

# **INTRODUÇÃO AO CONTROLE DE LABORATÓRIO CLÍNICO**

Laboratório Clínico

Professor Archangelo P. Fernandes

[www.profbio.com.br](http://www.profbio.com.br)

# **Padronização no Laboratório Clínico**

- Etapa pré –analítica
- Etapa analítica
- Etapa pós-analítica

# Processos pré analíticos

- Identificação do paciente
- Preparação do paciente
- Coleta da amostra (identificação, forma da coleta, horário de coleta – ex cortisol 7 as 9, etc)
- Forma de manipulação do material coletado

# Processos pré-analíticos

- Com relação ao material utilizado:
  - Soro ou plasma?
  - Tubos para coleta :
    - Tubo seco
    - Gel de sílica
    - Fluoreto de sódio
    - Citrato de sódio
    - EDTA(Ácido etilenodiaminotetracético)
    - Heparina

# Processos pré-analíticos: fontes de variações nos resultados

- Tubo incorreto e volume inadequado
- Identificação incorreta amostra
- Amostra inválida: hemólise
- Condições de transporte
- Dieta anterior ao exame
- Alterações cicardianas

# Processos pré-analíticos: fontes de variações nos resultados

- Postura corporal: Alteração na concentração das proteínas plasmáticas, enzimas, hormônios, cálcio e bilirrubina
- Atividade física: > AGL, alanina, lactato, LDH, AST, creatinina, ácido úrico
- Fármacos

# Padronização dos processos analíticos

- Nome do procedimento
- Nome e fundamento do método
- Material ou amostra do paciente
- Padrões, calibradores, controles, reagentes...
- Equipamentos
- Procedimento detalhado
- Linearidade do método

# Padronização dos processos analíticos

- Controle de qualidade
- Valores de referência
- Significado clínico
- Observações

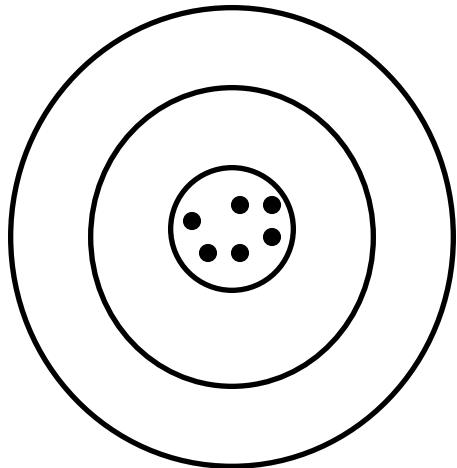
# Terminologia em qualidade

- **Amostra teste**
- **Amostra controle**
- **Amostra padrão**
- **Analito:** substância em análise nas amostras testes
- **Desvio padrão:** dado estatístico que descreve a dispersão de resultados em redor da média

# Terminologia em qualidade

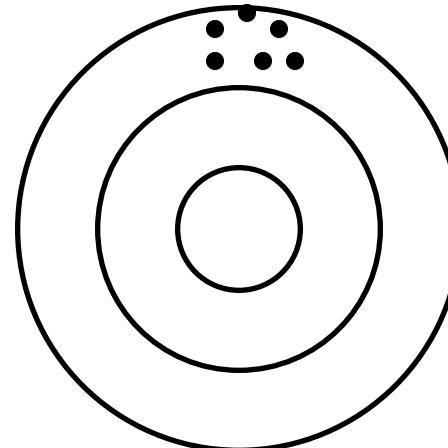
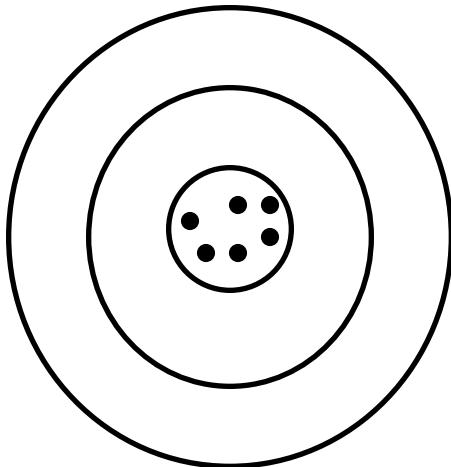
- **Exatidão:** Propriedade do método analítico de fornecer resultados do analito **próximos do seu valor real na amostra**
- **Precisão:** É a **concordância entre as medidas repetidas**. Propriedade do método analítico de fornecer reproduktivos (**proximos em si**) do analito quando originados de uma série de análises repetidas em uma única amostra controle.

# Exatidão ou Precisão ???



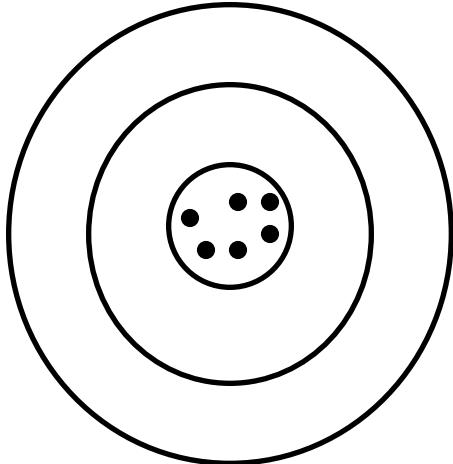
# Exatidão e Precisão

**Exato e Preciso**

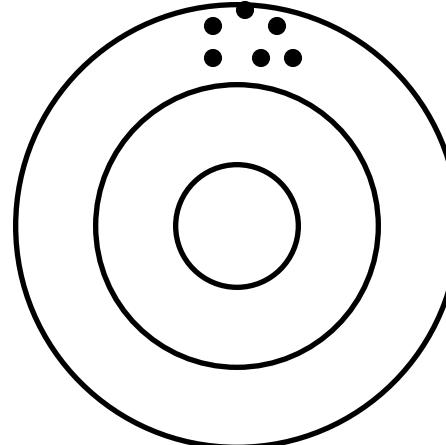


# Exatidão e Precisão

**Exato e Preciso**

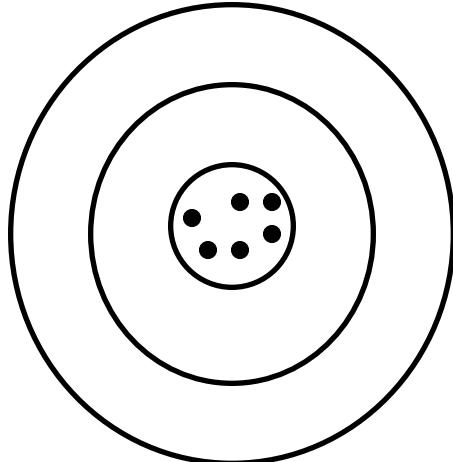


**Não Exato e Preciso**

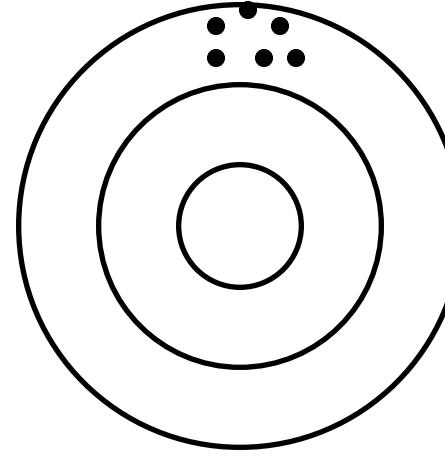


# Exatidão e Precisão

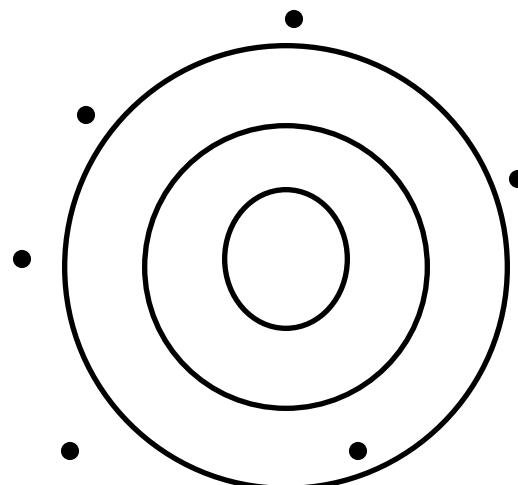
Exato e Preciso



Não Exato e Preciso

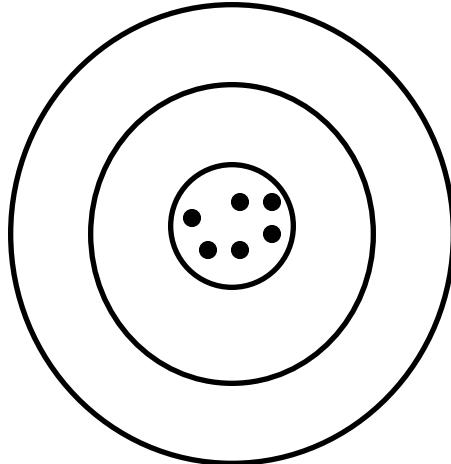


ERRO SISTEMÁTICO

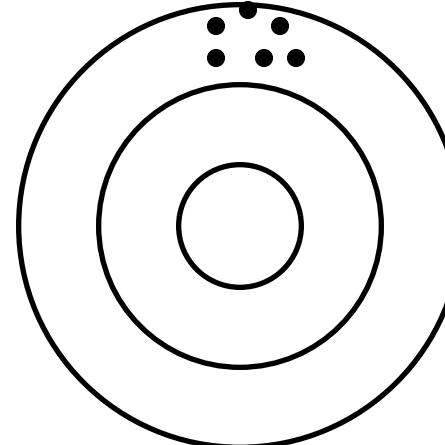


# Exatidão e Precisão

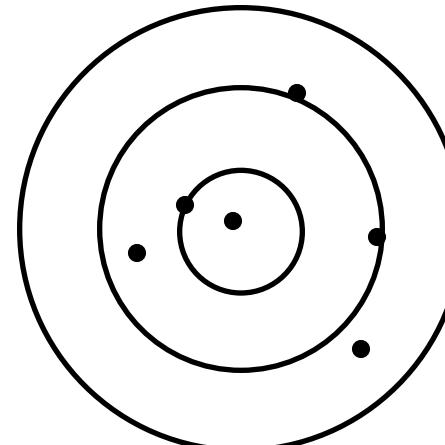
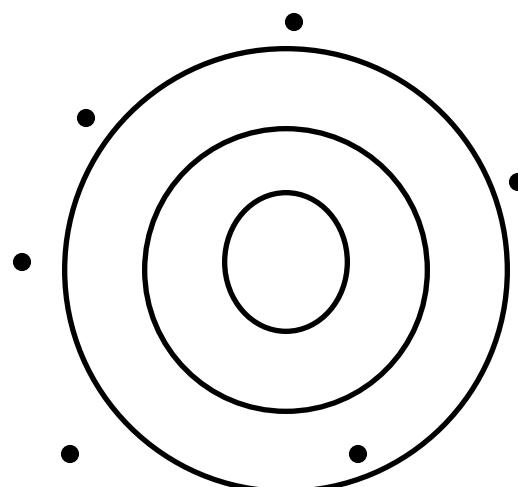
**Exato e Preciso**



**Não Exato e Preciso**

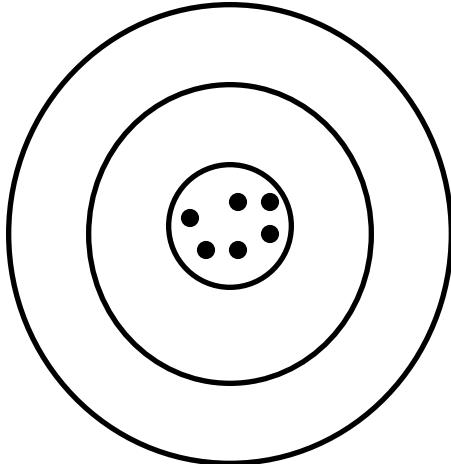


**Não Exato e Não Preciso**

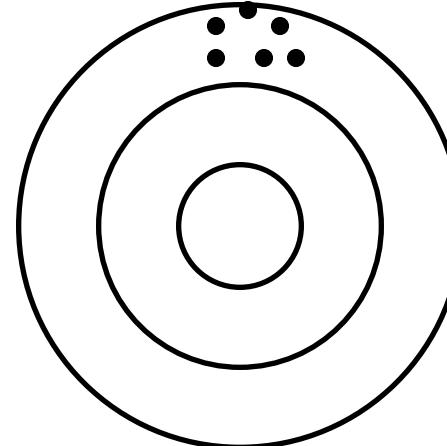


# Exatidão e Precisão

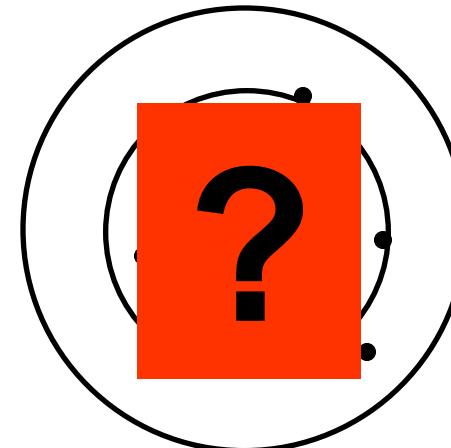
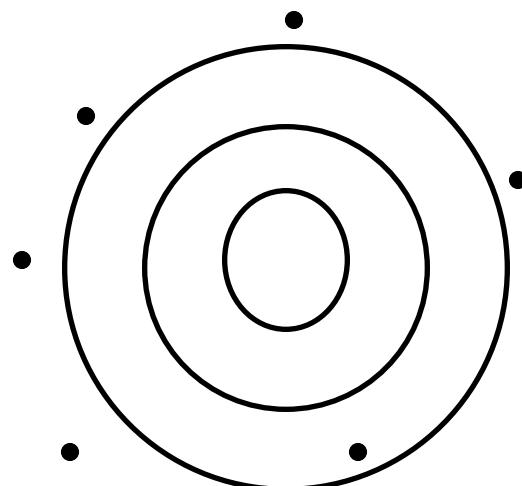
**Exato e Preciso**



**Não Exato e Preciso**

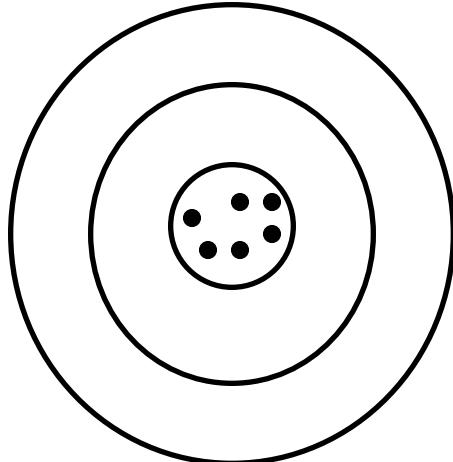


**Não Exato e Não Preciso**

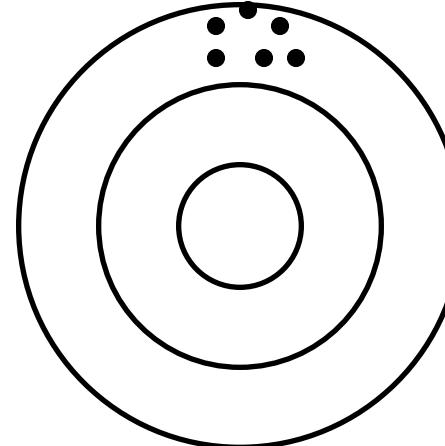


# Exatidão e Precisão

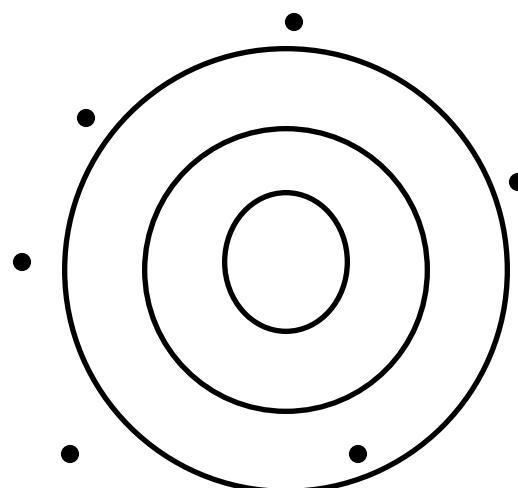
**Exato e Preciso**



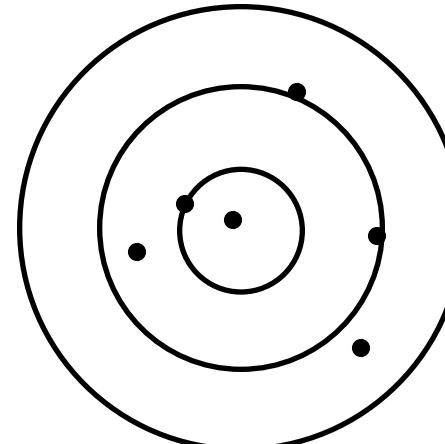
**Não Exato e Preciso**



**Não Exato e Não Preciso**

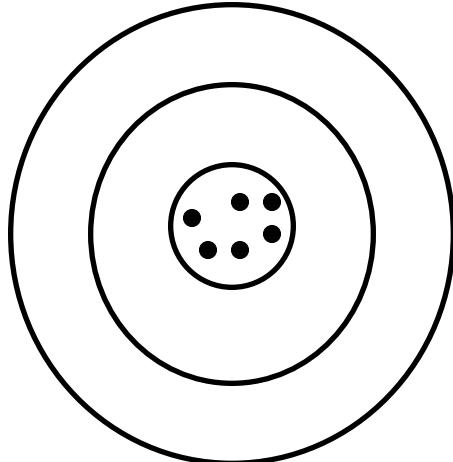


**Critério de Aceitabilidade**

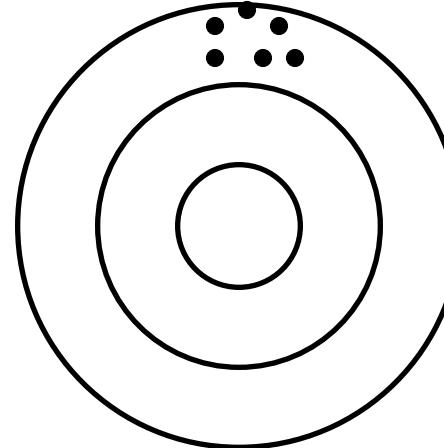


# Exatidão e Precisão

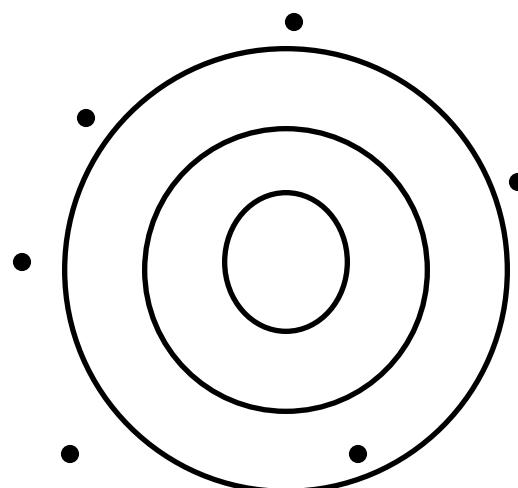
Exato e Preciso



Não Exato e Preciso

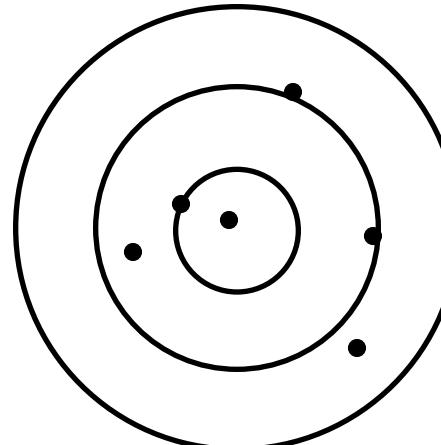


Não Exato e Não Preciso



Erro Aleatório

Critério de Aceitabilidade



# Terminologia em qualidade

- **Sensibilidade diagnóstica:** incidência de resultados verdadeiramente positivos, obtidos quando um teste é aplicado em indivíduos sabiamente portadores da doença em estudo
- **Sensibilidade metodológica:** Propriedade do método analítico de detectar pequenas diferenças na concentração do analito ou menor quantidade, diferente de zero, que o método consegue medir.

$$S = VP / VP + FN$$

VP: verdadeiro +

$$S = 48 / 48 + 2$$

FN: falso -

$$S = 0,96 \cdot 100 = 96\%$$

# Terminologia em qualidade

- **Especificidade diagnóstica:** incidência de resultados verdadeiramente negativos, obtidos quando o teste é aplicado em indivíduos sabiamente não portadores da doença
- **Especificidade metodológica:** capacidade do método de mensurar somente o que se propõe medir.

VN: verdadeiro -

$$E = VN / VN + FP$$

FP : falso +

# **Controle interno de qualidade**

- **Controle interno de qualidade:** consiste na análise diária da amostra controle com valores dos analitos conhecidos para avaliar a precisão dos ensaios e calibração dos sistemas analíticos.
- **Amostra controle:** produto que contém uma concentração fisiologicamente normal de um ou mais analitos

# Controle interno de qualidade

- Os resultados dos controles diários são lançados em um gráfico e comparados com os limites aceitáveis de erros (LAE)
- Quando os resultados estão dentro do LAE: rotina
- Quando os resultados saem do LAE: solução do problema

# Controle interno de qualidade

- **Gráfico de controle interno:**
    - Cálculo dos LAE para amostras do laboratório
    - Análise do controle no mínimo 20 dias consecutivos
    - Calcular a média e o desvio padrão
- Média:  $\sum X_n / X$

Desvio padrão:  $DP = \sqrt{\frac{\sum(x_n - \bar{x})^2}{n-1}}$

# Controle interno de qualidade

- Ex: dosagem de Potássio: 3,7 a 4,3

11/01        4,0mmol/L

11/02        4,1mmol/L

11/03        4,0mmol/L

11/04        4,2mmol/L

11/05        4,1mmol/L

11/06        4,1mmol/L

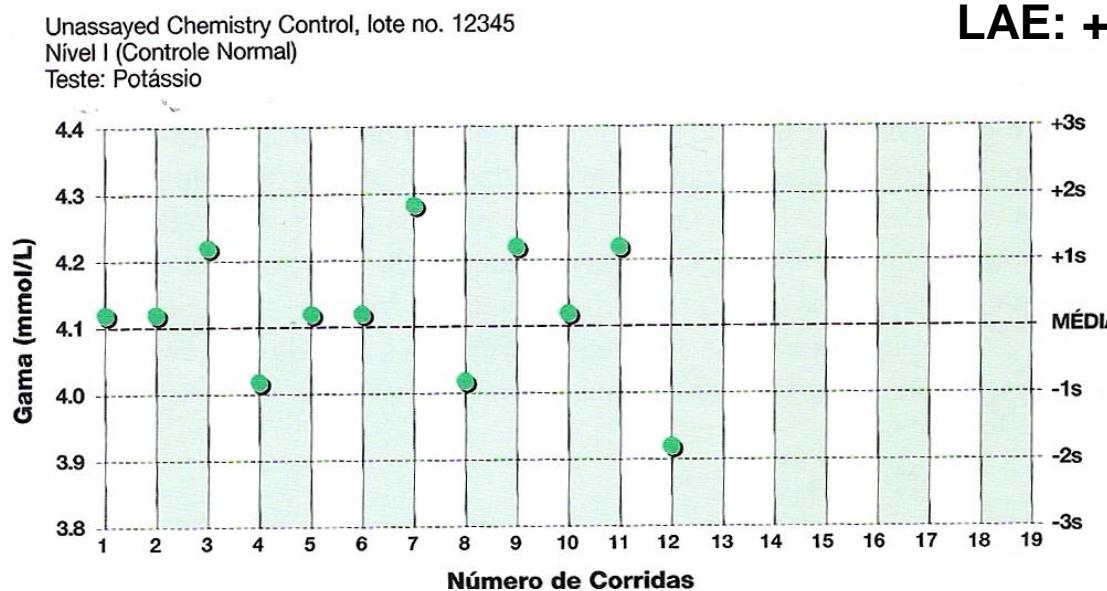
11/07        4,2mmol/L

**Média: 4,1 DP: 0,082 ou 0,1**

# Controle interno de qualidade

- Gráfico de Levey-Jennings

**Figura 3 : Gráfico de Levey-Jennings**



# **Controle interno de qualidade**

- **Avaliação diária:** verificação do resultado dentro ou fora dos LAE
- **Avaliação semanal:** Verificação de tendência, desvio, perda de exatidão e perda de precisão
- **Avaliação mensal:** cálculo de nova média e desvio padrão.

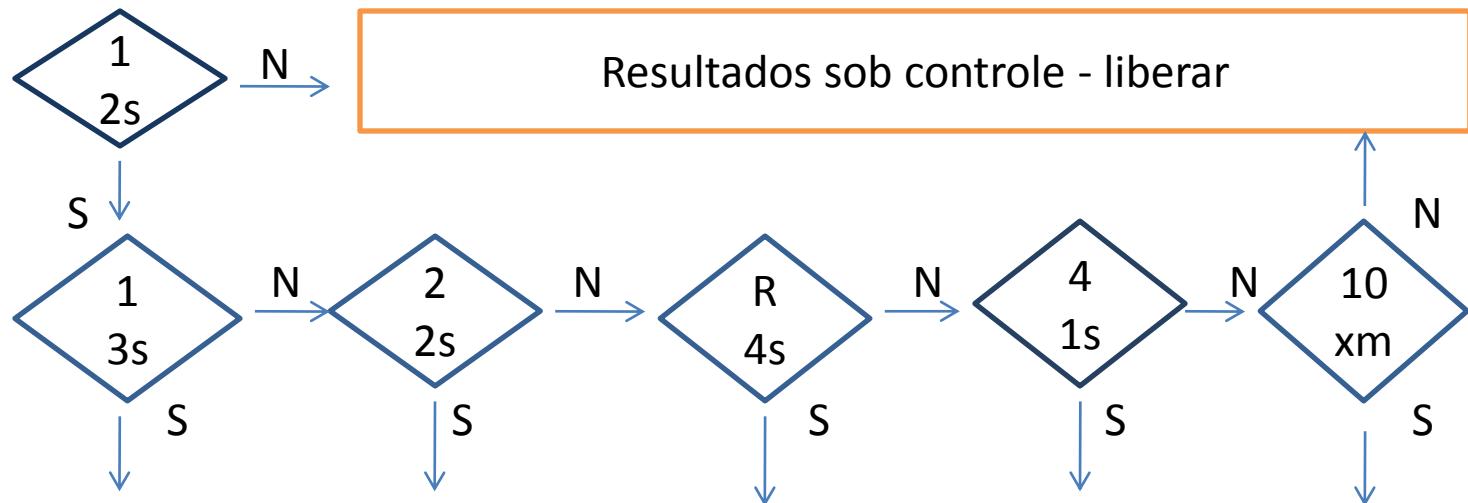
# Controle interno de qualidade

- **Regras de Westgard**

- 1:3s Rejeição: Uma observação exceder a média  $3s +/-$
- 1:2s Alerta
- 2:2s Rejeição
- R:4s Rejeição: um resultado excede o limite  $+2s$  e no outro  
–  $-2s$
- 4:1s Rejeição
- 10 média rejeição: 10 resultados consecutivos em um só lado da média.

# Controle interno de qualidade

- Regras de Westgard



Resultados fora do controle –não liberar

# Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

- **Reações segundo o produto formado:**
  - Reações de aglutinação
  - Reações de precipitação / turvação
  - Reações colorimétricas
  - Reações no ultravioleta

# Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

- **Reações colorimétricas:** mede-se a energia radiante transmitida/absorvida na faixa visível do espectro eletromagnético (400 a 680nm)

Ex:

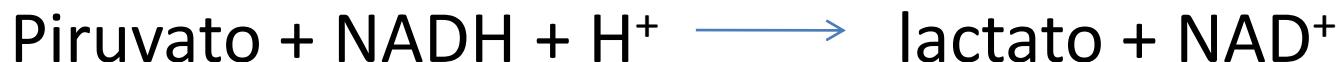


# Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

- **Reações no ultravioleta:** São reações em que os produtos formados não são coloridos, mas são capazes de absorverem energia radiante na faixa ultravioleta do eletromagnético radinante (340 ou 365 nm)

EX: LDH

LDH

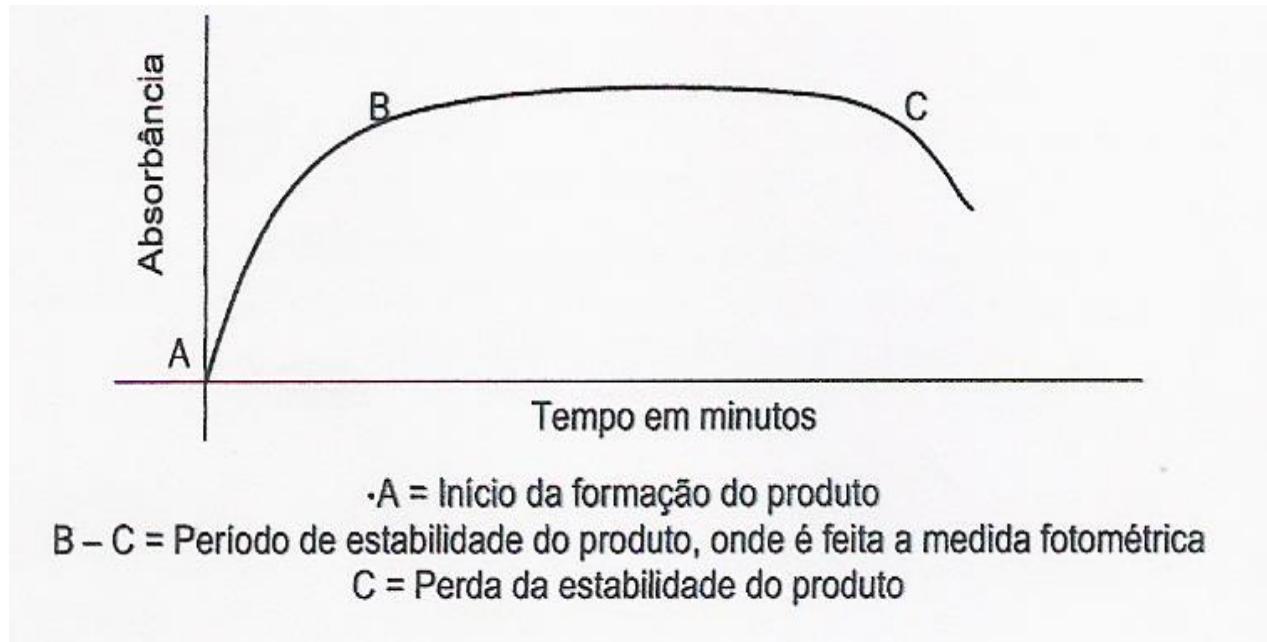


# **Tipos de reações empregadas no laboratório clínico**

- **Reações segundo o procedimento:**
  - Reações de ponto final
  - Reações cinéticas
    - Reação cinética de tempo fixo
    - Reação cinética contínua
    - Reação cinética de 2 tempos

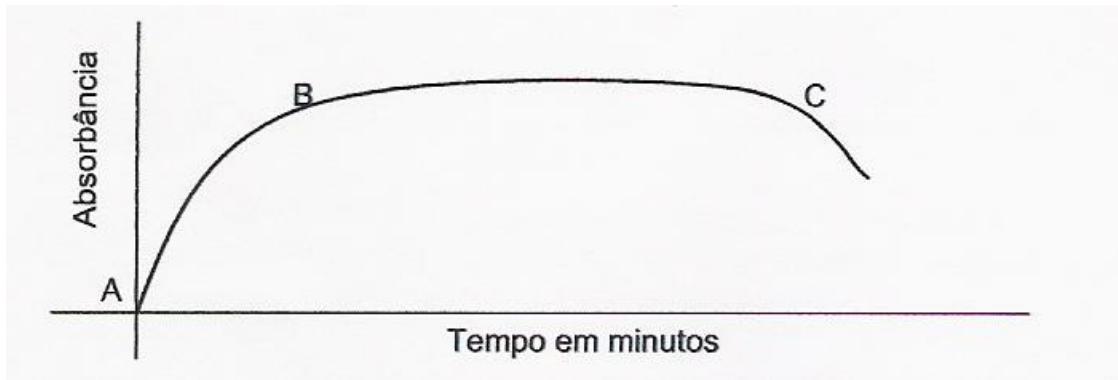
# Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

- Reações de ponto final:



# Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

- **Reação cinética de tempo fixo:** a velocidade de formação do produto é medida durante um intervalo de tempo fixo.



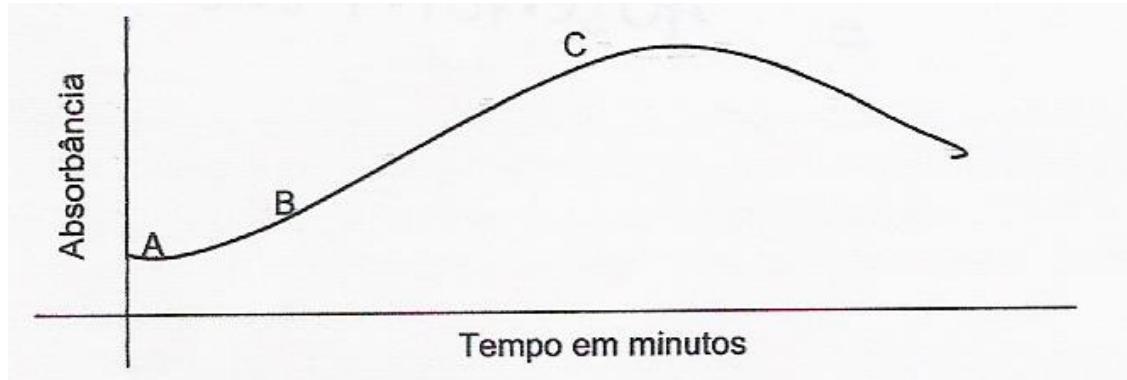
A : inicio da formação do produto

B-C : período de estabilidade, onde é feita a medida fotométrica, após adição de um reagente específico para parar a reação enzimática

C: perda de estabilidade do produto

# Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

- **Reação cinética contínua:** A velocidade da reação é medida em intervalos de tempo



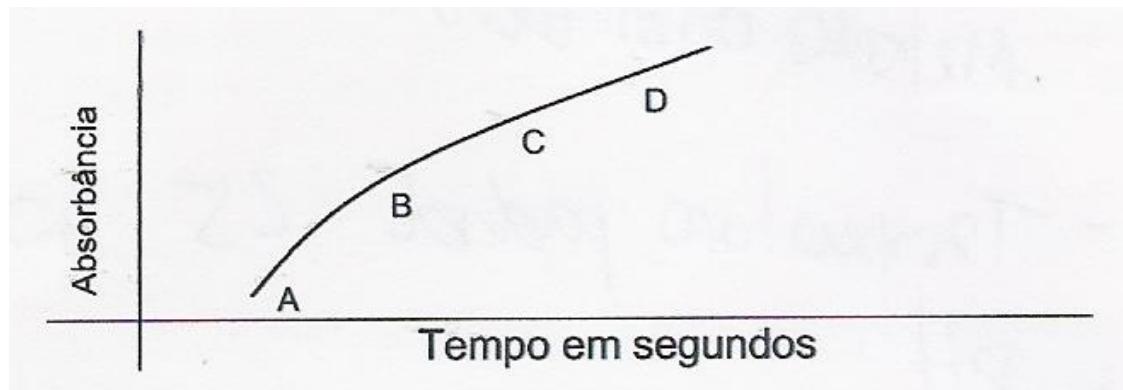
**A-B:** Início da formação do produto: velocidade não é constante

**B-C:** Velocidade constante. Faz-se a leitura fotométrica e calcula-se o  $\Delta\text{min}$   
Para determinar a concentração do analito

**C:** Redução da velocidade da reação por consumo do substrato

# Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

- Reação cinética de 2 tempos:
  - Leitura em 30 s e outra em 90s.
  - Para calcular a [ ] do analito, emprega-se o  $\Delta A$  obtido entre as leituras fotométricas entre C-B ou D-C



# **GLICOSE**

## **MÉTODO ENZIMÁTICO**

### **SIGNIFICADO CLÍNICO (Implicações Diagnósticas)**

Níveis elevados estão associados com diabetes mellitus, hiperatividade da Glândula tireóide, pituitária ou adrenal. Níveis baixos são observados em caso de 'overdose' de insulina, tumores secretores de insulina, mixidema, hipopituitarismo, hipoadrenalinismo e condições que interferem com a absorção de glicose.

### **MÉTODO**

Enzimático, Glicose oxidase, Colorimétrico e de Ponto Final.

### **LINEARIDADE E ESTABILIDADE DA REAÇÃO**

A reação é linear até 450 mg/dL.

Para resultados com valores superiores, diluir a solução colorida final 1:2 ou 1:4 com o Reativo de Trabalho e multiplicar o resultado pelo fator da diluição utilizada. A cor final da reação é estável por 60 minutos.

### **ESTABILIDADE DO REATIVO DE TRABALHO**

Leituras de Blank acima de 0,120 em Absorbância indicam deterioração do Reativo de Trabalho, neste caso, desprezá-lo.

## **COMPOSIÇÃO DO KIT**

Reativo Padrão CAT Nº 02201

Solução de glicose (100 mg/dL)

Volume = 4 mL

Reativo Enzimático CAT Nº 02202

Glicose oxidase ≥ 1 KU/mL

Peroxidase ≥ 0,15 KU/mL

Volume = 3 mL

Reativo de Cor (1) CAT Nº 02203

4-aminofenazona 0,025 mol/L

Tampão TRIS 0,92 mol/L

Volume = 50 mL

Reativo de Cor (2) CAT Nº 02204

Fenol 0,055 mol/L

Volume = 50 mL

## **VALOR DE REFERÊNCIA**

Soro ou plasma	70 a 110 mg/dL
Líquor	40 a 75 mg/dL

## **INTERFERÊNCIAS**

Valores falsamente baixos - Anticoncepcionais orais, estrógenos, corticoides, diuréticos (tiazida), salicilatos (aspirina) etc.

Os detergentes, metais pesados e os cianetos são inibidores enzimáticos. Uma perfeita limpeza da vidraria utilizada é necessária.

Utilizar água deionizada ou destilada recente, no preparo do Reativo de Trabalho. O nível de água no banho-maria deve ser superior aos dos tubos de ensaio que contêm as reações.

A temperatura e o tempo de reação não são críticos:  $37^{\circ}\text{C} \pm 2$  e 10 a 12 minutos.

# Unidades de medidas

Unidades	Símbolo	Definição	
Litro	L ou l	-	
Decilitro	dL	$1 \times 10^{-1}$ L	0,01 L
Mililitro	mL	$1 \times 10^{-3}$ L	0,001 L
Microlitro	$\mu$ L	$1 \times 10^{-6}$ L	0,000001 L
Nanolitro	nL	$1 \times 10^{-9}$ L	0,000000001 L
Picolitro	pL	$1 \times 10^{-12}$ L	0,000000000001 L

# Unidades de medidas

- Transformações:

$$1\text{mL} = 1000\mu\text{L}$$

$$0,2 \text{ mL} = ? \qquad \qquad 200 \mu\text{L}$$

$$1\mu\text{L} = 0,001 \text{ mL}$$

$$500 \mu\text{L} = ? \qquad \qquad 0,5 \text{ mL}$$