

Avaliação Externa da Qualidade: deteção do vírus influenza A e B, PNAEQ (2011-2018)

Introdução e objetivo

Os vírus influenza são responsáveis por infeções respiratórias que ocorrem de forma sazonal geralmente no inverno, ou como pandemias periódicas e imprevisíveis [1].

As técnicas de diagnóstico/deteção molecular são métodos rápidos e sensíveis para a deteção, identificação e caracterização de vírus influenza [2].

Em 2011 o Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade Laboratorial (PNAEQ) implementou o programa de avaliação externa da qualidade para os vírus influenza A e B, deteção de ácido nucleico, através de um ensaio piloto que contou com os membros da Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Infeção pelo Vírus da Gripe (RPLDG). Este programa é organizado em colaboração com o Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

O objetivo deste trabalho é avaliar o desempenho dos laboratórios participantes no PNAEQ na deteção e identificação do tipo e subtipo dos vírus influenza, através da metodologia de PCR (*Polimerase chain reaction*), no período de 2011-2018.

Material e Métodos

Foram analisadas 56 amostras controlo pelos laboratórios participantes, distribuídas num ensaio anual (exceto em 2012), que incluiu oito amostras. Solicitou-se informação sobre deteção, tipagem e subtipagem do vírus influenza. As amostras foram acompanhadas de carta de instruções, tabelas de codificação para métodos, equipamentos e alguns kits disponíveis no mercado. Das amostras enviadas, 30 continham vírus influenza do tipo A, 1 amostra o subtipo A(H1N1), 15 o subtipo A (H1)pdm09 e 14 o subtipo A (H3N2). Das restantes, 16 amostras continham vírus do tipo B e 10 eram negativas.

Os resultados qualitativos para a deteção do vírus influenza, enviados pelos participantes, foram avaliados tendo como referência o resultado atribuído da tipagem e subtipagem dos vírus influenza testados pelo laboratório perito.

Resultados

No período em estudo foram analisados 684 resultados, dos quais 359 são referentes à deteção do vírus influenza do tipo A, 210 à deteção do vírus influenza do tipo B e 115 resultados negativos, tendo sido verificada uma percentagem de resultados corretos de 98,6%, 95,2% e 96,5% respetivamente (tabela 1).

Dos resultados corretos para o vírus influenza A, apenas 74,3% indicaram o subtipo, verificando-se o maior número de subtipagens para Influenza A H1N1pdm09 (tabela 2). Dos resultados analisados obtiveram-se 10 resultados falsos positivos (1,5%) e 9 resultados falsos negativos (1,3%) (Gráfico 1).

Os resultados falsos positivos incluíam resultados positivos para vírus influenza A em amostras negativas e positivas para vírus influenza B, bem como resultados positivos para vírus influenza B em amostras positivas para vírus influenza A.

Os resultados falsos negativos incluíam na sua maioria resultados falsos negativos em amostras do tipo B.

	Total	Corretos	% corretos
Influenza A	359	354	98,6
Influenza B	210	200	95,2
Negativo	115	111	96,5

Tabela 1: Percentagem de resultados corretos para deteção de vírus influenza A e B

	Total subtip.	% subtip.	corretos subtip.	% corretos subtip.
Influenza A H1N1pdm09	157	87,7	157	100
Influenza A H3N2	101	62,8	101	100
Influenza A H1N1	5	45,5	4	80

Tabela 2: Número de resultados subtipados e respetiva percentagem de resultados corretos para subtipagem dos vírus influenza A

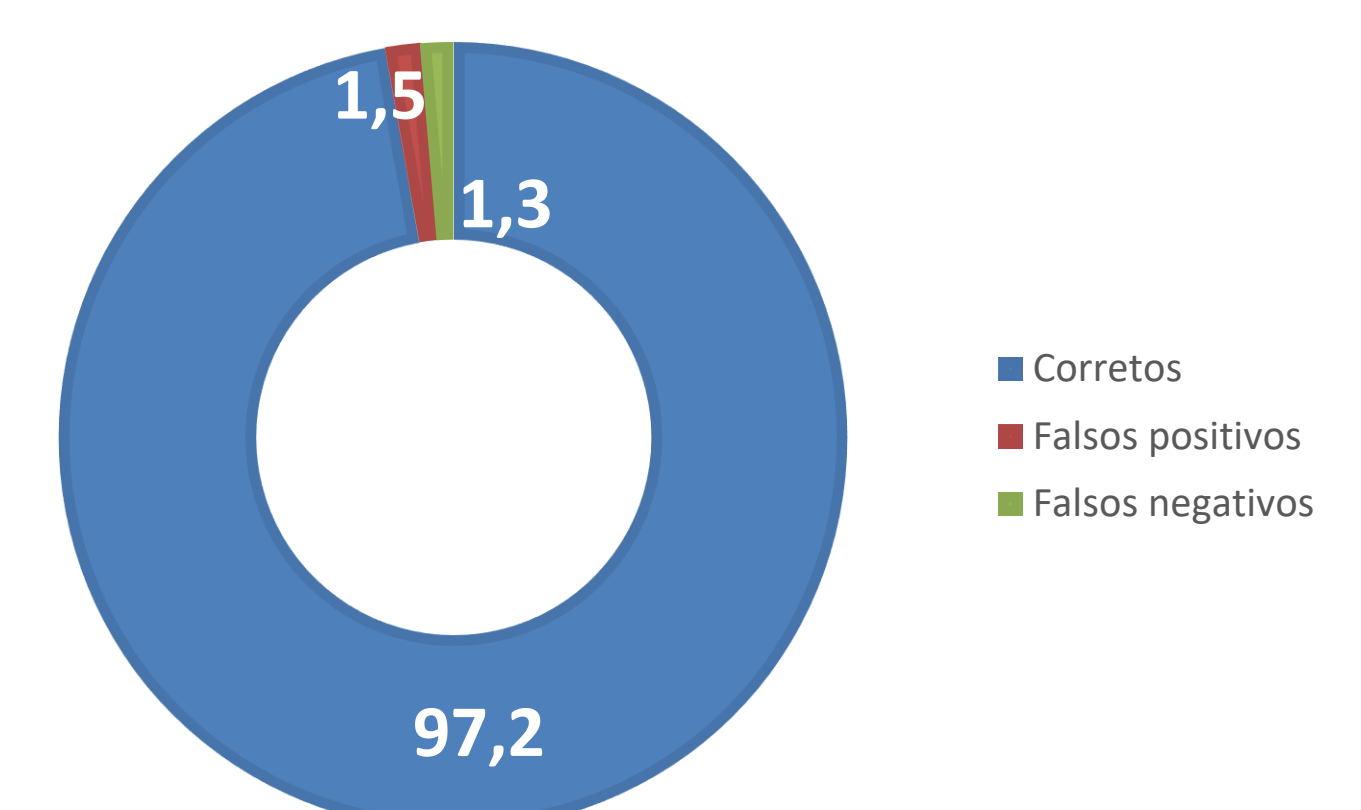


Gráfico 1: Percentagem de resultados corretos, falsos positivos e falsos negativos

Conclusão

- Foram obtidos resultados corretos para mais de 97% das amostras testadas sendo esta proporção mais elevada para a deteção dos vírus influenza A (98,6%).
- Os resultados falsos negativos nas amostras positivas para vírus influenza A ou B, sugerem uma baixa sensibilidade para alguns do(s) teste(s) para a deteção do vírus influenza.
- Os falsos positivos reportados poderão ter tido origem numa contaminação amostra/amostra ou ainda no efeito de arrastamento de ácido ribonucleico (RNA), efeito de “carry-over”[3]
- Um dos fatores de grande importância para a obtenção de resultados laboratoriais corretos está associado às boas práticas laboratoriais quando se efetuam ensaios de biologia molecular.
- Verificou-se uma melhoria nos resultados do último ensaio em comparação aos ensaios anteriores, não se verificando resultados incorretos.

A participação em programas de avaliação externa da qualidade permite aos laboratórios:

- avaliar as metodologias e práticas implementadas,
- corrigir os erros sistemáticos,
- assegurar assim a harmonização, partilha, comparação, compilação e análise dos resultados laboratoriais que possibilite gerar evidência científica para a tomada de medidas para a promoção da saúde pública.

Referências

[1] Jeffery K. Taubenberger and David M. Morens. *Annu Rev Pathol.* **2008**; 3: 499–522

[2] WHO information for molecular diagnosis of influenza virus – update July 2017. Geneva: World Health Organisation, 2017.

http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/WHO_information_for_the_molecular_detection_of_influenza_viruses_20171023_Final.pdf?ua=1

[3] Public Health England. Good laboratory practice when performing molecular amplification assays. Standards Unit, National Infection Service. **2018** Q4 Issue 5. 1-19