

Maria Luís Cardoso e Laura Vilarinho  
Unidade de Biologia Clínica  
Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães

# Controlo de qualidade no diagnóstico laboratorial de doenças metabólicas

Os princípios da gestão, manutenção e controlo de qualidade tornaram-se nos pilares pelos quais de um modo geral os laboratórios se regem. Este texto pretende dar uma perspectiva do controlo de qualidade laboratorial no diagnóstico de doenças para garantir que os diagnósticos e monitorizações efectuados são adequados.

Ao longo dos últimos 25 anos a Unidade de Biologia Clínica (UBC) do Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães (IGM) tem-se dedicado ao diagnóstico quer sintomático quer pré-sintomático <sup>(1)</sup> das doenças hereditárias do metabolismo. Estas doenças são patologias de natureza genética em que a metabolização de um determinado composto se encontra alterada. Na sua origem está uma deficiência enzimática específica, afectando uma determinada via metabólica, levando à acumulação de substratos (muitas vezes tóxicos) e à produção diminuída ou nula de um produto biologicamente importante (devido à existência de mutações num ou vários genes codificantes para o passo metabólico em causa).

## Controlo de qualidade pré-analítico, analítico e pós-analítico

Dada a especificidade dos compostos a analisar para efectuar estes diagnósticos, e as metodologias que lhes estão associadas, houve desde sempre necessidade de efectuar controlo de qualidade que permitisse garantir a adequação dos protocolos utilizados ao fim em vista. Este é desenvolvido a três níveis: pré-analítico, analítico e pós-analítico.

No controlo de qualidade pré-analítico faz-se a validação dos pedidos de análise, verifica-se se a documentação anexa está conforme, se a identificação das amostras é correcta, a adequação da colheita em termos de quantidade de amostra, o anticoagulante utilizado, se há hemólise, se o transporte foi o indicado (rápido, refrigerado), etc. Esta fase é extremamente importante, pois vai condicionar a execução e o sucesso ou insucesso das etapas subsequentes.



Já o controlo de qualidade analítico está relacionado com os ensaios propriamente ditos. É essencial verificar que os equipamentos estão a funcionar adequadamente, proceder à sua calibração, confirmar que é utilizado o volume de amostra indicado e os reagentes correctos, averiguar se existem interferentes e que o algoritmo de cálculo está ajustado. É também importante proceder à confirmação de valores anormais a partir dos tubos primários para confirmação da identidade da amostra patológica. Na fase analítica recorre-se à utilização de duas ferramentas essenciais em todo o processo: o controlo de qualidade interno e o controlo de qualidade externo.

No controlo de qualidade pós-analítico cruzam-se resultados entre si no sentido de avaliar a sua conformidade em termos de metabolismo (por exemplo, relacionam-se as concentrações de amónia com a glutamina, já que *in vivo* uma elevação da amónia favorece a síntese de glutamina), integram-se os resultados obtidos com a história clínica para verificar se vão de acordo ao esperado e avalia-se ainda a necessidade de fazer os estudos complementares para chegar a um diagnóstico.

## Controlo de qualidade interno e externo

O controlo de qualidade interno não difere em termos de concepção e execução daquele que é efectuado normalmente num laboratório de bioquímica. Consiste na verificação periódica (normalmente diária) de que os valores obtidos para os vários parâmetros, em amostras de composição conhecida, não se afastam significativamente do valor teórico, permitindo assim validar o ensaio e aceitar como adequados os resultados das amostras desconhecidas processadas em paralelo no mesmo equipamento. Os resultados do controlo de qualidade interno servem ainda para traçar as cartas controlo.

O controlo de qualidade interno é insuficiente, pois não permite um posicionamento face aos outros laboratórios que efectuam o mesmo tipo

de estudos. Há, por conseguinte, necessidade de recorrer aos programas de controlo de qualidade externo, os quais comparam entre si os resultados obtidos por diferentes laboratórios na análise de amostras seleccionadas normais e patológicas de composição desconhecida, funcionando o seu estudo como um "exame" para cada laboratório participante.

## Programas europeus de controlo de qualidade externo aplicados ao diagnóstico de doenças metabólicas

Dado que uma das principais áreas de actividade da UBC é, desde a sua criação, o diagnóstico das aminoacidopatias, ao qual se juntou mais tarde o das acidúrias orgânicas, o serviço teve desde muito cedo necessidade de integrar programas de controlo de qualidade internacionais. Participou vários anos (desde 1990) no programa de controlo de qualidade externo francês para os estudos dos aminoácidos (coordenado pelo Professor Kamoun do Hopital Necker de Paris), o qual envolvia a quantificação de aminoácidos, sua interpretação e identificação da aminoacidopatia em causa. Integra desde 1992 o programa de controlo de qualidade externo inglês de Sheffield para a análise de ácidos orgânicos (coordenado pelo Doutor Bonham). Este implica a extracção e análise dos ácidos orgânicos pela metodologia adoptada no laboratório (cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa), em nove amostras/ano organizadas em grupos de três.

Há posteriormente necessidade de proceder à interpretação dos perfis, confrontar os resultados com o breve resumo da história clínica fornecido, emissão de um relatório de acordo com regras específicas, quais as hipóteses de diagnóstico e quais os exames que são necessários realizar para confirmar o resultado. No caso do perfil ser característico de uma acidúria orgânica específica é necessário estabelecer o défice enzimático e indicar o código da OMIM (*on-line mendelian inheritance in man*).

## O ERNDIM

A importância de um programa europeu de controlo de qualidade externo na área das doenças metabólicas foi reconhecida e a sua implementação comparticipada por verbas comunitárias na década de 90 sob a coordenação da SSIEM (*Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism*). Os objectivos do

projecto foram o de melhorar e padronizar a qualidade, precisão e exactidão nos laboratórios para melhorar os diagnósticos ao mais baixo custo; promover a cooperação e troca de informação entre os laboratórios europeus, bem como definir condições para acreditação nos laboratórios europeus que se dedicam ao diagnóstico das DHM. Deu-se então a fusão de vários programas de controlo de qualidade mais pequenos já em funcionamento (entre os quais os dois acima referidos para os aminoácidos e ácidos orgânicos), reorganização dos mesmos, sua ampliação para que mais centros a eles pudessem aceder, promoção do projecto dentro da comunidade científica e passando a designar-se ERNDIM (*European Research Network for evaluation and improvement of screening, Diagnosis and treatment of Inherited disorders of Metabolism*).

A UBC integrou desde o seu início os programas de controlo de qualidade externo do ERNDIM para os vários parâmetros sanguíneos e urinários, análise quantitativa de aminoácidos, análise qualitativa e quantitativa de ácidos orgânicos e cistina intra-leucocitária. Cada programa é planeado e controlado por especialistas indicados pela direcção do ERNDIM. A interface entre os laboratórios e o ERNDIM é feita via *internet*.

<http://www.ssiem.org.uk/erndim.html>

Há necessidade de uma palavra passe, devendo seguidamente ser especificadas as informações relativas ao laboratório e aos métodos analíticos utilizados para cada parâmetro, sendo então possível introduzir os resultados obtidos e cerca de duas semanas mais tarde aceder aos resultados em termos de análise comparativa.

Dado que os estudos metabólicos têm obrigatoriamente de ser interpretados em função do contexto e do estado do doente no momento em que o mesmo foi realizado, o ERNDIM criou um controlo de qualidade de desempenho global (*proficiency*), o qual implica face a uma história clínica resumida e a um volume limitado de amostra biológica, a selecção das análises a efectuar, sua execução, interpretação de resultado, sugestão de estudos enzimáticos ou moleculares confir-

matórios e o tipo de intervenção possível. A UBC participa no *proficiency* em parceria com a Unidade de Enzimologia já que as patologias em causa (doenças hereditárias do metabolismo) podem pertencer à área de trabalho de uma outra Unidade. Os óptimos resultados que temos obtido neste teste de performance são motivo de orgulho para todos os que trabalham na Unidade e demonstram o benefício para o serviço prestado do esforço de actualização tecnológica e científico que tem sido mantido ao longo dos anos.

## Controlo de qualidade externo aplicado ao rastreio neonatal

Na UBC funciona também o Laboratório Nacional de Rastreios, que efectua o Diagnóstico Precoce (vulgo teste do pezinho) no nosso país, o qual inclui o rastreio da fenilcetonúria (uma doença metabólica) e do hipotiroidismo congénito (uma doença do foro endocrinológico) em todos os bebés portugueses, através da colheita de umas gotas de sangue para papel de filtro, feita durante a primeira semana de vida. Contrariamente à maioria dos países europeus, em que o rastreio neonatal é regional, em Portugal funciona centralizado. Até 2 de Fevereiro de 2005 tinham sido testados 2 457 387 recém-nascidos. O sucesso deste programa assenta numa equipa empenhada e com espírito de missão, numa organização eficiente e num controlo de qualidade apertado.

Já em 1987 a Unidade participava no programa francês de controlo de qualidade externo para rastreio neonatal, entretanto participou também no programa italiano, uma vez que nestes países o diagnóstico precoce é uma actividade multicêntrica. Em 1999 aderiu ao programa NEQAS (*National External Quality Assessment Service*), que ainda mantém. Este programa não só avalia a exactidão das determinações, mas também a atitude que o laboratório adopta face a determinado valor, isto é se o considera normal e não faz qualquer intervenção, se necessita de uma segunda amostra para tomar uma decisão ou se o resultado encontrado é francamente anormal e há necessidade urgente de iniciar um tratamento. É por conseguinte um programa de avaliação da performance global em termos de rastreio da fenilcetonúria e do hipotiroidismo congénito.

<http://www.ukneqas.org.uk/Directory/CC/neonatal.htm>.

Apesar de isoladamente serem raras as doenças metabólicas, no seu conjunto são relativamente frequentes e o prognóstico é muitas vezes condicionado pelas sequelas do episódio de

descompensação inicial, daí que em muitos países se esteja já a fazer o rastreio neonatal pré-sintomático de mais de duas dezenas destas patologias. Também em Portugal dar-se-á este ano o alargamento do Programa Nacional de Diagnóstico Precoce a mais 13 doenças metabólicas, através da determinação de aminoácidos e acilcarnitinas a partir do sangue do "teste do pezinho". Com aquisição dos dois espectrómetros de massa API-2000 (Applied Biosystems) para esse efeito (no âmbito do programa Saúde XXI) houve necessidade de, uma vez optimizados os protocolos analíticos e efectuados os estudos retrospectivos convenientes, testar a capacidade analítica antes de disponibilizar o serviço à comunidade.

Neste contexto, a UBC foi convidada a participar sem custos adicionais nos programas de controlo de qualidade europeus, para análise e interpretação de perfis de acilcarnitinas do ERNDIM e para rastreio neonatal alargado de Hamburgo, ambos em fase experimental. Está integrada desde 2003 no programa de controlo de qualidade do CDC (*Centre for Disease Control*) dos EUA para rastreio neonatal.

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5003a1.htm>

Este é um programa gratuito (tendo como objectivo que todos efectuem, de modo voluntário, o controlo de qualidade externo e melhorem o seu serviço), englobando entre outras a determinação de acilcarnitinas e aminoácidos a partir da ficha de Diagnóstico Precoce, o rastreio da galactosemia, doseamento específico de fenilalanina, TSH, T4 neonatal, 17-hidroxiprogesterona e biotinidase, cujos resultados são depois publicados numa *newsletter* e ficam disponíveis na *internet* com anonimato garantido.

Embora a participação em programas de controlo de qualidade externo implique custos e trabalho acrescido para o laboratório, as vantagens são muitas: ajuda a produzir resultados mais exactos, dá confiança aos clínicos que recorrem aos serviços, permite aos doentes serem controlados em qualquer laboratório europeu já que os resultados são comparáveis entre si, dá garantias aos parceiros europeus para que possam desenvolver parcerias e é um motivo de orgulho e motivação para os profissionais de saúde envolvidos, contribuindo para um bom desempenho e produtividade.

(\*) O diagnóstico pré-sintomático refere-se ao Programa Nacional de Diagnóstico Precoce.

Apresentação realizada na XLI Conferência de Genética, Porto, 2005

