

## Aula 5

# Controle de qualidade dos testes de floculação

A qualidade dos resultados é fundamental na prática laboratorial.

Para ter a garantia de execução correta do trabalho, é importante adotar medidas de controle de qualidade que permitam realizar uma avaliação de cada etapa.

Nesta aula você verá procedimentos que devem ser adotados para que os resultados produzidos sejam confiáveis e possam ser reproduzidos.

## Soros controles

Você deverá utilizar soros controles produzidos no laboratório disponível ou adquiridos de fonte idônea, e não somente os soros controles que são fornecidos com os conjuntos diagnósticos (*kit*).

Nem todos os conjuntos diagnósticos vêm com controles positivos e negativos. Se você estiver iniciando agora o diagnóstico da sífilis em seu laboratório e ainda não dispuser desse tipo de amostra, solicite a algum laboratório tecnicamente reconhecido que lhe envie amostras de soro controle para que você possa utilizá-las como padrão para produzir os seus próprios controles a partir das amostras de sua rotina.

Os controles que acompanham os *kits* nem sempre têm volume suficiente para você realizar o teste quantitativo todas as vezes em que prepara a suspensão antigênica e testa suas amostras.



Verifique a validade da suspensão antigênica e dos outros insumos em cada conjunto diagnóstico. Siga rigorosamente as instruções de cada fabricante.

## Prepare seus próprios controles

Os soros controles positivos que você deve utilizar em sua rotina devem ter pelo menos três títulos distintos: um baixo (até 1/4), um médio (1/8 a 1/16) e outro alto (acima de 1/32).

Armazene amostras reagentes obtidas da sua rotina. Para confirmar o título das amostras da sua rotina, teste-as em paralelo a amostras com títulos conhecidos.

Se os soros com reatividade conhecida reproduzirem o título esperado, os títulos das suas amostras serão considerados verdadeiros e elas poderão ser utilizadas como soros controles.

Prepare alíquotas desses soros com títulos conhecidos sem os diluir, tendo o cuidado de identificá-los com **data**, **título** e o **número de alíquotas armazenadas**.



Utilize uma planilha própria para registrar e controlar a utilização e o estoque dos soros.

Faça também alíquotas de amostras não reagentes. Lembre-se de preparar alíquotas dos controles em volume suficiente para apenas uma reação.

Estoque-as em freezer a menos 20°C e descongele diariamente apenas a alíquota necessária, que não deverá ser novamente congelada.

Ao descongelar os controles, não se esqueça de homogeneizá-los antes de fazer a inativação ou a reativação, e não misture amostras de soros positivos.



O procedimento de congelar e descongelar várias vezes um soro faz com que o título diminua.

# Cuidados com os soros controles

Determine o título do soro controle positivo antes de iniciar uma rotina com testes de floculação. A obtenção do título esperado para o soro controle é o que garante que a suspensão antigênica foi corretamente preparada e os equipamentos e insumos utilizados apresentam a qualidade desejada.

Nos casos das suspensões antigênicas prontas para uso, a titulação garante que estão estáveis e adequadas para uso.

Nos casos em que o título dos soros controles não corresponde ao esperado, se você não obtiver os títulos previamente definidos para os controles, e já tiver descartado a possibilidade de que o problema seja na qualidade da suspensão antigênica, verifique se:

- a velocidade de agitação da reação estava em  $180 \pm 2$  rpm;
- o tempo de agitação da reação foi o preconizado pelo fabricante do *kit*;
- a calibração da agulha ou da pipeta utilizada para dispensar a suspensão antigênica estava correta;
- a leitura foi feita imediatamente após o término da agitação;
- os procedimentos de lavagem do material empregado para fazer a reação foram adequados, pois resíduos de sabões e detergentes podem alterar os resultados da reação.

## Teste do controle negativo em cada rotina com testes de floculação

Ao testar o soro controle negativo, certifique-se de que a suspensão antigênica não apresenta flocos (grumos) grosseiros, que podem ser confundidos com reatividade da amostra no teste. Observe primeiro o controle negativo para estabelecer o parâmetro de negatividade da reação antes de fazer a leitura dos resultados das amostras da sua rotina.

## Instruções para lavagem dos materiais utilizados nos testes não treponêmicos, como o VDRL

Após a leitura do teste de VDRL, as lâminas devem ser colocadas em solução de álcool a 70% (p/p) ou hipoclorito de sódio a 1/5 (uma parte de hipoclorito de sódio comercial e quatro partes de água), para descontaminação. Lembre-se de que a suspensão antigênica é composta por lipídeos (cardiolipina, colesterol e lecitina).

Por isso, a lavagem das lâminas do VDRL, da seringa calibrada e do Erlenmeyer deve seguir os procedimentos descritos no passo a passo a seguir.

## Procedimentos para lavar materiais

**1** Lave as vidrarias com água e sabão neutro, utilizando uma escova.

**2** Enxágue pelo menos 10X com água corrente.

**3** Enxágue de 5 a 10X com água destilada.

**4** Enxágue 1X com álcool absoluto.

**5** Enxágue 1X com acetona.

**6** Deixe secar até que não haja qualquer resíduo de acetona.

**7** Guarde o material em local adequado para evitar poeira e arranhaduras nas lâminas de vidro.

Adiante estão listadas outras orientações para garantir a qualidade dos testes.

- Não use reagentes fora do prazo de validade estabelecido pelo fabricante.
- Não use testes sem registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).
- Prepare o protocolo de trabalho com atenção.
- Anote a data e a hora dos ensaios.
- Siga rigorosamente as instruções do fabricante e nunca altere os volumes estabelecidos.
- Use sempre soros controles positivos e negativos.
- Monitore diariamente a temperatura ambiente e registre-a em formulário próprio.
- Monitore diariamente a temperatura do banho-maria e registre-a em formulário próprio.
- Providencie as manutenções preventivas e corretivas dos equipamentos disponíveis.
- Participe de um programa de Avaliação Externa da Qualidade, conforme estabelecido na RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005.



Aprenda mais sobre esse tema realizando o curso **Equipamentos – utilização e monitoramento em unidades hemoterápicas e laboratórios de saúde pública** da série TELELAB.

## Referências

LARSEN, S.A., POPE, V., JOHNSON, R.E., KENNEDY, JR., E.J. A Manual of Tests for Syphilis. Washington: **APHA**, 1998, 361p. 9ª edição

MÜLLER, I.; BRADE, V.; HAGEDORN, H.J.; STRAUBE, E.; SCHÖRNER, C.; FROSCH, M. et al. Is serological testing a reliable tool in laboratory diagnosis of syphilis? Meta-analysis of eight external quality control surveys performed by the german infection serology proficiency testing program. **J Clin Microbiol.** 2006;44:1335-41.