
TÓPICOS ABORDADOS

- ✓ Resultados Inesperados em Amostra de Teste Individual
 - ✓ Resultados de CQI Fora da Faixa
 - ✓ Como Investigar Resultados Fora do Consenso em Pesquisas de Avaliação Externa de Qualidade
-

Resultados Inesperados em Amostra de Teste Individual: problemas relacionados aos testes de coagulação ocorrem em todos os laboratórios de coagulação, independentemente dos métodos, reagentes e equipamentos utilizados. Resultados inexatos podem ocorrer como consequência de problemas com uma amostra específica causados por problemas com a própria amostra. Isso pode ser decorrente do processo de coleta ou armazenamento inadequado da amostra antes da análise. Essas questões são discutidas na Parte 3 deste manual. Recomendações sobre o controle de variáveis pré-analíticas também estão disponíveis, especificamente relacionadas a hemofilia e distúrbios relacionados (Kitchen et al, 2020) e em relação à coleta (Kitchen et al, 2021a) e ao processamento (Kitchen et al, 2021b) de amostras em todos os aspectos dos testes laboratoriais de coagulação, e não são discutidas mais detalhadamente aqui. Problemas específicos podem ocorrer durante a análise de uma amostra relacionados ao reagente ou ao manuseio da amostra durante esse teste específico, apesar da análise bem-sucedida de amostras adjacentes imediatamente antes ou logo após a amostra com resultado questionável. Muitos analisadores usam uma sonda para aspirar amostras automaticamente e essas sondas às vezes descem até a detecção de um líquido e então aspiram um volume adequado de amostra de teste para concluir o teste. Se essa amostra de teste tiver bolhas na superfície, isso pode levar a uma coleta incorreta com volume inadequado gerando resultados falsamente anormais, como resultados de testes de triagem falsamente prolongados ou atividade falsamente baixa em ensaios calibrados. Pipetagem inexata de reagentes durante a análise também pode levar a resultados inexatos, por exemplo, se a sonda usada para movimentação de reagentes em um analisador estiver desalinhada. Isso provavelmente afetaria os resultados de várias amostras. Pode ser útil executar 10 réplicas da mesma amostra para avaliar a precisão dos resultados, que normalmente fica comprometida se ocorrer desalinhamento da sonda. As áreas de reagentes nos analisadores são geralmente mantidas em temperatura constante, frequentemente resfriadas abaixo da temperatura ambiente, mas com as misturas de reação aquecidas a 37°C durante a análise. A maioria dos resultados dos testes de coagulação é altamente dependente da temperatura; portanto, qualquer desvio fora de uma estreita faixa aceitável no resfriamento dos reagentes ou, em particular, no aquecimento das misturas de reação, pode causar resultados inexatos que de modo geral são falsamente anormais. Resultados falso-normais são muito mais raros do que resultados falso-anormais e são observados regularmente apenas em relação ao falso encurtamento do TTPA como consequência de problemas pré-analíticos, como hemólise in vitro. Coagulômetros totalmente automatizados frequentemente utilizam soluções de lavagem/limpeza que enxáguam as sondas entre sucessivas operações de pipetagem. Esse processo normalmente evita o carreamento de amostra ou reagente de um teste para a mistura de reação seguinte, mas eventos desse tipo já ocorreram. Por exemplo, carreamento parcial de amostra para uma mistura de reação de amostra seguinte ocorreu no passado em relação a componentes patológicos na amostra, como anticorpos antifosfolipídios ou paraproteínas, ou relacionado a fármacos terapêuticos, incluindo emicizumabe, o que pode causar falso encurtamento do TTPA na amostra seguinte. Componentes de reagentes, como o neutralizador de heparina em reagentes, foram transferidos para amostras subsequentes, o que poderia levar à perda da atividade da heparina se presentes na amostra subsequente. Os efeitos do carreamento de reagentes têm sido amplamente erradicados quando reagentes e instrumentos do mesmo fabricante são combinados. É mais provável que isso seja um problema se o reagente de um fabricante for usado no analisador de outro fabricante, se essa combinação não tiver sido validada para uso. É fundamental que os laboratórios sigam as orientações da empresa de diagnóstico sobre os intervalos permitidos entre as visitas de manutenção preventiva para minimizar os riscos de gerar resultados de amostras de pacientes que não podem ser liberados com segurança para decisões de manejo de pacientes. É importante que os laboratórios recebam informações clínicas/do paciente suficientes para que a

equipe experiente do laboratório possa identificar resultados de testes inesperados ou incomuns sempre que possível. Qualquer resultado de teste inesperado deve ser reanalisado para excluir a possibilidade de erro analítico. Quando o erro analítico for excluído como explicação para um resultado inesperado que não pareça se adequar ao quadro clínico do paciente, uma nova amostra deve ser obtida para confirmação do resultado.

Resultados de CQI Fora da Faixa: conforme descrito na Parte 2 deste manual, é conveniente manter um registro dos resultados de CQI para cada material de CQI na forma de gráfico. Muitos analisadores utilizam a abordagem de Levey-Jennings, como mostrado na Figura 23. Existem sistemas de CQI disponíveis para auxiliar os laboratórios na resolução de problemas, como as regras de Westgard (www.westgard.com) que utilizam 5 regras de controle diferentes. Elas apresentam poucos alarmes falsos e proporcionam confiança na detecção de erros. Por outro lado, os padrões de testes de CQI necessários para o uso eficaz desses sistemas não são adequados para o uso regular na maioria dos laboratórios de coagulação. As possíveis consequências clínicas de erros laboratoriais no manejo de pacientes com hemofilia e distúrbios relacionados significam que uma abordagem cautelosa para resultados de CQI fora da faixa é mais segura para os pacientes. Por esse motivo, qualquer CQI fora da faixa deve ser avaliado e, durante a investigação, os testes e o relato dos resultados dos pacientes devem ser suspensos. É útil identificar o caso de um CQI fora dos limites para ajudar a evitar atrasos futuros no processamento de amostras. Se o reteste do mesmo frasco de material de CQI gerar um resultado claramente dentro da faixa, pode haver um problema no analisador, que pode ser avaliado realizando 10 replicatas na mesma amostra de teste. Um problema no analisador é indicado se houver ampla variabilidade entre as replicatas. Muitas vezes, em testes de coagulação de rotina, um teste repetido no mesmo material fica novamente fora da faixa e a substituição do material por um novo frasco ou alíquota gera um resultado dentro da faixa, confirmando que o próprio material de CQI era a fonte do problema. Nesse caso, os resultados do paciente podem ser liberados com segurança. Se, por outro lado, o teste de um novo frasco/alíquota de CQI também gerar um resultado fora da faixa semelhante, há um problema com o sistema de teste que também afetaria os resultados do paciente. Nesse caso, os reagentes usados para o teste devem ser substituídos em sequência por um novo CQI após cada troca de um reagente. Quando um reagente de substituição leva a um resultado de CQI dentro da faixa, aquele reagente é identificado como a fonte do problema. Isso deve ser indicado nos registros de CQI para que padrões possam ser identificados e uma nova avaliação da estabilidade e do uso do reagente seja iniciada. Se a substituição de todos os reagentes relevantes ainda estiver associada a resultados fora da faixa, o analisador em questão deve ser retirado de uso até a análise pelo fabricante, e o laboratório deve mudar para um equipamento reserva, idealmente um coagulômetro alternativo que forneça os mesmos resultados ou, no caso de testes com pontos finais de coagulação, uma técnica manual (consulte a Parte 4 deste manual). Quaisquer resultados de pacientes obtidos desde o resultado de CQI dentro da faixa anterior devem ser revisados com testes repetidos para estabelecer em que ponto da sequência de teste da amostra o problema pode ter começado. Se os resultados de pacientes de amostras analisadas após o CQI dentro da faixa anterior tiverem sido liberados, o laboratório deve refazer o teste e recolher quaisquer resultados que não estejam em conformidade, além de revisar seus protocolos de testes de CQI, visto que testes de CQI adequados devem evitar a necessidade de recolha de quaisquer resultados de pacientes. A Figura 23 mostra o gráfico de Levey-Jennings dos resultados de CQI do TTPA. As linhas vermelhas pontilhadas mostram os limites superior e inferior da faixa aceitável para esse material. A primeira série de resultados está dentro da faixa, exceto um no limite inferior. A segunda seção mostra um aumento gradual e progressivo nos tempos de coagulação. Essa tendência ocorre se um componente do teste se modifica gradualmente ao longo do tempo. É improvável que isso ocorra em relação ao material de CQI liofilizado comercial armazenado de acordo com as instruções do fabricante, mas pode ocorrer se o material de CQI tiver sido preparado localmente, conforme descrito na Parte 2. Outras causas podem ser uma alteração gradual em um dos reagentes se não for armazenado adequadamente ou por deterioração gradual em algum aspecto do sistema de detecção de ponto final utilizado (por exemplo, deterioração da fonte de luz de um sistema foto-óptico). Esses tipos de problemas são raros com coagulômetros automatizados modernos.

CQI – Os resultados de TTPA mostram uma tendência

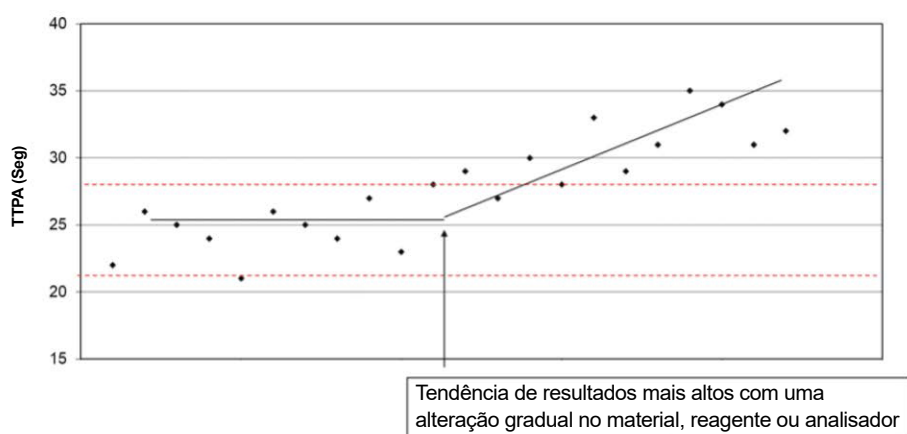


Gráfico de CQI de TTPA – amostra de CQI instável

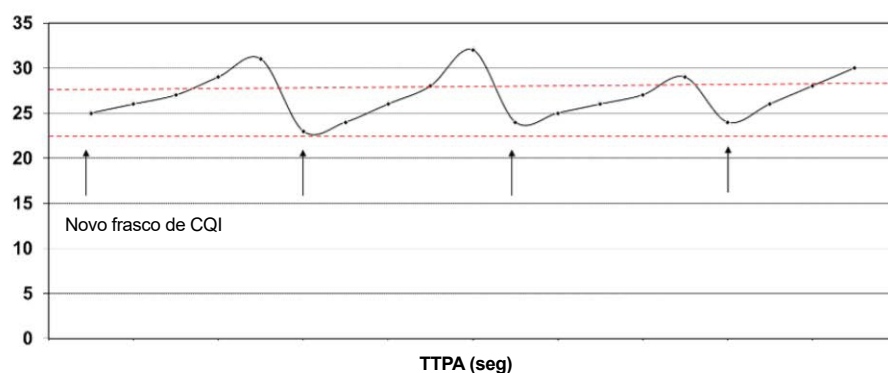


Figura 23. Gráfico de Levey-Jennings dos resultados de TTPA em material de CQI instável. As linhas vermelhas pontilhadas mostram os limites superior e inferior da faixa aceitável para esse material. Cada seta preta sólida indica quando um novo frasco de CQI foi carregado no analisador. Para cada novo frasco, há um aumento gradual no TTPA ao longo do tempo. Este exemplo ocorreu devido a um material de CQI congelado preparado localmente que se mostrou instável após o descongelamento. Em princípio, isso também pode ocorrer após a reconstituição de amostras liofilizadas se não forem preparadas adequadamente ou se a água utilizada para a reconstituição estiver contaminada.

Como Investigar Resultados Fora do Consenso em Pesquisas de Avaliação Externa de Qualidade: a participação em testes de proficiência ou EQA é um requisito essencial para que um laboratório garanta que resultados exatos sejam produzidos. Órgãos de acreditação que avaliam de acordo com as normas ISO, como a ISO 15189 (2022), exigem isso para quaisquer testes em que a EQA esteja disponível. Existe um IEQAS focado em hemofilia e distúrbios relacionados, supervisionado pela WFH (consulte a Parte 2 deste manual). Os resultados obtidos em exercícios de EQA podem ser usados para identificar questões importantes relacionadas à precisão e à exatidão dos testes laboratoriais de coagulação, desde que o material de teste no programa de EQA seja comutável com amostras de pacientes (ou seja, se comporte da mesma forma em um método específico que as amostras de pacientes se comportariam). A resolução eficaz de problemas com resultados de EQA que não estejam dentro do consenso de resultados de outros centros é importante para garantir o manejo seguro do paciente. Ao considerar resultados de EQA discrepantes, há uma série de fatores que devem ser levados em conta. Um resultado local fora do alvo derivado de resultados de outros centros é menos preocupante se a diferença não for grande o suficiente para impactar o manejo do paciente. Uma diferença clinicamente significativa é muito mais problemática do que uma diferença estatística que provavelmente não alteraria o diagnóstico ou o manejo de um paciente.

Um único resultado que seja acentuadamente diferente da média ou mediana dos resultados de outros centros, a ponto de afetar o manejo do paciente se a amostra fosse de um paciente do laboratório, deve ser investigado mais a fundo. Isso pode incluir o seguinte:

- i) Verificar se a amostra foi armazenada corretamente no recebimento, reconstituída corretamente e se o teste foi realizado de acordo com o procedimento escrito para esse método. Se o problema foi considerado restrito à análise da amostra de EQA, os resultados do paciente não seriam afetados.
- ii) Verificar se o CQ interno no momento da realização do teste de EQA era satisfatório. Caso contrário, é provável que tenha havido um problema com o teste que pode ter afetado os resultados do paciente, e os resultados do paciente devem ser revisados.
- iii) Consideração dos detalhes específicos da amostra de teste. Se anormais, os resultados obtidos podem ser consequência do defeito específico na amostra de EQA.

Quando um laboratório apresenta resultados discrepantes em pesquisas consecutivas que ocorrem ao longo de uma série de pesquisas, é necessária uma investigação que deve levar em conta o padrão na relação entre os resultados locais e a média ou mediana dos resultados de outros centros que utilizam metodologia semelhante. Além das investigações após um único resultado discrepante mencionadas acima, o seguinte deve ser considerado:

- i) O impacto clínico dos resultados deve ser avaliado. É possível que, no caso de um ensaio com precisão muito boa, um laboratório possa estar persistentemente fora do consenso, mas ainda assim registrar resultados relativamente próximos do alvo, sem consequências clínicas. Também é possível que, se for utilizada uma faixa de referência determinada localmente, qualquer viés nos resultados do paciente seja compensado por uma faixa de referência apropriada.
- ii) Resultados consistentemente altos ou consistentemente baixos em comparação com a média ou mediana de outros centros geralmente estão relacionados à calibração. Normalmente, laboratórios com esses problemas possuem uma curva de calibração estabelecida em algum momento no passado que não é apropriada para os testes atuais, seja devido a uma alteração no número de lote de um componente do ensaio ou porque a variabilidade diária nos resultados dos testes exige nova calibração juntamente com a análise das amostras de teste. A recalibração geralmente resolve esse problema em centros que utilizam uma curva de calibração histórica. A possibilidade de uma potência inadequada ter sido atribuída ao calibrador, embora rara, deve ser considerada. Ao investigar a possibilidade de um problema relacionado à calibração, pode ser útil analisar uma amostra com um valor atribuído independentemente como amostra de teste para verificar o quanto os resultados das amostras de teste estão sendo superestimados ou subestimados. Esse material também pode ser usado para realizar uma nova calibração. O programa IEQAS da WFH tem permissão para fornecer um frasco do padrão de plasma do SSC da ISTH para esse tipo de investigação de resolução de problemas. Ele possui valores atribuídos para diversos parâmetros de coagulação. O efeito de uma nova calibração pode ser avaliado analisando um pequeno grupo de amostras de teste antes e depois da nova calibração. O padrão de plasma do SSC não está disponível para uso rotineiro na calibração de métodos de ensaio locais.
- iii) Resultados acima da média ou mediana em algumas pesquisas e abaixo da média ou mediana em outras sugerem imprecisão do ensaio. Isso pode ocorrer como consequência de instrumentos mal conservados, manuseio inadequado dos reagentes (ou seja, reconstituição ou armazenamento), instabilidade dos reagentes ou problemas relacionados ao treinamento ou à competência da equipe.

Sempre que possível, a análise de amostras repetidas após a conclusão da investigação e após a implementação de quaisquer melhorias necessárias é útil para confirmar o sucesso ou fracasso das intervenções. A revisão retrospectiva dos resultados de pesquisas de EQA anteriores, antes da ocorrência do problema de resultados discrepantes, deve ser realizada juntamente com os registros laboratoriais de alterações de lote, calibrações, manutenção de instrumentos e alterações na metodologia, para avaliar se a alteração no desempenho corresponde a quaisquer alterações internas relevantes. A análise de dados de EQA e os relatórios de desempenho são, por natureza,

retrospectivos, visto que a análise e o relato normalmente ocorrem algum tempo após a realização dos testes no laboratório. Portanto, qualquer problema identificado pode ter afetado os resultados dos pacientes no mesmo período. O laboratório deve revisar com os médicos os resultados anteriores dos pacientes em relação a quaisquer testes em que a EQA indique a possível presença de inexatidão clinicamente relevante. A revisão deve considerar se o diagnóstico ou o manejo de algum paciente pode ter sido afetado negativamente. Novos testes podem ser necessários se o padrão de resultados discrepantes puder ter afetado negativamente os pacientes.

Referências

Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, Marlar RA, Nair S. International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) recommendations for collection of blood samples for coagulation testing. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(4): 571-580.

Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, Marlar RA, Nair S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for processing of blood samples for coagulation testing. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(6): 1272-1283.

Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW et al. WFH guidelines for the management of hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia* 2020; 26 Suppl 6: 1-158.