

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

Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade



Ana Faria <sup>(1)</sup>, Helena Correia <sup>(1)</sup>, Ana Cardoso <sup>(1)</sup>, Cristina Brito <sup>(1)</sup>, Rui Barreira <sup>(2)</sup>, Ana Reis <sup>(3)</sup>, Nª Miranda <sup>(4)</sup>, Armandina Miranda <sup>(1)</sup>

Instituto Nacional de saúde Dr Ricardo Lisboa <sup>(1)</sup> Instituto de Oncologia de Lisboa <sup>(2)</sup>, Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental <sup>(3)</sup>, Centro Hospitalar de Lisboa Norte <sup>(4)</sup>

## 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 A<sub>2</sub>, 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 de 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 |

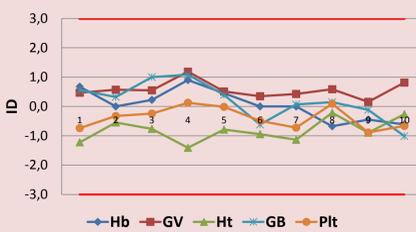


Figura 1- Evolução do ID dos laboratórios participantes, calculado a partir da média de consenso e considerando como valor verdadeiro o valor do fornecedor, de 10 amostras estudo, 8 enviadas em 2013 e 2 em 2014.

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 de 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 x10<sup>9</sup>/L (25% para valores superiores a 70 x10<sup>9</sup>/L e 8% para valores mais baixos), (dados não apresentados).

### Quantificação das hemoglobinas:

Para o doseamento da Hb A<sub>2</sub>, foram enviadas 4 amostras com valores de Hb A<sub>2</sub> não patológicos e 2 amostras patológicas, encontrando-se 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 A<sub>2</sub>, 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).

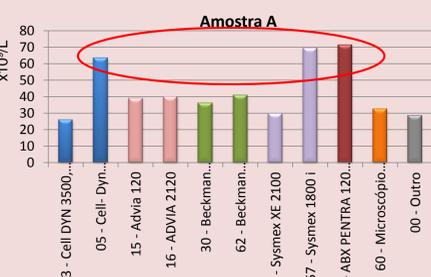


Figura 2 – Contagem de reticulócitos numa amostra, efetuada por vários equipamentos automáticos.



Figura 3- Evolução dos CV % dos resultados obtidos em 6 ensaios de quantificação da Hb A<sub>2</sub>, 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 de consórcio 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 <sub>2</sub> -F-A             | 6           | 52,3 - 88,9 | Não identificação Hb A<br>Não identificação Hb F<br>Identificação de Hb C    |
| A <sub>2</sub> -F-A-S           | 2           | 36,8 - 50,0 | Não identificação Hb F e/ou Hb A <sub>2</sub><br>Não identificação Hb S      |
| A <sub>2</sub> -F-A-■           | 1           | 32,0        | Não identificação Hb A <sub>2</sub> e/ou Hb F<br>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, identificados pelos participantes, por patologia dos glóbulos brancos (Hb Lepore, Hb C, Hb S, Hb D e Hb O-Arab); 2 portadores de beta talassemia; 1 portadora de variantes de hemoglobina (Hb Lepore, Hb C, Hb S, Hb D e Hb O-Arab); 2 portadores de beta talassemia; 1 portadora de alpha+ talassemia 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 capilare. In a cromatografia líquida, isto deve-se provavelmente ao facto de, na eletroforese de hemoglobinas, a pH capilare. In a cromatografia líquida, isto deve-se provavelmente ao facto de, na eletroforese de hemoglobinas, a pH capilare.

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.

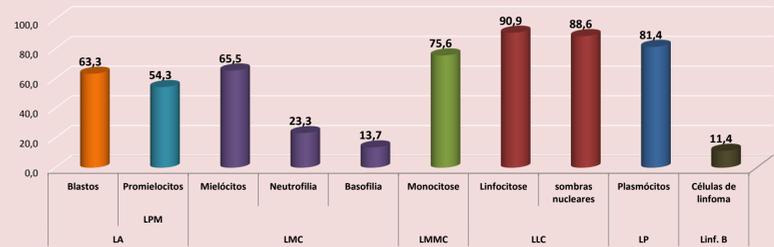


Figura 5- Avaliação da média percentual de códigos morfológicos corretos, identificados pelos participantes, por patologia dos glóbulos brancos (LA-Leucemia Aguda, LPM-Leucemia Promielocítica Aguda, LMC-Leucemia Mielóide Crónica, LMMC- Leucemia Mielomonocítica Crónica, LLC- Leucemia Linfocítica Crónica, LP- Leucemia 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 Leucemia Monocítica; 1 Leucemia Mielomonocítica, 2 Leucemias Promielocíticas e 3 Leucemias Mielóides); 2 Leucemias Mielóides Crónicas; 1 Leucemia Mielomonocítica Crónica.; 1 Leucemia 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 grupo de equipamentos, sendo necessário o recurso a amostras com matriz específica. 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 A<sub>2</sub> 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 A<sub>2</sub>, 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 importância da identificação de amostras normais e patológicas por todos os participantes, obtendo-se 4,8-28,6% de resultados insatisfatórios (dados não apresentados).

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