

MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

Módulo 2: Controle Externo da Qualidade



**MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA
O CONTROLE DE INFECÇÃO
RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE**

Módulo 2: Controle Externo da Qualidade

Copyright © 2013 Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial ou total dessa obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens dessa obra é da área técnica.

A Anvisa, igualmente, não se responsabiliza pelas idéias contidas nessa publicação.

1ª edição – 2010

Elaboração, distribuição e informações:

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

SIA Trecho 5, Área Especial 57

CEP: 71205-050 Brasília – DF

Tel.: (61) 3462-6000

Home page: www.anvisa.gov.br

Diretoria

Dirceu Brás Aparecido Barbano – Diretor-Presidente

Jaime Cesar de Moura Oliveira

José Agenor Álvares da Silva

Adjuntos de Diretor

Luiz Roberto Klassmann

Luciana Shimizu Takara

Neilton Araujo de Oliveira

Doriane Patricia Ferraz de Souza

Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde – GGTES

Diana Carmem Almeida Nunes de Oliveira

Gerência de Vigilância e Monitoramento em Serviços de Saúde – GVIMS

Magda Machado de Miranda Costa

Coordenação Técnica:

Ana Clara Ribeiro Bello dos Santos – Anvisa

Carlos Emílio Levy – Universidade de Campinas-SP

Redação:

Derliane Oliveira – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ML

Ismar Barbosa – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ML

Pedro F. Del Peloso – Laboratório Richet

Ulysses Moraes de Oliveira-Ex-Presidentes da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ML

Revisão técnica – Anvisa:

André Anderson Carvalho

Fabiana Cristina de Sousa

Heiko Thereza Santana

Magda Machado de Miranda

Suzie Marie Gomes

Cooperação técnica:

Termo de Cooperação nº 64

Organização Pan-Americana da Saúde

Organização Mundial da Saúde

Representação Brasil

Joaquin Molina – Representante

Enrique Vazquez – Coordenador da Unidade Técnica de Doenças Transmissíveis e Não-Transmissíveis e Análise de Situação de Saúde

Rogério da Silva Lima – Consultor Nacional da Unidade Técnica de Doenças Transmissíveis e Não-Transmissíveis e Análise de Situação de Saúde

Projeto Gráfico e Diagramação:

All Type Assessoria Editorial Ltda

Capa:

Camila Conatarato Burns – Anvisa

Ficha Catalográfica

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 2: Controle Externo da Qualidade/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013.

42p.: il.9 volumes

ISBN

1. Infecção Relacionada à Assistência à Saúde – Controle. 2. Infecção em Serviços de Saúde. 3. Microbiologia Clínica. 4. Vigilância Sanitária em Serviços de Saúde. 5. Resistência microbiana. I. Título.

SUMÁRIO

Apresentação	5
Capítulo 1: Introdução, conceitos, aplicação e análise crítica do Controle Externo da Qualidade.....	7
1.1 Introdução e objetivo do documento	7
1.2 Definições	8
1.3 Programa de controle interno da qualidade e programa de avaliação externa da qualidade como programas complementares para garantia da qualidade analítica	10
1.4 Legislação vigente para laboratórios clínicos em relação à obrigatoriedade na participação em programas de avaliação externa da qualidade	12
1.5 Tipos de avaliação externa da qualidade	12
1.5.1 Ensaio de proficiência	12
1.5.2 Avaliação Externa Alternativa da Qualidade ou Controle Externo Alternativo.....	13
1.6 Análise crítica dos resultados da avaliação externa da qualidade.....	16
1.6.1 Investigação de causas de resultados inadequados ou não conformidades.....	17
1.6.2 Implementação de ações corretivas para as inadequações.....	18
1.7 Verificação da eficácia das ações.....	18
1.8 Reunião de análise crítica com a direção	19
1.9 Ações preventivas.....	19
1.10 Aspectos relevantes para garantia da qualidade dos resultados.....	20
1.10.1 Fase pré-analítica.....	20
1.10.2 Fase analítica.....	20
1.10.3 Fase pós-analítica	21
1.11 Referências Bibliográficas.....	22
1.12 Anexos	23
1.12.1 Anexo 1 – Aplicando o 5W1H na Avaliação Externa da Qualidade	23
1.12.2 Anexo 2 – Exemplos de Controle Externo da Qualidade em Microbiologia	25
1.12.3 Anexo 3 – Exemplo Calendário PAEQ Alternativo	26
1.12.4 Anexo 4 – Exemplo Formulário PAEQ Alternativo	27
1.12.5 Anexo 5 – Exemplo Formulário de Avaliação do PAEQ Alternativo	28
1.12.6 Anexo 6 – Exemplo Gestão do PAEQ	29
1.12.7 Anexo 7 – Exemplo Formulário Análise Crítica dos Resultados Inadequados do PAEQ.....	30
1.12.8 Anexo 8 – Exemplo Formulário Análise Crítica do PAEQ	31

1.12.9	Anexo 9 – Exemplo formulário de Controle de Recebimento, Distribuição e Acompanhamento do PAEQ	32
1.12.10	Anexo 10 – Exemplo Matriz 5W 2H	33

Capítulo 2: Verificação e Validação de Procedimentos no Laboratório de

Microbiologia Clínica 35

2.1	Verificação e Validação de Procedimentos no Laboratório de Microbiologia Clínica	35
2.1.1	Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos	35
2.1.2	Provas de Identificação Bacteriana	39
2.1.3	Sistemas de Hemoculturas.....	40
2.1.4	Teste de Proficiência no Laboratório de Microbiologia	41
2.2	Referências Bibliográficas.....	42

APRESENTAÇÃO

A resistência microbiana é um grave problema mundial, estando associada ao aumento do tempo de internação, dos custos do tratamento e das taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes. O uso indiscriminado e incorreto dos antimicrobianos na comunidade e no ambiente hospitalar é reconhecidamente um importante fator de risco para o aparecimento e a disseminação da resistência microbiana.

Nesse contexto, insere-se o Laboratório de Microbiologia, que tem como objetivo não apenas apontar o responsável por um determinado estado infeccioso, mas também indicar, através do monitoramento de populações microbianas, qual o perfil dos micro-organismos que estão interagindo com o organismo humano, possibilitando a indicação de tratamentos mais adequados. Para o desempenho satisfatório dessa função, é fundamental que os laboratórios de microbiologia possuam estrutura capaz de estabelecer informações sobre a melhor amostra biológica, reconhecer a microbiota e os contaminantes, identificar micro-organismos associados à infecção ou com propósitos epidemiológicos, obter resultados rápidos em casos de emergência, realizar o transporte rápido das amostras e manter uma educação contínua em relação aos aspectos da infecção relacionada à assistência à saúde.

Tendo em vista esses aspectos e considerando que a microbiologia é um campo muito dinâmico, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, em cooperação com a Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS, propõe a terceira revisão do Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde, buscando atualizar informações nos temas considerados essenciais e contando com um seleto e conceituado corpo editorial. O manual é composto por nove módulos, a saber: Módulo 1 – Biossegurança e manutenção de equipamentos em laboratório de microbiologia clínica; Módulo 2 – Controle externo da qualidade; Módulo 3 – Principais Síndromes Infecciosas; Módulo 4 – Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final; Módulo 5 – Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos; Módulo 6 – Detecção e identificação de bactérias de importância médica; Módulo 7 – Detecção e identificação de micobactérias de importância médica; Módulo 8 – Detecção e identificação de fungos de importância médica e Módulo 9 – Infecções virais.

A Anvisa e a OPAS esperam com essa publicação contribuir para que os laboratórios de microbiologia possam assimilar e alcançar novos níveis de complexidade laboratorial, atendendo às exigências e características próprias de cada unidade hospitalar, além de subsidiar a adoção de procedimentos básicos padronizados nesses serviços.



Capítulo 1:

Introdução, conceitos, aplicação e análise crítica do Controle Externo da Qualidade

*Ulysses Moraes de Oliveira
Derliane Oliveira
Ismar Barbosa*

1.1 Introdução e objetivo do documento

O objetivo desse documento é proporcionar uma ferramenta para capacitar os profissionais que trabalham em microbiologia, em laboratórios clínicos, hospitalares e/ou ambulatoriais, a implantarem, implementarem e gerenciarem um programa de Avaliação Externa da Qualidade, nessa área específica.

Os laboratórios hospitalares ou ambulatoriais podem ser de diferentes tamanhos e atender pacientes com doenças diversas em gravidade e complexidade, mas as rotinas microbiológicas são similares, considerando que, dependendo do tamanho e complexidade, podem ser manuais ou automatizadas. As variáveis pré-analíticas como coleta e transporte do material clínico interferem, em muito, na qualidade do resultado dos exames, podendo comprometer cerca de 70% dos resultados.

O laboratório deve concentrar seus esforços para implementar práticas adequadas para orientar o preparo e realizar a coleta dos diferentes materiais clínicos. O coletador necessita ter conhecimento suficiente e participar de um programa de treinamento contínuo para que possa selecionar o local para realizar a coleta, ter os materiais necessários para executá-la, e conhecer as peculiaridades do transporte dos diferentes materiais clínicos.

Para o adequado atendimento das especificações técnicas, a área analítica da microbiologia deve redigir um ou alguns documentos, que pode ser um manual, procedimentos, instruções de trabalho etc., que contenham todas as informações relevantes que permitam ao profissional do laboratório executar suas atividades de acordo com as boas práticas de laboratório. Esse documento deve conter também as condutas a serem tomadas para avaliar e registrar não conformidades técnicas, quando existentes, na coleta e encaminhamento de amostras clínicas. É necessário incluir nesse documento ou nesses documentos os critérios de aceitação e rejeição das amostras

clínicas, pois o descumprimento dos critérios estabelecidos para a coleta e o transporte das amostras seguramente vai produzir resultados que não representam a real condição clínica do paciente.

A fase analítica depende da capacitação do profissional, do material coletado e métodos de trabalho implementados na rotina do laboratório para a realização das suas análises. O conhecimento desse profissional será extremamente importante em todas as fases do processo: pré-analítico, analítico e pós-analítico, por ser a microbiologia um setor extremamente dependente de julgamentos interpretativos.

A fase analítica requer adequado conhecimento técnico que possibilite a adequada escolha do meio de cultura que irá viabilizar o crescimento dos micro-organismos, condições ideais de identificação e um estudo adequado da susceptibilidade do micro-organismo aos antibióticos e quimioterápicos, possibilitando assim a utilização de um teste *in vitro* que possa reproduzir uma resposta *in vivo*.

Na fase pós-analítica, o laboratório deve concentrar seus esforços na formatação do resultado de maneira que esse seja confiável e contenha todas as informações necessárias de forma clara para o médico assistente e as partes envolvidas no processo. O diagnóstico microbiológico deve atender um tempo de atendimento total (TAT) que possa garantir rápida instituição da terapêutica, sem comprometer a segurança do paciente.

Já existem evidências consistentes para apoiar a tese de que uma microbiologia com qualidade e agilidade na liberação dos resultados pode agregar muito valor ao hospital, tanto minimizando o tempo de internação, quanto orientando uma terapia antimicrobiana com melhor custo-efetividade e com repercussões positivas nos resultados finais do tratamento, ou seja, com impacto positivo no desfecho clínico.

Entendemos que os laboratórios, independentemente do tamanho e complexidade, devem realizar exames buscando a qualidade técnica necessária para garantir que os resultados sejam úteis para a tomada de decisão médica.

1.2 Definições

- **Avaliação Externa da Qualidade (AEQ):** o CLSI vem usando esse termo como sinônimo para “Ensaio de Proficiência”. A Anvisa/Reblas ainda utiliza o termo “Ensaio de Proficiência”. Norma PALC versão 2010 – SBPC/ML.
- **Avaliação Externa Alternativa da Qualidade (AEAQ):** avaliação da acurácia ou da exatidão do desempenho de um sistema analítico quando não há disponibilidade de Ensaio de Proficiência. Compreende métodos alternativos de avaliação da confiabilidade dos sistemas analíticos como, por exemplo, controles interlabo-

ratoriais, análise de amostras de referência e validação clínica (Norma PALC versão 2010 – SBPC/ML).

- **Ação Corretiva (AC):** ação para eliminar a causa de uma não conformidade identificada ou outra situação indesejável.
 - Nota 1: Pode existir mais de uma causa para uma não conformidade.
 - Nota 2: Ação corretiva é executada para prevenir a repetição, enquanto que a ação preventiva é executada para prevenir a ocorrência.
 - Nota 3: Existe uma diferença entre correção e ação corretiva. (ISO 9000:2005)
- **Ação Preventiva (AP):** ação para eliminar a causa de uma potencial não conformidade ou outra situação potencialmente indesejável.
 - Nota 1: Pode existir mais de uma causa para uma não conformidade potencial.
 - Nota 2: Ação preventiva é executada para prevenir a sua ocorrência, enquanto que a ação corretiva é executada para prevenir a repetição. (ISO 9000:2005)
- **Controle Externo da Qualidade:** ver Avaliação Externa da Qualidade. Nesse documento, o termo “Controle Externo da Qualidade” foi substituído por “Avaliação Externa da Qualidade” por ser a terminologia atualmente utilizada. Apesar disso, a maioria dos laboratórios utiliza o termo anterior.
- **Controle Interno da Qualidade (CIQ):** processo de avaliação da estabilidade do sistema analítico que tem como objetivo principal evitar a liberação de resultados com erro maior do que o especificado. Pode ser realizado através da análise de materiais com valor conhecido ou valor determinado pelo laboratório. Geralmente envolve a especificação dos erros analíticos (em termos de coeficiente de variação) e dos limites de aceitabilidade, bem como aplicação de critérios de julgamento estatisticamente válidos (Norma PALC versão 2010 – SBPC/ML).
- **Correção:** ação para eliminar uma não conformidade encontrada. A correção não envolve o estudo das causas da não conformidade e visa apenas a ação imediata do problema ou defeito encontrado. Comumente chamada “disposição”, “reparo” e outros termos aplicáveis a diferentes formas de correção. (Norma PALC versão 2010 – SBPC/ML).
- **Ensaio de Proficiência (EP):** um programa no qual múltiplas amostras são periodicamente enviadas para os membros de um grupo de laboratórios para análise e/ou identificação, nos quais os resultados de cada laboratório são comparados com aqueles de outros laboratórios no grupo e/ou com um valor designado e reportados para o laboratório participante e os outros. (CLSI GP27-A2).
- **Erro aleatório:** diferença entre um resultado particular de uma medição e a média do resultado que seria observada de um número infinito de medições do mesmo mensurando realizado sob condições de repetibilidade (CLSI C24-A3)
- **Erro sistemático:** é a média que resultaria de um infinito número de medições de um mesmo mensurando realizadas sob condições de repetibilidade, menos o valor verdadeiro do mensurando. Nota 1: erro sistemático é igual ao erro menos o erro aleatório. Nota 2: como o valor verdadeiro, o erro sistemático e suas causas não podem ser completamente conhecidos. (CLSI GP27-A2)

- **Exatidão:** a proximidade de concordância entre o resultado de uma medição e o valor verdadeiro do mensurando. (CLSI C24-A3)
- **Fase pré-analítica:** etapas iniciais, em ordem cronológica, desde a requisição médica, incluindo a análise da requisição, o cadastramento no sistema de informática ou o preparo do paciente, a coleta da amostra primária e transporte ao laboratório e dentro do laboratório e termina quando o processo analítico se inicia (ISO 15.189:2007).
- **Fase pós-analítica:** é o processo seguinte à análise, incluindo revisão sistemática, interpretação, liberação de resultados, transmissão e registro dos resultados e o armazenamento de amostras analisadas (ISO 15.189:2007).
- **Não conformidade (NC):** não atendimento de um requisito (ISO 9000:2005).
- **Reprodutibilidade:** quanto mais próximos (concordância) estiverem os resultados de um mesmo analito em que diversas medições são feitas sob condições diferentes, ou seja, em outra rodada, dizemos que esses resultados têm boa reprodutibilidade. Em outras palavras seria dizer mais próxima concordância entre os resultados do mesmo analito, onde as medições são feitas, sob condições diferentes, como por exemplo: princípio do método de exame, observador, equipamento, localização, condições de uso e tempo (NBR 14864:2002).
- **Sistema analítico:** é o conjunto de elementos necessários para a determinação de um analito e que pode incluir reagentes, calibradores, equipamentos e operador, entre outros componentes (Norma PALC versão 2010 – SBPC/ML).
- **Tempo de Atendimento Total (TAT):** tempo decorrido para que se complete um processo analítico. Devido à possibilidade de variação entre o ponto considerado “zero” (início do processo) e o ponto considerado terminal (final do processo), recomendamos que, ao se falar em TAT, os pontos iniciais e finais da medição de tempo sejam claramente estabelecidos (Norma PALC versão 2010 – SBPC/ML).

1.3 Programa de controle interno da qualidade e programa de avaliação externa da qualidade como programas complementares para garantia da qualidade analítica

Todas as análises realizadas no laboratório devem ser monitoradas pelo **Controle Interno da Qualidade** e **Avaliação Externa da Qualidade** (AEQ), pois ambos programas são complementares para monitorar os erros presentes nas análises do laboratório, assegurando assim que possam ser tomadas ações para minimizar esses erros.

No **Controle Interno** é utilizada uma amostra conhecida em cada rotina, que é submetida à análise juntamente com as amostras dos pacientes e ao final da análise é avaliado se essa amostra-controle conseguiu reproduzir qualitativamente ou quantitativamente (depende do tipo de análise) o resultado esperado. Ou seja, uma cepa de *Escherichia coli* colocada na rotina deverá ser identificada como *Escherichia coli* e

ter o mesmo perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos. No caso da não reprodutibilidade dos resultados, conclui-se que houve um desvio no processo analítico que pode gerar um erro no resultado do exame do paciente.

Esse erro pode ser aleatório ou sistemático e é necessário que o laboratório possa identificar as causas dos erros através de uma investigação completa e o estabelecimento de ação corretiva.

O controle interno deve ser processado para todas as análises que o laboratório realiza, considerando frequência de realização dessas análises, assim como diretrizes específicas disponíveis (Exemplo: CLSI). Em outras palavras, esse material de CIQ é utilizado para verificar se a rotina processada é adequada frente aos limites e critérios estabelecidos pelo laboratório como aceitável para a amostra-controle.

Os resultados dos controles internos refletem o comportamento do sistema analítico e garantem que a identificação de uma determinada bactéria seja reprodutível ao longo do tempo, independentemente da mudança de operador, de lote de meios de cultura ou outros reativos e procedimentos complementares que fazem parte do dia a dia do laboratório. Isso garante que as amostras dos pacientes que o laboratório processa obtenham o mesmo resultado independentemente das mudanças inerentes ao sistema analítico.

A Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) contribui para a detecção de erros sistemáticos, que não são percebidos e/ou detectados pelos resultados do controle interno da qualidade. Ou seja, o processo pode ser capaz de fazer a adequada identificação da *Escherichia coli* e não ser capaz de identificar outras bactérias que não fazem parte do menu de identificação usado no Controle Interno.

Essa falha somente será detectada quando comparamos os resultados do laboratório com os resultados dos outros laboratórios que participam do Programa de Avaliação Externa da Qualidade, pois ele fornece uma variedade maior de bactérias com diferentes exigências nutricionais e protocolos de identificação, além de proporcionar a possibilidade de aprendizado constante por comparação com outros serviços similares ao nosso.

Pelo que foi exposto, faz-se necessário que os laboratórios incluam materiais de Controle Interno da Qualidade (CIQ) para todos os tipos de análise/exame que realiza para que seja garantida a validação e liberação de suas rotinas microbiológicas, garantindo a reprodutibilidade dos laudos microbiológicos emitidos. Além disso, o laboratório deve participar de um Programa de Avaliação Externa da Qualidade que também possa garantir a confiabilidade dos resultados do ponto de vista da exatidão.

O CIQ é a ferramenta que assegura que os resultados reproduzidos ao longo do tempo sejam reprodutíveis dentro do laboratório, enquanto a AEQ assegura que os resultados são concordantes com os resultados encontrados por outros laboratórios que utilizam equipamentos, métodos e reagentes similares.

1.4 Legislação vigente para laboratórios clínicos em relação à obrigatoriedade na participação em programas de avaliação externa da qualidade

Em relação aos laboratórios clínicos, a legislação vigente é a RDC 302, de 13 de outubro de 2005 – Regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos. Essa RDC estabelece diretrizes para as fases pré-analítica, analítica, pós-analítica, documentos, registros, etc. No caso de Controle Externo da Qualidade, define que o laboratório deve participar de um Ensaio de Proficiência para todos os exames que realiza. Também estabelece que, para os exames não contemplados pelo Ensaio de Proficiência, deve-se adotar formas alternativas de controle externo da qualidade descritas na literatura científica.

Quanto ao Ensaio de Proficiência, a norma internacionalmente reconhecida é a ISO 17043:2010 – Avaliação da Conformidade – Requisitos gerais para os ensaios de proficiência. No Brasil, a Coordenação Geral de Acreditação (CGCRE) do INMETRO é o órgão competente que realiza a acreditação de provedores de Ensaio de Proficiência utilizando a norma ISO 17043:2010.

1.5 Tipos de avaliação externa da qualidade

1.5.1 Ensaio de proficiência

Não existe nenhum programa nacional ou internacional que contemple amostras para todas as análises/exames realizadas no laboratório.

Várias são as razões que impossibilitam que os programas sejam completos, incluindo estabilidade das amostras, dificuldade de obtenção de algumas cepas raras, dificuldade de homogeneidade de amostras, riscos de contaminação no transporte de alguns micro-organismos patogênicos, riscos biológicos para o pessoal do laboratório etc.

Cabe ao laboratório escolher o programa de ensaio de proficiência que melhor se aplique às suas necessidades. Vários são os aspectos que podem ser avaliados pelo laboratório para decidir sobre o ensaio de proficiência. Podemos destacar alguns pontos:

- Manual de instruções e facilidades de acesso às informações relevantes.
- Serviço de Atendimento ao Cliente.
- Número de amostras enviadas, tipo de amostras e logística de distribuição das mesmas.
- Possibilidade de envio de amostras caso o laboratório precise investigar resultados inadequados.
- Sigilo das informações.
- Estatística utilizada pelo provedor para a avaliação dos laboratórios participantes.
- Tempo de entrega dos relatórios, assim como sua apresentação.
- Certificado de proficiência.
- Acreditação como provedor de proficiência.

Nota: Caso o provedor de ensaio de proficiência seja acreditado pelo INMETRO, o mesmo cumpre com os requisitos da ISO 17043 e conseqüentemente é avaliado periodicamente sobre os pontos referidos anteriormente. Além disso, é reconhecido internacionalmente como provedor de proficiência acreditado.

É importante que o laboratório descreva procedimentos ou instruções sobre todas as etapas de realização do ensaio de proficiência, incluindo:

- Recebimento das amostras enviadas pelo provedor e as condições adequadas dessas amostras.
- Distribuição das amostras aos diferentes setores do laboratório.
- Realização da análise e envio de resultados ao provedor.
- Recebimento dos relatórios de avaliação do provedor.
- Avaliação dos resultados obtidos.
- Orientação para tomar ações corretivas no caso de resultados inadequados, assim como ações preventivas no caso de serem observadas tendências nos resultados.

É importante ressaltar que, no caso do ensaio de proficiência, o provedor é responsável pelo gerenciamento e execução de muitas atividades no fluxo completo do processo (exemplo: definição do calendário de envio das amostras, disponibilização dos formulários de registro físicos ou eletrônicos, análise dos dados, estabelecimento dos limites e critérios de aceitabilidade e elaboração do relatório de avaliação).

1.5.2 Avaliação Externa Alternativa da Qualidade ou Controle Externo Alternativo

Conforme mencionado anteriormente, a falta de disponibilidade de ensaio de proficiência para todas as análises realizadas no laboratório clínico é uma realidade. Essa dificuldade pode ser gerada por diversos fatores. Em micro-

biologia, as bactérias fastidiosas – com grande exigência na formulação dos meios de cultura podem não crescer, mesmo se respeitando suas exigências nutricionais (ex: *Helicobacter pylori*, *Neisseria gonorrhoeae*). Os casos de sorotipagem quando o número de sorotipos é grande (ex: espécies de *Salmonella* sp.) também é de difícil controle.

Para os casos que não há um programa formal de ensaio de proficiência, o laboratório pode desenvolver com a equipe um programa alternativo para avaliar a confiabilidade de suas análises. O CLSI tem um documento cujo nome é “CLSI GP29-A2 Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing is Not Available; Approved Guideline – Second Edition”. Esse documento estabelece formas alternativas para assegurar a confiabilidade dos resultados das análises ou exames não cobertos pelo Ensaio de Proficiência.

No caso de um programa alternativo, diferentemente do ensaio de proficiência, todas as etapas precisam ser planejadas e definidas pelo próprio laboratório. O planejamento precisa ser formalizado através de procedimentos ou instruções escritas que devem incluir:

- Calendário ou periodicidade de envio das amostras.
- Tipo de controle alternativo que será utilizado para cada análise.
- Tipo e número de amostras a serem avaliadas.
- A forma e o local onde os dados serão registrados.
- Os limites ou critérios de aceitabilidade dos resultados individualmente para cada análise.
- Os responsáveis de cada uma das etapas.
- O responsável pelo gerenciamento do programa.
- O modelo do relatório de avaliação dos resultados.
- Os procedimentos a ser realizados em caso de resultados inadequados (investigação das causas e implementação de ações corretivas).

A seguir mencionamos alguns exemplos de avaliação externa alternativa que podem ser adotados pelos laboratórios:

1.5.2.1 Amostra dividida

1.5.2.1.1 Amostra dividida com outro(s) laboratório(s)

- Também chamada comparação interlaboratorial
- Procedimento onde um laboratório envia alíquotas de amostras para serem testadas em outro(s) laboratório(s).
- Os resultados encontrados pelos dois ou mais laboratórios são comparados com os limites ou critérios estabelecidos.

- Quanto maior o número de laboratórios participantes, mais consistente será a avaliação externa da qualidade. Por uma questão de custos, essa participação envolvendo vários laboratórios não é amplamente utilizada, o que geralmente limita a avaliação entre dois laboratórios. É recomendado enviar pelo menos duas amostras a cada rodada do programa alternativo.
- A troca de amostras entre os laboratórios possibilita comparar e compatibilizar os resultados obtidos e analisar se os mesmos são compatíveis com os dados clínicos do paciente.

1.5.2.1.2 Amostra dividida interna

Para avaliar uma amostra da rotina internamente pode ser aplicado:

- Restestar a amostra por um método diferente, quando o laboratório possui dois métodos para a mesma análise.
- Testar a mesma amostra por dois ou mais operadores diferentes. Muito utilizado na microscopia, onde os resultados dos operadores são comparados. Também conhecida como comparação inter-observadores(*)

(*) As análises visuais, por exemplo, a verificação das características morfológicas das colônias em meios de cultura; a microscopia por métodos de coloração como Gram, Ziehl-Neelsen, a observação de hemólise etc., necessitam ser validadas para todos os operadores que realizam os exames, para se obter uma padronização da leitura.

- Não raras vezes, a subjetividade e o “juízo” de alguns operadores podem produzir diferentes resultados para um mesmo paciente.
- Essa avaliação alternativa deve ser feita periodicamente com todos os operadores, mesmo com os mais experientes e sempre que um novo operador for integrado à equipe de trabalho.
- Atenção maior deve ser dada a pessoas com dificuldades visuais que necessitam visitas periódicas ao médico para acompanhamento e correção de possíveis alterações visuais. (Ex.: miopia, astigmatismo, hipermetropia) ou presença de daltonismo, etc.
- O laboratório deve estabelecer os limites e critérios aceitáveis para as diferenças de leitura ou de interpretação entre os operadores.

1.5.2.1.3 Análise de dados de pacientes

Esse tipo de controle pode ser aplicado em situações em que existam pacientes com diagnóstico conhecido, que fazem testes periódicos no laboratório, possibilitando um acompanhamento de seus resultados.

1.5.2.1.4 Análise de amostras da bacterioteca

É a inclusão periódica, na rotina, de amostras de cepas já identificadas anteriormente pelo laboratório, sem que os operadores na bancada saibam a origem das amostras no momento do seu processamento.

1.5.2.1.5 Reavaliação de análises morfológicas

Lâminas já conhecidas e arquivadas podem ser revistas periodicamente, desde que os resultados não sejam conhecidos pelos operadores. Além disso, pode-se utilizar slides de micro-organismos não casuais, com “Atlas” de imagens ou mesmo fotos para avaliar o conhecimento dos operadores.

1.5.2.1.6 Estudos de correlação clínica

Consultar o prontuário do paciente (nos casos de laboratórios hospitalares) ou conversar com o médico sobre as condições clínicas do paciente, verificar qual foi a indicação clínica na solicitação dos exames, para assegurar-se de que o diagnóstico laboratorial está compatível com o diagnóstico clínico.

Em todos os casos é necessária a supervisão de uma pessoa independente, que tenha conhecimento da área, para que possa ser feita a análise dos resultados finais.

1.6 Análise crítica dos resultados da avaliação externa da qualidade

Resultados obtidos da avaliação externa da qualidade, tanto aqueles provenientes do ensaio de proficiência como os provenientes da avaliação externa alternativa, devem ser analisados criticamente e os resultados dessas análises devem ser úteis ao laboratório para a tomada de decisões.

A análise crítica engloba:

- Identificação de que houve inadequações no EP ou na AEQ alternativa.
- Investigação das causas para identificar a causa raiz que gerou a inadequação.
- Implementação de ações corretivas para eliminar a(s) causa(s) raiz.
- Verificação se os resultados de pacientes podem ter sido afetados.

1.6.1 Investigação de causas de resultados inadequados ou não conformidades

Para investigar as causas dos resultados inadequados (não conformidades) da avaliação externa da qualidade, tanto para as amostras enviadas pelos provedores de proficiência quanto para aquelas da avaliação externa alternativa, deve ser feita uma análise minuciosa de todo o processo, desde a fase pré-analítica até a emissão dos resultados para que possa ser identificado em qual etapa do processo ocorreu o erro que ocasionou um resultado inadequado.

Essa investigação somente é possível quando o laboratório mantém registros de todos os passos realizados e dos problemas que podem ter ocorrido (exemplo: registro de uma amostra recebida na temperatura inadequada, ou fora do prazo estabelecido, uma pipeta que caiu da bancada e pode ter sofrido alteração de suas características, um corante que apresentou contaminação, etc.). A causa das não conformidades pode ter sido gerada em qualquer etapa do processo (pré-analítica, analítica ou pós-analítica). Esses registros garantem a rastreabilidade completa do processo. A causa raiz somente será encontrada após investigação rigorosa, devendo contar com a ajuda de todos os colaboradores realmente envolvidos no processo que são as únicas pessoas que podem responder os porquês que possibilitarão a identificação da(s) causa(s) raiz.

Exemplo: quando identificamos erroneamente uma bactéria, diversas poderão ser as causas e nunca a encontraremos se não fizermos uma investigação detalhada. Por que erramos a identificação? Por que o micro-organismo comportou-se diferente frente aos meios oferecidos? O erro foi na seleção do meio de cultura? O operador estava bem treinado? Se era um meio enriquecido, foi colocada a quantidade adequada? Ou foi na realização das provas complementares? Caso o erro tenha ocorrido na realização das provas complementares, o reagente utilizado estava adequado (validade, armazenamento, evaporação, deterioração etc.)? Se, por outro lado, ocorreu na identificação primária, as provas utilizadas respondem adequadamente frente a um micro-organismo-controle? O meio escolhido para semeadura inicial foi adequado? etc.

É importante que os formulários elaborados pelo laboratório para investigar a causa raiz sejam amigáveis, fáceis de entender e que estimulem os profis-

sionais ao desafio de identificar o maior número possível de causa raiz das não conformidades detectadas. Se no exemplo acima, o formulário já contempla algumas das possíveis causas, pode ser mais fácil que o operador se lembre de pontos de falhas que podem estar envolvidos.

Nota: Se a causa raiz indicar que podem ter sido afetados resultados de pacientes, ou seja, se o erro não ocorreu somente nas amostras da avaliação externa da qualidade, mas pode ter interferido em amostras da rotina, o laboratório deve concentrar todos os esforços para implementar ações também com respeito aos pacientes possivelmente afetados.

1.6.2 Implementação de ações corretivas para as inadequações

Uma vez encontrada a causa da não conformidade ou inadequação, as ações corretivas devem ser implementadas para eliminar a causa o mais rápido possível.

Essa ação vai evitar a recorrência dessa determinada não conformidade.

Para garantir isso, vários pontos precisam estar bem definidos quando o laboratório estabelece as ações corretivas a serem tomadas, tais como: responsável pela ação, o prazo para sua execução, os recursos necessários. O “5W 2H” é uma ferramenta bastante útil para definir esses pontos, o que facilita muito o gerenciamento da real execução das atividades.

Após o planejamento das ações corretivas a serem tomadas e antes de sua implementação também é fundamental que o pessoal envolvido analise a causa raiz identificada e questione se realmente as ações planejadas serão suficientes para eliminar a causa. A seguinte pergunta pode ser feita: Essa ação ou essas ações impedirão a recorrência da não conformidade?

1.7 Verificação da eficácia das ações

Após implementar as ações, é fundamental que seja feito um acompanhamento periódico para avaliar a eficácia das ações corretivas tomadas. É importante observar que a ação corretiva tomada pode estar se estendendo a outros setores ou processos que tenham ou sinalizam a mesma vulnerabilidade. Quando uma ação corretiva é tomada e, posteriormente, volta a ocorrer a não conformidade, a ação corretiva não foi eficaz ou a causa encontrada não era a causa raiz verdadeira.

Muitas vezes, os laboratórios fazem somente uma correção. Nesse caso, a causa continua presente no processo e provavelmente vai gerar a mesma não conformidade

várias vezes. Isso ocorre porque a correção somente corrige a inadequação, porém não impede que ocorra novamente, enquanto que a ação corretiva elimina a causa e impede recorrência.

1.8 Reunião de análise crítica com a direção

É fundamental que o responsável pelo programa de avaliação externa da qualidade informe à direção do laboratório sobre o desempenho obtido na microbiologia, tanto com respeito ao ensaio de proficiência como quanto ao programa de avaliação externa alternativa. Uma vez que atividade fim do laboratório é fornecer resultados de análises laboratoriais, é um tema de suma importância e pode ajudar a direção a definir novos rumos para o laboratório, como mudança de metodologia, automatização de processos, etc. É a direção que pode fornecer os recursos necessários para minimizar os erros e garantir a segurança do paciente.

1.9 Ações preventivas

As ações preventivas geralmente são desencadeadas depois que o processo de investigação da causa e a tomada de ações corretivas esteja bastante sedimentado, inclusive com verificação da eficácia.

Conhecedores dessa nova cultura de trabalho, os profissionais do laboratório conseguem perceber que os processos podem ser redesenhados e melhorados de maneira a prevenir as possíveis ou futuras não conformidades.

Essa cultura de rever os processos de trabalho é denominada ação preventiva. Exemplo:

- o uso do álcool-ácido na bacterioscopia de Ziehl Neelsen pode ser realizada com solução preparada no próprio laboratório. Porém, o uso de um reagente distribuído comercialmente define e padroniza as concentrações melhorando o desempenho e minimizando os efeitos causados pelas mudanças na preparação do reagente.

Assim, antes da ocorrência de não conformidades, os envolvidos percebem a fragilidade de uma determinada técnica ou outro processo e toma medidas preventivas para melhoria.

Quando o laboratório realiza uma avaliação periódica dos resultados dos controles internos, do ensaio de proficiência e dos controles externos alternativos, é possível le-

vantar dados relevantes para a tomada de ações preventivas. A necessidade de ações preventivas pode ser detectada por exemplo quando é observada alguma tendência nos resultados, antes que haja uma inadequação.

1.10 Aspectos relevantes para garantia da qualidade dos resultados

1.10.1 Fase pré-analítica

Quando nos propomos a estabelecer critérios sustentáveis de Garantia da Qualidade dos resultados no laboratório, devemos assegurar que todas as etapas estejam padronizadas e controladas.

Assim, não podemos esperar resultados com excelente desempenho se não temos procedimentos de cadastro, coleta e transporte das amostras clínicas que garantam a sua estabilidade e viabilidade.

Isso deve incluir a fase pré-analítica, que pode não ser realizada pelo laboratório (orientação médica ao paciente, preparo do paciente, o seguimento das recomendações pelo paciente aos protocolos estabelecidos pelo laboratório), assim como a fase pré-analítica que ocorre no próprio laboratório.

No caso de amostras de controle externo da qualidade, a fase pré-analítica engloba transporte, recebimento, reconstituição, armazenamento e utilização.

Dessa forma, necessário se faz que esse processo seja devidamente documentado para que, ao fazer a análise crítica dos resultados, possamos resgatar informações sobre as todas as condições que envolveram a manipulação do controle desde o transporte das amostras (pelo provedor, no caso de ensaio de proficiência ou pelo próprio laboratório, no caso de controle alternativo).

1.10.2 Fase analítica

As amostras de controle (interno e externo) devem ser processadas na rotina do laboratório, da mesma maneira que são processadas as amostras de pacientes. Isso inclui a mesma metodologia, os mesmos reagentes, os mesmos equipamentos e os mesmos operadores.

Entregar as amostras do ensaio de proficiência ou do controle alternativo para as pessoas mais experientes do laboratório processarem não é uma prática adequada, pois tais amostras estão sendo tratadas de forma diferente que as amostras de pacientes. O materiais de controle devem ser processa-

dos pelos operadores que processam diariamente as mostras dos pacientes. O propósito das amostras-controle é avaliar o desempenho do laboratório, portanto, quando colocamos os mais experientes para realizá-las, não podemos garantir que as amostras de pacientes estão obtendo o desempenho adequado.

1.10.3 Fase pós-analítica

A fase pós-analítica também é parte importante na Avaliação Externa da qualidade, pois relatos de erros de transcrição de resultados no momento do envio ao provedor representam um percentual significativo. Além disso, se observam muitos erros de cálculos no caso de análises cujo resultado observado precisa de algum cálculo (Ex: multiplicação) para sua liberação.

1.11 Referências Bibliográficas

Clinical and Laboratory Standards Institute. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline-Third Edition, CLSI document C24-A3 (ISBN 1-56238-613-1). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2006.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Using Proficiency Testing to Improve the Clinical Laboratory Approved Guideline-Second Edition, CLSI document GP27-A2 (ISBN 1-56238-632-8). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Assessment of Laboratory Testing When Proficiency Testing is not Available; Approved Guideline-Second Edition, CLSI document GP29-A2. Wayne, Pennsylvania; Clinical and Laboratory Standards Institute; Clinical and Laboratory, Standards Institute. 2008.

Brasil. Norma Brasileira de Referência – NBR ISO 9000:2005 Sistemas de Gestão da Qualidade – Fundamentos e Vocabulário.

Brasil. Norma Brasileira de Referência – ISO 15189: 2007 Medical laboratories – Particular requirements for quality and competence.

Brasil. Norma Brasileira de Referência – ISO/IEC 17043:2010 Evaluación de la conformidad – Requisitos generales para los ensayos de aptitud.

SBPC/ML – Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos. Norma 2010.

Harris EK, Statistical principles underlying analytic goal-setting in Clinical Chemistry – Am J. Clin. Pathol. 72-78, 1979

Ricós C; Baadennhuijem H, External quality assessment currently used criteria for evaluation performance in European Countries and Criteria for Future Harmonization.

Basques, JC. Especificações da Qualidade Analítica. Curso de Validação e avaliação da comutatividade em sistemas analíticos quantitativos.

1.12 Anexos

1.12.1 Anexo 1 – Aplicando o 5W1H na Avaliação Externa da Qualidade

O que são CIQ e AEQ

São metodologias para implantar e gerenciar a qualidade na prestação de serviços dos laboratórios clínicos, abrangendo as fases pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas.

Assim, os laboratórios devem estabelecer Controle Interno da Qualidade e a Avaliação Externa da Qualidade gerenciando adequadamente os dois programas com a proposta de estabelecer uma adequada especificação do desempenho desejado para cada método analítico.

A participação em um Controle (interno ou externo) não invalida ou substitui a participação em outro. Ambos são absolutamente necessários e legalmente exigidos para o Laboratório Clínico.

Deve-se, além disso, gerenciar não somente as etapas pré-analíticas do CIQ como da AEQ, sendo essa última de especial importância na Análise Crítica dos relatórios quando no preenchimento do Relatório de Inadequações.

Quem deve realizar

Os laboratórios clínicos que precisam capacitar e estabelecer formalmente uma pessoa responsável pela gerência dos dois programas e envolver os membros da equipe na Análise Crítica da Avaliação Externa da Qualidade.

Quando realizar

No estabelecimento de critérios mais estreitos para a Gestão da Qualidade do laboratório e para melhoria contínua do processo e qualidade dos resultados das análises. Lembrar que as metas de especificações da qualidade e a melhoria desses processos dependem de uma adequada Gestão do CIQ e da AEQ.

Por quê

Para conhecer o sistema analítico, determinar o erro inerente e poder produzir resultados com qualidade e informar ao médico assistente o grau de segurança que o laboratório tem para a liberação dos resultados.

Para quem

Para atender as necessidades dos pacientes e para auxiliar a conduta médica.

Como

Participando de forma efetiva de um Programa de Ensaio de Proficiência, enviando relatórios por todo o ciclo do programa, avaliando criticamente os resultados, plotando os Índices de desvios e utilizando as informações para melhoria contínua e tomada de decisão.

Atividade Controlada	Material p/Controle	Resultado esperado
Desempenho dos operadores na microscopia	Envio de Lâminas com misturas de bactérias de morfologias diferentes e com afinidades diferentes pelo Gram (positivo, negativo e lábil)	Identificação correta da morfologia Identificação dos arranjos, quando aplicável Identificação da afinidade pelo corante
Bateria de Corantes de Gram		
Procedimento Operacional		
Discos de Antibióticos	Remessa de cepas com perfil de sensibilidade conhecido (MRSA, ESBL, Não Fermentadores, ATCC) Perfil compatível com o perfil exigido para o micro-organismo em questão	Medida dos halos coerentes com o especificado; Perfil de susceptibilidade compatível com o esperado
Armazenamento dos discos		
Procedimento Operacional do Antibiograma		
Padronização da Leitura		
Proficiência do Meio de Mueller Hinton		
Proficiência na identificação de MRSA		
Proficiência na identificação de ESBL		
Escolha do perfil de sensibilidade de acordo com as recomendações internacionais		
Identificação de micro-organismos até espécie	Resposta coerente com a identificação dos participantes.	Identificação compatível com o método aplicado e suas limitações
Controle das provas de identificação e sua amplitude		
Provas para encaminhar diagnósticos presuntivos tais como: Coagulase, Catalase, CAMP teste, Oxidase, Bacitracina, Optoquina, Alfa Hemólise, Beta Hemólise, Teste de PYR, Sensibilidade a Oxacilina, Teste do Sulfametoxazol-Trimetoprim Performance de provas adicionais de diagnóstico presuntivo	Remessa de cepas de <i>S. aureus</i> , <i>Staphylococcus Oxacilina</i> Resistente, BGN não fermentador de Glicose, <i>Enterococcus</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus</i> Beta hemolítico do Grupo A,	Respostas adequadas dos testes com os micro-organismos enviados.

1.12.2 Anexo 2 – Exemplos de Controle Externo da Qualidade em Microbiologia

Atividade Controlada	Material p/Controle	Resultado esperado
Controle de meios de cultura	Micro-organismos fastidiosos, Salmonella sp., Shigella sp., Campylobacter sp., Neisseria sp., <i>S. pneumoniae</i> Listeria sp., <i>Bacillus</i> <i>stearothermophilus</i> Rodococcus sp., Pseudomonas sp., ou outro não fermentador	Meios formulados ou armazenados de forma inadequada não apresentam boa proficiência no aspecto e morfologia das colônias. Temperatura e maneiras inadequadas de incubação não favorecem ou não permitem o crescimento. Descrição adequada do aspecto e morfologia da colônia.
Armazenagem de meios de cultura		
Performance de meios de cultura		
Temperatura de incubação		
Reconhecimento de morfológico de colônias		
Meios de Oxidativo/Fermentativo		
Proficiência da coloração do Ziehl Neelsen Proficiência do Examinador na descrição morfológica e visualização	Lâminas de Mycobacterium sp., Lâminas de Nocardia sp.	Adequada visualização e adequada descrição morfológica

1.12.3 Anexo 3 – Exemplo Calendário PAEQ Alternativo

CALENDÁRIO DO PROGRAMA ALTERNATIVO – Ano: _____										FOR-XXX				
Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Teste	Método	Período de Envio	Laboratório de envio	Rubrica Resp. envio	Responsável pelo recebimento					
									Lab A	Lab B	Lab C	Lab D		

1.12.4 Anexo 4 – Exemplo Formulário PAEQ Alternativo

FORMULÁRIO DE REGISTRO DE RESULTADOS DO PAEQ		FOR-XXX
LABORATÓRIO: _____		
TESTE: _____		
MÉTODO: _____		
IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS		RESULTADO
Operador: <input type="text"/>		
Data <input type="text"/>		
Assinatura: _____		

1.12.5 Anexo 5 – Exemplo Formulário de Avaliação do PAEQ Alternativo

FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DE RESULTADOS						FOR-XXX	
PAEQ							
DATA DE ENVIO:							
RESP. ENVIO:							
TESTE:							
AMOSTRA	RESULTADO LAB A	RESULTADO LAB B	RESULTADO LAB C	RESULTADO LAB D	AVALIAÇÃO (ADEQUADA/ INADEQUADA)	DATA	RUBRICA
Aceitabilidade dos resultados:							
Crescimento ou ausência de crescimento concordante entre os laboratórios.							
Data da avaliação:							
Assinatura:							

1.12.7 Anexo 7 – Exemplo Formulário Análise Crítica dos Resultados Inadequados do PAEQ

FORMULÁRIO PARA ANÁLISE CRÍTICA DE RESULTADOS INADEQUADOS DO PAEQ		FOR-XXX
Identificação do EP:		
Data:		
Resultado inadequado:		
Resultados/limites aceitáveis:		
Tendências/resultados anteriores inadequados para este analito:		
Revisão de erros grosseiros:		
Investigação:		
Conclusões:		
Foram afetados dados de pacientes?		
Classificação do Problema:		
<input type="checkbox"/> Erro Grosseiro <input type="checkbox"/> Problema com material do EP <input type="checkbox"/> Problema com a avaliação do EP	<input type="checkbox"/> Problema metodológico <input type="checkbox"/> Problema Técnico <input type="checkbox"/> Nenhuma explicação após investigação	
Ações corretivas/mudança de sistema para prevenir recorrência:		

Aprovação do supervisor:

Data:

Aprovação do Diretor:

Data:

1.12.8 Anexo 8 – Exemplo Formulário Análise Crítica do PAEQ

FORMULÁRIO DE ANÁLISE CRÍTICA DO PAEQ		FOR-XXX	
Analito/Exame:	Data realização:	Data investigação:	Rodada:
Resultado do Lab.			
Resultados aceitáveis:			
Havia resultados anteriores com inadequações para esta análise/exame?			
Erros Grosseiros: <input type="checkbox"/> transcrição <input type="checkbox"/> indicação incorreta do equip. ou método <input type="checkbox"/> erro de unidade ou casa decimal	Amostra CEQ: <input type="checkbox"/> efeito matriz <input type="checkbox"/> material não homogêneo <input type="checkbox"/> contaminação bacteriana <input type="checkbox"/> transporte inadequado	Avaliação do Provedor: <input type="checkbox"/> grupo inadequado <input type="checkbox"/> valor alvo inadequado <input type="checkbox"/> intervalo de avaliação	Problemas Metodológicos: <input type="checkbox"/> reconstituição e armazenamento de reagentes, calibradores e controles <input type="checkbox"/> linearidade do método <input type="checkbox"/> coágulos na amostra <input type="checkbox"/> tempo de incubação inadequado <input type="checkbox"/> resultado próximo ao limite de detecção <input type="checkbox"/> manutenção equipamento <input type="checkbox"/> calibração incorreta <input type="checkbox"/> erro de software <input type="checkbox"/> agulhas desalinhadas <input type="checkbox"/> carreamento de amostra <input type="checkbox"/> manutenções corretivas <input type="checkbox"/> identificação inadequada pelo banco de dados do eq.
<input type="checkbox"/> Outros	<input type="checkbox"/> sem explicação após investigação		
Quais as ações corretivas tomadas para prevenir recorrência:			
Pacientes foram afetados?			
Conclusão/eficácia das ações corretivas:			

Obs.: De acordo com estudos publicados 19 a 25% dos erros são sem explicação após a investigação de causas

1.12.9 Anexo 9 – Exemplo formulário de Controle de Recebimento, Distribuição e Acompanhamento do PAEQ

CONTROLE DE RECEBIMENTO, DISTRIBUIÇÃO E ACOMPANHAMENTO DO PAEQ														FOR-XXX			
NOME DO LABORATÓRIO																	
Programa	Data saída prov.	Data receb.	Temp. aprapr?	Setor	Receb. por	Data receb.	Data envio UGQ	Data receb. UGQ	Data envio provedor	Data receb. relat.	Análise UGQ	Houve INC?	Data envio relat. setor	Data retorno AC do setor	Enc. Dir. técn.	Data Arq. UGQ	
Bacteriologia			S() N()									S() N()					
Bacteriologia Especial			S() N()									S() N()					

1.12.10 Anexo 10 – Exemplo Matriz 5W 2H

	PLANO DE AÇÃO CORRETIVA – MATRIZ 5W 2H	FOR-XXX
What		
Who		
When		
Where		
Why		
How		
How much		



Capítulo 2:

Verificação e Validação de Procedimentos no Laboratório de Microbiologia Clínica

Pedro F. Del Peloso

2.1 Verificação e Validação de Procedimentos no Laboratório de Microbiologia Clínica

Uma das mais importantes atribuições dos testes laboratoriais é a relação em produzir acurácia, precisão e reprodutibilidade em tempo hábil com relevância clínica. Existem diversos fatores que podem ser avaliados para que possamos determinar a proficiência desses testes e dos profissionais envolvidos.

Quando introduzimos um novo teste, método ou equipamento no Laboratório, devemos avaliar o desempenho desse novo procedimento. Os dois maiores fatores de desempenho que podemos avaliar são Verificação e Validação.

Verificação é o processo que determina ou confirma o desempenho esperado do teste antes da implementação na rotina clínica.

Validação é o processo de monitoração desse teste, procedimento ou método que garante a continuidade do desempenho esperado.

A validação é alcançada através do controle interno da qualidade, testes de proficiência, competência técnica e calibração dos equipamentos.

2.1.1 Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos

A realização de testes de sensibilidade aos antimicrobianos no laboratório de microbiologia é um dos resultados que mais afetam a escolha da terapia no tratamento dos pacientes. Dessa forma, é extremamente importante que os microbiologistas tenham confiança durante a escolha, na acurácia e nos resultados obtidos na realização dos métodos de teste de sensibilidade. Um grande número de protocolos e recomendações para a verificação de teste de sensibilidade já foram discutidos na literatura, apesar de trazer alguma

dificuldade em realizar um teste mais rigoroso para essas avaliações, o uso de cepas-controle (ex: Cepas ATCC – American Type Culture Collection ou de outras fontes confiáveis) e de cepas oriundas de isolados clínicos podem ser utilizados para a verificação de acurácia e reprodutibilidade dos testes ou sistemas automatizados. Isolados oriundos de ensaios de proficiência também podem ser usados na verificação.

A avaliação dos testes de sensibilidade deve seguir o mesmo critério de distribuição dos isolados comumente encontrados e que apresentem fenótipos de resistência semelhantes aos encontrados em sua instituição. Devem estar incluídos na avaliação do painel para gram-positivos isolados de *Staphylococcus aureus* MRSA (resistentes a oxacilina), cepas de *Staphylococcus aureus* que tenham resistência induzida aos MLS (macrolídeos, Lincosamidas e Streptograminas – D-Teste positivo), *Staphylococcus coagulase* negativo e *Enterococcus* resistente a vancomicina (VRE). Para a verificação de painéis em gram-negativos, devem estar incluídos isolados de *Enterobacteriaceae* produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL), carbapenemases e AmpC juntamente com cepas multirresistentes.

Pseudomonas aeruginosa e *Acinetobacter* sp. devem ser incluídos se forem isolados encontrados normalmente em sua instituição. Algum outro isolado multirresistente que tenha uma alta prevalência em sua instituição também deverá ser testado.

No total, um mínimo 30 isolados deve ser testado frente a cada antibiótico, painel ou cartão. Para se obter um resultado mais próximo da realidade de sua instituição, deve haver um esforço para que os isolados encontrados em sua rotina façam parte da avaliação.

Para que seja avaliada a reprodutibilidade do teste, é necessário que cinco isolados sejam testados em triplicata por 3 a 5 dias seguidos. Isolados com fenótipos de resistência ou cepas padrão (ATCC) podem ser usados nessa avaliação. É preferível que dentre esses isolados, pelo menos dois tenham fenótipos de resistência (ex: MRSA e *Enterobacteriaceae* resistente aos carbapenems).

Resultados de precisão aceitáveis serão aqueles que demonstrarem no mínimo um valor de concordância ³ 95% com o método de referência comparado.

2.1.1.1 Precisão (reprodutibilidade) por concordância essencial (PCE)

Concordância entre ± 1 diluição no teste de determinação de MIC por isolado.

$$PCE = \frac{\text{Número de comparações entre } \pm 1 \text{ diluição de MIC conhecida}}{\text{Número total de resultados}} \times 100$$

Obs: O total de testes pode ser calculado para todos os micro-organismos e drogas combinadas ou para cada droga separadamente.

2.1.1.2 Precisão (reprodutibilidade) por concordância de categoria (PCC)

Concordância por interpretação dos resultados (sensível/intermediário/resistente [SIR]) de precisão por isolado utilizando o critério de interpretação do CLSI/FDA.

$$PCC = \frac{\text{Número de resultados por categoria encontrados}}{\text{Número total de resultados}} \times 100$$

Obs: O total de testes pode ser calculado para todos os micro-organismos e drogas combinadas ou para cada droga separadamente.

2.1.1.3 Estudos de Verificação não comparados com métodos de Referência (≥ 30 isolados por painel/cartão)

Algumas avaliações podem não ser feitas em comparação a algum método de referência em função da limitação de custo ou operacional. Essas avaliações serão comparadas somente aos métodos já utilizados e implantados na rotina diária do Laboratório. Por essa razão, os testes de ambas as metodologias não podem ser discrepantes. Não será possível eleger a metodologia vigente como correta quando houver discrepância de resultados com a metodologia comparada. Para esse tipo de avaliação, quando não há comparação com algum método de referência, a avaliação das discrepâncias tem de ser obtida por "taxas de erro".

Uma discrepância menor (MINE – *minor erros*) é definida quando um resultado do teste de sensibilidade é de resistência intermediária e o de outro é de sensível ou resistente. Uma discrepância maior (VME – *Very Major Erros*) é definida quando um resultado é sensível e outro resistente. Para esse tipo de avaliação, não deve haver discrepância maiores (VME).

E no total da avaliação, o mínimo de discrepâncias maiores (ME – *Major erros*), tem que ser menor do que 5% e tanto a concordância

essencial (PCE) quanto à concordância por categoria (PCC), tem que ser $\geq 90\%$.

ME (*Major erros*) – Uma metodologia de teste de sensibilidade avaliada indica um resultado do teste como sensível ou resistente e a outra metodologia demonstra o oposto, resistente ou sensível.

$$ME = \frac{\text{Número de discrepâncias maiores ME}}{\text{Número total de resultados resistentes por ambos os métodos}} \times 100$$

MINE (minor erros) – Uma metodologia de teste de sensibilidade avaliada indica um resultado como intermediário e a outra metodologia demonstra como sensível ou resistente.

$$MINE = \frac{\text{Número de discrepâncias menores MINE}}{\text{Número total de micro-organismos testados}} \times 100$$

Obs: O total de testes pode ser calculado para todos os micro-organismos e drogas combinadas ou para cada droga separadamente.

2.1.1.4 Estudos de Verificação comparados a métodos de referência (acima de 100 isolados por painel/cartão)

Em laboratórios de grande porte, de maior rendimento e que tenham uma alta prevalência de isolados com fenótipos de resistência, é preferível que se produza um estudo em larga escala com um total de 100 amostras ou mais por metodologia, painel ou cartão.

No mínimo, 50% dos isolados nessa avaliação devem ter algum fenótipo de resistência. Discrepâncias entre a metodologia de teste de sensibilidade avaliada têm que ser comprovada contra alguma metodologia de referência obrigatoriamente (ex: microdiluição em caldo, macrodiluição em caldo ou diluição em Ágar). É aceitável verificar uma nova metodologia de teste de sensibilidade somente contra um teste de referência com determinação de MIC.

Poderemos aplicar as mesmas avaliações de taxas de erros citados anteriormente. Os valores para concordância essencial (CE) e concordância por categoria (CC), devem ser $\geq 90\%$, enquanto que o desempenho para os VME (*Very major erros*) tem que ser $\leq 3\%$. Não mais do que 1 em 33 destes isolados reportados como resistentes, poderá repetidamente mostrar falsa sensibilidade. Os ME (*major erros*) também não devem ser $\leq 3\%$. Para os ME e MINE combinados e testados em pelo menos 100 isolados, o percentual deve ser de $\leq 7\%$.

2.1.2 Provas de Identificação Bacteriana

Verificação de sistemas automatizados ou manuais para identificação bacteriana em nível de espécie devem que ser conduzidos com um mínimo de 20 isolados representativos e clinicamente relevantes encontrados em sua instituição. Devem ser incluídos na avaliação dos gram-positivos isolados como: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativo, *Enterococcus* sp. e *Streptococcus pneumoniae*. E nos gram-negativos os seguintes isolados devem ser testados: membros de *Enterobacteriaceae* e não fermentadores de glicose. Nas instituições aonde existe uma complexidade maior de pacientes com uma variedade ampla de micro-organismos clinicamente relevantes, é aconselhável que a avaliação seja maior do que 20 isolados. Em adição, micro-organismos de controle de qualidade devem ser testados e incluídos na avaliação.

Nos testes de identificação microbiana, temos que ter no mínimo uma concordância de 90% contra o sistema existente ou o método de referência antes do método ser considerado como aprovado. Em função de vários fatores, o nível de identificação errônea aceitável, pode ser determinado pelo laboratório e deve ser levado em conta pela limitação de desempenho de cada fabricante e as especificações encontradas nas instruções de uso e suas limitações.

Certos grupos de micro-organismos tendem a ser mais desafiadores na avaliação de novos sistemas de identificação (ex: não fermentadores de glicose, corynebacteria, *Staphylococcus* coagulase negativo e *Streptococcus* grupo viridans) e uma grande flexibilidade pode ser necessária para determinar a acurácia nesses grupos (ex: identificação somente do Gênero).

De qualquer forma, todo tipo de identificação incorreta deve ser analisada. Os testes que não identificarem os micro-organismos poderão necessitar de provas complementares ou até mesmo não chegar a nenhuma identificação. A identificação incorreta dos micro-organismos é um dos erros mais graves em qualquer sistema de identificação, apesar disso, o laboratório pode optar por aceitar uma identificação parcial por diversos fatores (Ex: custo ou tempo) sem precisar lidar com a inconveniência de testes adicionais ou admitir que a identificação tenha menor impacto clínico.

Se a acurácia do novo teste não foi satisfatória e não preencheu os requisitos para a verificação, o teste será considerado não aprovado e deverá ser retirado para considerações ou ações corretivas tanto pelo usuário como pelo fabricante ou ambos. Após a ação corretiva, o novo ou revisado teste deverá ser avaliado novamente em paralelo com algum método de referência e interpretado como descrito acima.

2.1.3 Sistemas de Hemoculturas

Uma verificação significativa de um novo sistema de hemocultura é um dos maiores desafios para um microbiologista clínico. Testes paralelos requerem coletas de sangue adicional para cada paciente e geralmente isso não é possível para alguns pacientes e instituições. O baixo índice de positividade de patógenos clinicamente relevantes (entre 8 a 14%), fazem com que a maioria das amostras coletadas tenha um pequeno valor na comparação. Além disso, a incidência de contaminação (1 a 3%) e a predominância de um número limitado de patógenos fará com que a avaliação fique direcionada somente a alguns patógenos clinicamente relevantes. Assim, o desenho da avaliação deveria ser direcionado a responder algumas perguntas:

- O meio de cultura utilizado no sistema avaliado será capaz de suportar o crescimento de micro-organismos (que devem incluir: leveduras, fungos filamentosos, anaeróbios e micro-organismos fastidiosos) comumente encontrados na população de pacientes do usuário?
- O instrumento (no caso de equipamentos automatizados) conseguirá detectar em tempo hábil a maioria dos micro-organismos patogênicos contidos nessas hemoculturas?

Dois abordagens para a verificação de sistemas de hemocultura serão discutidas abaixo. Os laboratórios deverão escolher a que melhor se adapte ou a que seja mais viável em termos de custos e vantagens operacionais. Pode haver circunstâncias em que o laboratório tenha que implementar uma nova versão de um sistema de teste. Sistema de hemocultura automatizada é um bom exemplo disto. Dependendo das mudanças na nova versão do sistema, um novo estudo de verificação não será necessário. Se as diferenças entre a versão atual e a nova versão estiverem limitadas ao instrumento de hemocultura (ex: *hardware* ou *software*) e não havendo mudança no frasco, somente será necessária uma verificação por parte do fabricante do funcionamento completo do equipamento de hemocultura. Essa verificação será realizada para checar o tempo de incubação, temperatura, sistemas óticos e *software* nas especificações do fabricante.

2.1.3.1 Estudo de hemocultura semeada

Selecione um mínimo de 20 isolados representativos de hemoculturas normalmente encontrados em sua instituição. Inclua gram-positivos, gram-negativos e leveduras. Para aumentar a abrangência do teste, inclua tanto isolados recentes quanto os em estoque. Para o desafio do sistema, você deverá utilizar sangue humano estéril livre de antibióticos em quantidade recomendada pelo fabricante. Esse

sangue deverá ser inoculado em cada frasco de hemocultura. Em adição, o número de micro-organismos inoculados em cada frasco deve ser aproximadamente o mesmo encontrado nos casos de septicemia (que pode ser menos de 0.1 UFC por mL de sangue). Isso será conseguido, fazendo diluições seriadas dos micro-organismos antes da inoculação, para alcançar aproximadamente 5 a 30 UFC por frasco.

O método será considerado verificado se todos os isolados forem detectados dentro de tempos especificados pelo usuário. Os tempos de positividade deverão ser condizentes com os da literatura para cada micro-organismo.

Algo dentro de três dias será o suficiente para recuperar no mínimo 95% das bactérias e leveduras clinicamente relevantes. Qualquer problema de detecção deverá ser investigado repetindo-se os testes com os mesmos isolados de pacientes. Se mesmo assim não houver detecção desse isolado, uma ação corretiva deverá ser tomada pelo usuário e fabricante antes da implantação do sistema.

2.1.3.2 Estudo de hemocultura pareada

O desempenho do estudo de hemoculturas pareadas avalia todos os aspectos do novo sistema sob as condições dos pacientes e do laboratório. Quando um laboratório decide pelo estudo de hemoculturas pareadas de um sistema comercial, amostras duplicadas de hemocultura deverão ser inoculadas com o volume equivalente de no mínimo 20 amostras positivas (sem incluir os contaminantes) que representem os isolados mais representativos de hemocultura de sua instituição. O novo método é considerado validado se a sensibilidade for no mínimo 95% relativa ao método de referência, e o tempo de detecção for insignificante entre os dois métodos. Se o novo método não apresentar desempenho satisfatório, ações corretivas devem ser tomadas antes da implantação do sistema automatizado de hemoculturas.

2.1.4 Teste de Proficiência no Laboratório de Microbiologia

O teste de proficiência deve ser realizado pelo menos duas vezes ao ano. Além disso, o laboratório deve tratar a amostra de proficiência da mesma maneira que trata as amostras clínicas que dão entrada no laboratório. Por exemplo, se uma amostra de paciente que normalmente durante sua análise no laboratório não necessita de repetição do ensaio, a amostra de proficiência também deve seguir os mesmos critérios de análise e interpretação dos

resultados. A incapacidade de acertar no mínimo 80% dos eventos em uma determinada especialidade (Ex: microbiologia, parasitologia, micobacteriologia ou virologia) indica um desempenho insatisfatório. O laboratório deve então retrainar toda a equipe com documentação pertinente ao ensaio ou área. Falha na avaliação geral para dois testes consecutivos ou dois testes errados de três consecutivos também indica desempenho insatisfatório. Para testes que não estejam disponíveis em programas de ensaios de proficiência externos, o laboratório terá que estabelecer um teste de proficiência interno para mensurar a acurácia e a segurança do teste.

2.2 Referências Bibliográficas

Garcia, LS. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3a Ed. Washington, USA: American Society for Microbiology Press. 2010

Murray, PR. Manual of Clinical Microbiology. 9a Ed. Washington, USA: American Society for Microbiology Press. 2007. Volume 1

Sharp, SE. Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory – 31A Cumitech, Washington, USA: American Society for Microbiology Press. 2009



**Acesse o site
da ANVISA**

Baixe o leitor de QR
Code em seu celular e
fotografe este código

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa
SIA Trecho 5 - Área especial 57 - Lote 200
CEP: 71205-050
Brasília - DF
Telefone: 61 3462 6000

www.anvisa.gov.br
www.twitter.com/anvisa_oficial
Anvisa Atende: 0800-642-9782
ouvidoria@anvisa.gov.br