do produto, para atender os requisitos da qualidade; o foco nos laboratórios participantes, para recebimento do produto dentro de requisitos definidos e esperados; o controle e rastreabilidade, desde a entrada do plasma no IAL até a utilização do soro controle na rotina laboratorial.

No Lab MR/CIM – IAL, o primeiro material de referência produzido foi o controle de qualidade interno (CQI) para diagnóstico sorológico de HIV, em 2008. Posteriormente, foram desenvolvidos o CQI para ensaios sorológicos de sífilis, os itens de ensaio para HIV no Programa de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ – HIV) e amostras de soro com diferentes perfis sorológicos para compor os painéis de desempenho para HIV e sífilis.<sup>4-10</sup> Trata-se de amostras de soro de origem humana, preparadas e padronizadas com concentração conhecida de anticorpos para serem utilizadas em uma metodologia específica.

Este manuscrito relata os procedimentos seguidos pelo Laboratório de Material de Referência do Centro de Imunologia – Instituto Adolfo Lutz na produção de materiais de referência com qualidade e eficácia para assegurar a confiabilidade dos resultados sorológicos pelos laboratórios participantes dos Programas de Controle de Qualidade do Instituto Adolfo Lutz (PCQ/IAL).

## Processo de produção

O processo de produção do MR contempla várias etapas, que vão desde a solicitação do plasma pelo IAL à unidade hemoterápica até a utilização do soro controle pelos laboratórios. Em cada fase do processo, foi elaborado o procedimento operacional padrão, que contempla o passo a passo da metodologia e as condições para aprovação.

## 1. Solicitação de bolsas de plasma à unidade hemoterápica/banco de sangue

O emprego de bolsas de plasma descartadas pelas unidades hemoterápicas para a produção do MR tem respeitado padrões éticos, à luz da legislação vigente e com anuência das autoridades sanitárias, para utilização de materiais biológicos humanos.<sup>11-12</sup>

O IAL estabeleceu procedimentos para padronizar o fluxo de transferência do plasma entre a rede de serviço de hemoterapia e a rede de diagnóstico no estado de São Paulo. Portanto, foi celebrado o termo de responsabilidade entre o IAL e a unidade hemoterápica, na qual constam as responsabilidades técnicas de solicitação, a cessão, o transporte, a recepção, a garantia da rastreabilidade e a utilização exclusiva para o preparo do MR.<sup>4</sup>

As bolsas de plasma solicitadas são as descartadas pela unidade hemoterápica por apresentarem resultados reagentes em qualquer um dos testes obrigatórios realizados na triagem laboratorial para infecções transmissíveis pelo sangue, assim como aquelas com resultado não reagente, porém com prazo de validade expirado para transfusão ou com volume abaixo do preconizado.<sup>13</sup>

## 2. Transporte da unidade hemoterápica para o Instituto Adolfo Lutz

O plasma congelado é retirado da unidade hemoterápica pelo IAL e transportado, sob temperatura adequada para manter suas características, acompanhado por documento específico preenchido e assinado – formulário de solicitação e transferência de bolsa de plasma.<sup>14</sup>

## 3. Recebimento no Instituto Adolfo Lutz

No recebimento das bolsas de plasma no IAL é feito o controle para confirmar as condições do material recebido, e é verificada a temperatura e realizada a conferência no registro do formulário, com a etiqueta de identificação na bolsa. Além de serem arquivados todos os documentos, na entrada do material no Lab MR/CIM – IAL cada unidade de plasma recebe uma numeração específica.

Logo depois, o plasma é armazenado em temperatura igual ou inferior a -20 °C até a data de processamento.

### 3.1 Processamento do plasma em soro

Inicialmente, o processo de transformação do plasma em soro foi realizado pela técnica de trombinização, de acordo com a metodologia recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS),<sup>15</sup> por apresentar maior eficiência e rendimento e menor complexidade.<sup>4</sup> Todavia, em razão de novos estudos realizados no Lab MR/CIM – IAL, a técnica de recalcificação passou a ser utilizada, por demonstrar excelente desempenho, reduzindo custos, sem comprometer a qualidade do produto.

### 3.2 Caracterização dos soros

A caracterização dos soros quanto à reatividade positiva e negativa para anticorpos é realizada por diferentes ensaios sorológicos disponíveis no laboratório. É importante destacar que os lotes de cada conjunto de reagentes diagnóstico utilizado é validado por meio da análise dos resultados das amostras componentes de painéis de desempenho.

### 3.3 Lote de soro

Cada unidade de plasma processado em soro é um lote produzido, seguindo uma numeração sequencial estabelecida.

Para assegurar a qualidade e a estabilidade dos produtos, no preparo dos lotes de soros são seguidas as Boas Práticas de Fabricação<sup>16</sup> nos procedimentos de fracionamento em criotubos, de rotulagem e armazenamento em caixas apropriadas (embalagem secundária).

### 3.4 Preparo do material de referência

A confecção de cada lote de MR (volume, número de frascos, rotulagem, entre outros itens) está de acordo com sua aplicação – CQI, amostras de soro do painel de desempenho ou itens de ensaio (AEQ) – e especificada a metodologia para qual o lote será destinado.

#### 3.4.1 Controle de qualidade interno

O CQI é um indicador da qualidade para que os laboratórios possam acompanhar a precisão do ensaio analítico antes da liberação dos resultados dos pacientes. No caso de ensaios como os imunoenzimáticos, os de quimioluminescência e os de imunoblot são preparadas diluições em série do soro positivo para os anticorpos em questão com o soro negativo. A numeração do lote corresponde ao soro positivo, seguida do soro negativo e do respectivo título. No laboratório participante do programa do IAL, cada diluição é analisada na metodologia específica e é escolhida aquela que apresenta um resultado fracamente reagente (baixo título de anticorpos).

No preparo do CQI para o ensaio de VDRL (*venereal disease research laboratory*) não há diluição do soro positivo. A amostra é apenas caracterizada e separada de acordo com sua titulação de anticorpos.

#### 3.4.2 Itens de ensaio para avaliação externa da qualidade

Os itens de ensaio são um conjunto composto de quatro amostras de soro caracterizadas quanto à reatividade de anticorpos específicos para diferentes modalidades de testes imunodiagnósticos.<sup>7,8</sup> Com a finalidade de avaliar o desempenho dos laboratórios participantes do Programa AEQ do IAL, os itens de ensaio auxiliam no monitoramento da exatidão dos resultados com aplicação mais ampla, ou seja, além da avaliação do processo analítico, abrangem as informações sobre as fases pré-analítica e pós-analítica.

### 3.4.3 Painel de desempenho

O painel de desempenho é composto de várias amostras de soro com diferentes perfis sorológicos (reagente, não reagente e indeterminado) e é utilizado no laboratório para avaliar a execução dos kits de reagentes diagnósticos e na capacitação de profissionais para um determinado ensaio sorológico.

Após o preparo do MR, a análise amostral da produção de cada lote é fundamental para verificar a conformidade dos pré-requisitos de qualidade preconizados, como a homogeneidade apropriada e a estabilidade controlada.<sup>2,3,17-19</sup>

### 3.5 Avaliação da estabilidade do soro

No desenvolvimento do projeto de pesquisa, os processos de armazenamento e transporte foram validados por meio de estudos da estabilidade de longo prazo e curto prazo, respectivamente, para garantir a temperatura ideal do MR antes e durante sua distribuição aos laboratórios. Inicialmente, a estabilidade de longo prazo do MR para anticorpos anti-HIV foi definida em 56 semanas (392 dias),<sup>18</sup> no entanto estudos posteriores demonstraram sua extensão para cinco anos. É importante ressaltar que o estudo da estabilidade do MR tem sido realizado continuamente, pois os anticorpos, especialmente para HIV, são estáveis por muitos anos.<sup>18,20</sup>

### 3.6 Avaliação da homogeneidade no soro

O emprego de testes de homogeneidade em um lote de MR consiste em definir as variações amostrais entre os frascos embalados.<sup>17</sup> Na avaliação da homogeneidade dessas amostras – entre os frascos e dentro deles – são aplicados métodos estatísticos para as metodologias imunoenzimática e de quimioluminescência. Por outro lado, para os ensaios qualitativos, como o de imunoblot, no Lab MR/CIM – IAL são separados aleatoriamente diferentes frascos de um lote para a avaliação do perfil e da intensidade das bandas presentes. Desse modo, há a possibilidade de verificar a qualidade do material fracionado.

### 3.7 Validação do produto

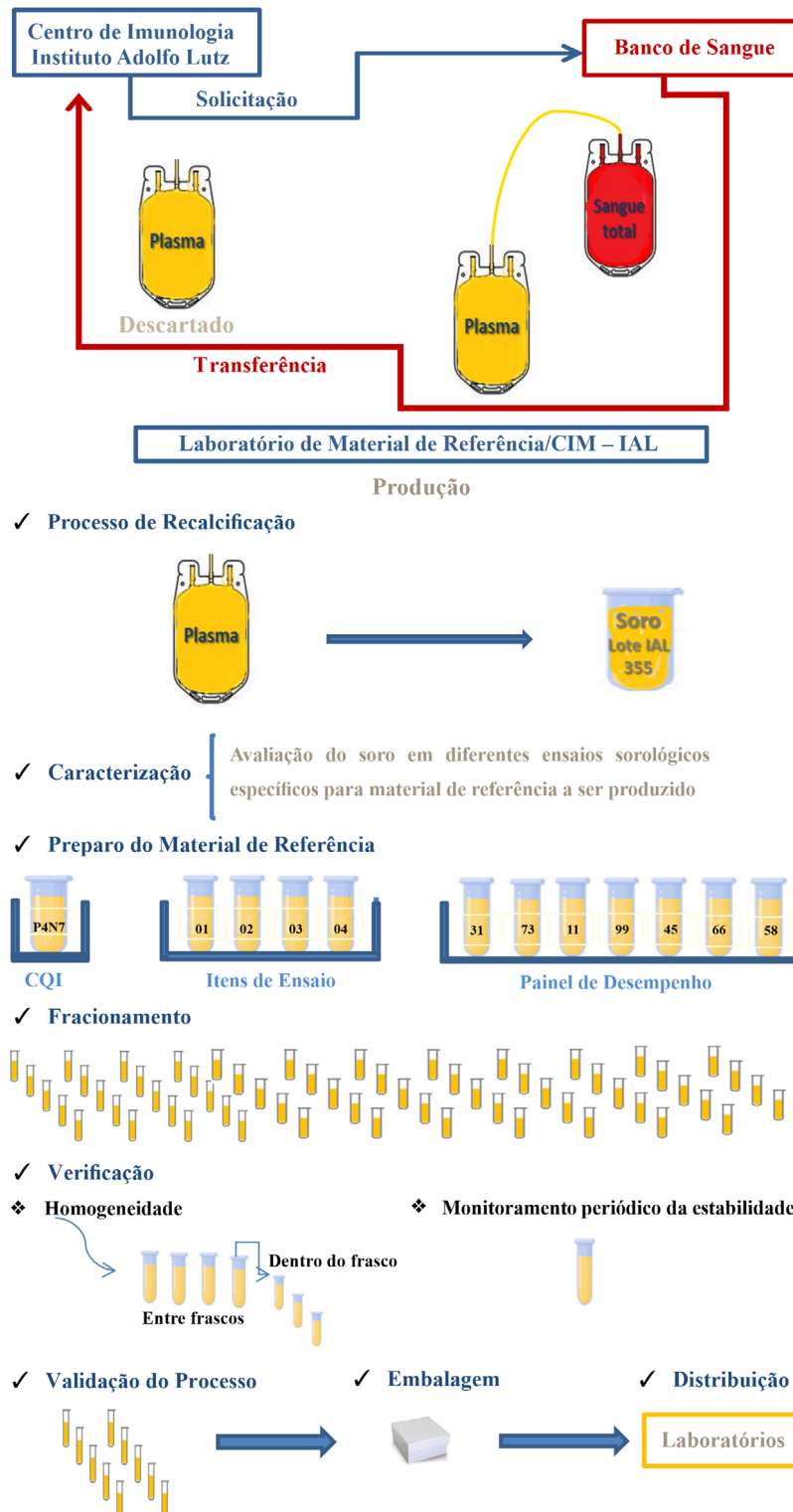
Quando validado nas diferentes etapas acima descritas, o produto é armazenado em freezer, a -20 °C, até a sua distribuição aos laboratórios que participam do PCQ/IAL.

### 3.8 Distribuição e controle do material de referência no CIM – IAL

Na distribuição do MR são aplicados procedimentos para garantir a segurança, minimizar os riscos sanitários e preservar a integridade do material biológico transportado.<sup>11,21</sup> Os registros de rastreabilidade das amostras de soro controle são feitos desde sua saída do IAL até o local de destino (transporte). Essas informações são fundamentais para garantir a qualidade do produto recebido no laboratório. O monitoramento é constante durante seu prazo de validade. O sistema de controle de qualidade é necessário para assegurar que o material biológico continua eficaz. Isso implica controles regulares para demonstrar que os resultados permanecem reprodutíveis, ou seja, o ensaio sorológico pode detectar a presença do analito (anticorpos) na amostra.

A figura a seguir ilustra o processo de produção dos MR no IAL.

Figura 1. Etapas do processo de produção dos materiais de referência



Fonte: Elaborado pelos autores.

## Considerações finais

A aplicação do sistema de qualidade é uma estratégia de grande relevância e necessária em todos os laboratórios, em diferentes áreas. A tecnologia empregada na produção dos materiais de referência pelo Laboratório de Material de Referência do Centro de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz é um processo de baixo custo e dispensa equipamentos complexos, tanto que a rotina de produção estabelecida foi totalmente absorvida pela estrutura física atual do laboratório.

Ao longo desses anos, o Instituto Adolfo Lutz tem contribuído para o fortalecimento do diagnóstico das unidades participantes dos Programas de Controle de Qualidade pelo papel indispensável que o material de referência representa ao laboratório clínico, maximizando a eficácia dos testes laboratoriais para a melhora dos resultados dos pacientes e, com isso, aprimorando recursos e minimizando custos desnecessários.

## Agradecimentos

Agradecemos aos laboratórios participantes dos Programas de Controle de Qualidade do Instituto Adolfo Lutz e a todos os profissionais envolvidos nas diferentes etapas de produção do material de referência.

## Referências

1. World Health Organization. Annex 4. WHO guidelines on good manufacturing practices for blood establishments. Report. Geneva; 2011. (WHO Technical Report Series, 961). [Acesso em 4 nov. 2024]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/gmp-for-blood-establishments-annex-4-trs-no-961>.
2. International Standards Organization. ISO Guide 34: General requirements for the competence of reference material producers. Geneva; 2009.
3. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ISO Guia 35: Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação. Brasil; 2012.
4. 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 4 nov. 2024]. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/brasil/resource/pt/biblio-933229>.
5. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Campos AR, Sartorato MC, Cabral GB, et al. Implementação de controle de qualidade interno (CQI) nos ensaios sorológicos anti-HIV. Produção e distribuição de painéis de soro pelo Instituto Adolfo Lutz Central. BEPA. 2009; 65(6): 30-2. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/BEPA182/article/view/38606>.



6. 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. Disponível em: [http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/10/rial69\\_2\\_completa/1271.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/10/rial69_2_completa/1271.pdf).
7. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Oliveira CC, Caruso MSF, Sakuma AM. Programa de avaliação externa da qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV pelo Instituto Adolfo Lutz. BEPA. 2014; 11(125): 37-43. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/BEPA182/article/view/38250>.
8. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Caruso MSF, Oliveira CAF, Sakuma AM. Avaliação externa da qualidade em ensaios sorológicos anti-HIV no Instituto Adolfo Lutz (IAL): desempenho dos laboratórios participantes. BEPA. 2015; 12(142): 13-25. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/BEPA182/article/view/38137>.
9. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF. Manual técnico – Programa de controle de qualidade interno em ensaios sorológicos para HIV/aids. 2016; p.24. [Acesso em 4 nov. 2024]. Disponível em: [https://saude.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\\_7\\_15/manualtecnico\\_cqi\\_hiv\\_bvs\\_mai\\_2016.pdf](https://saude.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_7_15/manualtecnico_cqi_hiv_bvs_mai_2016.pdf).
10. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira EL, Silveira EPR, Oliveira CAF. Manual do participante – controle de qualidade interno (CQI) em ensaios de imunoblot rápido HIV e de quimioluminescência anti-treponêmico. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz. 2016; p.20. [Acesso em: 4 nov. 2024] Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ses-33099>.
11. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 441, de 12 de maio de 2011. Aprova as diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores. Brasília, DF. [Acesso em 21 out. 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/conselho-nacional-de-saude/pt-br/aceso-a-informacao/legislacao/resolucoes/2011/resolucao-cns-no-441.pdf/view>.
12. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução CNS nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. [Internet]. Brasília, DF. [Acesso em 17 out. 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/conselho-nacional-de-saude/pt-br/aceso-a-informacao/legislacao/resolucoes/2012/resolucao-no-466.pdf/view>.
13. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 158, de 4 de fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. [Acesso em 4 nov. 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/doacao-de-sangue/legislacao/regulamentos-tecnicos-especificos-hemoterapia/portaria-gm-ms-n158-2016.pdf/view>.
14. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 786, de 5 de maio de 2023. Dispõe sobre os requisitos técnico-sanitários para o funcionamento de laboratórios clínicos, laboratórios de anatomia patológica e de outros serviços que executam as atividades relacionadas aos exames de análises clínicas. [Acesso em 4 nov. 2024]. Disponível em: [https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5919009/RDC\\_786\\_2023\\_.pdf/d803afbc-59c1-4dc2-9bb1-32f5131eca59](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5919009/RDC_786_2023_.pdf/d803afbc-59c1-4dc2-9bb1-32f5131eca59).
15. World Health Organization. Guidelines for organizing national external quality assessment schemes for HIV serological testing. Unaid 96.5, 1996. [Acesso em 4 nov. 2024]. Disponível em: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/in-vitro-diagnostics/eqas96.pdf?sfvrsn=2f4fac72\\_5](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/in-vitro-diagnostics/eqas96.pdf?sfvrsn=2f4fac72_5).

16. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 665, de 30 de março de 2022. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de produtos médicos e produtos para diagnóstico de uso *in vitro*. [Acesso em 4 nov. 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/rdc-665-de-2022>.
17. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Olivieri JC, Oliveira CAF, Ueda M. Homogeneity study of the internal quality control sera for immunodiagnosis of HIV/Aids. J Bras Patol Med Lab. 2014; 50(1): 46-52. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442014000100006>.
18. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Granato D, Oliveira CAF, Ueda M. Study on the stability of internal quality control sera for HIV/Aids immunodiagnostic tests. J Bras Patol Med Lab. 2014; 50(1): 36-45. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442014000100005>.
19. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Oliveira EL, Silveira EPR, Oliveira CAF. Study on the stability of HIV and syphilis reference materials under varied temperature conditions during their transportation. J Bras Patol Med Lab. 2017; 53(3): 188-93. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20170025>.
20. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Oliveira CAF, Ueda M. Stability of anti-HIV antibodies in serum samples stored for two to eighteen years periods. J Bras Patol Med Lab. 2014; 50(4): 272-7. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20140026>.
21. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 504, de 27 de maio de 2021. Dispõe sobre as boas práticas para o transporte de material biológico humano. [Acesso em 4 nov. 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/transporte-de-material-biologico>.

## Contribuição dos autores

Márcia Jorge Castejon: elaboração e aprovação final do manuscrito. Elaine Lopes de Oliveira: revisão crítica do conteúdo e aprovação final da versão do manuscrito.

## Preprint

O manuscrito não foi previamente publicado em servidores preprint.

## Aprovação dos autores

Os autores participaram efetivamente do trabalho, aprovam a versão final do manuscrito para publicação e assumem total responsabilidade por todos os seus aspectos, garantindo que as informações sejam precisas e confiáveis.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesse de natureza política, comercial e financeira no manuscrito.

## Financiamento

Os autores declaram que não houve fontes de financiamento.