

CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO E AVALIAÇÃO EXTERNA DA QUALIDADE PARA A QUANTIFICAÇÃO DA HbA₂

Filipa Vilhena¹, Filomena Seuanes², Sandra Copeto², Sandra Costa², Helena Correia², Ana Cardoso², Armandina Miranda², Ana Paula Faria²

Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz¹. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge Lisboa².

Introdução

As hemoglobinopatias são doenças monogénicas de transmissão autossómica recessiva, causadas por mutações nos genes que codificam para as cadeias globínicas, ou nas suas regiões regulatórias. Podem conduzir à síntese reduzida da hemoglobina (Hb) (talassémias) ou à formação de Hb estruturalmente anómalas (variantes). Em Portugal, a percentagem de portadores de hemoglobinopatias na população em geral varia entre 0,5 e 2,0%¹.

A quantificação da Hb A₂ é essencial na deteção de portadores de β-talassémia, sendo muito importante na prevenção do aparecimento de formas graves de hemoglobinopatias. A deteção de portadores de β-talassémia é facilmente realizada nos fenótipos clássicos caracterizados por aumento da Hb A₂ (4-6%) e diminuição dos índices eritrocitários (VGM e HGM). No entanto, devido à proximidade entre os valores de Hb A₂ normais e patológicos, e aos fenótipos atípicos, com índices eritrocitários próximos do normal e valores de Hb A₂ *borderline* (3,3-3,8%) é muito importante determinações com alto grau de reprodutibilidade e exatidão^{2,3}.

O Controlo de Qualidade Laboratorial através do Controlo de Qualidade Interno (CQI) e da participação em programas de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ), permite avaliar e melhorar os níveis de precisão e exatidão analítica, possibilitando a longo termo, uma avaliação retrospectiva do desempenho do laboratório, demonstrando a sua competência relativamente aos seus pares.

Objetivo: Análise dos resultados do CQI e da AEQ (PNAEQ-Portugal e NEQAS-Reino Unido), da quantificação da Hb A₂ pela metodologia de HPLC, do laboratório de hemoglobinopatias do INSA, no período de 2011 a 2014.

Materiais e Métodos

Utilizaram-se amostras de controlo de qualidade com concentrações normais e elevadas de Hb A₂. Na AEQ analisaram-se as amostras distribuídas pelos organizadores dos programas de AEQ, PNAEQ-Portugal e NEQAS-Reino Unido. A metodologia utilizada foi a cromatografia por HPLC e os equipamentos avaliados neste estudo foram o Arkray HA-8160 (Menarini) e o Variant II- Beta-tal short program (BioRad).

Ao nível do CQI foi realizada uma análise estatística dos resultados através da determinação do valor médio, do desvio padrão (s) e do coeficiente de variação (CV). A análise dos resultados dos programas de AEQ envolveu a determinação do erro sistemático (*Bias*) e Índice de desvio (ID). Foi calculado o Erro Total (ET).

O *Bias* foi calculado pela diferença entre o valor obtido pelo laboratório e o valor alvo (média de consenso obtida para o método/equipamento) a dividir pelo valor alvo e expresso em percentagem:

$$Bias\% = \frac{x - Alvo}{Alvo} \times 100$$

O *ID*, é utilizado como indicador de desempenho do laboratório participante comparativamente aos outros laboratórios, é fornecido pelo organizador do programa e calculado pela fórmula:

$$ID = \frac{x - Alvo}{S\ alvo} \times 100$$

O *ET* corresponde à associação entre o erro aleatório (CV) e o erro sistemático, ou seja entre o CQI e a AEQ. e foi calculado pela fórmula: $ET = |Bias| + Z \times CV$

Resultados e Discussão

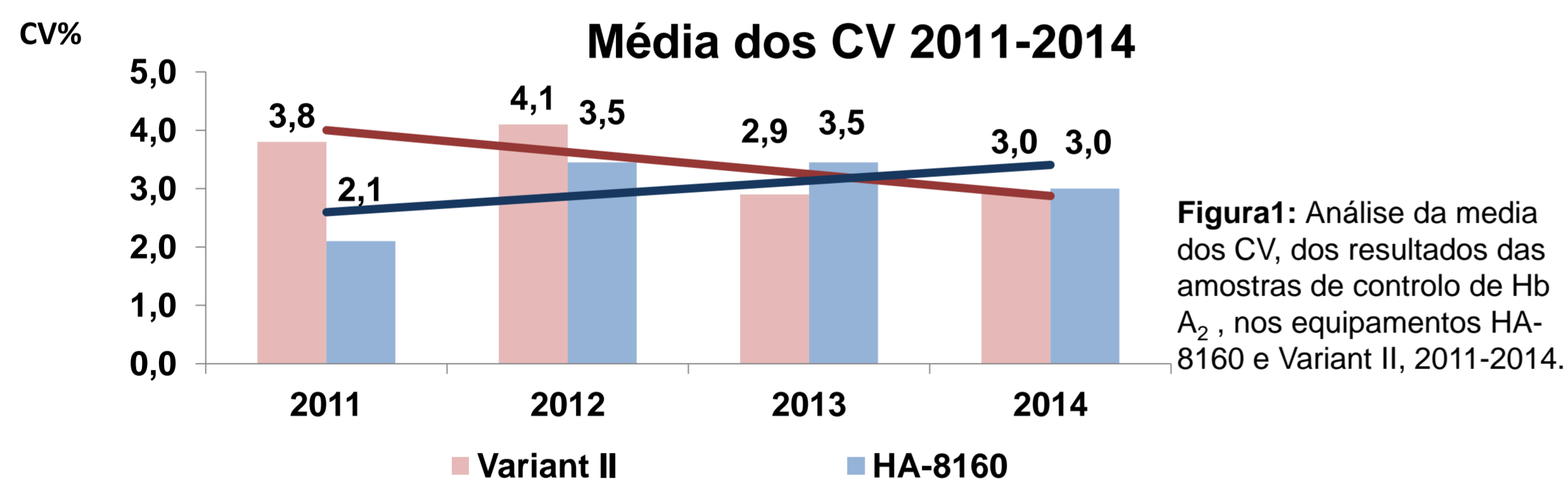
Controlo de Qualidade Interno

O CQI teve como objetivo a avaliação da reprodutibilidade dos resultados, pelo cálculo do CV%.

Os CV % anuais, obtidos para a quantificação da Hb A₂, por HPLC (HA-8160 e Variant II) e nível de concentração de Hb A₂ entre 2011 e 2014, oscilaram de 1,9% a 4,9%. Para o HA-8160, a média de CV foi de 3,0% e para o Variant II foi de 3,5% (Tabela 1).

Tabela 1: Análise estatística dos resultados das amostras de controlo de Hb A₂ obtidos nos equipamentos HA 8160 e Variant II – 2011-2014.

Ano	Hb A ₂ < 3,5%						Hb A ₂ ≥ 3,5%						Média CV%	
	Variant II			HA8160			Variant II			HA-8160			Variant II	HA-8160
	N	Média Hb A ₂ (%)	CV %	N	Média Hb A ₂ (%)	CV %	N	Média Hb A ₂ (%)	CV %	N	Média Hb A ₂ (%)	CV %		
2011	55	2,4	3,6	117	2,9	1,9	43	5,4	4,0	88	5,6	2,3	3,8	2,1
2012	74	2,8	4,9	83	3,3	3,6	77	5,8	3,3	79	6,0	3,3	4,1	3,5
2013	104	2,8	3,0	119	3,1	3,1	98	5,7	2,8	106	5,5	3,8	2,9	3,5
2014	67	2,8	3,5	68	3,2	2,6	72	5,8	2,4	67	6,8	3,4	3,0	3,0
Média	75		3,8	97		2,8	73		3,1	85		3,2	3,5	3,0



O equipamento HA-8160 apresenta uma média dos CV mais baixa que o Variant II (3,0% e 3,5%, respetivamente), durante o período em estudo, no entanto verificou-se uma tendência de melhoria na reprodutibilidade do Variant II, obtendo-se em 2014, para os dois equipamentos, CV de 3,0% (Figura 1).

Avaliação Externa da Qualidade

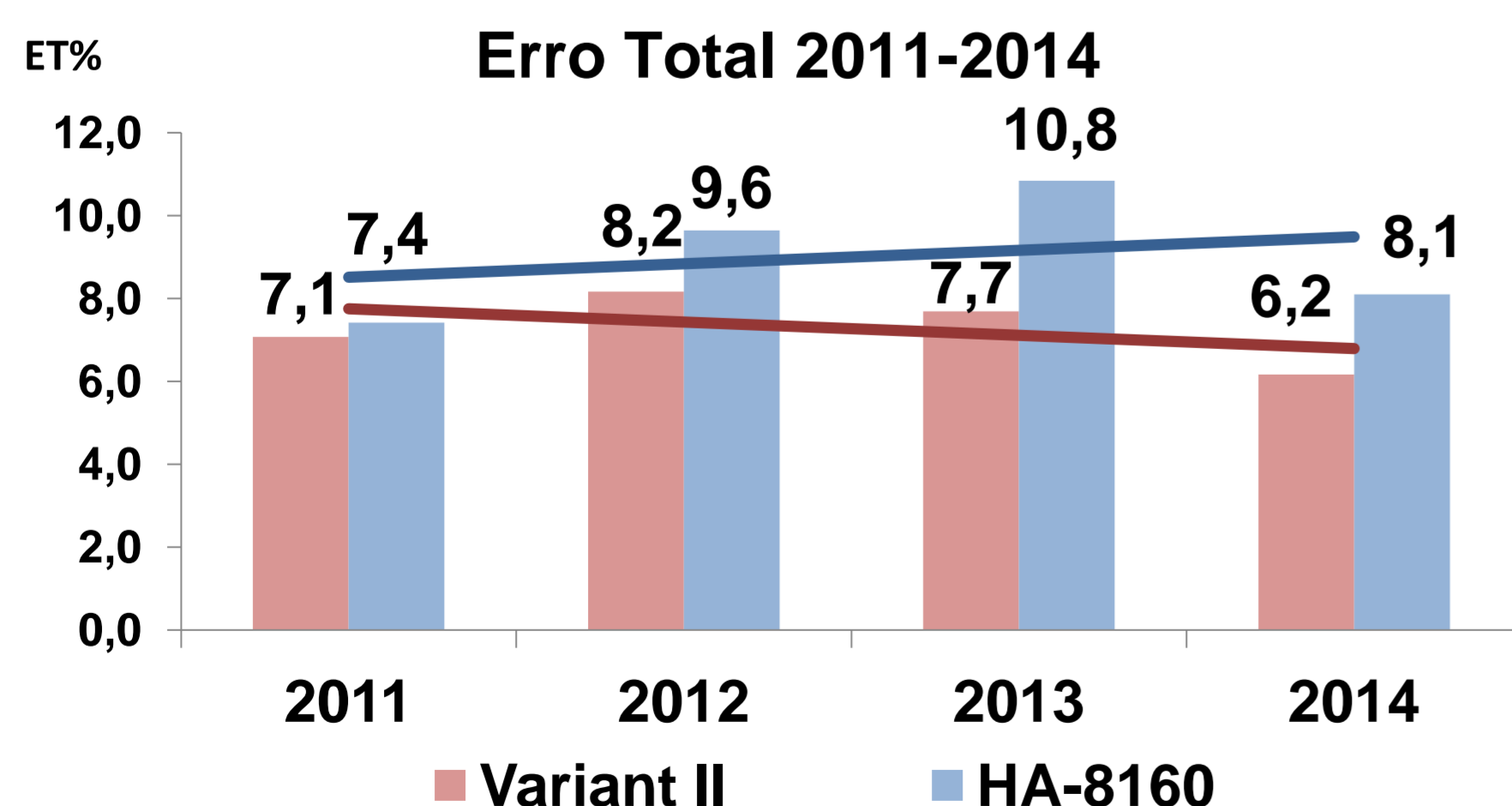
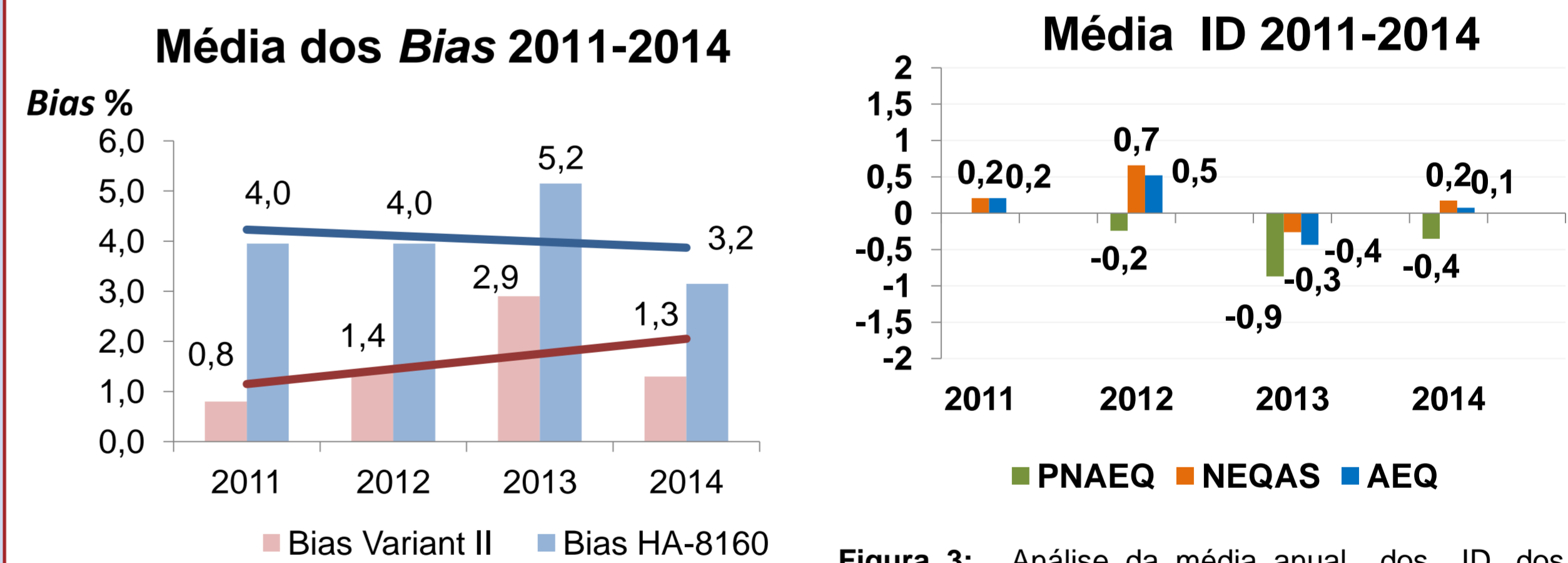
Os resultados da AEQ foram avaliados pelo ID, pelo cálculo do *Bias* e pelo cálculo do ET.

Tabela 2: Análise estatística dos resultados da AEQ, da quantificação da Hb A₂, relativos ao desempenho na participação nos programas PNAEQ e NEQAS, 2011-2014.

Ano	Hb A ₂ < 3,5%						Hb A ₂ ≥ 3,5%						Média anual			
	Variant II			HA-8160			Variant II			HA-8160			Variant II		HA-8160	
	Bias	CV (%)	ET	Bias	CV (%)	ET	Bias	CV (%)	ET	Bias	CV (%)	ET	Bias	ET	Bias	ET
2011	1,3	3,6	7,2	3,3	1,9	6,4	0,3	4,0	6,9	4,6	2,3	8,4	0,8	6,7	4,0	7,4
2012	2,8	4,9	10,9	5,5	3,6	11,4	0,0	3,3	5,4	2,4	3,3	7,8	1,4	8,4	4,0	9,6
2013	3,1	3,0	8,1	2,1	3,1	7,2	2,7	2,8	7,3	8,2	3,8	14,5	2,9	7,3	5,2	10,8
2014	0,2	3,5	6,0	5,1	2,6	9,4	2,4	2,4	6,4	1,2	3,4	6,8	1,3	7,9	3,2	8,1

O valor do *Bias*, entre 2011 e 2014, oscilou para os dois equipamentos em estudo entre -8,2 e 5,5%. Verifica-se uma tendência de melhoria na média do *Bias* para o HA-8160. No Variant II, embora se verifique uma tendência crescente do *Bias*, a sua ordem de grandeza é baixa, sendo de 1,3% em 2014 (Figura 2).

A média anual do ID, obtida para os programas de AEQ, variou entre -0,4 e +0,5, oscilando entre valores positivos e negativos como é desejável. No caso da média dos ID obtidos no PNAEQ verifica-se que são sempre negativos, o que requer monitorização (Figura 3).



O Erro Total avaliado, para níveis de concentração de Hb A₂ < 3,5% e Hb A₂ ≥ 3,5%, oscilou entre 6,0 e 14,5 (Tabela 2). As médias anuais do ET, obtidas para o HA 8160, subiram em 2012 e 2013, para valores superiores a 9%, no entanto em 2014 já se observa um decréscimo para um valor de 8,1%. As médias anuais do ET, para o Variant II, apresentam, no período em estudo uma tendência decrescente, com um valor de 6,2% em 2014.

Conclusão

Considera-se que as metas analíticas definidas para a Hb A₂, ET < 9%, para 2014 foram atingidas. No entanto de acordo com os objetivos definidos internacionalmente (Andrea Mosca *et al.* Analytical goals for the determination of Hb A₂), mantem-se a necessidade de promover uma melhoria contínua no desempenho laboratorial na quantificação da Hb A₂.

Bibliografia:

- Martins M. C. *et al.* Hereditary anaemias in Portugal: epidemiology, public health significance, and control. *J Med Genet* 1993; 30:235-39.
- Renata Paleari *et al.* Journal of Medical Genetics. External quality assessment of Hb A₂ measurement: data from an Italian pilot study with fresh whole blood samples and commercial HPLC. 2007;45(1):88-92.
- Andrea Mosca *et al.* Analytical goals for the determination of Hb A₂. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:88-92. Mosca A, Paleari, R e Wild B: Analytical goals for the determination of HbA 2. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51(5): 937-41.