

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**USO DE *POOL* DE SOROS COMO CONTROLE INTERNO DE
QUALIDADE EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES
CLÍNICAS VETERINÁRIAS**

Bruno Silveira Becker

Porto Alegre, Dezembro de 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

USO DE *POOL* DE SOROS COMO CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS

Monografia apresentada junto ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na área de
controle de qualidade, como requisito parcial para obtenção
do título de Farmacêutico.

Bruno Silveira Becker

Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia

Prof. Dr. Osmar Luiz Magalhães de Oliveira

Orientador

Profa. Dra. Karin Tallini

Co-orientadora

Porto Alegre, Novembro de 2011

De modo especial, os meus pais,
irmão e à minha noiva.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço aos meus pais, *Flávio e Jussara*, que, apesar das dificuldades enfrentadas ao longo dos últimos anos, sempre incentivaram meus estudos e me deram todo o apoio necessário.

ao meu irmão, *Lucas*, por estar sempre ao lado da família mesmo nas horas difíceis

à minha noiva, *Denise* e toda sua família, que, apesar de ter entrado em minha vida no meio desta jornada, teve participação direta nos rumos certos aos quais minha vida levou.

à minha família em geral, inclusive aos entes queridos que não puderam acompanhar esta etapa até o fim, por estarem mandando pensamentos positivos para o término desta etapa, apesar de estar espalhada por este país.

ao meu orientador, *Prof. Dr. Osmar Luiz Magalhães de Oliveira* que desde o início do trabalho aceitou prontamente a proposta e me ajudou a guiar o rumo deste trabalho.

à minha co-orientadora, *Profa. Dra. Karin Tallini*, que além de me ajudar a definir o tema deste trabalho e que pode participar diretamente do começo de minha vida profissional na antiga Escola Técnica da Ufrgs até a minha conclusão na graduação de Farmácia.

ao *LACVet*, em particular aos médicos veterinários residentes e à minha chefia imediata, pelas amostras utilizadas no trabalho e principalmente pela colaboração nos conflitos de horários entre aulas, estágio e emprego.

e a todos demais aqui não citados que de alguma forma fizeram parte desta caminhada árdua, difícil, mas que no fim valeu a pena,

Bruno Silveira Becker

**Um homem com um relógio sabe que horas são;
um homem com dois relógios nunca tem certeza.**

(Autor Desconhecido)

RESUMO

A confiabilidade dos resultados do laboratório é garantida pela realização do controle de qualidade, que tem como funções básicas análise, pesquisa e prevenção de erros laboratoriais por meio de metodologias que abrangem tanto o controle de qualidade interno quanto o externo. O controle de qualidade interno faz-se mais importante nas análises clínicas veterinárias, pois, com a impossibilidade de se fazer uma correta anamnese do paciente, o exame de laboratório tem papel fundamental no diagnóstico. Este trabalho tem como objetivo propor a implantação de um controle interno de qualidade no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram escolhidas as análises de alanina aminotransferase (ALT), creatinina, fosfatase alcalina (FAL) e uréia para início desta implementação. Para a confecção do *pool*, utilizou-se soros considerados normais e livres de interferências analíticas. Para a aceitação dos valores encontrados pela amostra confeccionada, escolheu-se como referência o calibrador proteico Qualitrol 2H (Labtest Diagnóstica). Os valores encontrados para os analitos foram plotados em gráfico de Levey-Jennings e, para a sua avaliação, utilizou-se as regras múltiplas de Westgard. Após acompanhamento das corridas, não foram observadas violações das regras. Pode-se concluir que os resultados analíticos monitorados através do *pool* de soros mantiveram-se estáveis, servindo para seu propósito de controle de qualidade interno, e novas análises serão realizadas para estender este controle aos demais exames realizados no setor de bioquímica do laboratório.

Palavras-chaves: bioquímica, análises clínicas veterinárias, controle de qualidade interno, regras múltiplas de Westgard.

ABSTRACT

The reliability of laboratory results is ensured by the implementation of quality control, which has as basic functions analysis, research and prevention of laboratory errors through methodologies that include both internal and external quality controls. The internal quality control becomes more important in veterinary clinical analysis, because, since a correct patient's medical history is difficult to achieve, the laboratory results have a crucial role in the diagnosis. This work aims to propose the establishment of a policy of internal quality control in the Veterinary Clinical Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine of the Federal University of Rio Grande do Sul. We chose the analysis of alanine aminotransferase (ALT), creatinine, alkaline phosphatase (FAL) and urea to begin this implementation. For preparing the pool, we used sera considered analytical interferences free. For the acceptance of the values found for the prepared sample, we chose as reference the protein calibrator QUALITROL 2H (Labtest Diagnostic). The values found for the analyses were plotted on a Levey-Jennings chart, and for their evaluation, we used the Multiple Rules of Westgard. After monitoring the races, violations of the rules were not observed. It can be concluded that the monitored analytical results by serum pool remained stable while serving its purpose of internal quality control, and further analysis will be conducted to extend this control to other tests performed in the biochemistry department of the laboratory.

Key Words: biochemistry, veterinary clinical analysis, internal quality control, multiple rules of Westgard.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVOS.....	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
4 RESULTADOS.....	19
5 DISCUSSÃO.....	23
6 CONCLUSÃO.....	25
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

Uma das definições de qualidade pode ser dada como a conformidade às necessidades daqueles que fazem uso de um produto ou serviço. De forma objetiva, a qualidade deve ser referida à satisfação das necessidades e das expectativas dos clientes, usuários e empresas prestadoras de serviços (Siloahoo e Puhakainen, 2000).

Entretanto, o conceito de qualidade tem se alterado com o tempo. Nesse contexto, qualidade é a adequação ao uso (Juran e Gryna, 1991), ou seja, é sempre definida com base no cliente, que, em última análise, faz uso do serviço (Motta *et al.*, 2001).

No início da civilização, a qualidade estava presente, por exemplo, na ausência de arestas das rodas de charretes e nos procedimentos corretos de estocagem de vinhos em barris de carvalho. Com a criação, em 1947, da *International Organization for Standardization* (ISO) e com a modernização da indústria associada à globalização, deu-se uma importância à qualidade de produtos e serviços que antes existia de forma desorganizada e regional. Atualmente, qualidade é procurada pelos consumidores, exigida pelas autoridades e desejada pelos produtores (Duarte, 2005).

O foco em clientes e usuários é importante, especialmente em empresas de prestação de serviços, como os laboratórios de análises clínicas, que prestam assistência à saúde da população. O que motiva um cliente a utilizar determinado serviço de análises clínicas é o fato de ele atender as suas necessidades, satisfazendo também suas preferências, conveniências e gostos (Lopes, 2003).

No caso dos laboratórios clínicos, a missão é fornecer ao cliente informações clinicamente efetivas de maneira eficaz, sob o ponto de vista do custo-benefício. O propósito destas informações é reduzir a incerteza das decisões relacionadas à doença (diagnóstico, prognóstico ou monitoramento) ou à saúde. Estas informações geralmente são obtidas através de exames em amostras de líquidos ou tecidos biológicos (Shcolnik, 2000).

Estatísticas mostram que é cada vez maior o número de animais de estimação nos domicílios do mundo inteiro. Só no Brasil há, aproximadamente, vinte e sete milhões de cães, onze milhões de gatos, três milhões de criadores de pássaros e quinhentos mil aquários. Observando este crescimento, clínicas e laboratórios têm se preparado para atender esta demanda crescente na área da veterinária, embora muitos ainda optem por não enviar materiais biológicos dos animais aos laboratórios. Pesquisadores veterinários conseguiram definir os parâmetros de muitas espécies animais e não só de cão, gato e bovino. Os animais silvestres, as aves, os eqüinos, apresentam características próprias e diferenças sutis, que só

um laboratório com veterinários pode perceber e, assim, gerar o correto diagnóstico para a espécie pesquisada. Com a impossibilidade de realizar uma anamnese do paciente, o exame é de primordial importância para um diagnóstico preciso (Qualifique, 2006).

Há muitos anos tem-se dado grande ênfase à qualidade dos processos dos laboratórios clínicos, sendo comum, na maioria dos laboratórios, a existência de uma política de procedimentos relacionados ao monitoramento do componente analítico de suas operações, sendo este monitoramento de difícil implantação. As opções disponíveis são poucas e a escolha freqüentemente recai sobre sistemas de acreditação baseados na norma ISO 9000, sistemas de auto-avaliação ou em abordagens baseadas em resultados de outras avaliações (Lehmann, 1998).

A adaptação das técnicas de controle de qualidade da indústria, introduzida por Levey-Jennings no ano de 1950, baseada na teoria de Shewhart, deu oportunidade à utilização de *pool* de soros congelados ou liofilizados para controle de ensaios no laboratório clínico, conhecido hoje como controle interno. A partir desse momento, foi aplicado o tratamento estatístico das dosagens em replicatas para definir os limites aceitáveis de erro (LAE) utilizando dois desvios padrões, depois, Hery e Segalove utilizaram os limites baseados em avaliações estatísticas em longo prazo, passando a aplicar três desvios como limite no gráfico de Levey-Jennings. Em 1977, Westgard e o grupo Uppsala apontaram que, em corridas estáveis poderiam estar sendo rejeitadas sem necessidade (Petersen *et AL.*, 1996). Então, em 1979, a teoria foi completamente esclarecida através da aplicação das funções-poder (Westgard, 2002a). A partir de então, vários artigos deste grupo e de outros têm sido publicados citando as regras de Westgard (Basques, 2009).

Um marco legal para a disseminação do controle interno em laboratórios clínicos brasileiros foi a publicação da RDC 302/2005 (Brasil, 2005), que após três décadas de uso voluntário no país tornou as ferramentas de controle um requisito básico e compulsório para o funcionamento dos laboratórios. O controle interno é realizado em conjunto com a rotina de análise de amostras dos pacientes, para validar os resultados produzidos após identificar que o sistema analítico está operando dentro dos limites de tolerância pré-definidos, especialmente reprodutibilidade do processo (Mendes e Romano, 2005).

O controle interno ou material de referência, com concentração conhecida ou não, é responsável pelo monitoramento freqüente da precisão da fase analítica. Seu propósito é manter a variabilidade do processo de análise sob controle, identificando desvios para a eliminação das causas. É uma oportunidade de aprimoramento das atividades desenvolvidas no laboratório, pelo qual se busca melhorar a qualidade dos serviços (Brasil, 2005; Stempliuk, 2006). Toda análise laboratorial está intrinsecamente sujeita a uma imprecisão e inexatidão.

Essas são as duas componentes do erro total, que são inerentes ao processo de medição e às quais se deseja manter o mais próximo de zero para ter um processo sob controle e capaz de fornecer informações relevantes ao paciente (Camarinha *et al.*, 2011).

O controle interno detecta desvios do desempenho das análises no laboratório individualmente, através da imprecisão do processo de analítico em seu desempenho de longo prazo, como a variação de lotes e estabilidade de reagentes e calibradores. Segundo Baques (2009), os controles externos podem auxiliar na identificação de erro aleatório quando realizada mais de uma dosagem, porém são lentos para o monitoramento contínuo do desempenho, já que não é um material de análise diária nas rotinas do laboratório clínico. O controle interno é realizado em rotinas diárias, garantindo em pouco tempo grande quantidade de dados de um único material e o monitoramento freqüente da reprodutibilidade (ISO, 1993). O propósito principal desse controle é minimizar os erros associados ao desempenho do sistema analítico. Materiais de controle não devem ser utilizados como calibrador, pois para esse fim, existem materiais específicos (Westgard *et al.*, 2010). O tratamento dado ao controle interno, ou seja, a forma com que os dados serão analisados, varia conforme o tipo de ensaio e o material de controle. Podem-se dividir os ensaios em três tipos: qualitativo, semi-quantitativo ou quantitativo. Em análises bioquímicas, este último é utilizado. Ensaio quantitativo são aqueles em que a quantificação de um mensurando é o propósito da análise e o dado disponibilizado para o usuário. Para esse tipo de controle, é imprescindível que os profissionais envolvidos nas análises tenham um conhecimento básico de estatística e que entendam toda a estratégia e aplicação envolvida no processo (Camarinha *et al.*, 2011).

Os materiais de controle são idealmente de matriz idêntica aos materiais analisados na rotina do laboratório, em concentrações ideais para representar a realidade das análises que abrangem a faixa de leitura do processo e limites de decisão. Devem ser homogêneos, de forma que alguma variabilidade existente entre frascos seja insignificante em relação à variação total ocorrida no ensaio (Basques, 2009). Uma opção de controle de qualidade interno é a preparação de *pool* de amostras de pacientes, o que requer que o laboratório realize uma seleção adequada das amostras, obtenha valores dentro do intervalo analítico, contendo valores de decisão e representativos da rotina, proceda a sua estabilização, eliminação e monitoração de interferentes e armazenamento adequado. O laboratório deve planejar a produção do *pool* para atender a um bom período de tempo (quantidade e estabilidade) (Petersen *et al.*, 1996). A seleção de um material de controle deve considerar ainda o tempo de uso do mesmo. Idealmente deve-se planejar usar um controle pelo maior tempo possível, o que conferirá uma maior rastreabilidade do processo e melhor capacidade

de análise do mesmo, com um largo histórico do comportamento do processo e redução de custos que envolvem a troca de lote controle (Camarinha *et al.*, 2011).

O planejamento do controle interno é apenas o primeiro passo para alcançar a qualidade no laboratório. Para isso é necessário não só planejar e executar o controle interno, mas também participar de ensaios de proficiência. Para isso, algum conhecimento estatístico é necessário, pois, se utilizada de forma correta, ajuda na padronização da sistemática de controle, fornece a segurança nos resultados dos exames, orienta sobre o que fazer quando as análises estão fora dos limites e reduz custos (Westgard, 2000). Os custos com a qualidade ficam entre 30 e 40% dos custos de correção dos erros não identificados a tempo (Berlitz e Haussen, 2005). Os fatores envolvidos no planejamento do controle interno são divididos em quatro categorias (Petersen *et al.*, 1996): pacientes (população atendida), laboratório (capacidade técnica), fabricante de reagentes e equipamentos (adequação dos recursos materiais) e método utilizado (sensibilidade e especificidade).

Após definição do planejamento do controle, é necessária sua implantação na rotina e sua valoração para iniciar a monitoração da imprecisão. Essa valoração consiste numa sucessão de medidas do controle para obtenção de medidas de tendência central (média) e medidas de dispersão (desvio-padrão e coeficiente de variação) que representem fidedignamente a realidade do laboratório (Camarinha *et al.*, 2011). Não deve existir dúvida quanto à importância de o laboratório obter suas próprias médias no lugar de usar valores fornecidos nas bulas do controle para monitorar sua rotina, pois, os dados apresentados na bula apresentam apenas intervalos de aprovação que tendem a ser amplos para abranger vários conjuntos analíticos e só permitem prática simples de controle com baixa eficiência (Basques, 2009). O foco principal do controle interno é avaliar a reprodutibilidade do processo e não a sua inexatidão, e que o “valor verdadeiro” não é essencial neste contexto (Westgard, 2007). Essa valoração deve ocorrer, inicialmente, com ao menos vinte dosagens diárias e, preferencialmente, ao número de 100 dosagens, pois representam de forma mais fidedigna a imprecisão do processo (Westgard *et al.*, 1981).

Os gráficos de controle são especialmente úteis para promover uma melhor visualização do comportamento das amostras controle, pois ajudam a detectar o tipo de erro presente e avaliar os dados ao longo do tempo. Nos laboratórios clínicos, onde a prática é o uso de regra simples de controle, o gráfico de controle comumente utilizado é o de Levey-Jennings (Berlitz, 2010). O gráfico de Levey-Jennings e as regras de decisão descritas por Westgard são comumente mais utilizados, pois oferecerem melhor poder para rejeitar ou aceitar uma corrida e também possibilitam a análise de todos os níveis de controle simultaneamente (Camarinha *et al.*, 2011). Esse gráfico aplica-se aos dados com

comportamento gaussiano, no qual a linha central corresponde à média das amostras e linhas adjacentes correspondem a múltiplos de desvio padrão (DP) (Berlitz 2010), como pode ser observado na Figura 1.

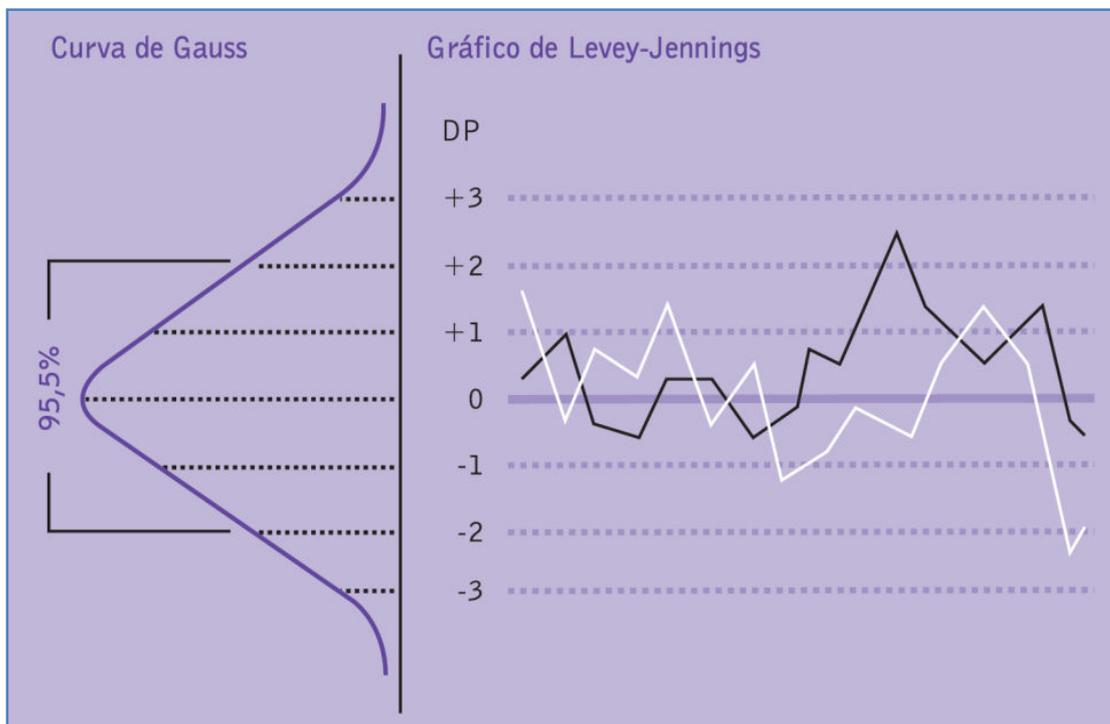


Figura 1. Exemplo de correlação entre a curva de Gauss e o gráfico de Levey-Jennings.

Fonte: Camarinha *et al.* (2011)

Os limites de controle correspondem à faixa de aceitação para verificar se um procedimento de medição está dentro ou fora do controle. Esses limites são usualmente calculados através da média e desvio padrão. As regras de controle significam critério de decisão para julgar se uma corrida analítica está dentro ou fora de controle e, em geral, são representadas por um símbolo da forma ALs, onde A representa o número de medições de controle e Ls os limites de controle em função do desvio-padrão. O controle interno baseado em regras múltiplas utiliza uma combinação de critérios de decisão, ou regras de controle, para decidir quando uma corrida analítica está “sob controle” ou “fora de controle”. A avaliação da corrida analítica pode também ser definida com base em regra única (ou simples), conforme a estratégia e planejamento adotados (Westgard, 2003).

As análises com base no algoritmo das regras múltiplas trazem alguns benefícios como análise simples através de gráficos, possibilidade de ação imediata, fácil integração e adaptação à rotina, baixo nível de falsas rejeições ou falsos alarmes e melhor capacidade de identificação de erros e indicação do tipo de erro (Figura 2). O Quadro 1 apresenta as regras de controle mais usuais definidas por Westgard (Westgard, 2002b).

É importante também compreender que, quando há uma rejeição, repetir a análise do controle não agrega valor. Assim que uma regra é violada, deve-se identificar a causa desse comportamento, corrigi-lo e em seguida realizar uma nova dosagem para verificar se o erro foi corrigido, pois se o laboratório está repetindo constantemente suas análises de controle por causa de rejeições consideradas falsas, isso pode indicar que as regras de controle selecionadas não são apropriadas para o processo. Mas se for realmente por conta de um problema, o laboratório o está ignorando ao invés de identificar o erro e eliminá-lo (Westgard, 2005).

Quadro 1. Regras de controles usuais segundo Westgard (2002b)	
REGRA	DESCRIÇÃO
1_{3s}	Regra de rejeição comumente utilizada com um gráfico de Levey-Jennings quando os limites de controle calculados são (Média±3DP). A corrida é rejeitada quando uma única medição de controle excede um dos limites. Indica erro aleatório e pode indicar erro sistemático, quando este for grande.
1_{2s}	Regra comumente utilizada com um gráfico de Levey-Jennings quando os limites de controle calculados são (Média±2DP). Esta regra é utilizada como uma regra de alerta para acionar uma inspeção cuidadosa dos dados de controle por meio das próximas regras de rejeição. Se utilizada como regra única na rotina, pode aumentar a probabilidade de falsas rejeições.
2_{2s}	Regra de controle a qual se rejeita quando duas medições de controle consecutivas excederem o mesmo limite de controle (Média+2DP) ou (Média-2DP). Indica erro sistemático.
R_{4s}	Regra para a qual se rejeita a corrida quando a amplitude entre duas medições de controle exceder o limite de 4DP. Indica erro aleatório.
4_{1s}	Regra para a qual se rejeita a corrida quando quatro medições de controle consecutivas excederem o mesmo limite (Média+1DP) ou (Média-1DP). Indica erro sistemático.
10_x	Regra para a qual se rejeita a corrida quando dez medições de controle consecutivas estiverem no mesmo lado em relação à média. São variações desta regra 8x e 12x para dois e quatro controles simultâneos; 6x e 9x para três controles simultâneos. Indica erro sistemático
(2 de 3)_{2s}	Regra para a qual se rejeita a corrida quando duas de três medições de controle excederem o mesmo limite (Média±2DP). Aplicável quando há uso de três controles simultâneos. Indica erro sistemático.

3_{1s}	Regra para a qual se rejeita a corrida quando três medições de controle consecutivas excederem o mesmo limite (Média \pm 1DP). Aplicável quando há uso de três controles simultâneos. Indica erro sistemático.
7_T	Regra para a qual se rejeita a corrida quando se observa tendência de sete medições de controle no mesmo sentido (ficando progressivamente maior ou menor).

Após eliminação do erro, o laboratório deve adotar ações corretivas para que não volte a ocorrer. Essa ação pode estar relacionada ao treinamento da equipe, à aquisição de um novo sistema, à troca de fabricante do kit, à troca do sistema de água, à redefinição da estratégia de controle (para um controle interno mais rígido), entre outros (Camarinha et al., 2011). O erro precisa ser detectado antes que apareça no laudo final e possa prejudicar um paciente. O erro é a somatória de vários componentes que vão desde a coleta da amostra biológica do paciente, passando pela separação e triagem, onde há o tempo e manipulação, a análise e o laudo final (Ricós et al., 1999). Esse conjunto de variabilidades precisa ser menor do que a diferença entre o valor normal e o valor que é importante para decisão médica (Quam, 2010; Westgard et al., 1999).

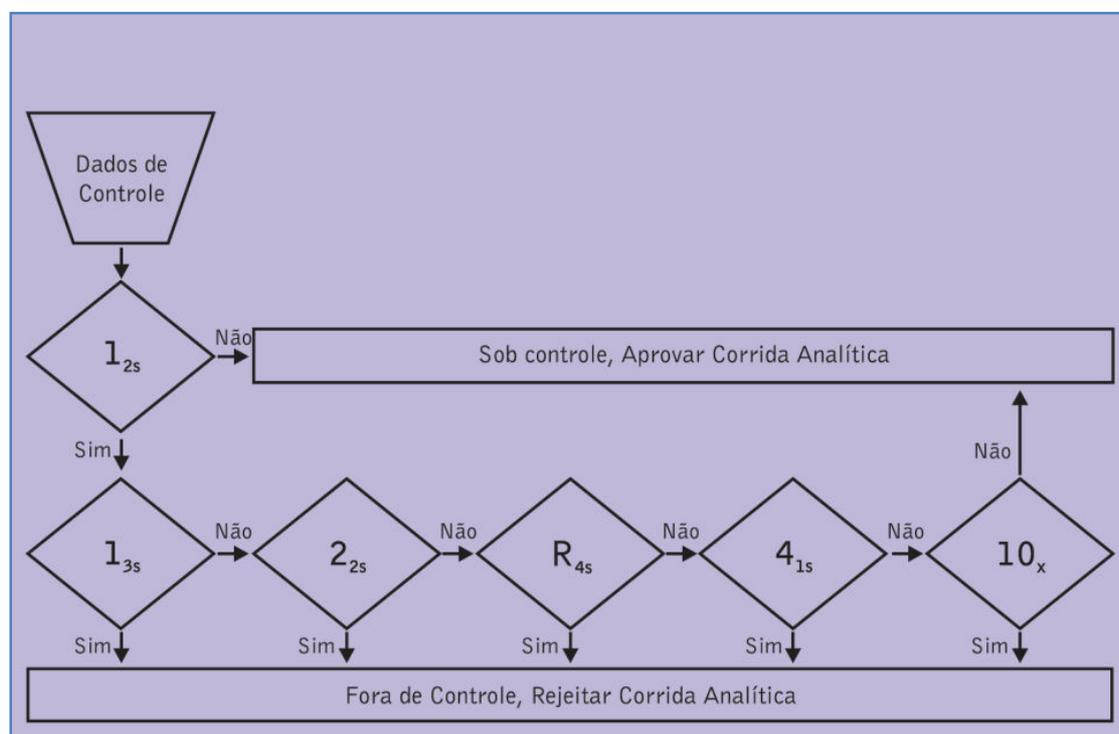


Figura 2. Algoritmo das Regras Múltiplas de Westgard.

Fonte: Camarinha *et al.* (2011)

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo propor a implantação de um controle de qualidade interno no setor de bioquímica do Laboratório de Análises Clínicas Veterinária (LACVet), vinculado ao Hospital de Clínicas Veterinário (HCV) da Faculdade De Veterinária (FAVET) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para o início da implantação do controle de qualidade interno na bioquímica, foram selecionados os quatro exames mais solicitados pelos médicos veterinários do HCV: alanina aminotransferase (ALT – também conhecida como transaminase glutâmico-pirúvica – TGP), fosfatase alcalina (FAL), uréia e creatinina. ALT e FAL são enzimas utilizadas para avaliar a função hepática, enquanto creatinina e uréia são utilizadas para avaliar a função renal dos pacientes (Voet e Voet, 2006). O grande número de pedidos desses exames deve-se a necessidade de avaliações pré e pós-cirúrgicas, de hepato e de nefrotoxicidade dos tratamentos medicamentosos e às avaliações periódicas de saúde dos animais atendidos pelo Hospital Veterinário.

Para a análise de ALT e uréia foi utilizado um espectrofotômetro semi-automático METROLAB 1600 DR (WIENER LAB), para a dosagem de creatinina, um espectrofotômetro semi-automático CELM SB-190 (CELM) e, para FAL, um espectrofotômetro semi-automático LABQUEST BIO-2000 (LABTEST). Os métodos foram utilizados conforme as bulas dos *kits* comerciais preconizavam: para ALT foi utilizado o sistema cinético ALT/GPT Liquiform – Ref. 108; para FAL, o sistema cinético Fosfatase Alcalina Liquiform – Ref. 79; para creatinina, o sistema cinético Creatinina K – Ref. 96; para uréia, o sistema cinético URÉIA UV Liquiform – Ref. 104. Todos os reagentes utilizados são fabricados pela indústria Labtest Diagnóstica (Brasil) e são autorizados pela vigilância sanitária para diagnóstico *in vitro* para humanos.

Para a confecção do *pool* de soros, utilizou-se a metodologia proposta pelo PNCQ (2006): foram selecionadas amostras de todas as espécies de pacientes normais do laboratório coletadas a vácuo pelo sistema BD Vacutainer® com ativador de coagulação (BD Biosciences, Brasil) consideradas normais livre de interferentes pré-analíticos como lipemia, icterícia ou hemólise. As amostras foram homogeneizadas à temperatura ambiente e filtradas em papel filtro comum até completarem o volume de 120 mL. Após nova homogeneização por quinze minutos, foram alíquotadas em 500 µL em microtubos e congeladas a -20 °C ao abrigo da luz. Foram obtidas 235 alíquotas.

Para fins de controle de qualidade, o laboratório tem utilizado o reagente comercial liofilizado de matriz protéica humana Qualitrol 2H (Q2H), lote 1001, da Labtest Diagnóstica (Brasil), valendo-se dos valores médios e limites aceitáveis de erros de sua bula como controle de qualidade.

Para cada exame, foram feitas 20 leituras em dias diferentes para obter-se a média,

desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV). Para garantir a exatidão dos resultados do *pool* de soros, foi feita análise estatística das últimas noventa leituras do Q2H utilizadas como controle de qualidade interno para liberação dos laudos rotineiros e somente foram considerados verdadeiros os valores encontrados no *pool* quando o Q2H estava dentro do LAE aplicando-se as regras de Westgard. Para comparação dos valores de limites aceitáveis de erro obtidos da média dos últimos noventa dias com os valores da bula do reagente, utilizou-se o teste de hipóteses para uma média com distribuição normal.

Uma vez estabelecido as médias e os desvios padrões do *pool*, estes valores passaram a ser utilizados na rotina para liberar ou reter as análises realizadas através da utilização das regras múltiplas de Westgard (Quadro 1). As análises foram realizadas nos dias em que havia solicitação das mesmas, o que levou a diferentes números de leituras para cada analito. Foram utilizadas as regras 1_{3s} , 1_{2s} , 2_{2s} , R_{4s} , 4_{1s} , 10_x e 7_T . Para a análise de FAL, optou-se por desconsiderar a regra 10_x , pois o equipamento utilizado possui a característica de aproximar os valores obtidos a valores de referência internos. Ao final de cada mês, uma nova estatística foi feita com as leituras obtidas e os novos valores, aplicados à rotina.

4 RESULTADOS

Inicialmente, foram determinados os valores para média, desvio padrão e coeficiente de variação das últimas noventa leituras do Q2H utilizados na rotina do laboratório, conforme **Quadro 2**.

Quadro 2. Valores obtidos das últimas noventa leituras do Q2H				
	ALT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	FAL (U/L)	Uréia (mg/dL)
média	106,51	3,59	412,93	97,04
DP	7,42	0,15	28,24	11,96
CV	6,0 %	4,0 %	7,0 %	12,0 %

Os dados acima demonstram a medida de tendência central e o desvio padrão da amostra do calibrador proteico utilizado como referência. Analisando o coeficiente de variação, pode-se inferir que as leituras situaram-se próximas a média central. A partir destes dados são estabelecidos os limites aceitáveis de erro.

A partir das noventa últimas leituras do Q2H, compararam-se os LAE encontrados na rotina do laboratório com os valores dados pela bula do reagente, conforme a **Figura 3**.

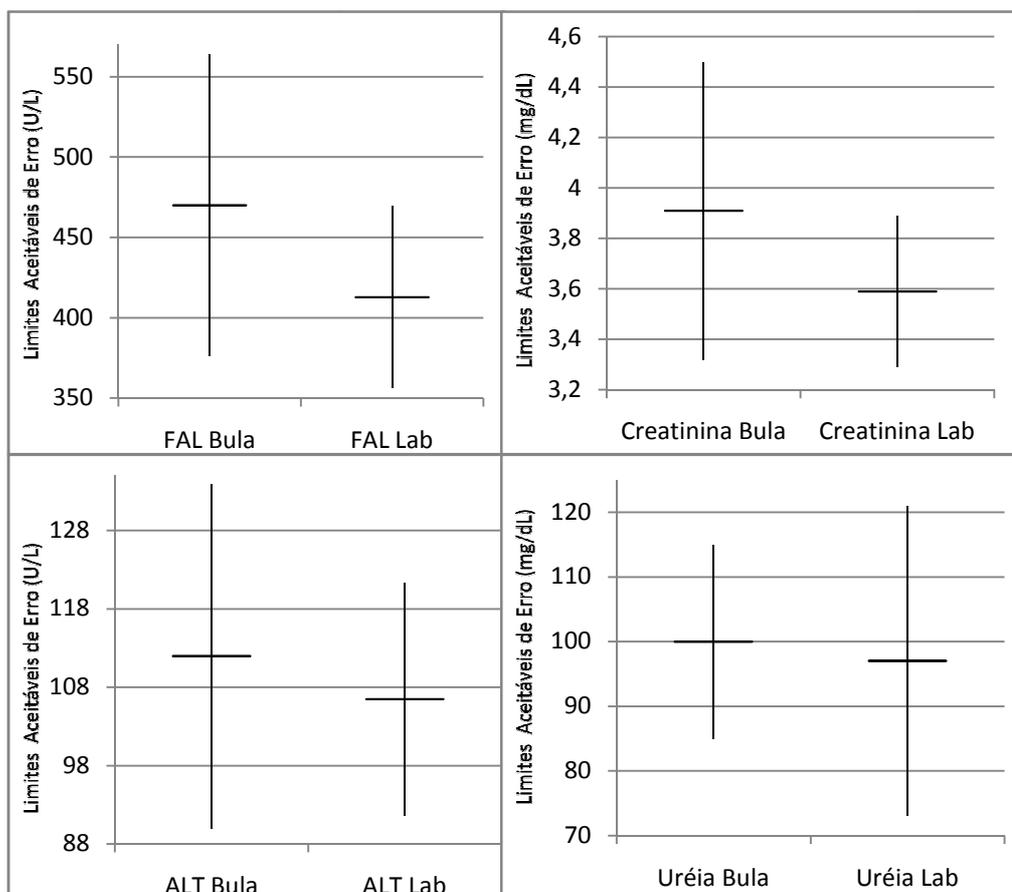


Figura 3. Comparação entre os LEA da bula e os LEA obtidos na rotina do laboratório para o Qualitrol 2H.

Depois de estabelecidos os valores de controle interno pelo Q2H, foram realizadas 20 leituras do *pool* para cada análise em questão quando os valores do Q2H estavam dentro do LAE, e aplicada a estatística, conforme o **Quadro 3**.

Quadro 3. Valores obtidos de vinte leituras do <i>pool</i>.				
	ALT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	FAL (U/L)	Uréia (mg/dL)
Média	71,77	0,93	189,51	46,53
DP	4,36	0,06	11,22	3,05
CV	6,1 %	6,7 %	5,9 %	6,6 %

Os dados acima demonstram a medida de tendência central e o desvio padrão do *pool* de soros confeccionado. Analisando o coeficiente de variação, pode-se inferir que as leituras situaram-se próximas a média central. A partir destes dados são estabelecidos os limites aceitáveis de erro.

A partir dos dados do Quadro 2, durante o mês de outubro de 2011 foram aplicadas as regras de Westgard utilizando gráficos de Levey-Jennings para aceitar ou rejeitar a corrida do controle interno, conforme as **Figuras 4-7**.

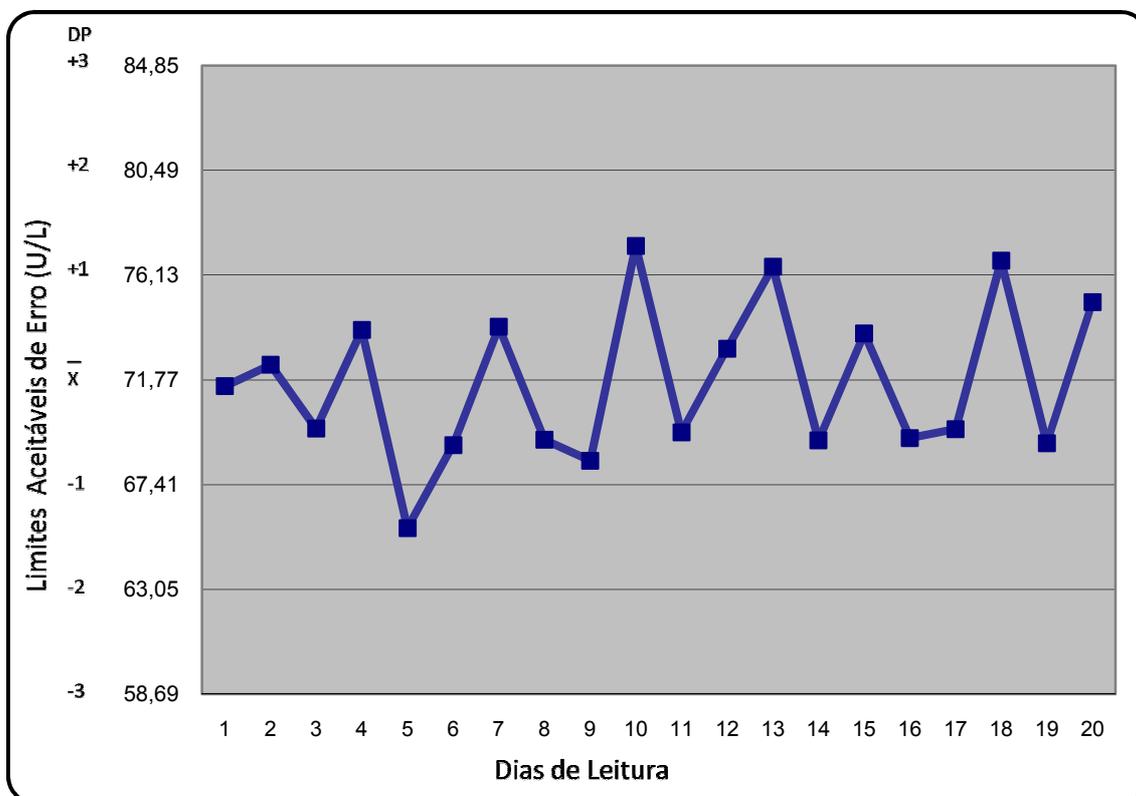


Figura 4. Gráfico de Levey-Jennings das leituras de ALT do *pool* para o mês de outubro.

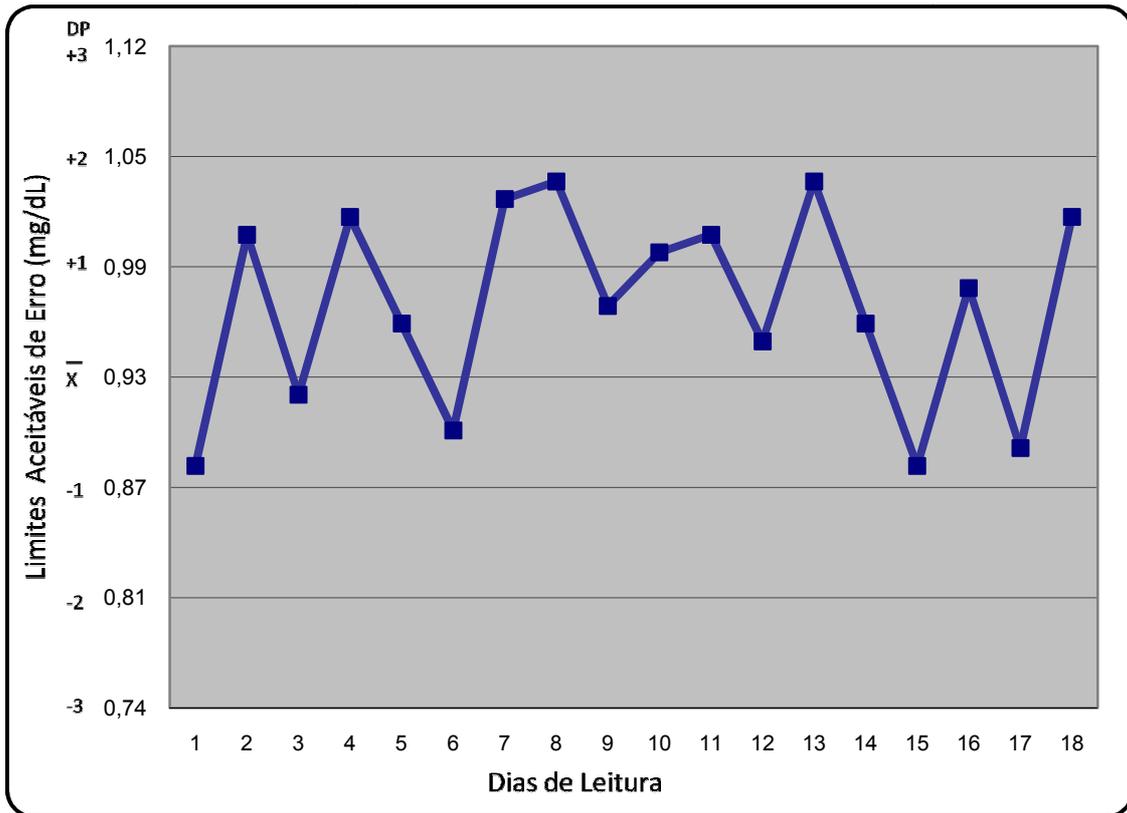


Figura 5. Gráfico de Levey-Jennings das leituras de creatinina do pool para o mês de outubro.

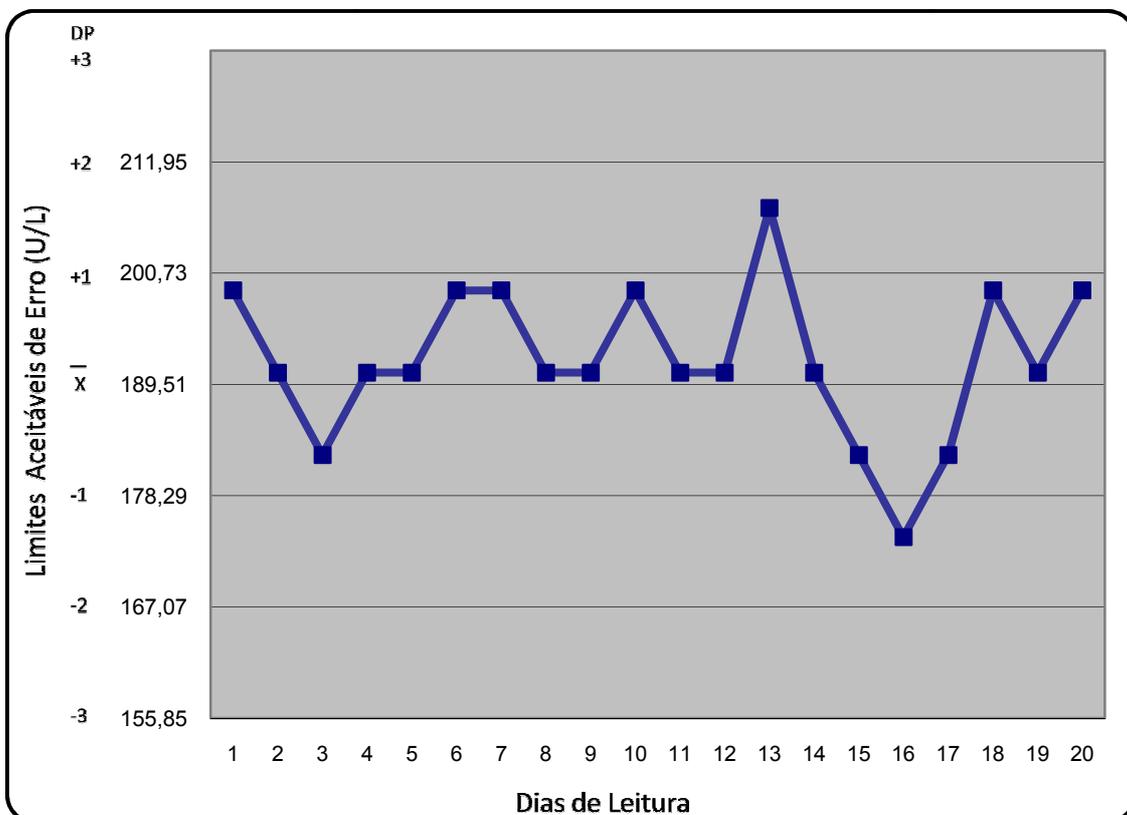


Figura 6. Gráfico de Levey-Jennings das leituras de FAL do pool para o mês de outubro

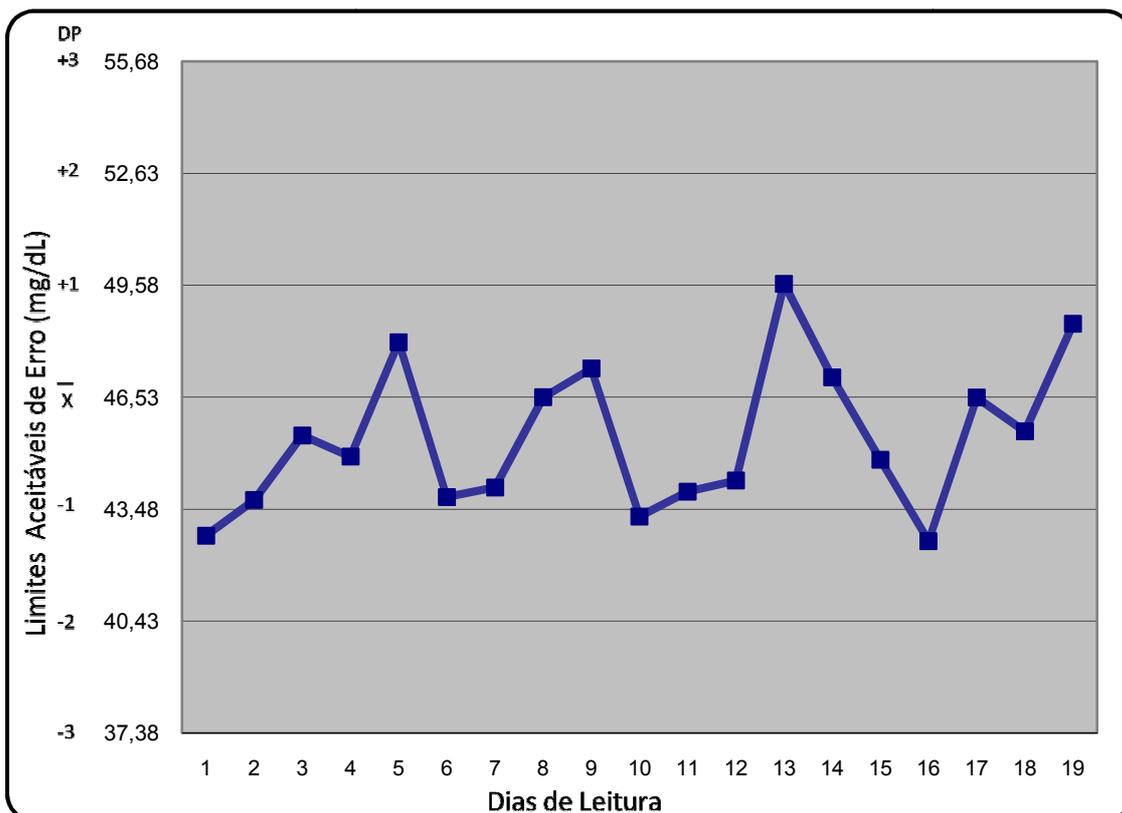


Figura 7. Gráfico de Levey-Jennings para as leituras de uréia do *pool* para o mês de outubro.

Pode-se observar que no decorrer das leituras ao longo do mês de outubro, conforme esperado, houve uma distribuição aleatória ao redor do valor médio encontrado nas primeiras leituras. Em todas as leituras não houve violação das regras múltiplas de Westgard.

Como esperado, o equipamento Labquest, pelas características próprias de sua programação, aproximou os valores reais de valores internos de referência, e, por isso, os resultados sempre ficam em torno dos mesmos números, motivo pelo qual a regra 10_x foi desconsiderada.

Com o final de um mês de análises, os dados utilizados para o controle das corridas foram incorporados à média histórica dos valores, e novos limites de controle foram estabelecidos (**Quadro 4**).

Quadro 4. Valores e limites de controle do <i>pool</i> para o mês de novembro.				
	ALT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	FAL (U/L)	Uréia (mg/dL)
Média	71,718	0,946	190,700	46,004
DP	3,789	0,061	9,644	2,647
CV	5,3 %	6,4 %	5,1 %	5,8 %

Os dados acima demonstram a medida de tendência central e o desvio padrão do pool de soros após um mês de análises. A partir destes dados são estabelecidos os limites aceitáveis de erro.

5 DISCUSSÃO

A necessidade de controle de qualidade laboratorial é uma exigência cada vez maior em todos os serviços prestados, incluindo os laboratórios clínicos (Schons e Tavares, 2010). A RDC 302 (Brasil, 2005) exige que o laboratório clínico faça o monitoramento do processo analítico das amostras de controles comerciais – regularizadas junto aos órgãos reguladores – com registros dos dados obtidos, além da utilização de formas alternativas de controles que permitam uma avaliação precisa do sistema analítico.

Pôde-se observar na Figura 3 que, de acordo com Basques (2009), houve uma diferença significativa entre os limites de erros aceitáveis da bula do controle de qualidade comercial e os valores encontrados nas leituras do laboratório (ALT, creatinina e FAL, $p < 0,0001$; uréia, $p = 0,0002$), o que pode acarretar em análises liberadas de forma errônea e também análises retidas de forma desnecessária.

Ainda com base nesta resolução (Brasil, 2005), cada vez mais se têm buscado formas que sejam econômicas e confiáveis para o controle interno de qualidade. Como possibilidade surge a utilização de misturas amostras obtidas no próprio laboratório, os *pools* (Schons e Tavares, 2010). No estudo, os valores de média e desvio padrões foram determinados inicialmente em vinte leituras, conforme Quadro 3. As leituras das quatro técnicas ao longo de um mês não apresentaram situações de alerta ou de reprovação de suas corridas, o que caracteriza que a amostra, feita a partir de *pool* de soros, manteve-se estável ao longo do período de análise.

Com a variação das análises dentro dos limites aceitáveis de erro, verificou-se que não há necessidade de adição de um conservante na amostra, pelo menos durante o período em que a amostra esteve em análise (quatro meses). O período esperado de estabilidade para um *pool* de controle é de um ano quando conservada congelada ao abrigo da luz.

De acordo com o que preconiza Camarinha e colaboradores (2011), se algum dos valores fosse rejeitado segundo as regras múltiplas, estes não seriam inclusos para cálculo de média e de desvio-padrão, pois os limites de controle indicam a variação esperada quando o processo está operando apropriadamente. Se os valores rejeitados forem mantidos nos cálculos, acaba-se incluindo situações que refletiriam uma variabilidade maior que o desejado.

Se a sistemática de controle foi cuidadosamente planejada, o laboratório conhece a probabilidade de falsa rejeição e o poder de detecção de erros; portanto, quando uma corrida é rejeitada, o correto é parar a rotina de análises e investigar a causa da violação antes de repetir o material de controle. É importante sempre inspecionar o gráfico e verificar as regras

que foram violadas, pois identifica-se se ocorreu um erro sistemático ou aleatório. As regras 1_{3s} e R_{4s} indicam erro aleatório, as regras 2_{2s} , 4_{1s} e 10_x indicam erro sistemático. Deve-se relacionar o erro à causa (Westgard, 2002a).

Erros sistemáticos são frequentemente relacionados com reagentes ou calibradores, por isso deve-se verificar se houve desvio após troca de reagentes ou de calibradores. Já o erro aleatório é mais difícil de ser detectado, normalmente está relacionado a bolhas de ar na linha de reagentes, pequeno entupimento do sistema de pipetagem que se resolveu espontaneamente (Westgard 2002a). É importante verificar a solução e documentar a ação corretiva, pois a documentação evidencia as ações tomadas e mantém o histórico do controle no laboratório.

Após investigação e solução do problema, deve-se reanalisar o material de controle, já que sem a aprovação do controle, não é possível liberar o sistema analítico para a rotina do laboratório (Camarinha *et al*, 2011).

6 CONCLUSÃO

Apesar de transcorridos trinta anos desde sua publicação, as aplicações das regras múltiplas citadas por Westgard, e toda a teoria que se desenvolveu em torno delas ao longo dos anos, são uma excelente opção para um controle interno efetivo, já que fornecem uma melhor eficiência de sua utilização, evitando reprovações desnecessárias nas rotinas, o que implica em maior confiabilidade dos resultados liberados e menor desperdício ao laboratório. Em contrapartida, o próprio Westgard descreve a utilização dessa ferramenta como deficiente, com muitos laboratórios em todo o mundo ainda adotando práticas de controle pouco eficientes por desconhecimento de seus fundamentos.

A análise de controles monitora reprodutibilidade da técnica: seu uso é uma atividade correta, melhora a imprecisão, entretanto, às vezes dá a falsa impressão de que a qualidade foi alcançada. Mas para alcançá-la, é necessário unir a análise de controles com o correto planejamento, utilização de regras de decisão, interpretação dos resultados e respostas corretas às situações de rejeição.

Os resultados obtidos para as quatro técnicas, e a sua reprodutibilidade e estabilidade ao longo dos quatro meses iniciais, mostraram que a utilização de um *pool* de soros com amostras que traduzem a realidade do laboratório é uma maneira de obter-se uma ferramenta de controle de qualidade interno com segurança de resultados e redução de custos. A utilização das regras múltiplas para a aprovação ou rejeição de dados de controle torna-se de fundamental importância e relativamente fácil, visto que o ganho de experiência permite uma rápida e simples avaliação dos dados apresentados no gráfico, mesmo sem o uso de softwares próprios.

Em uso conjunto com o ensaio de proficiência, calibradores e outras ferramentas de gestão da qualidade, o controle interno de qualidade promove uma adequada monitoração e controle da fase analítica, garantindo assim a segurança na entrega dos laudos dos exames dos pacientes.

Além do contínuo monitoramento das quatro técnicas utilizadas inicialmente, serão feitos dados e limites de controle de qualidade para as demais técnicas realizadas no laboratório: albumina, colesterol total, triglicérides, glicose, aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase, desidrogenase láctica, frutamina, cálcio, fósforo, lactato, magnésio e proteínas totais.

É importante frisar que a inovação na área diagnóstica é freqüente e fatores como a competitividade e a atualização tecnológica levam os serviços de medicina laboratorial a

buscarem métodos e equipamentos com tecnologia de ponta para manterem sua posição no mercado ou assegurarem uma vantagem competitiva em relação à concorrência. Nesse cenário, o controle interno é um dos pilares para a garantia da qualidade dos laudos laboratoriais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASQUES, J. C. **Usando Controles no Laboratório Clínico**. Labtest, 2009. Disponível em: www.labtest.com.br/publicacoes/publicacoeslabtest. Acesso em 08 de outubro de 2011.

BERLITZ, F. A. **Controle da Qualidade no laboratório clínico: alinhando melhoria de processos, confiabilidade e segurança do processo**. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. v46, n. 5, p. 353-363, 2010.

BERLITZ, F. A; HAUSSEN, M. L. **Seis Sigma no Laboratório Clínico: impacto na gestão de performance analítica dos processos técnicos**. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. Vol. 41(5), 301-12. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005**. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. *Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil*, Brasília, 14 out. 2005.

CAMARINHA, G. C; MEDEIROS Jr, N; LOPES, R. M. **Controle Interno**. In: OLIVEIRA, C. A; MENDES, M. E. (Ed). *Gestão da Fase Analítica do Laboratório – como assegurar a qualidade na prática*. V2, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Controllab, p. 97-126. 2011. Disponível em: http://www.controllab.com.br/pdf/GestaoDaFaseAnaliticaDoLaboratorioVOL2_PDF.pdf. Acesso em 02 de outubro de 2011.

DUARTE, R. L. **A importância de se padronizar tarefas nas BPLC**. Curso de Boas Práticas em Laboratório Clínico (BPLC). Belém/PA. Brasil. 2005

INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARIZATION (ISO). **International vocabulary of basic and general terms in metrology**. Genova, Suíça. 1993.

JURAN. J.M.; GRZYNA, F. **Controle da qualidade handbook**. Makron Books-McGraw-Hill:Brasil, 1991.

LEHMANN, H. P. **Certifications Standards transfer : from committee to laboratory Clinica**. *Chimica Acta*. **278**:121-144, 1998.

LOPES, H. J. J. **Garantia e controle da qualidade no laboratório clínico**. Analisa, 2003. Disponível em: http://www.goldanalisa.com.br/publicacoes/Garantia_e_Controlo_da_Qualidade_no_Laboratorio_Clinico.pdf. Acesso em 27 de agosto de 2011.

MENDES, M. E; ROMANO, P. **Validação de sistema analítico**. In: OLIVEIRA, C. A; MENDES, M. E. (Ed). *Gestão da Fase Analítica do Laboratório – como assegurar a qualidade na prática*. V1, 1ª Ed. Rio de Janeiro: ControlLab, p. 39-61. 2010. Disponível em: http://www.controllab.com.br/pdf/gestao_fase_analitica_vol1.pdf. Acesso em 07 de outubro de 2011.

MOTTA V. M; CORRÊA J. A; Motta L. R. **Gestão da qualidade no laboratório Clínico**. 2ª Ed., Editora Médica Missau, Porto Alegre, 2001.

PETERSEN, P. H; RICÓS, C; STÖCKL, D; LIBEER, J. C; BAADENHUIJSEN, H; FRASER, C; THIENPONT, L. **Proposed Guidelines for the Internal Quality Control of Analytical Results in the Medical Laboratory**. European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry. (34) p. 983-999. 1996.

PNCQ. **Programa Nacional de Controle de Qualidade – Manual do Participante**. Brasil. 2006. Disponível em: http://www.pncq.org.br/pdfs/manual_pncq.pdf. Acesso em 12 de outubro 2011

QUALIFIQUE. **Laboratórios Veterinários: um mercado em expansão**. Boletim ControlLab. Ano IV, 13 Ed. 2006. Disponível em: http://www.controllab.com.br/qualifique/pop_ed13_laboratorio_veterinario.htm. Acesso em 08 de outubro de 2011

QUAM, E.F. **QC – The Materials**. 2010. Disponível em: <http://www.westgard.com/lesson13.htm>. Acesso em 09 de outubro de 2011.

RICÓS, C. ALVAREZ, V., CAVA, F., GARCIA-LARIO, J. V., HERNANDEZ, A., JIMENEZ, C. V., MINICHINELA, J., PERICH, C., SIMON, M. **Desirable Specifications for Total Error, Imprecision and Bias derived from intra and inter-individual biological variation**. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. Vol. 59, 491-500. 1999.

SCHONS, C. D; TAVARES, R. G. **Proposta do uso de *pool* de sangue total como controle de qualidade em hematologia.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. v46, n. 3, p. 181-186, 2010.

SHCOLNIK, W. **Acreditação de laboratórios clínicos.** Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial. 2000. Disponível em:
<http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320080904095249.pdf>. Acesso em 07 de outubro de 2011

SILOAHO, M.; PUHAKAINEN, E. **Implementation of a quality system in a clinical laboratory: evaluation o f quality indicators.** Accreditation and Quality Assurance. v.5, n.5, p. 182-90, 2000.

STEMPLIUK, V. A. de. **Controle Interno da Qualidade para Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos.** OPAS/ANVISA/SVS. 2006

VOET, D.; VOET, J. G. **Princípios de Bioquímica.** Porto Alegre: Artmed, 2006.

WESTGARD, J.O; BARRY, P. L; HUNT, M. R. **A Multi-Rule Shewhart Chart for Quality Control in Clinical Chemistry.** 1981. Traduzido pela Controllab. Disponível em http://www.controllab.com.br/pdf/westgard_shewhart.pdf. Acesso em 25 de stembro de 2011.

WESTGARD, J. O; KLEE, G. G. **Statistical Quality Control.** In: BURTS C. A; ASHWOOD E. R. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 3 ED. WB Saunders Co: EUA. 1999.

WESTGARD, J. O. **Basic Planning for Quality.** Westgard Inc: EUA. 272p. 2000.

WESTGARD, J. O. **Regras Múltiplas e Regras de Westgard: Gráficos da Função Poder.** 2002a. Traduzido pela ControlLab. Disponível em:
http://www.controllab.com.br/pdf/westgard_powerfunction.pdf. Acesso em 09 de outubro de 2011.

WESTGARD, J. O. **Multirule and “Westgard Rules”: What are They?** 2002b. Traduzido pela Controllab. Disponível em http://www.controllab.com.br/pdf/westgard_o_que_sao.pdf. Acesso em 27 de agosto de 2011.

WESTGARD, J. O. **Internal quality control: planning and implementation strategies.** The Association of Clinical Biochemists. 2003.

WESTGARD, J.O. **The Do's and Don'ts of Quality Control: Implications for Future QC Technology.** 2005. Traduzido pela Controllab. Disponível em: http://www.controllab.com.br/pdf/westgard_o_que_fazer.pdf. Acesso em 27 de agosto de 2011.

WESTGARD, J. O. **Assuring the right quality right.** Westgard Inc: EUA. 288p. 2007.

WESTGARD, J. O.; MILLER, W. G.; ALLEN, K.; BOONE, D. J.; CAINES, P.; COOPER, G.; GREENBERG, N.; JAIN, C. P.; LINNET, K.; RUSSEK-COHEN, E.; VAKS, J. E. **Statistical Quality Control for quantitative measurement procedures: principles and definitions.** Approved guideline - 3 Ed. Vol.26, n.25, 2010.