

“Avaliação Externa da Qualidade no âmbito da Hematologia: Experiência PNAEQ”



Ana Faria ⁽¹⁾, Helena Correia ⁽¹⁾, Ana Cardoso ⁽¹⁾, Cristina Brito ⁽¹⁾, Rui Barreira ⁽²⁾, Ana Reis ⁽³⁾, Ana Miranda ⁽⁴⁾, Armandina Miranda ⁽¹⁾
 Instituto Nacional de saúde Dr Ricardo Jorge Lisboa ⁽¹⁾, Instituto de Oncologia de Lisboa ⁽²⁾, Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental ⁽³⁾, Centro Hospitalar de Lisboa Norte ⁽⁴⁾

Introdução

O Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade (PNAEQ), tem como objetivo a promoção de programas de avaliação externa da qualidade, assim como a monitorização do desempenho dos participantes, com vista à melhoria contínua, nomeadamente nos programas de Contagens Celulares (Glóbulos Vermelhos (GV), Glóbulos Brancos (GB), Plaquetas (PLT), Hemoglobina (Hb), Hematócrito (Ht)); Reticulócitos; Hemoglobinopatias e de Morfologia de Sangue Periférico (MSP).

Objetivo

A avaliação da *performance* dos laboratórios participantes, no período de 2011 a 2013, nos programas de Hematologia (Contagem celular, Reticulócitos, Hemoglobinopatias e Morfologia de sangue periférico- MSP) que o PNAEQ disponibiliza, em colaboração com o Grupo de trabalho de Hematologia.

Material e Métodos

Foram enviadas aos laboratórios participantes do PNAEQ, amostras de controlo para **análise quantitativa** de parâmetros do hemograma (Contagem celular), reticulócitos e doseamento das hemoglobinas (Hb A₂, Hb F, Hb S, Hb Lepore). Foi efetuada e avaliada a variabilidade laboratorial por metodologia / equipamento e a exatidão dos resultados. Foram enviados esfregaços de sangue periférico para a **análise qualitativa** (patologias do glóbulo branco, nomeadamente leucemias agudas e crónicas e, de patologias do glóbulo vermelho), sendo avaliada a morfologia celular e as hipóteses diagnósticas. No âmbito das hemoglobinopatias, foi avaliada a Identificação das frações de hemoglobina e a Interpretação dos resultados laboratoriais/ Diagnóstico laboratorial.

A avaliação da *performance* dos laboratórios participantes, foi alvo de análise detalhada nos programas referidos pelo *software* AEQ genio, com a determinação do alvo de todos os participantes, desvio padrão, e coeficiente de variação, Índice de Desvio, $ID = \frac{Bias}{5 \text{ alvo}}$ e $Bias\% = \frac{V_{lab} - V_{fornec}}{V_{fornec}} \times 100$ dos resultados, após tratamento de *outliers*. As observações do grupo de trabalho foram incluídas nos relatórios enviados aos participantes.

Resultados / Discussão

Análise Quantitativa

Tabela 1 - CV % e média dos CV% dos parâmetros em estudo, para 3 níveis de concentração, 2011 a 2013 - Todos os participantes.

Parâmetro	CV % Nível Alto	CV % Nível normal	CV % Nível Baixo	CV % Média
GV	2,4	2,0	2,4	2,3
Hb	1,8	1,5	2,2	1,8
Ht	4,0	4,2	5,7	4,6
GB	3,8	3,5	4,7	4,0
PLT	6,1	7,5	8,8	7,5
RET Man	38,3	27,1	-	-
RET aut	23,4	30,4	-	-

A participação média dos laboratórios por ensaio no período de estudo foi de 87,7 %.

Nas contagens celulares de **GV, GB, e na avaliação da Hb e do Ht**, a média dos CV% foi de 1,8 a 4,6%, sendo que na avaliação da **contagem de plaquetas** foi de 7,5 %.

O **CV% dos reticulócitos** variou de acordo com o método utilizado e o valor da concentração das amostras enviadas, de 23,4 a 38,3 % (Tab 1). No nível normal os CVs % não diferem significativamente, mas no nível de concentração elevado, o método manual apresenta um CV% mais elevado do que o método automático, (30,4% versus 23,4%).

Foram analisados os **Índices de Desvio (ID)** para o programa de **Contagem Celular** (calculado a partir da média de consenso e considerando como valor verdadeiro o valor do fornecedor), de 10 amostras estudo, 8 enviadas em 2013 e 2 em 2014 (Fig. 1). De acordo com a escala abaixo indicada os valores dos **ID foram inferiores a 2**, com um **score de Bom ou Excelente**.

ID score 0-0,5	- Excelente
ID score 0,5-2	- Bom
ID score 2-3	- Satisfatório
ID score > 3	- Não satisfatório

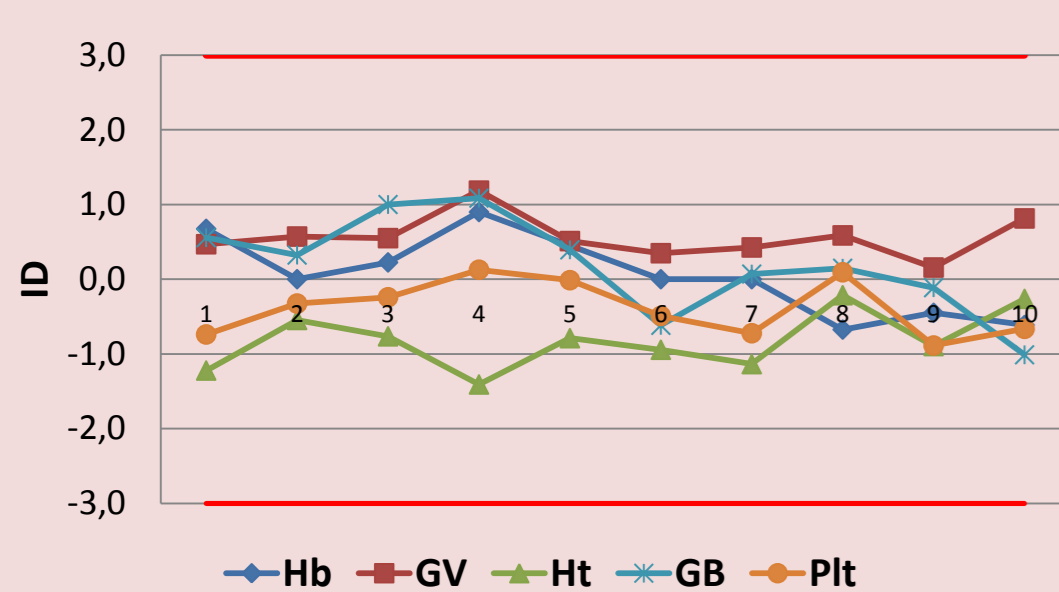


Figura 1- Evolução do ID dos laboratórios participantes, (calculado a partir da média de consenso e considerando como valor verdadeiro o valor do fornecedor), de 10 amostras estudo, 8 enviadas em 2013 e 2 em 2014.

O estudo do **Bias %** para o Ht apresentou um desvio negativo em relação aos limites indicados por Westgard* merecendo uma avaliação e identificação de causas (dados não apresentados).

* <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>

Relativamente à análise dos reticulócitos, verificou-se interferência da matriz nas contagens dos reticulócitos, em três equipamentos automáticos, facto que se encontra em avaliação (Fig 2).

Os valores alvo do método manual para a contagem dos reticulócitos são sempre mais elevados em relação ao método automático, acentuando-se nas concentrações superiores a 70 x10⁹/L (25% para valores superiores a 70 x10⁹/L e 8% para valores mais baixos), (dados não apresentados).

Quantificação das hemoglobinas:

Para o doseamento da Hb A₂, foram enviadas 4 amostras com valores de Hb A₂ não patológicos e 2 amostras patológicas, encontrando-se CV% de 6,3 a 16,1 (todos os métodos) e 5,7 a 14,5 (HPLC). Pela análise dos CV%, de 2011 a 2013, verificou-se uma tendência para valores crescentes. Vamos continuar a monitorizar os CV % e analisar as causas subjacentes, alertando para a necessidade de calibração periódica dos equipamentos. Tendo como base a identificação correta da quantificação da Hb A₂, em normal, *borderline* ou elevado, verificou-se que não houve uma diferenciação das amostras normais e patológicas, por todos os participantes, obtendo-se 4,8-28,6% de resultados insatisfatórios (todos os métodos) em 3 ensaios. (dados não apresentados).

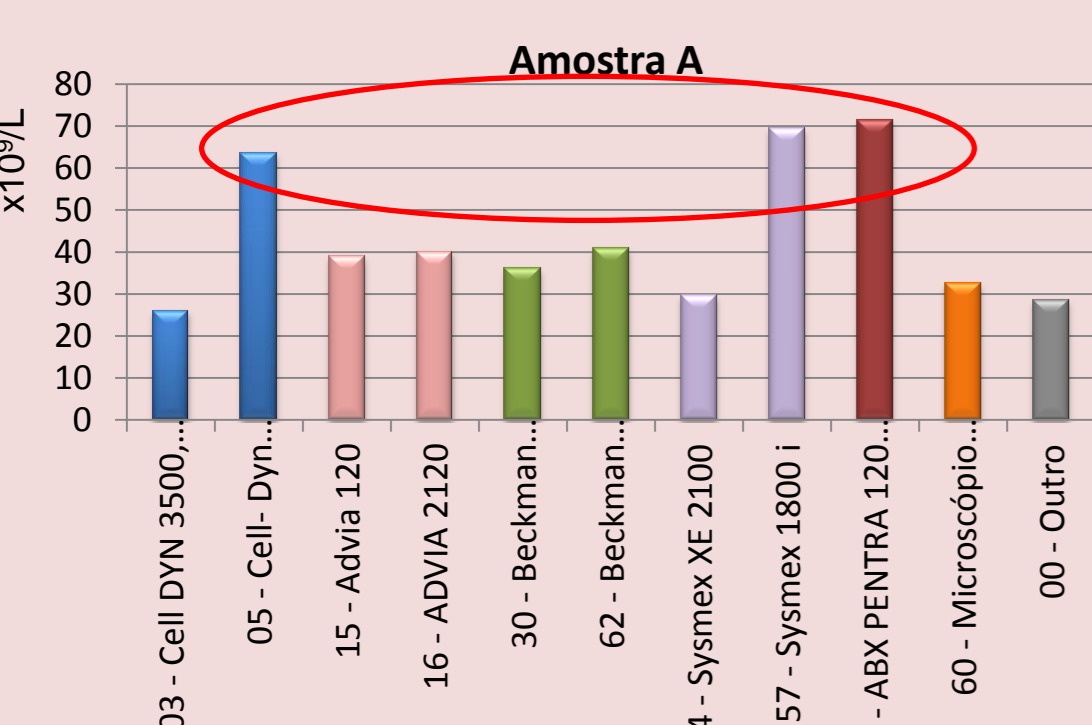


Figura 2 - Contagem de reticulócitos numa amostra, efetuada por vários equipamentos automáticos.

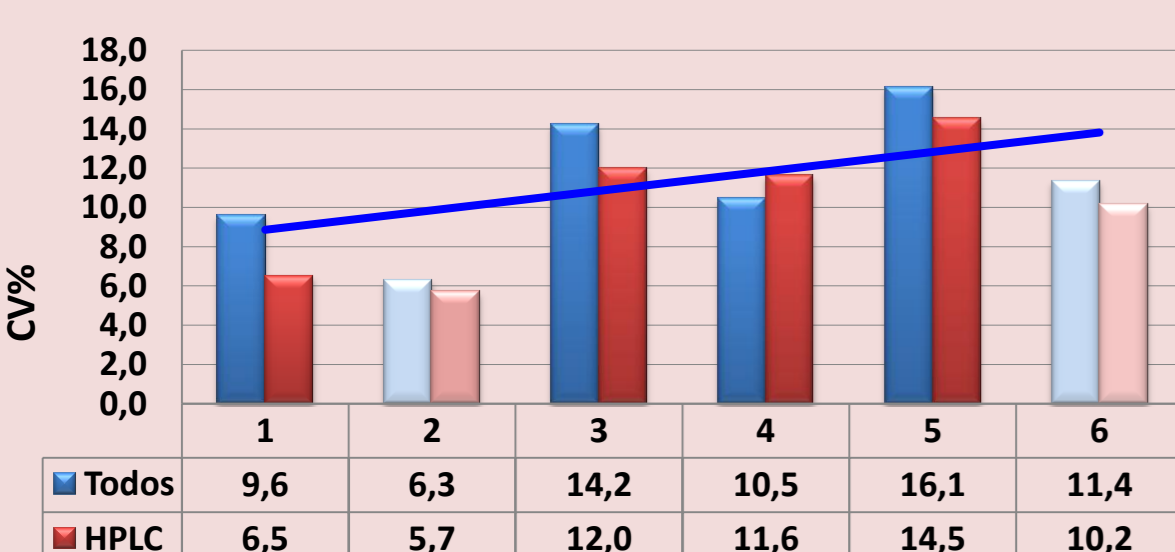


Figura 3- Evolução dos CV % dos resultados obtidos em 6 ensaios de quantificação da Hb A₂, 2011 a 2013. Níveis normais (azul e vermelho) e níveis elevados (azul claro e rosa). Todos os equipamentos (azul e azul claro), HPLC (vermelho e rosa).

Análise Qualitativa

No âmbito das **hemoglobinopatias**, enviaram-se amostras e casos estudos, em que consoante os casos se solicitava a Identificação das frações e /ou Interpretação laboratorial.

Tabela 2 - Percentagem de resultados corretos e causas de incorreções, em 6 amostras enviadas de 2011 a 2013, para Identificação das frações de hemoglobina

Identificação da fração correta	Nº amostras	% corretos	Incorreção
A ₂ -F-A	6	52,3 - 88,9	Não identificação Hb A Não identificação Hb F Identificação de Hb C
A ₂ -F-A-S	2	36,8 - 50,0	Não identificação Hb F e/ou Hb A ₂ Não identificação Hb S
A ₂ -F-A-■	1	32,0	Não identificação Hb A ₂ e/ou Hb F Não identificação Hb Lepore

■ = Outra fração. Especifique qual.

A **identificação correta das frações variou de 32,0% a 88,9%**, sendo que as principais incorreções foram a não identificação da presença de Hb A, que constitui um requisito importante, pois distingue o portador, das situações clinicamente graves e a não identificação da hemoglobina variante presente na amostra.

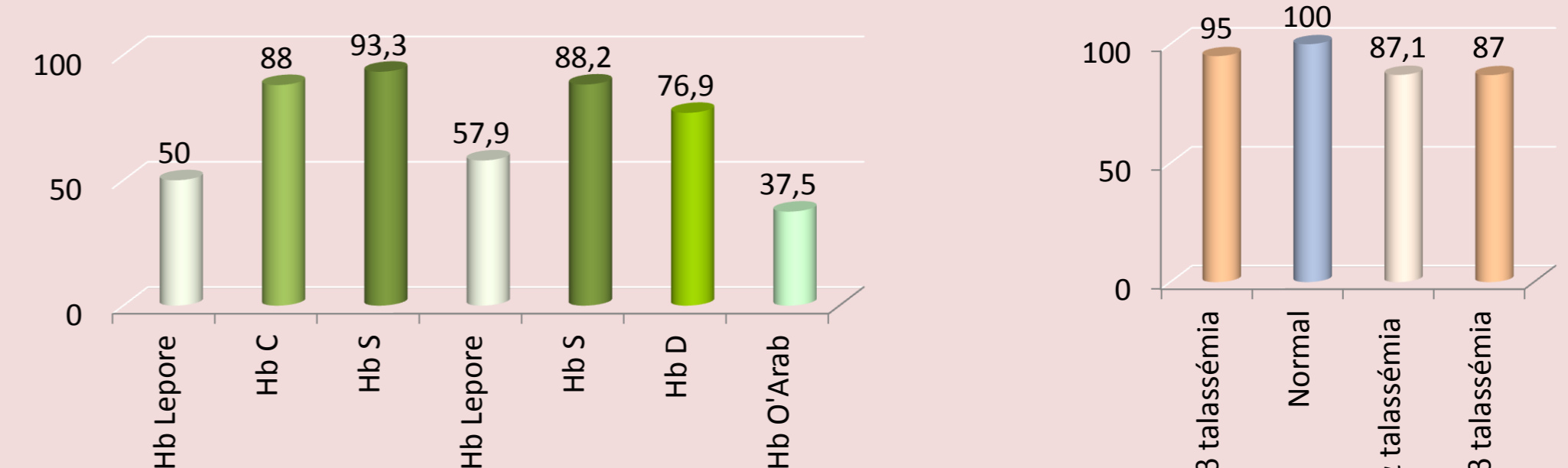


Figura 4- Percentagem de diagnósticos laboratoriais corretos de amostras/casos estudo de 7 portadores de variantes de hemoglobina (Hb Lepore, Hb C, Hb S, Hb D e Hb O-Arab); 2 portadores de beta talassémia; 1 homocigotia para alpha talassémia e 1 amostra normal.

A menor percentagem de diagnósticos laboratoriais corretos encontrou-se nos casos da presença de Hb O- Arab e Hb Lepore. No caso da Hb O- Arab, isto deve-se provavelmente ao facto de, na eletroforese de hemoglobinas, a pH alcalino e na cromatografia líquida de troca iónica, migrar e eluir respetivamente na zona da Hb C. Em todos os outros casos a percentagem de resultados corretos foi superior a 75%.

No âmbito da **Morfologia de Sangue Periférico**, enviaram-se esfregaços de sangue, com patologias dos glóbulos brancos (16 esfregaços) e patologias dos glóbulos vermelhos (2 esfregaços), 2012 e 2013.

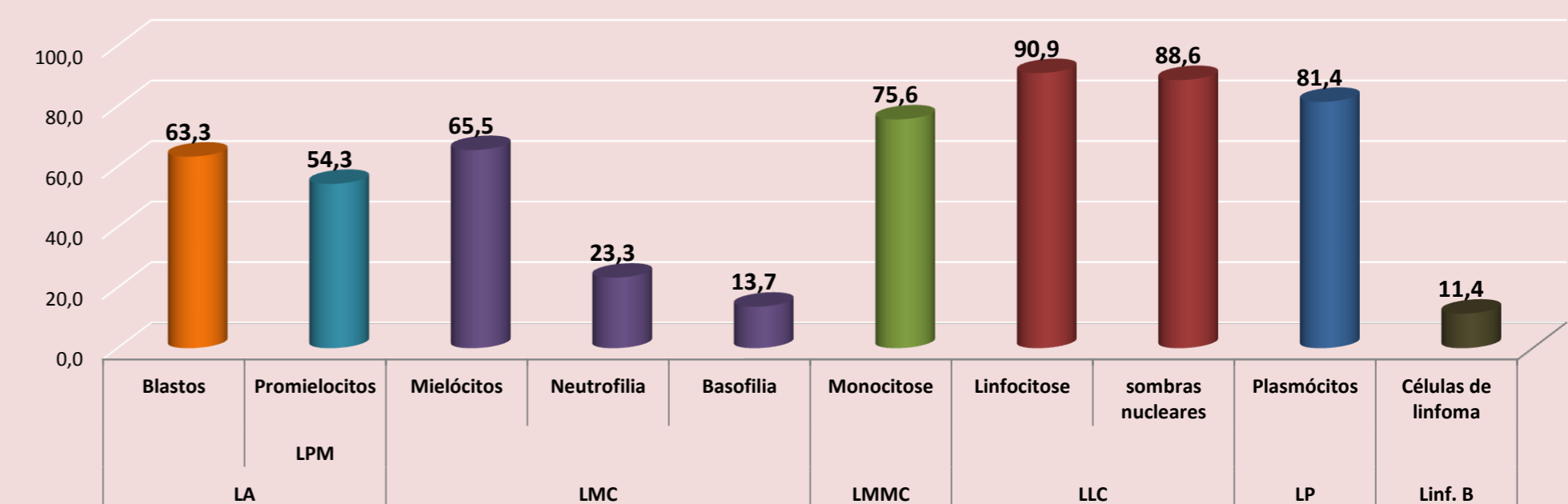


Figura 5- Avaliação da média percentual de códigos morfológicos corretos, identificados pelos participantes, por patologia dos glóbulos brancos (LA-Leucémia Aguda, LPM-Leucémia Promielocítica Aguda, LMC-Leucemia Mielóide Crónica, LMMC- Leucémia Mielomonocítica Crónica, LLC- Leucémia Linfocítica Crónica, LP- Leucémia a Plasmócitos; Linf B- Linfoma B difuso de grandes células)

Enviaram-se 18 esfregaços de sangue periférico, correspondentes a 10 Leucemias Agudas (3 Leucemias Linfoblásticas, 1 Leucémia Monocítica, 1 Leucémia Mielomonocítica, 2 Leucemias Promielocíticas e 3 Leucemias Mielóides); 2 Leucemias Mielóides Crónicas; 1 Leucémia Mielomonocítica Crónica.; 1 Leucémia a Plasmócitos; 1 Linfoma B difuso a grandes células; 1 Drepanocitose e 1 Beta Talassemia Major. Nas LA 64,2% dos participantes observaram blastos e nas LPA 39,4% observaram promielócitos.

As percentagens de diagnósticos laboratoriais corretos variou de 5% a 91%, correspondendo respetivamente ao Linfoma e à Drepanocitose (dados não apresentados). A média de códigos morfológicos corretos associados a cada patologia ou grupo de patologias revelou a mesma tendência dos diagnósticos, sendo que no caso do Linfoma 11,4% dos participantes observaram células de linfoma e no caso da Drepanocitose, 91,3% dos participantes observaram drepanócitos.

Conclusão

Da **análise quantitativa** dos parâmetros correspondentes ao programa de contagem celular obteve-se de um modo geral um bom desempenho ao nível da precisão e exatidão. Na análise da contagem dos reticulócitos, observou-se interferência da matriz, para um grupo de equipamentos, sendo necessário o recurso a amostras com matriz específica.

No doseamento da Hb A₂ a evolução crescente dos CV% de 2011 a 2013 e a não diferenciação de amostras normais e patológicas por todos os participantes alerta para a necessidade de uma melhoria da qualidade analítica da Hb A₂, através da calibração dos equipamentos, aferição com materiais certificados, avaliação do controlo de qualidade interno e participação em ensaios de AEQ.

Da **análise qualitativa** no âmbito das hemoglobinopatias, a menor percentagem de diagnósticos laboratoriais corretos obteve-se nos casos dos portadores de Hb O-Arab e de Hb Lepore, o que reforça a necessidade da referenciação de amostras para laboratórios especializados no sentido da confirmação do diagnóstico.

Na MSP, observou-se uma menor percentagem de desempenho correto nas patologias do glóbulo branco sendo de considerar que muitas destas patologias necessitam de confirmação por outras metodologias nomeadamente, mielograma, imunofenotipagem e genética molecular.

Considera-se essencial as considerações dos laboratórios peritos para uma avaliação retrospectiva dos resultados e das amostras com vista à melhoria do desempenho dos participantes, assim como a monitorização do desempenho de modo a permitir o conhecimento do estado da arte atual e posterior comparação com os pares internacionais