



## \_Avaliação da fase pré-analítica na área da morfologia parasitária, PNAEQ 2019

### Evaluation of the pre-analytical phase in parasitic morphology area, PNAEQ 2019

Lúcia de Jesus<sup>1</sup>, Cláudia Júlio<sup>2</sup>, Ana Cardoso<sup>3</sup>, Catarina Ventura<sup>3</sup>, Sílvia Viegas<sup>3</sup>, Teresa Baptista Fernandes<sup>4</sup>, Quirina Santos Costa<sup>5</sup>, Guilhermina Moutinho<sup>6,7</sup>, Ana Faria<sup>3</sup>

luciadejesus@hotmail.co.uk

(1) Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(2) Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(3) Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(4) Laboratório de Microbiologia Clínica e Biologia Molecular. Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar Lisboa Ocidental, Lisboa, Portugal

(5) iMedULisboa. Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(6) PharmSci Lab – Innovative Solutions in Pharmaceutical Sciences, Instituto Universitário Egas Moniz, Monte de Caparica, Portugal

(7) Centro de Investigação Interdisciplinar Egas Moniz, Instituto Universitário Egas Moniz, Monte de Caparica, Portugal

#### \_Resumo

Para garantir um diagnóstico clínico adequado, os procedimentos da fase pré-analítica não podem ser negligenciados. A implementação de um sistema de garantia da qualidade permite detetar, monitorizar, e reduzir ou eliminar os erros laboratoriais. O Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade (PNAEQ), inserido no Departamento de Epidemiologia do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, incluiu, em 2019, a área da morfologia parasitária no programa de Avaliação da Fase Pré-Analítica. A taxa de participação foi reduzida, correspondendo a 10% dos laboratórios inscritos na área clínica e os resultados evidenciaram ausência de harmonização de procedimentos, bem como a necessidade de avaliação e monitorização da fase pré-analítica, para consolidação da informação disponibilizada, levando à melhoria dos resultados laboratoriais e ao aumento da segurança dos utentes.

#### \_Abstract

To ensure an adequate clinical diagnosis, the pre-analytical phase procedures cannot be neglected. The implementation of a quality assurance system allows detecting, monitoring, and reducing or eliminating the laboratory errors. The National Program of External Quality Assessment (PNAEQ) integrated in the Epidemiology Department of the National Health Institute Dr Ricardo Jorge, included, in 2019, the parasitic morphology area in the Pre-Analytical Phase Evaluation program. The participation rate was reduced, corresponding to 10% of the laboratories registered in the clinical area and the results revealed an absence of harmonization of procedures, as well as the need to evaluate and monitor the pre-analytical phase, to consolidate the information provided, leading to improved laboratory results and increased patient's safety.

#### \_Introdução

As parasitoses são um importante problema de saúde pública e apesar de serem mais prevalentes nos países em desenvolvimento (1-3), também ocorrem nos outros, principalmente, devido ao aumento da mobilidade das populações (1,3,4) e da globalização dos géneros alimentícios (5).

O diagnóstico é maioritariamente efetuado por deteção e identificação microscópica das estruturas parasitárias, nos produtos biológicos (1,6) e a fase pré-analítica não pode ser negligenciada, pois qualquer condição que possa ocultar ou alterar a morfologia dos parasitas, pode contribuir para um diagnóstico incorreto (6). O sistema da qualidade implementado deve incluir a participação em programas de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) que verifiquem todo o processo analítico (fases pré-analítica, analítica e pós-analítica), como recomendado na norma NP EN ISO 15189:2014 (7).

Tendo isto em consideração, o PNAEQ, em 2019, desenvolveu metodologias para avaliar os procedimentos da fase pré-analítica, na área da morfologia parasitária.

#### \_Objetivo

Avaliação da participação dos laboratórios inscritos no programa da Fase Pré-Analítica do Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade, em 2019, para apreciação dos procedimentos da fase pré-analítica na área da morfologia parasitária.



## \_Material e métodos

As metodologias desenvolvidas pelo grupo de trabalho da Pré-Analítica (PNAEQ) visaram a identificação e monitorização de indicadores da qualidade, a realização de auditoria presencial e a aplicação do cliente mistério aos participantes inscritos no programa.

**Monitorização de indicadores da qualidade** – foram selecionados oito indicadores para monitorizar a qualidade das amostras de fezes. As ocorrências foram registadas tendo em consideração o local de entrega da amostra: laboratório central; postos de colheita ou locais de internamento de doentes.

**Auditoria presencial** – realização de uma auditoria presencial à área pré-analítica, em dois momentos distintos: 2º e 4º trimestres. O auditor deveria presenciar a entrega de amostras de fezes para exame parasitológico e registar os dados, seguindo uma lista de verificação.

**Cliente mistério** – realizaram-se dois ensaios: o “Cliente Mistério A” simulando um utente com questões sobre a pesquisa de oxiúros (*Enterobius vermicularis*) e o “Cliente Mistério B” simulando um clínico solicitando informações sobre a pesquisa de *Plasmodium* spp. Para cada ensaio foram realizadas duas chamadas telefónicas anónimas a cada participante com base num guião, em diferentes períodos. Avaliou-se a percentagem de respostas discrepantes entre as duas chamadas e a sua adequabilidade.

No “Cliente Mistério A” foram solicitadas as seguintes informações: instruções de colheita; horário de entrega das amo-

stras; envio destas informações por *email* ou disponíveis no *website* do laboratório. Atribuiu-se *score* entre 0 e 3, para avaliar a adequabilidade das instruções de colheita fornecidas: duas respostas não adequadas (chamada 1 e chamada 2) ou uma resposta não adequada e uma chamada sem resposta – *score* 0; uma resposta adequada e uma resposta não adequada – *score* 1; uma resposta adequada e uma chamada sem resposta – *score* 2 e duas respostas adequadas – *score* 3. Consideraram-se respostas adequadas: a utilização de uma zaragatoa de algodão humedecida em soro fisiológico ou a realização do teste de fita-cola perianal.

No “Cliente Mistério B” foi avaliada a adequabilidade para as seguintes questões: realização de esfregaço; realização de gota espessa; identificação da espécie e quantificação da parasitémia. Consideraram-se adequadas as respostas afirmativas para cada uma das questões.

## \_Resultados

A taxa de participação e os resultados de desempenho dos participantes para cada uma das ferramentas foram os seguintes:

### **Monitorização de indicadores da qualidade**

O número de laboratórios inscritos em cada trimestre variou entre 18 e 19. Foram validadas oito respostas para a monitorização dos indicadores aplicados à área da morfologia parasitária. Os resultados obtidos encontram-se descritos na [tabela 1](#).

**Tabela 1:** Média anual (%) de ocorrências registadas para os oito indicadores, aplicado a amostras de fezes, recolhidas no laboratório central (LC) e postos de colheitas/internamento (P/I).

Indicador	LC (%)	P/I (%)
Amostras não identificadas	0,004	0,007
Amostras mal identificadas	0,001	0,001
Pedido de repetição de colheita devido a:		
– Amostra insuficiente por volume insuficiente	0,001	0,000
– Natureza da amostra incorreta (tubo ou recipiente inapropriado)	0,008	0,009
– Confirmação de resultado	0,000	0,000
Incorreta conservação das amostras até à entrega no laboratório (temperatura)	0,000	0,000
Incorreto acondicionamento de produtos biológicos (derrame)	0,001	0,011
Incorreta estabilidade das amostras no transporte (tempo)	0,001	0,000



### Auditoria presencial

Foram validadas 10 participações na auditoria do 2º e 4º trimestres para o procedimento de receção de amostras de fezes do exame parasitológico. Observou-se a entrega de 25 amostras a 25 colaboradores diferentes e 60 amostras a 18 colaboradores diferentes, respetivamente.

O gráfico 1 apresenta os resultados obtidos nas duas auditorias. Relativamente ao item de rejeição de amostra, apenas foi avaliado na auditoria do 4º trimestre. O motivo de rejeição das amostras (5%) apresentado pelos participantes foi, nomeadamente, extravasamento (67%) e recipiente inadequado (33%).

### Cliente mistério

No “Cliente Mistério A” para a avaliação da concordância das respostas obtidas entre as duas chamadas, foram validados 16 participantes, tendo sido excluídos 3 por não terem atendido uma das chamadas, após três tentativas.

Em média, em 38% das informações facultadas pelos colaboradores, não existiu coerência entre as duas chamadas telefónicas. Foram validados 17 participantes para atribuição de score e excluídos 2 que só utilizam requisições internas. O score 0 foi atribuído a 76% dos participantes e apenas 6% obtiveram o score máximo (gráfico 2).

Gráfico 1: Respostas (%) obtidas nas auditorias presenciais do 2º e 4º trimestres relativamente à receção de amostras de fezes para exame parasitológico.

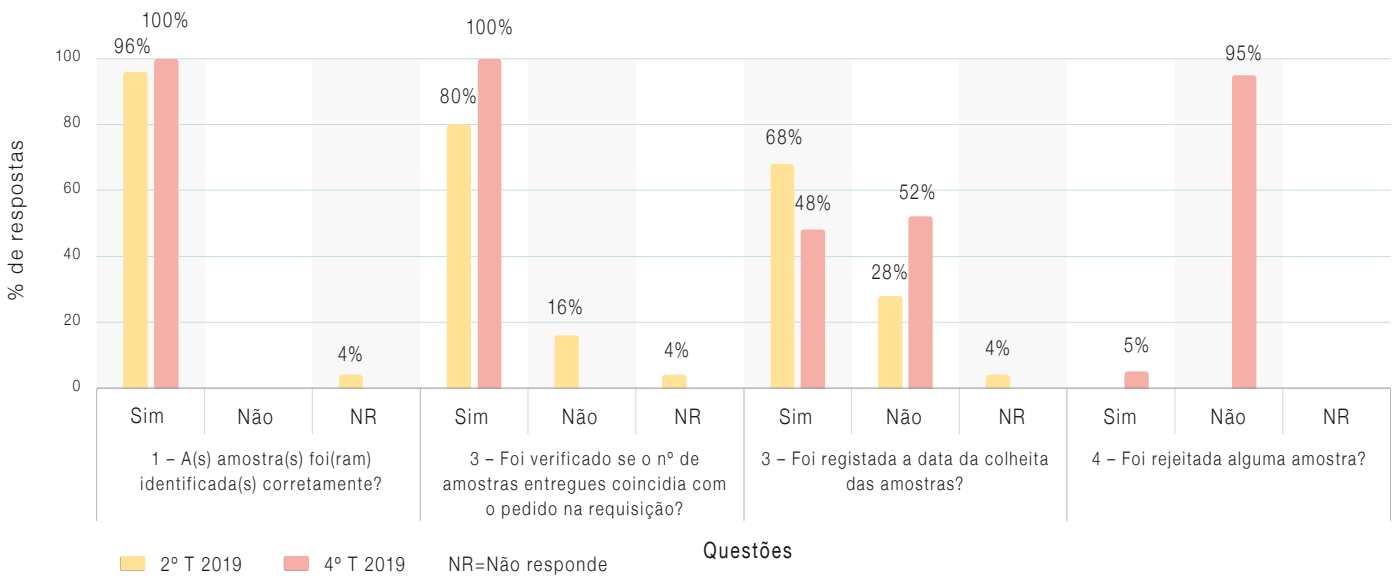
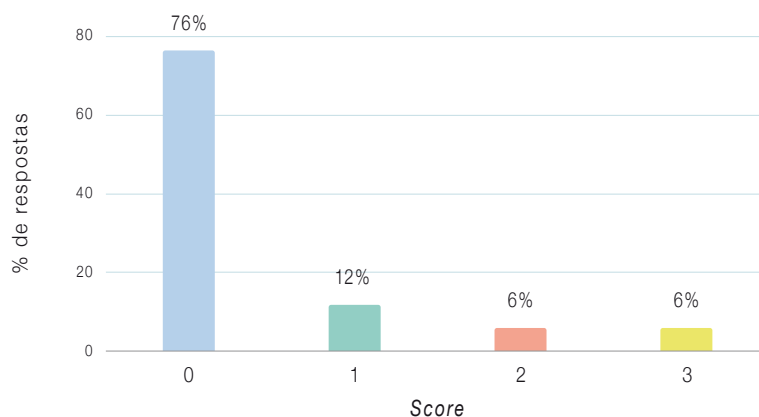


Gráfico 2: Distribuição do score (%) atribuído aos participantes, no “Cliente Mistério A”.





No “Cliente Mistério B” para a aferição da coerência das respostas foram validados 17 participantes, e excluídos 2 por não atenderem uma das chamadas, após três tentativas. Em cerca de 24% das respostas não existiu coerência nas informações facultadas. Dos participantes que declararam realizar a análise em ambas as chamadas: 75% afirmaram realizar esfregaço e gota espessa; 50% declararam identificar a espécie; 25% afirmaram quantificar a parasitêmia e apenas 13% declararam realizar todos os procedimentos recomendados (gráfico 3).

### Discussão

Foi reduzida a taxa de participação no programa de Avaliação da Fase Pré-Analítica, uma vez que dos cerca de 200 participantes inscritos em programas da área clínica, somente 10% se inscreveram neste programa.

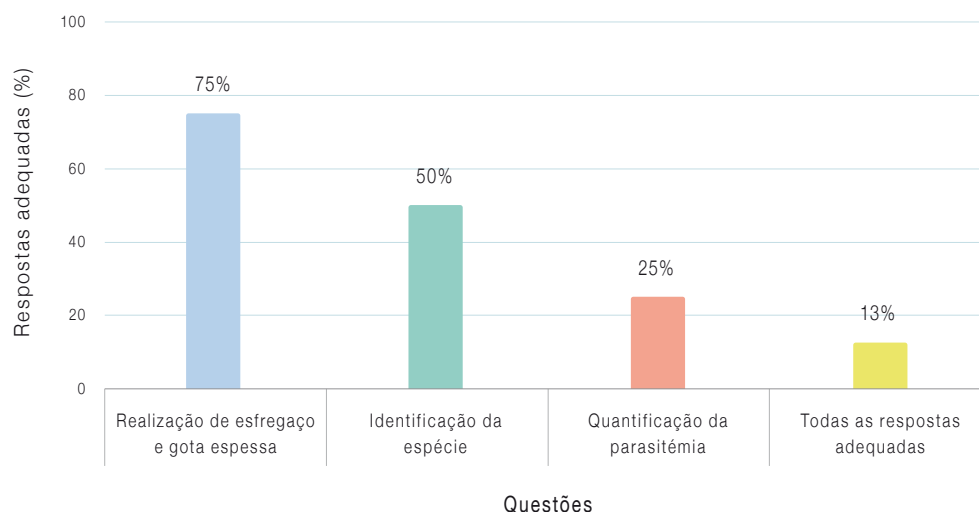
Relativamente à avaliação quantitativa pela monitorização de indicadores da qualidade, foi obtido pior desempenho para os casos relacionados com a colheita de amostras de fezes em recipiente inapropriado, e o incorreto acondicionamento de produtos biológicos, por derrame. A continuação da monitorização em anos subsequentes, irá permitir a implementação de um plano de ação para minimizar ou eliminar o número destas ocorrências.

As auditorias presenciais promovem o envolvimento do laboratório no processo de autoavaliação e monitorização. Nas auditorias ao procedimento de receção de amostras de fezes para exame parasitológico, verificou-se que efetuar o registo da data da colheita das amostras não é uma prática consolidada entre os colaboradores auditados. A data da colheita é relevante dado que as amostras devem ser colhidas em dias não consecutivos e é necessário considerar o intervalo de tempo que medeia a colheita e o exame, principalmente se forem utilizados recipientes sem conservante (2,6,8-10), estando esta prática de acordo com os requisitos normativos (norma NP EN ISO 15189:2014) (7).

O “Cliente Mistério” simula situações reais para avaliar a qualidade do atendimento aos clientes, pela entidade organizadora de AEQ, quanto à adequabilidade e constância da informação fornecida, ou se o seu conteúdo está dependente do colaborador do laboratório.

No “Cliente Mistério A”, verificou-se que os colaboradores dos laboratórios desconhecem a pesquisa de *E. vermicularis*, só identificando a pesquisa de oxiúros, pelo que foi necessário alterar a questão presente no guião. A maioria das instruções de colheita facultadas não eram adequadas. No “Cliente Mistério B” as percentagens mais elevadas de respostas discrepantes foram obtidas para as questões sobre a identificação da espécie de Plasmódio e a quanti-

Gráfico 3: ↓ Respostas (%) adequadas, em ambas as chamadas telefónicas, dos participantes, no “Cliente Mistério B”.





ficação da parasitemia. A metodologia de referência, compreende a observação microscópica de esfregaço e gota espessa sanguíneos, com a identificação da espécie e a quantificação da parasitemia (11-16), constituindo informação indispensável para a seleção e o controlo da terapêutica (12-15). Os resultados obtidos mostram que apenas 13% dos participantes realizam todos os procedimentos recomendados.

### **\_Conclusão**

A análise global dos resultados evidenciou a necessidade de harmonização de procedimentos entre colaboradores do mesmo laboratório e entre laboratórios, bem como a necessidade de avaliação e monitorização da fase pré-analítica na área da morfologia parasitária. A consolidação da informação disponibilizada aos utentes, contribui para o aumento da fiabilidade dos resultados laboratoriais e aumenta a segurança dos utentes.

Por outro lado, a análise dos resultados demonstrou ser adequada a aplicação destas ferramentas, nomeadamente, a quantificação de indicadores, a autoavaliação e os casos simulados, com ação corretiva imediata e ao longo do tempo, permitindo a monitorização do desempenho, aquisição de competências e implementação de boas práticas laboratoriais.

O PNAEQ deverá motivar os participantes a incluírem a avaliação da fase pré-analítica no plano anual de participação em AEQ e promover ações de sensibilização e formação aos laboratórios clínicos sobre a importância desta fase na obtenção de resultados confiáveis, disponibilizando sempre que possível, as ferramentas que facilitem a recolha de dados de uma forma interativa entre os participantes e o programa.

### **Agradecimentos:**

À Edna Pereira, à Helena Correia, à Marina Cordeiro e à Neuza Gomes, colaboradoras do PNAEQ, todo o trabalho desenvolvido.

### **Referências bibliográficas:**

- (1) Ricciardi A, Ndao M. Diagnosis of parasitic infections: what's going on? *J Biomol Screen*. 2015 Jan;20(1):6-21. Epub 2014 Aug 28. <https://doi.org/10.1177/1087057114548065>
- (2) Roberts L, Zeigib E. Specimen Collection and Processing. In: *Clinical Parasitology: a practical approach*. 2nd ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013. p. 14-40.
- (3) Claus PE, Ceuppens AS, Cool M, et al. *Ascaris lumbricoides*: challenges in diagnosis, treatment and prevention strategies in a European refugee camp. *Acta Clin Belg*. 2018 Dec;73(6):431-34. <https://doi.org/10.1080/17843286.2018.1436956>
- (4) Marchese V, Beltrame A, Angheben A, et al. Schistosomiasis in immigrants, refugees and travellers in an Italian referral centre for tropical diseases. *Infect Dis Poverty*. 2018 Jun 16;7(1):55. <https://doi.org/10.1186/s40249-018-0440-5>
- (5) Ortega YR, Sanchez R. Update on *Cyclospora cayentanensis*, a food-borne and waterborne parasite. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Jan;23(1):218-34. <https://doi.org/10.1128/cmr.00026-09>
- (6) Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2015.
- (7) NP EN ISO 15189 2014 : laboratórios clínicos : requisitos para a qualidade e competência. 2ª ed. Instituto Português da Qualidade, 2014.
- (8) Garcia LS, Arrowood M, Kokoskin E, et al. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Laboratory Diagnosis of Parasites from the Gastrointestinal Tract. *Clin Microbiol Rev*. 2017 Nov 15;31(1):e00025-17. <https://doi.org/10.1128/cmr.00025-17>
- (9) Garcia LS. *Diagnostic Medical Parasitology*. 6th ed. Washington, D.C.: ASM Press, 2016.
- (10) Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the recovery and identification of parasites from the intestinal tract (approved guideline). 2nd ed. Wayne, PA: CLSI, 2005. (CLSI document M28-A2).
- (11) Centers for Disease Control and Prevention. DPDx - Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern - Malaria [Internet]. 2019 [consult. 6/3/2020]. <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>
- (12) Direção-Geral da Saúde. Orientação n.º 008/2017 de 17/05/2017. Malária ou Paludismo.
- (13) Murphy SC, Shott JP, Parikh S, et al. Malaria diagnostics in clinical trials. *Am J Trop Med Hyg*. 2013 Nov;89(5):824-39. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0675>
- (14) Bailey JW, Williams J, Bain BJ, et al; General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. Guideline: the laboratory diagnosis of malaria. General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol*. 2013 Dec;163(5):573-80. <https://doi.org/10.1111/bjh.12572>
- (15) Thomson S, Lohmann RC, Crawford L, et al. External quality assessment in the examination of blood films for malarial parasites within Ontario, Canada. *Arch Pathol Lab Med*. 2000 Jan;124(1):57-60. [https://doi.org/10.1043/0003-9985\(2000\)124%3C0057:eqaite%3E2.0.co;2](https://doi.org/10.1043/0003-9985(2000)124%3C0057:eqaite%3E2.0.co;2)
- (16) Yin J, Yan H, Li M, et al. Competency and challenges in malaria microscopy in China. *Biosci Trends*. 2017;11(6):702-705. <https://doi.org/10.5582/bst.2017.01275>