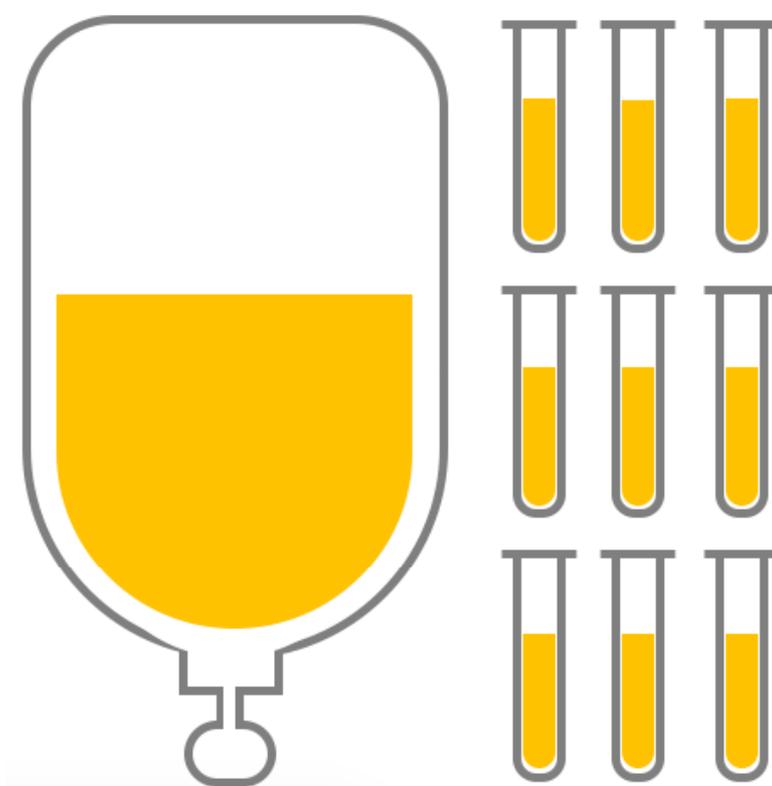


GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

**MANUAL TÉCNICO -
PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO EM ENSAIOS
SOROLÓGICOS PARA HIV/AIDS**



SÃO PAULO – SP

2016

**GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ**

**MANUAL TÉCNICO -
PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO EM ENSAIOS
SOROLÓGICOS PARA HIV/AIDS**

Autores

Márcia Jorge Castejon – IAL Central/CCD/SES-SP – Pesquisador Científico

Rosemeire Yamashiro – IAL Central/CCD/SES-SP – Pesquisador Científico

Carmem Aparecida de Freitas Oliveira - IAL Central/CCD/SES-SP – Pesquisador Científico

Coordenação

Márcia Jorge Castejon

SÃO PAULO – SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelos autores, desde que citada a fonte

Castejon, Márcia Jorge.

Manual técnico: programa de controle de qualidade interno em ensaios sorológicos para HIV, AIDS. / Márcia Jorge Castejon (coord.), Rosemeire Yamashiro, Carmem Aparecida de Freitas Oliveira. - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2016.

24 p. : il., tab.

1. Controle de qualidade. 2. Sorodiagnóstico da AIDS/método.
3. Anticorpos Anti-HIV/imunologia. 4. Imunoensaio/técnicas.
I. Yamashiro, Rosemeire. II. Oliveira, Carmem Aparecida de Freitas.

SES/CCD/CD-47/16

NLM-WC503

SUMÁRIO

	Página
1. Apresentação	2
2. Histórico	3
3. Introdução	4
4. Produção do material de referência no IAL	5
5. Participação dos laboratórios no PCQI HIV – IAL	7
6. Armazenamento e descarte de material biológico	11
7. Referências	12
8. Anexos (Formulários)	14

1. APRESENTAÇÃO

O manual técnico tem como objetivo colocar à disposição as informações sobre o Programa de Controle de Qualidade Interno em Ensaio Sorológicos para HIV/Aids (PCQI HIV) realizado no Instituto Adolfo Lutz - Central (IAL Central), aos laboratórios da rede pública do estado de São Paulo que executam sorologia para HIV/Aids.

A presente versão foi elaborada por profissionais do Centro de Imunologia (CIM) do IAL, baseada na experiência em produção de material de referência (controle de qualidade) para ser utilizado em ensaios sorológicos.

2. HISTÓRICO

O Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Central de Saúde Pública (IAL Central), vinculado à Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) – é reconhecido como referência estadual para o diagnóstico laboratorial de HIV/Aids. Uma das atribuições da instituição é promover e implementar programas de garantia da qualidade aos laboratórios públicos. Assim, o IAL Central tem realizado oficinas, treinamentos, elaboração de manual técnico e ações afins, e tem contribuído para que essas ações sejam implantadas pelos laboratórios da sub-rede do Estado nas respectivas unidades.¹⁻³

Em 2006, por meio da Resolução SS-94/2006 4 foi instituído o Grupo Técnico, o qual foi constituído por profissionais de duas Coordenadorias da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo: (i) Coordenadoria de Controle de Doenças (Instituto Adolfo Lutz - IAL, Centro de Vigilância Sanitária - CVS e Centro de Referência e Treinamento DST/Aids - CRT) e (ii) Coordenadoria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos da Saúde (Grupo de Sangue, Componentes e derivados - Hemorede), com o objetivo de padronizar os procedimentos técnicos e administrativos, e de propor critérios e normas para o emprego do plasma proveniente da rede de serviços de hemoterapia como matéria-prima para produzir as amostras do controle de qualidade interno (CQI) de HIV no estado de São Paulo.

Neste contexto, foi publicado o "Manual técnico para implementação do controle de qualidade interno nos procedimentos laboratoriais para diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV no estado de São Paulo" em que constam os procedimentos para padronizar e organizar o fluxo de transferência de bolsas de plasma e de amostras para a produção do material de referência (MR).¹

Desde 2009, o CIM do IAL tem se empenhado nas atividades de produção e distribuição de painéis de soro constituídos de amostras negativas e positivas para HIV, os quais têm sido MR para o preparo do CQI HIV pelos laboratórios da sub-rede do estado de São Paulo, inscritos no PCQI HIV, coordenado pelo IAL.^{5,6}

3. INTRODUÇÃO

Considerando-se a introdução de novas tecnologias e a crescente disponibilidade de grande variedade de conjuntos de reagentes diagnósticos no mercado, é de suma importância a realização de monitoramento da qualidade e do desempenho dos testes laboratoriais para oferecer resultados confiáveis à população.

O emprego do CQI durante os procedimentos da fase analítica dos testes sorológicos, além de fornecer parâmetros adicionais para validação dos ensaios, apresenta vantagens como a melhoria na qualidade dos resultados obtidos, a identificação de variações lote a lote dos conjuntos de reagentes diagnósticos utilizados e a detecção de erros aleatórios durante a execução dos testes diagnósticos.⁷

Os resultados de testes sorológicos são inteiramente dependentes da qualidade das medidas empregadas nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, e a consistência na produção de bons resultados requer um programa global que inclui controle e monitoramento dos procedimentos executados em todas as etapas do processo.⁸⁻¹¹

4. PRODUÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA NO IAL

O processo de produção do MR engloba diversas atividades, tais como: processamento e fracionamento do insumo, testes de homogeneidade e de estabilidade do soro, embalagem e escolha dos métodos de medição.

4.1. Obtenção de Plasma

O IAL Central tem contado com a colaboração da Hemorede - Coordenadoria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos da Saúde - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCTIES/SES-SP), por meio do termo de responsabilidade firmado entre as instituições, na transferência de bolsas de plasma (plasma HIV positivo e plasma negativo para os marcadores preconizados pela legislação vigente para procedimentos hemoterápicos) para atender à demanda de soro controle para os procedimentos de CQI no âmbito da sub-rede de laboratórios para o diagnóstico da infecção pelo HIV no estado de São Paulo.¹

4.2. Transformação de Plasma em Soro

O processo de transformação do plasma em soro é realizado por meio da técnica de trombinização ou recalcificação, seguindo-se a metodologia recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) com modificações.¹²

4.3. Caracterização dos Soros

A caracterização dos soros quanto à reatividade de anticorpos específicos anti-HIV é realizada pelo emprego de diferentes modalidades de testes imunodiagnósticos. Concomitantemente, são avaliados os painéis de referência para verificar o desempenho dos diferentes lotes dos conjuntos de reagentes diagnósticos utilizados, quanto à sensibilidade e à especificidade analíticas.

4.4. Fracionamento dos Soros

Os soros são distribuídos em tubos para congelamento ("criotubos"), os quais são etiquetados, numerados e armazenados em freezer a -20°C em caixas para congelamento.¹³

4.5. Testes de Homogeneidade e de Estabilidade

Na produção dos lotes de soros, vários procedimentos são cumpridos para garantir a qualidade do produto, avaliando-se e controlando-se a adequação de homogeneidade e estabilidade.^{7,14,15}

4.6. Preparo do Painel de Soros CQI HIV

O CIM do IAL tem produzido os seguintes painéis de soro:

- ✓ Painel de amostras de soro HIV positivo e negativo

De acordo com a modalidade do conjunto de reagentes diagnóstico utilizado na rotina, é distribuído ao laboratório o painel de soro constituído de amostras caracterizadas como anticorpo anti-HIV positivo e negativo. Ao recebê-lo, esta unidade executa as etapas de preparação, validação e estabelecimento da faixa de variação aceitável para o CQI HIV positivo.

- ✓ Painel CQI HIV positivo "pronto para uso"

O Laboratório de HIV/Aids do CIM - IAL tem preparado o CQI HIV para ser utilizado em sua rotina diagnóstica. Por conseguinte, torna-se possível efetuar a distribuição dessas amostras CQI HIV positivo "pronto para uso" aos laboratórios da Rede que empregam o mesmo conjunto de reagentes diagnóstico. Caberá à unidade participante em validar e estabelecer a faixa de variação aceitável do CQI HIV positivo em seu laboratório.

- ✓ Painel CQI HIV para o ensaio de Imunoblot Rápido (IBR)

Este painel de soros é composto por quatro amostras HIV positivo, que apresentam reatividade em diferentes diluições. Caberá ao laboratório participante em testar as quatro amostras no lote de ensaio IBR DPP HIV - 1/2 (Bio-Manguinhos-RJ - Brasil) e definir a maior diluição do soro (CQI HIV positivo) que apresenta bandas específicas do HIV, para atender ao critério de positividade para HIV.

5. PARTICIPAÇÃO DOS LABORATÓRIOS NO PCQI HIV - IAL

A participação é restrita aos laboratórios da rede pública que realizam ensaios para detecção de anticorpos anti-HIV, no âmbito do estado de São Paulo, e que estejam inscritos no PCQI HIV - IAL.

O CIM – IAL tem contado com a participação de vários laboratórios no PCQI HIV, que utilizam o CQI em diferentes ensaios sorológicos para o diagnóstico laboratorial da infecção por HIV/Aids.

5.1. Inscrição para Participar no PCQI HIV - IAL

Os laboratórios que não estão inscritos no PCQI HIV - IAL e que pretendem participar, deverão requerer sua inscrição junto ao IAL - Central por meio de ofício do representante legal da respectiva unidade. Neste documento deverão constar as informações que comprovem sua atividade na prestação de serviço para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV junto à rede pública no estado de São Paulo.

Este documento deverá ser encaminhado para:

Instituto Adolfo Lutz
Centro de Imunologia - Laboratório de HIV/Aids
Avenida Dr. Arnaldo, nº 351, 10º andar
Cerqueira César - São Paulo - S.P
CEP: 01246-000

Após a análise das informações, o IAL Central encaminhará ao requerente o documento com o número de inscrição do laboratório no referido Programa e o Termo de Responsabilidade para ser firmado junto ao IAL Central, no qual constarão as responsabilidades técnicas de solicitação, cessão, transporte, recepção e utilização exclusiva dos soros para o CQI HIV.¹

5.2. Capacitação Técnica para Utilização do CQI HIV - IAL

Aos novos inscritos no PCQI HIV, o IAL promoverá treinamento para efetuar a capacitação dos laboratórios no emprego do CQI para o monitoramento do desempenho de ensaios sorológicos para o diagnóstico de HIV.

5.3. Documentos do Programa CQI HIV - IAL

Os documentos pertinentes ao Programa CQI HIV estão à disposição do laboratório na página **<http://www.ial.sp.gov.br>**

5.4. Solicitação do Pannel de Soros

Após a celebração do termo de responsabilidade e capacitação para emprego do CQI HIV, o laboratório poderá solicitar o fornecimento de pannel de soros ao IAL Central, de acordo com a rotina diagnóstica, por meio de documento específico (Formulário de solicitação e transferência de soro). O Formulário preenchido deverá ser encaminhado ao IAL por meio de e-mail **cqihiv@ial.sp.gov.br**

Categorias de documentos para solicitação e transferência de soros:

- Solicitação e transferência de soro HIV positivo e negativo para o preparo do CQI HIV (*Anexo 1*);
- Solicitação e transferência de CQI HIV positivo "pronto para uso"(*Anexo 2*);
- Solicitação e transferência de CQI HIV positivo para o ensaio de IBR DPP HIV - 1/2 (*Anexo 3*)

5.5. Transporte e Conservação dos Soros

O laboratório participante é notificado, por e-mail, para retirar o pannel de soros CQI HIV no seguinte endereço:

Instituto Adolfo Lutz
Centro de Imunologia -Laboratório de HIV/Aids
Avenida Dr. Arnaldo, nº 351 - 10º andar
Cerqueira César - São Paulo - S.P
CEP: 01246-000

O painel de soros deve ser transportado, de acordo com a recomendação RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005 ¹⁶, em caixa térmica própria para transporte sob temperatura adequada para manutenção de suas características, acompanhado de documentação específica preenchida e devidamente assinada, e com a respectiva cópia afixada na tampa da caixa.

Recomenda-se a utilização de gelo seco na quantidade suficiente para cobrir o conteúdo da caixa térmica, protegendo-se com material isolante para que os produtos não entrem em contato direto com o gelo seco. Nessas condições, o tempo máximo de transporte é de 24 horas após a retirada do painel de soros. Em caso de utilização de gelo reciclável, o tempo máximo para o transporte do material é de 12 horas.

5.6. Recebimento dos Soros no Laboratório Participante

No ato do recebimento do painel de soros, o responsável técnico do laboratório participante deve verificar as condições de temperatura do material recebido e reportá-las no formulário específico (Formulário de solicitação e transferência dos soros) e, logo a seguir, encaminhá-lo ao IAL Central por e-mail **cqihiv@ial.sp.gov.br**

5.7. Preparo e Validação do CQI HIV

O laboratório participante pode utilizar as seguintes metodologias para preparar o CQI HIV:

- Quimioluminescência;
- ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*);
- MEIA (*Microparticle Enzyme Immunoassay*);
- Imunocromatografia de duplo percurso → Imunoblot Rápido DPP HIV - 1/2- Biomanguinhos

Recomenda-se realizar o seguimento do protocolo preconizado pelo Laboratório de HIV/Aids do CIM - IAL ¹, conforme a metodologia empregada na rotina laboratorial.

Seguem os documentos disponíveis:

Ensaio imunoenzimático e de quimioluminescência

- A. Preparo do CQI HIV positivo em ensaios imunoenzimático e de quimioluminescência (*Anexo 4*): neste protocolo constam as seguintes etapas: diluições; validação; fracionamento e armazenamento dos soros;
- B. Validação e Cálculo de Variação Aceitável do CQI HIV positivo (*Anexo 5 ou Anexo 6*);
- C. Protocolo de Resultados do CQI HIV Positivo (*Anexo 7*)

Observação: Ao laboratório que solicitar o CQI HIV positivo "pronto para uso" caberá a validação e o cálculo de variação aceitável.

6. ARMAZENAMENTO E DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO NO LABORATÓRIO

O laboratório participante deve adotar as práticas de biossegurança adequadas às atividades em execução. Os soros devem ser manuseados como materiais potencialmente infectantes e descartados de acordo com RDC nº 306 de 07 de dezembro de 2004 ¹⁷ - que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde e da Resolução CONAMA n. 358 de 29 de abril de 2005 ¹⁸ - que dispõe sobre tratamento e disposição final dos resíduos dos serviços de saúde, ou legislações que vierem substituí-las. Os painéis de soro devem ser armazenados em temperatura aproximadamente de -20°C até o momento da realização dos ensaios.

7. REFERÊNCIAS

1. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Manual técnico para implementação do controle de qualidade interno nos procedimentos laboratoriais para diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV no estado de São Paulo. São Paulo: IAL; 2007. [Acesso em 07 abr. 2016]. Disponível em: bvsalud.org
2. Castejon MJ, Yamashiro R, Carraro KMSA, Coelho LPO, Oliveira CAF, Ueda M. Avaliação da oficina de trabalho para capacitação de profissionais da sub-rede de laboratórios do estado de São Paulo para implementação do controle de qualidade interno (CQI) no diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV. *Bepa*. 2008; 5(54): 13-7.
3. Castejon MJ, Yamashiro R, Carraro KMSA, Cabral GB, Coelho LPO, Ueda M. Avaliação da II oficina de trabalho para capacitação de profissionais da sub-rede de laboratórios do estado de São Paulo para implementação do controle de qualidade interno no diagnóstico da infecção pelo HIV. *Bepa*. 2009; 6(62): 20-4.
4. São Paulo (Estado). Gabinete do Secretário de Estado da Saúde. Resolução SS-14 de 28 de novembro de 2006. Dispõe sobre a criação do Grupo técnico transferência de plasma como matéria-prima para utilização em pesquisa, produção de reagentes ou painéis de controle de qualidade sorológica da saúde de São Paulo. *Diário Oficial do Estado de São Paulo*. 2006; p.30.
5. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Campos AR, Sartorato MC, Cabral GB, et al. Implementação de controle de qualidade interno (CQI) nos ensaios sorológicos anti-HIV. Produção e distribuição de painéis de soro pelo Instituto Adolfo Lutz Central. 2009. *Bepa*; 6(65): 30-2.
6. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CAF, Ueda M. Implementation of a strategy for improving the serological diagnosis of HIV/Aids by introducing the internal quality control. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010; 69(2): 157-64.
7. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Olivieri JC, Oliveira CAF, Ueda M. Homogeneity study of the internal quality control sera for immunodiagnosis of HIV/AIDS. *J Bras Patol Med Lab*. 2014; 50 (1): 46-52.
8. Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. HIV testing and quality control: A guide for laboratory personnel. Publisher: Family Health International; 1991.
9. Cura E, Wendel S. Organización Panamericana de la Salud. Manual de Procedimientos de Control de Calidad para los Laboratorios de Serología de los Bancos de Sangre. Washington, DC: PAHO/HPC/HCT 94.21, 1994.
10. The Joint United Nations Programme on HIV/Aids (UNAIDS). HIV Testing Methods: Unaid Technical Update, 1997.
11. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO/IEC 17.025: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Brasil, 2005.

12. World Health Organization - WHO. Guidelines for organizing national external quality assessment schemes for HIV serological testing. UNAIDS 96.5, 1996.
13. Ministério da Saúde. Portaria nº 686, de 27 de agosto de 1998. Determina o cumprimento das diretrizes estabelecidas das boas práticas de fabricação e controle em estabelecimentos de produtos para diagnóstico in vitro. [Acesso em 08 abr. 2016]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/686_98.htm
14. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ISO Guia 35: Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação. Brasil, 2012.
15. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira CC, Granato D, Oliveira CAF, Ueda M. Study on the stability of internal quality control sera for HIV/Aids immunodiagnostic tests. J Bras Patol Med Lab. 2014; 50(1): 36-45.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de out. 2005, Seção 1, p.33. [acesso em 08 abr 2016]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>
17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). RDC nº 306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. [Acesso em 08 abr. 2016]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>
18. Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama). Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 358, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final de resíduos dos serviços de saúde. [Acesso em 08 abr. 2016]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=462>

8. ANEXOS

- Anexo 1* Solicitação e transferência de soro HIV positivo e negativo para o preparo do CQI HIV;
- Anexo 2* Solicitação e transferência de positivo CQI HIV positivo "pronto para uso";
- Anexo 3* Solicitação e transferência de CQI HIV positivo para o ensaio de IBR;
- Anexo 4* Preparo do CQI HIV positivo em ensaios imunoenzimático e de quimioluminescência (4 páginas);
- Anexo 5* Validação e cálculo de variação aceitável do CQI HIV positivo em ensaio imunoenzimático;
- Anexo 6* Validação e cálculo de variação aceitável do CQI HIV positivo em ensaio de quimioluminescência;
- Anexo 7* Protocolo de Resultados do CQI HIV Positivo

ANEXO 1
**SOLICITAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE SORO HIV POSITIVO
 E NEGATIVO PARA O PREPARO DO CQI HIV**

N.º da solicitação: _____

1. Serviço solicitante (Laboratório)

A. Instituição: _____

B. Necessário o preenchimento dos dados abaixo:

Metodologia	Demanda*	Conjunto de reagentes diagnóstico/fabricante	Automação (sim/não)

* N.º de testes realizados por mês/n.º. de ensaios realizados mês ____/____/____

Responsável pela solicitação: _____ /____/____
 Assinatura e carimbo Data

2. Instituto Adolfo Lutz – Central

Lote	N.º alíquotas	Volume (mL)	Prazo de validade

Responsável pela entrega:

_____/____/____ _____ _____
 Nome legível e assinatura Data Horário T°C

Declaro que recebi a(s) alíquota(s) de soros acima descrita(s).

Responsável pelo transporte:

_____/____/____ _____
 Nome legível e assinatura Data Horário

Responsável pelo recebimento:

_____/____/____ _____ _____
 Nome legível e assinatura Data Horário T°C

Referência: Manual Técnico para Implementação do Controle de Qualidade Interno nos Procedimentos laboratoriais para Diagnóstico Sorológico da Infecção pelo HIV no Estado de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANEXO 2
**SOLICITAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CQI
HIV POSITIVO - PRONTO PARA USO**

N.º da solicitação:

1. Serviço solicitante (Laboratório)

A. Instituição: _____

* N.º de testes realizados por mês/n.º. de ensaios realizados mês ____/____/____

Responsável pela solicitação: _____ / ____/____
Assinatura e carimbo Data

2. Instituto Adolfo Lutz – Central

Soro CQI HIV positivo (pronto para uso) para o conjunto de reagentes diagnóstico:

Lote	Diluição	N.º alíquotas	Volume (mL)	Prazo de validade

Responsável pela entrega:

_____/____/____
Nome legível e assinatura Data Horário T°C

Declaro que recebi a(s) alíquota(s) de soros acima descrita(s).

Responsável pelo transporte:

_____/____/____
Nome legível e assinatura Data Horário

Responsável pelo recebimento:

_____/____/____
Nome legível e assinatura Data Horário T°C

ANEXO 3
**SOLICITAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CQI HIV POSITIVO
 PARA O ENSAIO IMUNOBLOT RÁPIDO DPP HIV - 1/2**

N.º da solicitação:

1. Serviço solicitante (Laboratório)

A. Instituição: _____

* N.º de testes realizados por mês/n.º. de ensaios realizados mês _____/_____

Responsável pela solicitação: _____ /_____/_____
Assinatura e carimbo Data

2. Instituto Adolfo Lutz – Central

Lote	N.º alíquotas	Volume (mL)	Prazo de validade
Diluição 1:10			
Diluição 1:100			
Diluição 1:1.000			
Diluição 1:10.000			

Responsável pela entrega:

_____/_____/_____
Nome legível e assinatura Data Horário T°C

Declaro que recebi a(s) alíquota(s) de soros acima descrita(s).

Responsável pelo transporte:

_____/_____/_____
Nome legível e assinatura Data Horário

Responsável pelo recebimento:

_____/_____/_____
Nome legível e assinatura Data Horário T°C

ANEXO 4
**PREPARO DO CQI HIV POSITIVO EM ENSAIOS
 IMUNOENZIMÁTICO E QUIMIOLUMINESCÊNCIA**

1 - Identificação dos lotes de soro

Lote negativo: _____

Lote HIV Positivo: _____

2 - Diluição do soro positivo na razão 10

Data: _____ Técnico: _____

1/10	_____ µL soro positivo	+	_____ µL soro negativo
1/100	_____ µL diluição 1/10	+	_____ µL soro negativo
1/1.000	_____ µL diluição 1/100	+	_____ µL soro negativo
1/10.000	_____ µL diluição 1/1.000	+	_____ µL soro negativo
1/100.000	_____ µL diluição 1/10.000	+	_____ µL soro negativo

✓ Testar cada diluição no conjunto de reagentes diagnóstico

Data: _____ Conjunto de reagentes diagnóstico: _____ Lote: _____ Validade: _____

Diluição	Densidade óptica(DO)	Cut-off (CO)	DO/CO
	<i>ou</i> Valor de índice		<i>ou</i> Valor de índice
1/10			
1/100			
1/1.000			
1/10.000			
1/100.000			

Reatividade ideal para o CQI: 1,5 a 4,5 vezes o valor de *cut-off*.

Nota: esta é a faixa de reatividade que mais facilita a percepção dos erros ocorridos durante a realização dos ensaios.

Conclusão

- Diluição encontrada 1/_____ (seguir item 4)
- Entre duas diluições (seguir item 3)
- Diluição não encontrada (descartar e preparar outra diluição)

3 - Diluição intermediária na razão 2 a partir da maior DO do soro positivo na razão 10

Data: _____ Técnico: _____

1/_____	_____ μ L diluição 1/_____ + _____ μ L soro negativo
1/_____	_____ μ L diluição 1/_____ + _____ μ L soro negativo
1/_____	_____ μ L diluição 1/_____ + _____ μ L soro negativo
1/_____	_____ μ L diluição 1/_____ + _____ μ L soro negativo
1/_____	_____ μ L diluição 1/_____ + _____ μ L soro negativo
1/_____	_____ μ L diluição 1/_____ + _____ μ L soro negativo

✓ TESTAR CADA DILUIÇÃO NO CONJUNTO DIAGNÓSTICO

Data: ____ Conjunto de reagentes diagnóstico: _____ Lote: ____ Validade: ____

Diluição	Densidade óptica	Cut-off (CO)	DO/CO
1/_____			
1/_____			
1/_____			
1/_____			

Reatividade ideal para o CQI: 1,5 a 4,5 vezes o valor de *cut-off*.

Nota: esta é a faixa de reatividade que mais facilita a percepção dos erros ocorridos durante a realização dos ensaios.

Conclusão

- Diluição encontrada 1/_____ (seguir item 4)

4- Preparo do CQI positivo no imunoensaio

- ✓ Se possível, escolher um frasco com capacidade de no mínimo três vezes maior do que o volume total do CQI positivo a ser preparado;
- ✓ Homogeneizar o conteúdo colocando-se o frasco sob agitação suave e constante, em temperatura ambiente, durante no mínimo 60 minutos e no máximo 120 minutos. Recomenda-se utilizar um dos seguintes agitadores: orbital, tipo *Kline* ou similar;
- ✓ Conservar a amostra preparada em geladeira à temperatura de 2°C a 8°C.
- ✓ Realizar o registro dos dados, de acordo com o modelo abaixo:

Diluição ideal: 1/ _____	Volume a ser preparado: _____ mL
Soro positivo (volume): _____	Soro negativo (volume): _____
Agitação: início: _____ horas	término: _____ horas
Data: _____	Responsável: _____

5- Validação do CQI positivo no imunoensaio

- ✓ Separar 16 alíquotas do CQI positivo preparado;
- ✓ Testar as alíquotas em três ensaios: seis no primeiro ensaio, cinco no segundo ensaio e cinco no terceiro ensaio;
- ✓ Anotar os resultados obtidos em cada ensaio no Formulário de validação e cálculo de variação aceitável CQI HIV positivo;
- ✓ Analisar os 16 resultados para verificar se os valores de DO obtidos estão dentro da faixa de reatividade recomendada, ou seja, de 1,5 a 4,5 vezes o valor do *cut-off* (CO) do ensaio. Nesta análise considerar os seguintes critérios:
 - Se os 16 valores de DO obtidos estiverem na faixa recomendada, o CQI HIV positivo está validado;
 - Se qualquer um dos resultados estiver fora da faixa recomendada, o controle não está validado. Neste caso, homogeneizar novamente o CQI, no mínimo, durante 60 minutos;
 - Separar cinco novas alíquotas e repetir o ensaio;
 - Se na repetição um dos resultados estiver novamente fora do padrão estabelecido, descartar o CQI positivo e preparar um novo;
 - Se os cinco valores de DO obtidos estiverem na faixa de 1,5 a 4,5 vezes o valor do *cut-off* do ensaio, o CQI está validado.

6- Fracionamento e armazenamento do CQI HIV positivo

- ✓ Calcular o número de alíquotas de acordo com o volume do CQI positivo disponível;
- ✓ Antes de preparar as alíquotas, homogeneizar o CQI por 60 a 120 minutos em agitação suave;
Horário de homogeneização: início: _____ término: _____

- ✓ Fracionar o soro em volume mínimo de 20% a mais da quantidade utilizada no ensaio;
- ✓ Utilizar tubos para congelamento ("criotubos") com capacidade entre 0,5 a 2,0 mL;
- ✓ Rotular os tubos e as caixas de crio-armazenamento (tipo hemobox ou similar);
- ✓ Conservar à temperatura igual ou inferior a -20°C;
- ✓ Realizar o registro dos dados, de acordo com o modelo abaixo:

Volume por alíquota: _____ μL	Total de alíquotas: _____
Local de armazenamento: Freezer nº. _____	
Data: _____	Responsável: _____

Referência: Manual Técnico para Implementação do Controle de Qualidade Interno nos Procedimentos laboratoriais para Diagnóstico Sorológico da Infecção pelo HIV no Estado de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANEXO 5
**VALIDAÇÃO E CÁLCULO DE VARIAÇÃO ACEITÁVEL
 CQI HIV POSITIVO EM ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO**

Conjunto diagnóstico: _____ Fabricante: _____
 Lote: _____ Validade: _____
 Lote CQI: _____ Validade: _____ Diluição: _____

A. Registro dos resultados dos ensaios

Ensaio 1	Alíquota	DO	DO/CO
1,5 x CO = 4,5 x CO = Data =	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Ensaio 2 1,5 x CO = 4,5 x CO = Data =	7		
	8		
	9		
	10		
	11		
Ensaio 3 CO = 1,5 x CO = 4,5 x CO = Data =	12		
	13		
	14		
	15		
	16		
	n = 16		Σ DO/CO =

B. Média dos resultados da razão DO/CO obtidos

$$X = \frac{\sum(DO/CO)}{n}$$

C. Cálculo dos limites da variação aceitável para CQI positivo

Limite inferior = $X - 25\% =$

Limite superior = $X + 25\% =$

Conclusão:

CQI Validado Não validado

Variação aceitável para razão DO/CO: _____

Responsável: _____ Data: _____

n: Número de alíquotas; DO: Densidade óptica; CO: Cut off; Σ(DO/CO): Somatório da razão DO/CO; X: Média da razão DO/CO

ANEXO 6
**VALIDAÇÃO E CÁLCULO DE VARIAÇÃO ACEITÁVEL CQI
 HIV POSITIVO EM ENSAIO DE QUIMIOLUMINESCÊNCIA**

Conjunto diagnóstico: _____ Fabricante: _____
 Lote: _____ Validade: _____
 Lote CQI: _____ Validade: _____ Diluição: _____

A. Registro dos resultados dos ensaios

Ensaio 1	Alíquota	Valor de Índice
Valor de índice = 1,5 a 4,5 Data =	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
Ensaio 2 Valor de índice = 1,5 a 4,5 Data =	7	
	8	
	9	
	10	
	11	
Ensaio 3 Valor de índice = 1,5 a 4,5 Data =	12	
	13	
	14	
	15	
	16	
	n = 16	Σ Valor de Índice =

B. Média dos resultados dos valores de índice obtidos

$$X = \frac{\sum(\text{valor de índice})}{n}$$

C. Cálculo dos limites da variação aceitável para CQI positivo

Limite inferior = $X - 25\% =$

Limite superior = $X + 25\% =$

Conclusão:

CQI Validado Não validado

Variação aceitável: _____

Responsável: _____

Data: _____

n: Número de alíquotas; Σ Valor de índice: Somatório do valor de índice; X: Média do valor de índice

