

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular
Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos

DULCE LEMOS LOPES

**CONFIABILIDADE DOS TESTES SOROLÓGICOS REALIZADOS
PELOS SERVIÇOS DE HEMOTERAPIA PARTICIPANTES DO
PROGRAMA DE AVALIAÇÃO EXTERNA DA QUALIDADE EM
SOROLOGIA (2001 a 2003).**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Imunobiológicos

RIO DE JANEIRO

2005

Ficha Catalográfica na Fonte

CICT / FIOCRUZ

Biblioteca de Manguinhos – Setor de Processamento Técnico de Monografias/Multimeios

L864 Lopes, Dulce Lemos

Confiabilidade dos testes sorológicos realizado pelos Serviços de Hemoterapia participantes do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia (2001 a 2003). / Dulce Lemos Lopes. – Rio de Janeiro, 2005.

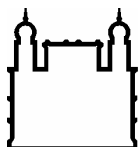
131f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos) – Instituto de tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos – Departamento de Reativos para Diagnóstico) em parceria com o Instituto Oswaldo Cruz, Biologia Celular, 2005.

1. Reprodutibilidade de resultados.
2. Testes sorológicos.
3. Banco de sangue.
4. Controle de qualidade

CDD 616.9363

Trabalho realizado no Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, no Laboratório de Produção de Painéis Sorológicos do Departamento de Reativos para Diagnóstico, sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Sônia Regina Lambert Passos



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular
Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos**

DULCE LEMOS LOPES

**CONFIABILIDADE DOS TESTES SOROLÓGICOS REALIZADOS
PELOS SERVIÇOS DE HEMOTERAPIA PARTICIPANTES DO
PROGRAMA DE AVALIAÇÃO EXTERNA DA QUALIDADE EM
SOROLOGIA DE 2001 A 2003.**

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Sônia Regina Lambert Passos

Aprovada em: 30/03/05

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho - Presidente

Prof^a. Dra. Fernanda Carvalho de Queiroz Mello

Prof. Dr. Akira Homma

Rio de Janeiro, 30 de março de 2005.

Aos meus pais Joaquim e Alzira, pela vida, pela força, pelo amor e, sobretudo pela luz que ilumina sempre o meu caminho;

Ao meu irmão Paulo e minha cunhada Tereza, pelo carinho e companheirismo;

Aos meus sobrinhos/afilhados Paulo Sergio, Roberta e Patrícia meus amores eternos, por serem tão presentes na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Aos meus tios do coração Alfredo e Neuza o meu carinho.

Ao Dr. Akira Homma, com enorme carinho pela oportunidade de seguir o meu caminho, a minha vocação.

À Dra. Sônia Regina Lambert Passos, minha orientadora, pelo estímulo e sua valiosa orientação no decorrer deste estudo.

A Dra^a Beatriz MacDowell e Dr. José Antonio de Faria Vilaça (GGSTO/ANVISA/MS) pelo apoio, confiança e credibilidade ao Projeto que resultou na elaboração da minha dissertação, os meus mais sinceros agradecimentos.

À coordenação do Curso de Mestrado Profissional – MPTI, os meus agradecimentos.

Aos membros da Banca de acompanhamento do Projeto de Dissertação Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho e Dra. Mirna Bonaldo, cujas sugestões foram essenciais ao desenvolvimento do presente trabalho.

Aos professores do Curso, que me proporcionaram novos conhecimentos.

Aos colegas e amigos da turma de Mestrado, em especial ao Tuninho e Joel.

Aos amigos Carlos Renato, Angélica e Lúcia Helena, pela colaboração na realização de diversas etapas deste estudo.

Às amigas Maria e Marli, pelo carinho, incentivo e principalmente pela enorme contribuição na elaboração desta dissertação.

Aos amigos Eliane e Marco Antonio pela amizade, grande apoio e incentivos sempre recebidos.

Ao João Cláudio Arnaldo Alves por sua valorosa colaboração na montagem do banco de dados, sem o qual este estudo não teria sido possível.

Aos colegas e amigos do Departamento de Reativos para Diagnóstico, em especial ao Laboratório de Produção de Painéis Sorológicos os meus agradecimentos e o meu carinho.

Aos meus amigos que, presentes ou ausentes, fazem-se perceber.

***“Ninguém sabe do quanto é capaz
até que tenta”***

Publius Syrus

ÍNDICE

RESUMO	X
ABSTRACT	XI
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XII
LISTA DE FIGURAS	XV
LISTA DE QUADROS	XVI
LISTA DE TABELAS	XVII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Programa de Qualidade do Sangue	1
1.2. Controle ou Programa de Avaliação Externa da Qualidade	8
1.3. Doenças Passíveis de Transmissão através do sangue	12
1.3.1 HIV	13
1.3.1.1. Agente Etiológico.....	13
1.3.1.2. Formas de Transmissão	14
1.3.1.3. Testes Sorológicos	15
1.3.2. HTLV	19
1.3.2.1. Agente Etiológico.....	19
1.3.2.2. Formas de Transmissão	20
1.3.2.3. Testes Sorológicos	20
1.3.3. Doença de Chagas.....	21
1.3.3.1. Agente Etiológico.....	22
1.3.3.2. Formas de Transmissão	22
1.3.3.3. Testes Sorológicos	23
1.3.4. Hepatites	25
1.3.4.1. Agente Etiológico.....	26
1.3.4.2. Formas de Transmissão	26
1.3.4.3. Testes Sorológicos	26
1.3.5. Sífilis.....	27
1.3.5.1. Agente Etiológico.....	28
1.3.5.2. Formas de Transmissão	28
1.3.5.3. Testes Sorológicos	29
1.4. Confiabilidade	31

2. JUSTIFICATIVA	34
3. OBJETIVO GERAL	35
3.1. Objetivos específicos.....	35
4. SUJEITOS E MÉTODOS	36
4.1. Delineamento do estudo.....	36
4.2. Casuística.....	36
4.3. Composição dos Painéis Sorológicos	38
4.4. Variáveis de interesse	42
4.4.1. Técnicas dos Testes sorológicos avaliados	42
4.4.1.1. Teste de Hemaglutinação passiva ou indireta (HAI) ..	44
4.4.1.2. Teste Imunoenzimático (EIE ou ELISA)	46
4.4.1.3. Teste de Imunofluorescência (IF)	48
4.4.1.4. Teste de Floclulação (VDRL)	50
4.5. Análise dos Dados.....	51
4.6. Local de realização.....	51
4.7. Considerações éticas	52
5. RESULTADOS	53
5.1. Resultados de Kappa para teste sorológico HIV	54
5.2. Resultados de Kappa para teste sorológico HTLV	55
5.3. Resultados de Kappa para teste sorológico Doença de Chagas ...	55
5.4. Resultados de Kappa para teste sorológico HBsAg.....	57
5.5. Resultados de Kappa para teste sorológico HBcAg.....	58
5.6. Resultados de Kappa para teste sorológico HCV	59
5.7. Resultados de Kappa para teste sorológico Sífilis	59
6. DISCUSSÃO	61
7. CONCLUSÕES	70
8. PERSPECTIVAS FUTURAS	72
9. ANEXOS	73
Anexo 1 – Resultados do Kappa obtidos para os testes realizados no diagnóstico do HIV, por Kit, segundo laboratório participante	73
Anexo 2 – Resultados do Kappa obtidos para os testes realizados no diagnóstico do HTLV, por Kit, segundo laboratório participante	77
Anexo 3 – Resultados do Kappa obtidos para os testes realizados no diagnóstico da D. Chagas, por Kit, segundo laboratório participante ...	80

Anexo 4 – Resultados do Kappa obtidos para os testes realizados no diagnóstico do HBsAg, por Kit, segundo laboratório participante	85
Anexo 5 – Resultados do Kappa obtidos para os testes realizados no diagnóstico do HBcAg, por Kit, segundo laboratório participante.....	88
Anexo 6 – Resultados do Kappa obtidos para os testes realizados no diagnóstico do HCV, por Kit, segundo laboratório participante	91
Anexo 7 – Resultados do Kappa obtidos para os testes realizados no diagnóstico do Sífilis, por Kit, segundo laboratório participante	94
Anexo 8 – Leis.....	97
Anexo 9 – Decretos	98
Anexo 10 – Portarias	99
Anexo 11 – Resoluções.....	102
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

RESUMO

Como rege a constituição brasileira, “a saúde é direito de todos e dever do Estado”. No âmbito da política de sangue atualmente vigente no Brasil, é dever do Estado prover acesso universal e de boa qualidade aos serviços de hemoterapia em funcionamento no país. Instaurar, sustentar e expandir a qualidade dos serviços de hemoterapia implica em garantir a segurança das transfusões sanguíneas, o que somente pode ser alcançado através da prevenção da disseminação dos agentes causadores de doenças infecto-contagiosas. Visando o fornecimento de “sangue com garantia de qualidade em todo o seu processo” – meta mobilizadora nacional para o setor saúde até 2003 – o Ministério da Saúde lançou, através da Gerência Geral de Sangue e Outros Tecidos e Órgãos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (GGSTO/ANVISA) a implantação de um sistema de controle e avaliação externa da qualidade. Tal projeto – objeto desta dissertação – teve como objetivo garantir a exatidão dos resultados dos testes sorológicos assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos por 130 Serviços de Hemoterapia do Brasil denominados laboratórios participantes do programa de avaliação externa da qualidade. A confiabilidade dos testes realizados por estes laboratórios participantes - testes anti-HIV-1/2; testes anti-HTLV-I/II; testes anti-HBV; testes anti-HCV; testes para detecção do HBsAg; e testes de triagem para Doença de Chagas e Sífilis - foram aferidas através do índice estatístico Kappa (K). Os resultados dos testes obtidos pelos laboratórios participantes foram analisados através índice do Kappa, aos resultados dos testes já conhecidos pelo Laboratório Organizador (LAPPS/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ). Os testes de triagem realizados pelos laboratórios participantes foram, então, classificados segundo o grau de concordância, como sofríveis, ruins, regulares, moderados, bons ou excelentes. Além de fornecer informações a respeito da confiabilidade dos Serviços de Hemoterapia no país, é descrita a implantação e operacionalização do programa de controle externo da qualidade do sangue no Brasil, os quais poderão contribuir para a auto-avaliação e, se necessário, reestruturação destes serviços para melhor servir e proteger a saúde do cidadão brasileiro.

ABSTRACT

As stated in the Brazilian Constitution “health is the right of all citizens and a State duty”. According to the current blood policy established in Brazil, it is the State’s duty to provide universal access to good quality blood banking services operating in the country. To install, maintain and expand the quality of blood banking services, one must assure the safety of blood transfusions. This, in turn, can only be accomplished through the prevention of the dissemination of pathogens responsible for causing infectious diseases. Seeking the provision of “*blood with quality assurance throughout its process*” – a national mobilization goal for the health sector until 2003 – the Ministry of Health has launched, through the General Management for blood and Other Tissues and Organs of the National Agency of Health Surveillance (GGSTO/ANVISA) the implantation of an external quality control and assurance system. This project had as its goal to assure the reability of the serological test results obtained in 130 blood banking services, participating in the external quality evaluation program in Brazil. The reliability of the tests carried out by these blood banking services – tests anti-HIV-1/2; tests anti-HTLV-I/II; tests anti-HBV; tests anti-HCV; tests for the detection of HBsAg; and screening tests for Chagas disease and Syphilis – were measured by means of a statistical index Kappa (K). The test results obtained by the participating laboratories were compared to the already known test results of the Organizing Laboratory (LAPPS/Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) by using Kappa values. The serological tests carried out by the participating laboratories were thus classified according to their degree of proximity to the true test results, as bad, regular, moderate, good or excellent. Besides describing information as to the reliability and quality level of the blood banking services in the country, this dissertation also offers the implementation and operationalization of the external quality evaluation program/system for blood in Brazil. This dissertation also constitutes an essential tool for self-evaluation and, if necessary, re-structuring on the part of such services so that they may better serve and protect the health status of the Brazilian citizen.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

Ac - Anticorpo

AEQ – Avaliação Externa da Qualidade

Ag - Antígeno

AIDS – Acquired Immunodeficiency Síndrome

Anti-HBc – Anticorpo contra o Antígeno do core do vírus da hepatite B

Anti-HBs – Anticorpo contra o Antígeno de Superfície do vírus da hepatite B

Anti-HCV – Anticorpo contra o vírus da Hepatite C

Anti-HIV – Anticorpo contra o vírus da imunodeficiência humana

Anti-HTLV – Anticorpo contra o Vírus Linfotrópico de célula T Humana

ANVS – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATL – Leucemia das Células T

BA – Bahia

AU – Antígeno Austrália

CRNHV – Centro de Referência Nacional de Hepatites Virais

DERED – Departamento de Reativos para Diagnóstico

DNA – Ácido Desoxiribonucleico

DST – Doença Sexualmente Transmissível

EIA – Enzyme Immunosorbent assay

EIE – Ensaio imunoenzimático

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent assay

EUA – Estados Unidos da América

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

FITC - Isotiocianato de fluoresceína

FTA-Abs – Fluorescent Treponemal Antibody Absorption

GGLAS – Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública

GGSTO – Gerência Geral de Sangue Outros Tecidos e Órgãos

GO – Goiás

HAI – Hemaglutinação indireta

HBc – Antígeno central do vírus da hepatite B

HBsAg – Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV – Vírus da hepatite B
HCV – Vírus da hepatite C
HEMOAM – Hemocentro do Amazonas
HEMOBA – Hemocentro da Bahia
HEMOCAMP – Hemocentro de Campinas
HEMOMINAS – Hemocentro de Minas Gerais
HEMOPE – Hemocentro de Pernambuco
HEMORIO – Hemocentro do Rio de Janeiro
HI – Inibição da Hemaglutinação
HIV – Human Immunodeficiency Virus
HIV-1 – Human Immunodeficiency Virus 1
HIV-2 – Human Immunodeficiency Virus 2
HTLV – Human T-Lymphotropic Viruses
HTLV I – Human T-Lymphotropic Viruses I
HTLV II – Human T-Lymphotropic Viruses II
HTLV III – Human T Cell Lymphotropic Viruses
IF – Imunofluorescência
IFI – Imunofluorescência Indireta
INCQS - Instituto nacional de Controle de Qualidade em Saúde
K - Kappa
LAPPS - Laboratório de Produção de Painéis Sorológicos
LASP - Laboratório de Saúde Pública
LAV – Lymphadenopathy Associated Virus
MS - Ministério da Saúde
nm - Nanômetro
OMS - Organização Mundial da Saúde
OPAS - Organização Panamericana de Saúde
PBQP - Programa Brasileiro de Qualidade e Produtividade
PCQE - Programa de Controle de Qualidade Externa
PET - Paraparesia Espástica Tropical
PRO-SANGUE - Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

REBLAS - Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde

RJ - Rio de Janeiro

RNA - Ácido Ribonucleico

RPR - Rapid Plasma Reagin

SC - Santa Catarina

SDS - Sulfato de Duodecil Sódico

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences

VDRL - Venereal Disease Research Laboratory

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Concepção do Programa Qualidade do Sangue	4
Figura 2: Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando houver dois testes não reagentes para HIV	16
Figura 3: Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando houver dois testes reagentes para HIV	17
Figura 4: Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando houver um teste reagente e outro não reagente para HIV	18
Figura 5: Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue de testes para Doença de Chagas	24
Figura 6: Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue de testes para HTLV, Hepatites B e C e Sífilis	30
Figura 7: Fluxograma de apresentação do Sistema de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia	41
Figura 8: Esquema do teste de hemaglutinação passiva ou indireta (HAI)	45
Figura 9: Esquema do ensaio imunoenzimático (ELISA) para a detecção de antígenos (A) e anticorpos (B)	47
Figura 10: Esquema do teste de imunofluorescência (IF)	49
Figura 11: Esquema do teste de floculação – teste não treponêmico	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Objetivos dos 12 Projetos da Meta Mobilizadora para as áreas de sangue e hemoderivados	5
Quadro 2: Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue	10
Quadro 3: Distribuição das infecções ou doenças com triagem Laboratorial normatizada de acordo com o ano de publicação da norma específica	11
Quadro 4: Interpretação do grau de concordância segundo os valores Kappa	33
Quadro 5: Relação de regiões federativas e o número de laboratórios Participantes por estado que participam do Programa AEQ de 2001 a 2003	37
Quadro 6: Distribuição das metodologias mais utilizadas nos testes para triagem laboratorial de doenças infecciosas em doadores de sangue	43
Quadro 7: Kits utilizados pelos Serviços de Hemoterapia Participantes do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia.....	53
Quadro 8: Kits utilizados pelos Laboratórios de Referência e pelos Serviços de Hemoterapia Participantes	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tabela 2x2 com resultados de uma prova de confiabilidade ...	32
Tabela 2: Número (%) de instituições participantes no Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia	36
Tabela 3: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o ensaio Imunoenzimático – (EIE) para HIV segundo o Kit utilizado	54
Tabela 4: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o ensaio imunoenzimático – (EIE) para HTLV segundo o Kit utilizado	55
Tabela 5: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o ensaio Imunoenzimático – (EIE) para Doença de Chagas segundo o Kit utilizado	56
Tabela 6: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o método de hemaglutinação indireta – (HAI) para Doença de Chagas segundo o Kit utilizado	56
Tabela 7: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o método de imunofluorescência indireta – (IFI) para Doença de Chagas segundo o Kit utilizado	56
Tabela 8: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o ensaio Imunoenzimático – (EIE) para HBsAg segundo o Kit utilizado	57
Tabela 9: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o ensaio Imunoenzimático – (EIE) para HBcAg segundo o Kit utilizado	58
Tabela 10: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para o ensaio Imunoenzimático – (EIE) para HCV segundo o Kit utilizado	59
Tabela 11: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para VDRL para Sífilis segundo o Kit utilizado.....	60
Tabela 12: Quantitativo (nº absoluto) de resultados Kappa para VDRL para Sífilis segundo o Kit utilizado.....	60
Tabela 1.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE para HIV	73
Tabela 1.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12– EIE para HIV	73

Tabela 1.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 15 – EIE para HIV	74
Tabela 1.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 17 – EIE para HIV	74
Tabela 1.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 23 – EIE para HIV	75
Tabela 1.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 32 – EIE para HIV	75
Tabela 1.7: Resultados do Kappa obtido para o Kit 36– EIE para HIV	76
Tabela 1.8: Resultados do Kappa obtido para o Kit 45 – EIE para HIV	76
Tabela 2.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 01 – EIE para HTLV	77
Tabela 2.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE para HTLV	77
Tabela 2.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 4 – EIE para HTLV	79
Tabela 3.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 1 – EIE para Doença de Chagas.....	80
Tabela 3.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 2 – HAI para Doença de Chagas.....	81
Tabela 3.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE para Doença de Chagas.....	82
Tabela 3.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 4 – HAI para Doença de Chagas.....	83
Tabela 3.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 5 – HAI para Doença de Chagas.....	83
Tabela 3.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6 – EIE para Doença de Chagas.....	83
Tabela 3.7: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12 – IFI para Doença de Chagas.....	84
Tabela 4.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE para HBsAg	85

Tabela 4.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 9 – EIE para HBsAg	85
Tabela 4.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 11 – EIE para HBsAg	85
Tabela 4.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12 – EIE para HBsAg	86
Tabela 4.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 15 – EIE para HBsAg	86
Tabela 4.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 16 – EIE para HBsAg	87
Tabela 5.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE para HBcAg	88
Tabela 5.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 5 – EIE para HBcAg	88
Tabela 5.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6 – EIE para HBcAg	88
Tabela 5.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 7 – EIE para HBcAg	89
Tabela 5.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 8– EIE para HBcAg	90
Tabela 5.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 9 – EIE para HBcAg	90
Tabela 6.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE para HCV	91
Tabela 6.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6 – EIE para HCV	91
Tabela 6.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 7 – EIE para HCV	91
Tabela 6.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 8 – EIE para HCV	92
Tabela 6.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 11 – EIE para HCV	92
Tabela 6.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 13 – EIE para HCV	92

Tabela 6.7: Resultados do Kappa obtido para o Kit 14 – EIE para HCV.....	93
Tabela 7.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 1 – VDRL para Sífilis.....	94
Tabela 7.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 4 – VDRL para Sífilis.....	94
Tabela 7.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6 – RPR para Sífilis.....	95
Tabela 7.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 9 – VDRL para Sífilis.....	95
Tabela 7.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12 – VDRL para Sífilis.....	96
Tabela 7.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 13 – VDRL para Sífilis.....	96

1. INTRODUÇÃO:

1.1 Programa de Qualidade do Sangue

A qualidade e a segurança de transfusões sanguíneas constituem-se uma preocupação constante de médicos especialistas e autoridades em saúde, sendo considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como um dos dez principais problemas de saúde em escala mundial (Oknaian et al, 2003). Segundo Oknaian, (2003), 80% da população mundial vive em países em desenvolvimento enfrenta a problemática na qualidade das transfusões decorrentes das políticas econômicas inadequadas, assim como de programas educativos com relação a saúde.

Em meio a primeira Guerra Mundial, o oficial das forças armadas americanas Oswald Robertson criou o primeiro depósito de sangue, dando início em 1916 aos bancos de sangue modernos. Contudo, somente em 1937, Bernard Fantus, diretor clínico do Hospital de Chicago, deu origem ao termo “banco de sangue”. Nos anos seguintes, bancos de sangue hospitalares e comunitários passaram a ser estabelecidos em todo os Estados Unidos da América (E.U.A.). Segundo Kim et al (2002), são transfundidas nos EUA, anualmente, mais de 23 milhões de unidades de componentes sanguíneos no país. Ainda de acordo com Kim, as décadas de 50, 60 e 70 foram importantes para a regulação de produtos biológicos. Conforme citado pelo autor, os dados demonstravam que o sangue fornecido por bancos de sangue comerciais, apresentavam maiores riscos de transmissão de hepatite quando comparados com os bancos de sangue voluntários. Em 1970, os bancos de sangue foram direcionados para um sistema de doação estritamente voluntária. Contudo, o surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) em 1980 ameaçou a segurança do fornecimento de sangue nos E.U.A., tornando-se imprescindível a melhoria dos testes de triagem para o sangue doado.

A hemoterapia no Brasil e no mundo tem como característica unânime o desenvolvimento e adoção de novas tecnologias objetivando minimizar os riscos transfusionais, especialmente quanto à prevenção da disseminação de agentes infecto-contagiosos (Regan et al, 2002).

De acordo com Sáez-Alquézar et al (2003), desde o início da década de noventa, os testes sorológicos em bancos de sangue tem sido uma medida essencial para interromper a transmissão de doenças infecciosas por transfusão sanguínea.

Nos últimos anos, a Organização Panamericana de Saúde (OPAS) vem desenvolvendo ações para reforçar nos Serviços de Hemoterapia da América Latina, dentre vários procedimentos, a regulação dos testes diagnósticos e o controle de qualidade dos reativos utilizados (OPAS, 1999).

No Brasil, a efetiva participação do Ministério da Saúde (MS) na formulação da política e na gestão dos serviços nacionais de hemoterapia teve início na década de oitenta, a partir da criação do Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados, mais conhecido como PRO-SANGUE (ANVS, 1999). Este Programa objetivava dotar o país de uma estrutura (Hemocentros Estaduais) capaz de garantir sangue em quantidade e qualidade a todos que dele precisassem (Souza et al, 1999). Entretanto, foi a partir da 8ª Conferência Nacional de Saúde, em 1986, com a premissa de que “é dever do Estado prover os meios para um atendimento hematológico e hemoterápico de acesso universal e de boa qualidade”, que tal política foi melhor definida (Wanderley et al, 1993).

Segundo instâncias ministeriais, uma radiografia mais ampla da área de sangue e hemoderivados realizada no país revelou que, apesar dos grandes avanços atingidos pelo PRO-SANGUE na hemoterapia brasileira até a década de noventa, estes serviços ainda padeciam de significativos desníveis tecnológicos quando comparados a serviços internacionais de excelência técnico-científica. Pode-se dizer que, naquela época, a insegurança e a apreensão dos pacientes a quem se indicavam transfusões sanguíneas, eram ainda tão expressivas que o soerguimento da hemoterapia brasileira entrou na pauta da política como angustiante questão social a ser urgentemente sanada. A necessidade de garantir e expandir, para todo o país, os altos níveis de qualidade até então atingidos apenas pelos melhores serviços nacionais de hemoterapia tornou-se uma das grandes “Metas Mobilizadoras Nacionais” do Programa Brasileiro de Qualidade e Produtividade (PBQP), que então integrava o Programa de Garantia da Qualidade do Sangue do Ministério da Saúde. A Meta Mobilizadora para o Setor Saúde propunha “*sangue com garantia de*

qualidade em todo o seu processo até 2003” (ANVS, 1999). Foi assim aberto, no fim da década de noventa, amplo debate sobre quais estratégias deveriam ser adotadas para que o objetivo geral proposto para o Setor Saúde fosse devidamente atingido. Em maio de 1998, o MS definiu doze projetos a serem executados para garantir a qualidade na área de sangue e hemoderivados. Estes projetos/programas foram elaborados pelos comitês temáticos com a representação de membros da sociedade, de técnicos do Ministério da Saúde, dos serviços de hemoterapia, das vigilâncias sanitárias dos estados, de especialistas desta área e dos usuários.

Este estudo corresponde à implementação de um Sistema de Controle de Qualidade Externo em Sorologia em Unidades Hemoterápicas (Figura 1) e o quinto dos 12 Projetos da Meta Mobilizadoracujos objetivos estão listados no Quadro 1.

CONCEPÇÃO DO PROGRAMA QUALIDADE DO SANGUE

Ampliação do número de Inspeções Sanitárias em Unidades Hemoterápicas

Formulação da Política Nacional de Sangue e Hemoderivados

Programa Nacional de Hemoderivados

Reestruturação do sistema de Vigilância Sanitária do sangue

Programa Nacional de Doação Voluntária

Implementação do Programa Nacional de Acreditação de Unidades Hemoterápicas

Implantação de Programas de Capacitação de Recursos Humanos

Implantação de Programas de Qualidade Total na Hemorrede

Implementação do Sistema Nacional de Informações Gerenciais do sangue

Sistematização do Controle de Qualidade dos Insumos para Hemoterapia

Implementação de um sistema de Controle de Qualidade Externo

Implantação de Programa de Infra-estrutura física e organizacional



Figura 1: Concepção do Programa Qualidade do Sangue.

Fonte: ANVS, Ministério da Saúde, 1999.

Quadro 1: OBJETIVOS DOS 12 PROJETOS DA META MOBILIZADORA PARA A ÁREA DE SANGUE E HEMODERIVADOS

1. Formulação da Política Nacional de Sangue e Hemoderivados	Definir uma política única de sangue e hemoderivados para o país, garantindo sua disponibilidade, segurança e qualidade, que contemple a participação do governo e da sociedade civil.
2. Implementação do Sistema Nacional de Informações Gerenciais do Sangue e Hemoderivados	Fomentar a criação da Rede Nacional de Informações do Sangue e Hemoderivados que, uma vez implantada, permite aos gestores nas três esferas – federal, estadual e municipal – de governo, acesso total aos dados essenciais à tomada de decisões e ao gerenciamento do processo do sangue na hemorrede nacional.
3. Implantação do Programa da Qualidade Total na Hemorrede	Desenvolver uma metodologia e promover a orientação técnica, estimulando as unidades que compõem a hemorrede para a implantação de Programas de Qualidade total no sistema.
4. Sistematização do Controle de Qualidade dos Insumos para Hemoterapia utilizados no Brasil	Desenvolver e consolidar um sistema abrangente de controle permanente e efetivo dos insumos para hemoterapia, capaz de assegurar a qualidade dos produtos em uso no Brasil.
5. Implementação de um Sistema de Controle de Qualidade Externa em Imunohematologia e Sorologia em Unidades Hemoterápicas	Garantir a exatidão dos resultados dos testes imunohematológicos e sorológicos assegurando a confiabilidade dos resultados
6. Ampliação do Número de Inspeções Sanitárias em Unidades Hemoterápicas	Fomentar a ampliação do número de inspeções em todas as unidades hemoterápicas em todo o país visando o efetivo controle sanitário e a fiscalização dos procedimentos que garantem a qualidade dos produtos oferecidos.
7. Implantação do Programa de Infra-Estrutura Física e Organizacional da Hemorrede	Proporcionar a institucionalização de uma rede nacional de Unidades Hemoterápicas através da complementação da infra-estrutura física e operacional da hemorrede pública.
8. Reestruturação do Sistema de Vigilância Sanitária do Sangue	Garantir a infra-estrutura necessária para o desenvolvimento de ações efetivas de vigilância sanitária do sangue nas três esferas governamentais, a fim de assegurar o controle sanitário e o cumprimento da legislação vigente.
9. Implementação do Programa Nacional de Acreditação de Unidades	Implementar um modelo de Avaliação e Certificação da Qualidade das Unidades Hemoterápicas, a fim de estimular o desenvolvimento de uma cultura de melhoria voltada para assegurar a qualidade dos processos e a segurança do doador ao receptor.

10. Programa Nacional de Hemoderivados	Elaborar um programa em âmbito nacional que permita o processamento do plasma excedente e elaborar a implementação de até três novas plantas buscando auto-suficiência em hemoderivados
11. Implantação de Programas de Capacitação de Recursos Humanos	Formar e reciclar recursos humanos da área de hemoterapia e hematologia, através de cursos de especialização , aperfeiçoamento e treinamento, dentro e fora
12. Programa Nacional de Doação Voluntária	Mobilizar a sociedade à doação espontânea e habitual do sangue visando garantir a quantidade adequada ao preenchimento das necessidades do Brasil bem como a melhoria da qualidade do sangue e derivados.

Fonte: ANVS, Ministério da Saúde, 1999.

O que significa “*sangue com garantia de qualidade em todo o seu processo?*” Entende-se “qualidade” como o mais alto grau de confiança a ser obtido quando da utilização de hemocomponentes em procedimentos transfusionais. Segundo Carrazone et al (2004), para se obter segurança dos produtos sanguíneos a serem utilizados em transfusões, rígidos parâmetros de qualidade devem ser seguidos. Por definição, segurança transfusional é o conjunto de medidas quantitativas e qualitativas adotadas que visam um menor risco aos doadores e receptores de sangue, além da garantia de estoques estratégicos de sangue capazes de atender à demanda transfusional.

Embora não se possa garantir 100% de segurança nos procedimentos hemoterapêuticos, “não existe transfusão isenta de riscos” (Jullien et al, 1998), os riscos residuais de transmissão de infecções ou da manifestação de reações adversas serão radicalmente reduzidos caso todas as etapas do *Ciclo do Sangue* sejam executadas com precisão por profissionais de saúde competentes e bem treinados que façam uso das técnicas mais eficazes e dos melhores produtos, seguindo um rigoroso esquema de controle de qualidade (Sáez-Alquézar et al, 1999). Segundo Saéz-Alquézar, Diretor do Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde (OMS) em Controle de Qualidade de Sorologia em Bancos de Sangue, o ciclo do sangue é composto das seguintes etapas:

1. captação de doadores de qualidade;
2. seleção de doadores de qualidade;
3. coleta de sangue;
4. fracionamento;
5. armazenamento;
6. realização de testes imunohematológicos;
7. realização de triagem sorológica; e
8. liberação dos Hemocomponentes.

Os requisitos para uma transfusão sanguínea segura, incluem entre outros fatores, profissionais bem treinados, bons equipamentos e reagentes de boa qualidade com metodologia altamente sensível e reprodutível. Estes requisitos são essenciais para a melhoria da performance dos laboratórios participantes (Luby et al, 2000), (Priago et al, 2003)

De acordo com Alquézar (1999), três são os tipos de controle de qualidade considerados fundamentais para a área de triagem sorológica, ponto focal deste estudo:

- Controle de Segurança (*Quality Assurance*);
- Controle de Qualidade Interno (*Quality Internal Control*)
- Controle de Qualidade Externo ou Avaliação de Qualidade (*Quality Assessment*).

Por definição, o **Controle de Segurança** se baseia em normas e procedimentos que visam assegurar a precisão dos resultados obtidos através da manutenção de arquivos internos atualizados e de um acompanhamento rígido dos registros de exames e dos resultados a serem liberados. Este tipo de controle funciona pelo estabelecimento de sistemas de monitorização da rotina diária de um laboratório, tanto em termos da quantidade e qualidade do trabalho executado quanto das condições (ambientais e técnicas) em que estes trabalhos são realizados.

Já o **Controle de Qualidade Interno** refere-se ao conjunto de medidas que devem ser implantadas num laboratório sorológico a fim de assegurar, sobretudo, a qualidade dos resultados obtidos. Entre as principais medidas de controle de qualidade interno podem ser citados:

- a) controle dos resultados positivos, através da realização de testes confirmatórios que ratifiquem os resultados inicialmente tidos como positivos;

b) controle dos resultados negativos, através da repetição aleatória de testes de aproximadamente 5% dos resultados negativos diários; e,

c) a utilização de soros-controle internos de baixa positividade diferentes dos controles empregados nos kits, para a validação dos resultados obtidos, observação de possíveis alterações (decorrentes da troca de materiais, equipamentos ou reagentes) e para o cálculo do “coeficiente de variação” entre diferentes metodologias empregadas.

1.2 Controle ou Programa de Avaliação Externa da Qualidade:

Conforme Durán et al (2003), a avaliação externa dos testes sorológicos proporciona um mecanismo de avaliação para os bancos de sangue, além de ser um elemento importante em qualquer sistema de garantia de qualidade.

De acordo com Saéz-Alquézar (2003), o controle ou programa de avaliação externa em sorologia é um procedimento que visa determinar o desempenho global dos laboratórios participantes e permite, também, que cada laboratório possa avaliar os seus próprios procedimentos internos e colocar em prática os ajustes eventualmente necessários. Como sua própria designação indica, o controle de qualidade *externo* deve ser realizado fora do laboratório onde os resultados foram inicialmente obtidos. Pressupõem-se, assim, a existência de um Laboratório Organizador – responsável pela organização de Programas de Controle de Qualidade Externa (P.C.Q.E) – e de diversos Laboratórios Participantes. Os P.C.Q.E estruturam-se através da troca de painéis sorológicos entre estas duas partes; enquanto o Laboratório Organizador envia multipainéis de soros para os Laboratórios Participantes, estes utilizam suas metodologias de rotina para analisar as amostras dos referidos multipainéis, devolvendo os resultados obtidos novamente ao Laboratório Organizador.

Antes que um laboratório possa vir a operar como Laboratório Organizador, alguns requisitos deverão ser preenchidos. Primeiramente, o laboratório em questão deverá ter experiência comprovada na área de triagem

sorológica e de confirmação de diagnósticos, sendo respeitado pela seriedade de seu trabalho pelos demais laboratórios de sorologia e/ou bancos de sangue.

Dado ao alto custo envolvendo a elaboração de P.C.Q.Es, o Laboratório Organizador deverá ser dotado de significativa verba inicial possuindo também as condições financeiras que garantam a sustentabilidade dos programas a longo prazo. Em termos de espaço e instalações, o Laboratório Organizador deverá possuir uma área que permita o processamento da matéria prima (bolsas de plasma) e a obtenção dos soros, a execução de testes para a caracterização das amostras, a preparação de (multi)/painéis de soros bem como sua preparação para envio, a armazenagem das bolsas de sangue em geladeiras ou câmaras frias, assim como a armazenagem dos soros em freezers ou câmaras frias (-20 °C). O Laboratório Organizador também deverá possuir todos os equipamentos necessários à execução dos testes de triagem sorológica e dos respectivos testes confirmatórios, estando também suprido do maior número possível de kits e reagentes de diversas marcas a fim de assegurar uma caracterização bem abrangente dos painéis sorológicos (Sáez-Alquézar, 1999).

No que diz respeito aos painéis, é indispensável que o Laboratório Organizador tenha amplo acesso à matéria prima e à tecnologia necessária à produção, em larga escala, destes painéis. Por terem apresentado algum tipo de reatividade em testes de triagem, as bolsas de sangue descartadas constituem a melhor fonte de matéria prima. Estas bolsas podem ser provenientes da própria instituição a qual pertence o Laboratório Organizador, ou, de bancos de sangue que as cedam para testes, devendo sempre ter sua reatividade inicial confirmada pelo Laboratório Organizador. Após processamento, soros límpidos e estáveis devem ser obtidos como o produto final, desde que sua positividade ou negatividade esteja bem caracterizada, o que deve ser determinado através de testes-padrão utilizados na triagem sorológica dos doadores de sangue: testes anti-HIV-1/2, anti-HTLVI/II, Doença de Chagas, HBsAg, anti-HBc, anti-HCV e Sífilis. A partir destes soros bem caracterizados, painéis sorológicos específicos podem então ser preparados segundo as necessidades de utilização. A estabilidade do produto final (painéis) deverá permitir ser transportado por longas distâncias, mesmo em

condições desfavoráveis de temperatura, até a chegada aos Laboratórios Participantes (Sáez-Alquézar, 1999).

Os Laboratórios Participantes serão incluídos nos P.C.Q.E a partir do convite por parte do Laboratório Organizador ou por adesão voluntária. No momento da adesão, cada Laboratório Participante receberá um código específico. É essencial que os Laboratórios Participantes processem as amostras recebidas seguindo os procedimentos de rotina do laboratório e que os mesmos mantenham sempre a confidencialidade de todos os resultados obtidos. Os Laboratórios Participantes deverão cumprir rigorosamente os prazos para devolução dos resultados obtidos ao Laboratório Organizador, a fim de que sejam incluídos na análise geral deste laboratório. Após apreciação do conjunto de resultados enviados, o Laboratório Organizador enviará a todos os Laboratórios Participantes um relatório final com os resultados gerais do Programa de Avaliação Externa da Qualidade.

A Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 343 de 13 de setembro de 2002, determina que o sangue total e seus componentes não podem ser transfundidos antes da obtenção de resultados finais não reagentes, nos testes de detecção para as infecções abaixo discriminadas juntamente com o algoritmo para cada uma delas conforme apresentado no (Quadro 2).

Quadro 2: Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue

INFECÇÃO	ALGORÍTMO PARA LIBERAÇÃO DE BOLSAS DE SANGUE
HIV-1 e HIV-2	Deverão se realizados dois testes. Um dos testes deve ser imunoenzimático. O segundo teste poderá ser por quimioluminescência ou por outra técnica com princípio metodológico ou antigênico distinto do primeiro teste.
HTLV-I e HTLV-II	Deverá ser realizado um teste imunoenzimático ou por quimioluminescência.
Doença de Chagas	Deverá ser realizado dois testes de metodologias diferentes.
Hepatite B	Os marcadores de Hepatite B a serem pesquisados são o HbsAg e anti-HBC, que podem ser realizados por métodos imunoenzimáticos ou por quimioluminescência, ou outros

	métodos previamente validados.
Hepatite C	Deverá ser realizado um teste imunoenzimático ou por quimioluminescência.
Sífilis	Deverá ser realizado um teste treponêmico ou não treponêmico.

Hoje, no Brasil, os serviços de hemoterapia são regidos pelas normas técnicas contidas na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) número 153 de 14 de junho de 2004, seguindo-se os princípios da moderna hemoterapia.

O Quadro 3 apresenta a evolução temporal da triagem laboratorial de doenças transmitidas pelo sangue, de acordo com as normas nacionais estabelecidas. (ANVISA, 2004). Nos Anexos 8, 9, 10 e 11 estão descritos as leis, decretos, portarias e resoluções respectivamente.

Quadro 3: Distribuição das infecções e/ou doenças com triagem laboratorial normatizada de acordo com o ano de publicação da norma específica.

Ano	Doença de Chagas	Sífilis	Hepatite B	Infecção pelo HIV	Malária	Hepatite C	Infecção pelos HTLV I e 2
1969	Portaria CNH 4	Portaria CNH 4					
1975			Resolução CNH I				
1987				Resolução Ciplan 09			
1988	Lei n.º 7.649; Decreto-Lei n.º 95.721	Lei n.º 7.649; Decreto-Lei n.º 95.721	Lei n.º 7.649; Decreto-Lei n.º 95.721	Lei n.º 7.649; Decreto-Lei n.º 95.721	Lei n.º 7.649; Decreto-Lei n.º 95.721		
1989	Portaria MS n.º 721	Portaria MS n.º 721	Portaria MS n.º 721	Portaria MS n.º 721	Portaria MS n.º 721		
1993	Portaria MS n.º 1.376	Portaria MS n.º 1.376	Portaria MS n.º 1.376	Portaria MS n.º 1.376	Portaria MS n.º 1.376	Portaria MS n.º 1.376	Portaria MS n.º 1.376
1994	Portaria MS n.º 2.135	Portaria MS n.º 2.135	Portaria MS n.º 2.135	Portaria MS n.º 2.135		Portaria MS n.º 2.135	Portaria MS n.º 2.135
1996				Portaria MS n.º 2.009 *			
2002	RDC n.º 343	RDC n.º 343	RDC n.º 343	RDC n.º 343	RDC n.º 343	RDC n.º 343	RDC n.º 343
2004	RDC n.º 153	RDC n.º 153	RDC n.º 153	RDC n.º 153	RDC n.º 153	RDC n.º 153	RDC n.º 153

Obrigatória
 Obrigatória em regiões endêmicas
 Sem normalização
 Recomendada

* Testes anti-HIV 1 e anti-HIV 2

Fonte: ANVISA, 2004.

1.3 Doenças Passíveis de Transmissão através do Sangue

Por definição, doenças transmissíveis por sangue e hemoderivados são infecções ou doenças infecciosas que se transmitem através de produtos hemoterápicos (sangue, componentes sanguíneos ou hemoderivados). A transmissão dessas doenças também ocorre pela penetração de sangue infectado através da pele (por exemplo: agulhas), pela relação sexual e de mãe para filho durante o nascimento (perinatal). A via de transmissão de doença por sangue, produtos hemoterápicos, sexo e mãe-filho é denominada de via parenteral (Hepatites virais, 2005).

A transfusão de sangue, componentes e derivados não é um procedimento isento de risco conforme citado por Julien (1998). O sangue pode ser veículo de doenças infecciosas, conhecidas por sua transmissibilidade. A seleção rigorosa dos candidatos à doação de sangue, permite identificar os portadores de doenças infecto-contagiosas passíveis de disseminação através da hemotransfusão. Entre estas destacam-se a AIDS, retrovírus pelos vírus HTLV-I e HTLV-II, Doença de Chagas, Hepatites B, C e Sífilis.

A extinção, mediante legislação específica, da doação comercial ou profissional, elevou significativamente os padrões de qualidade dos produtos hemoterápicos para as transfusões (Souza et al, 1996).

Para efeito deste estudo, interessou apresentar além do histórico e das formas de transmissão das infecções, as prevalências das mesmas na população em geral e na de doadores de sangue e sempre que possível informações sobre confiabilidade dos testes sorológicos. Embora, após revisão cuidadosa da literatura nas bases indexadas, utilizando as palavras chaves adotadas nesta dissertação (serviços de hemoterapia; testes sorológicos; controle de qualidade; reprodutibilidade e confiabilidade de resultados), foram recuperadas escassas referências especialmente nacionais, todas que eram pertinentes foram utilizadas na discussão.

1.3.1 Infecção pelo HIV

A Aids foi reconhecida em meados de 1981, nos EUA, a partir da identificação de um elevado número de pacientes adultos do sexo masculino, homossexuais e moradores de São Francisco ou Nova York, que apresentavam sarcoma de Kaposi, pneumomia por *Pneumocystis carinii* e comprometimento do sistema imune, o que levou à hipótese de que se tratava de uma nova doença, ainda não classificada, de etiologia provavelmente infecciosa e transmissível (Gottlieb et al, 1981).

No Brasil, o primeiro caso de isolamento e identificação do HIV foi realizado em 1987 pela equipe do Professor Galvão Castro e colaboradores, da Fundação Oswaldo Cruz, a partir de um caso de AIDS adquirida por transfusão sanguínea. A amostra de retrovírus isolada desse paciente foi caracterizada por microscopia eletrônica e pelo perfil antigênico (Galvão-Castro et al, 1987).

1.3.1.1– Agente Etiológico

O HIV (Human Immunodeficiency Vírus) é um retrovírus com genoma RNA, da família Lentiviridae. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não oncogênicos que necessitam, para multiplicar-se, de uma enzima denominada transcriptase reversa, responsável pela transcrição do RNA viral para uma cópia de DNA, que pode então integrar-se ao genoma do hospedeiro (Schechter et al, 1998).

O HIV foi isolado pela primeira vez na França em 1983, por Barrè-Sinoussi e colaboradores do grupo do professor Luc Montagnier do Instituto Pasteur de Paris. Esse isolamento foi feito a partir de um paciente homossexual com um quadro de linfadenopatia crônica (Barre-Sinoussi et al, 1983), e foi denominado de Vírus Associado à Linfadenopatia – LAV (Lymphadenopathy Associated Vírus). Nesse mesmo ano, a identificação dessa nova entidade viral foi confirmada, nos Estados Unidos, pelo Professor Robert Gallo e colaboradores, com o isolamento de amostras de vírus semelhantes, caracterizados em função de sua morfologia e tropismo por linhagens celulares derivadas de células T CD4+. Esse vírus foi classificado como pertencente à família dos retrovírus e foi chamado Human T Cell Lymphotropic Vírus – HTLV III (Popovic et al, 1984).

A partir de 1987, o HTLV III recebeu a denominação de Vírus da Imunodeficiência Humana – HIV, conforme proposta do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus, refletindo a patologia predominante, com a qual este agente está associado (Clavel et al, 1986).

Um outro retrovírus, morfológicamente semelhante ao HIV, foi isolado de um paciente com AIDS por Clavel, em 1986. Este novo vírus, denominado HIV-2, apresentava o mesmo tropismo por linfócitos TCD4+ e a análise de sua estrutura genética mostrou que a sua organização genômica era similar ao HIV-1, apresentando uma homologia na sua seqüência de nucleotídeos de aproximadamente 50% (Clavel, 1986; Hoffmann et al, 2003).

Atualmente, sabe-se que o HIV-1 é o principal responsável pela disseminação da epidemia de AIDS em todo o mundo, estando os casos de HIV-2 restritos a algumas áreas geográficas, como em alguns países da África Central e Oriental, e Índia. Tanto o HIV-1, quanto o HIV-2 são capazes de causar AIDS, mas estes dois vírus apresentam diferenças importantes em sua estrutura genômica e na sua patogenia (UNAIDS, 1998).

1.3.1.2– Formas de Transmissão

As principais formas de transmissão do HIV são: sexual, sanguínea (em receptores de sangue ou hemoderivados não testados e em usuários de drogas injetáveis ou UDI) e perinatal (transmissão da mãe para o filho durante a gestação, parto ou por aleitamento materno).

A transmissão sanguínea associada ao uso de drogas injetáveis é um meio eficaz de transmissão do HIV devido ao compartilhamento de seringas e agulhas. Esta forma tem importância crescente em várias partes do mundo, como na Ásia, América Latina e no Caribe.

Segundo (Guimarães e Castilho, 1993), no Brasil, assim como nos Estados Unidos e países da Europa, o risco de adquirir a infecção pelo HIV através de transfusões de sangue foi sensivelmente reduzido, devido à triagem dos doadores efetuada pelos bancos de sangue e processos de inativação introduzidos na preparação de derivados sanguíneos concentrados.

A proporção de novos casos associados com transfusões reduziu de 4,4% no período inicial da epidemia (1980 – 1986) para 2,7% em 1991-1992. Em 1998, apenas 0,1% dos casos diagnosticados de AIDS foram devido à

transfusão sanguínea , e em 1999 não houve casos de Aids associados a esse modo de transmissão (CNDST e Aids 2001).

No estudo realizado no Brasil por Szwarcwald & Catilho (2000), analisando 15.426 amostras de sangue de parturientes na faixa etária de 15 a 49 anos, foi estimado em 0,65% a proporção de infectados pelo HIV.

1.3.1.3 – Testes Sorológicos

Os testes para detecção da infecção pelo HIV podem ser divididos basicamente em quatro grupos: testes de detecção de anticorpos, testes de detecção de antígenos, testes de cultura viral e testes de amplificação do genoma viral. As técnicas rotineiramente utilizadas para o diagnóstico da infecção pelo HIV são baseadas na detecção de anticorpos contra o vírus. Estas técnicas apresentam excelentes resultados, e são menos dispendiosas, sendo de escolha para toda e qualquer triagem inicial. A combinação de testes é uma escolha que deve ser feita de acordo com a demanda de cada laboratório (Brasil, Ministério da Saúde - HIV, 1997).

A figura 2 apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando os dois testes utilizados para o diagnóstico da infecção pelo HIV são não reagentes.

A figura 3 apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando os dois testes utilizados para o diagnóstico da infecção pelo HIV são reagentes.

A figura 4 apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando um teste utilizado para o diagnóstico da infecção pelo HIV for reagente e o outro teste for não reagente.

Conforme a RDC 343, deverão ser realizados dois testes de triagem para o diagnóstico da infecção pelo HIV. Um dos testes deve ser imunoenzimático. O segundo teste poderá ser por quimioluminescência ou por outra técnica com princípio metodológico ou antigênico distinto do primeiro teste.

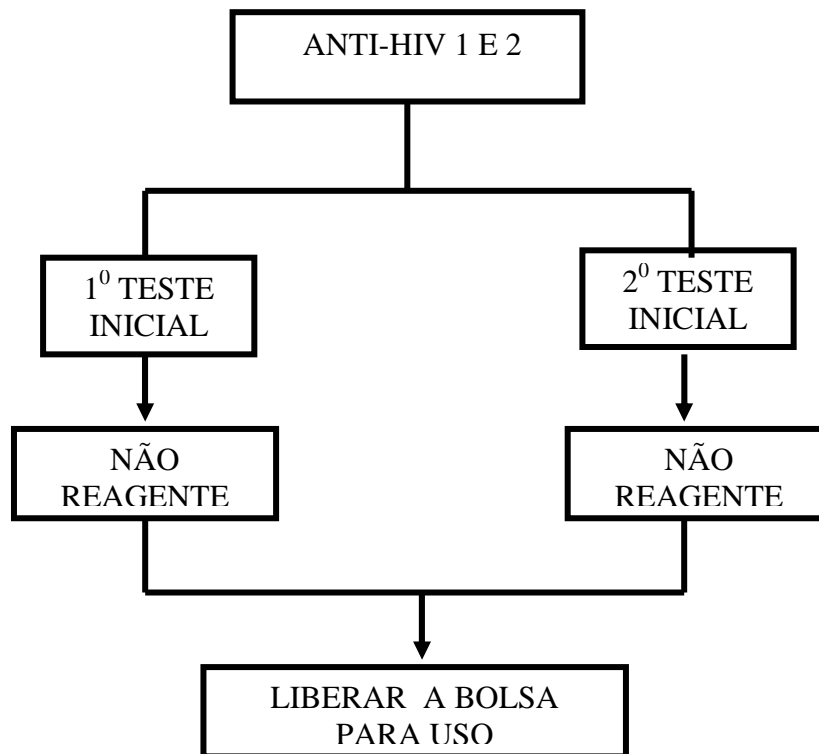


Figura 2– Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando houver dois testes não reagentes para HIV.

Fonte: ANVISA, 2004

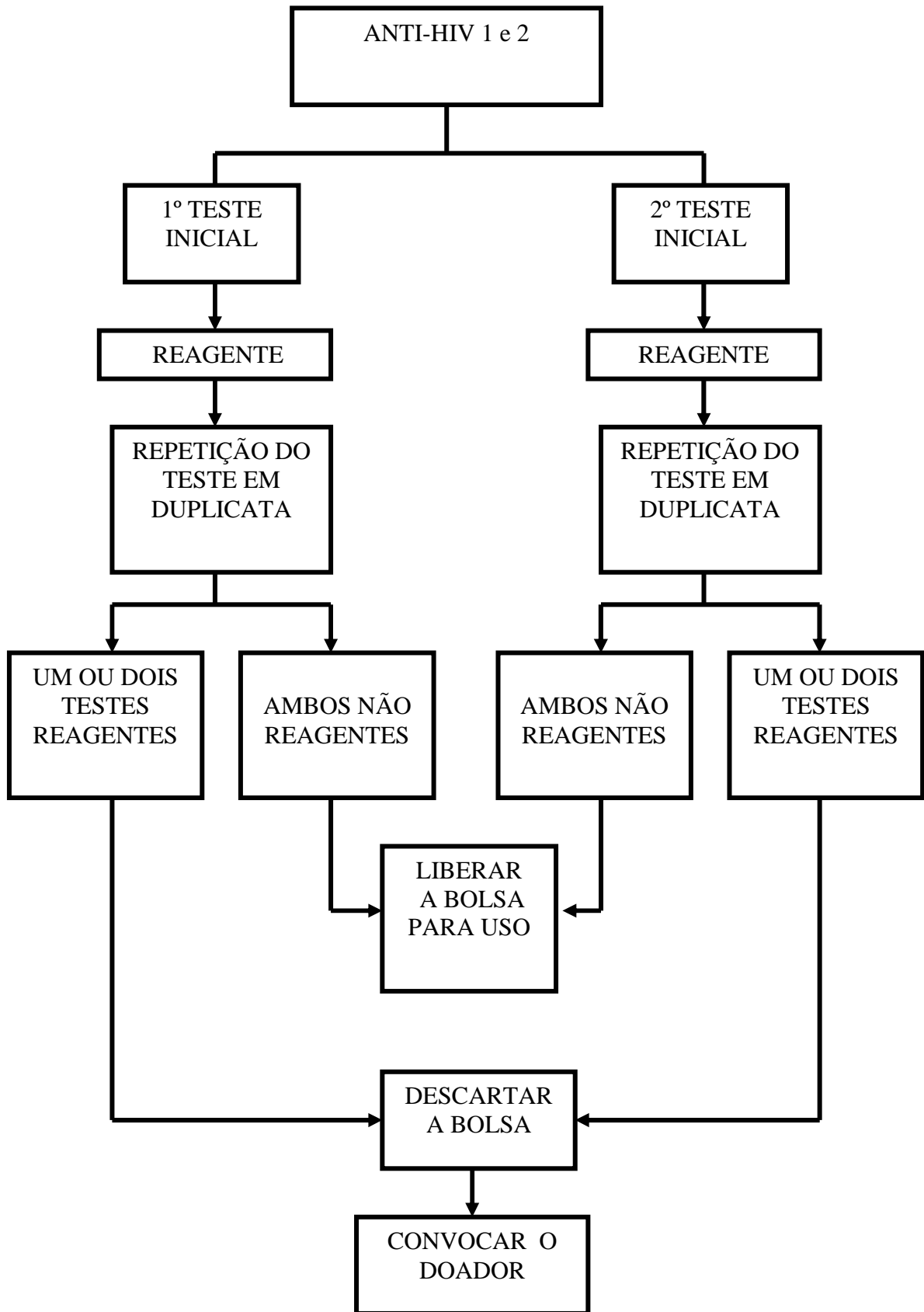


Figura 3 – Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando houver dois testes reagentes para HIV.

Fonte: ANVISA, 2004

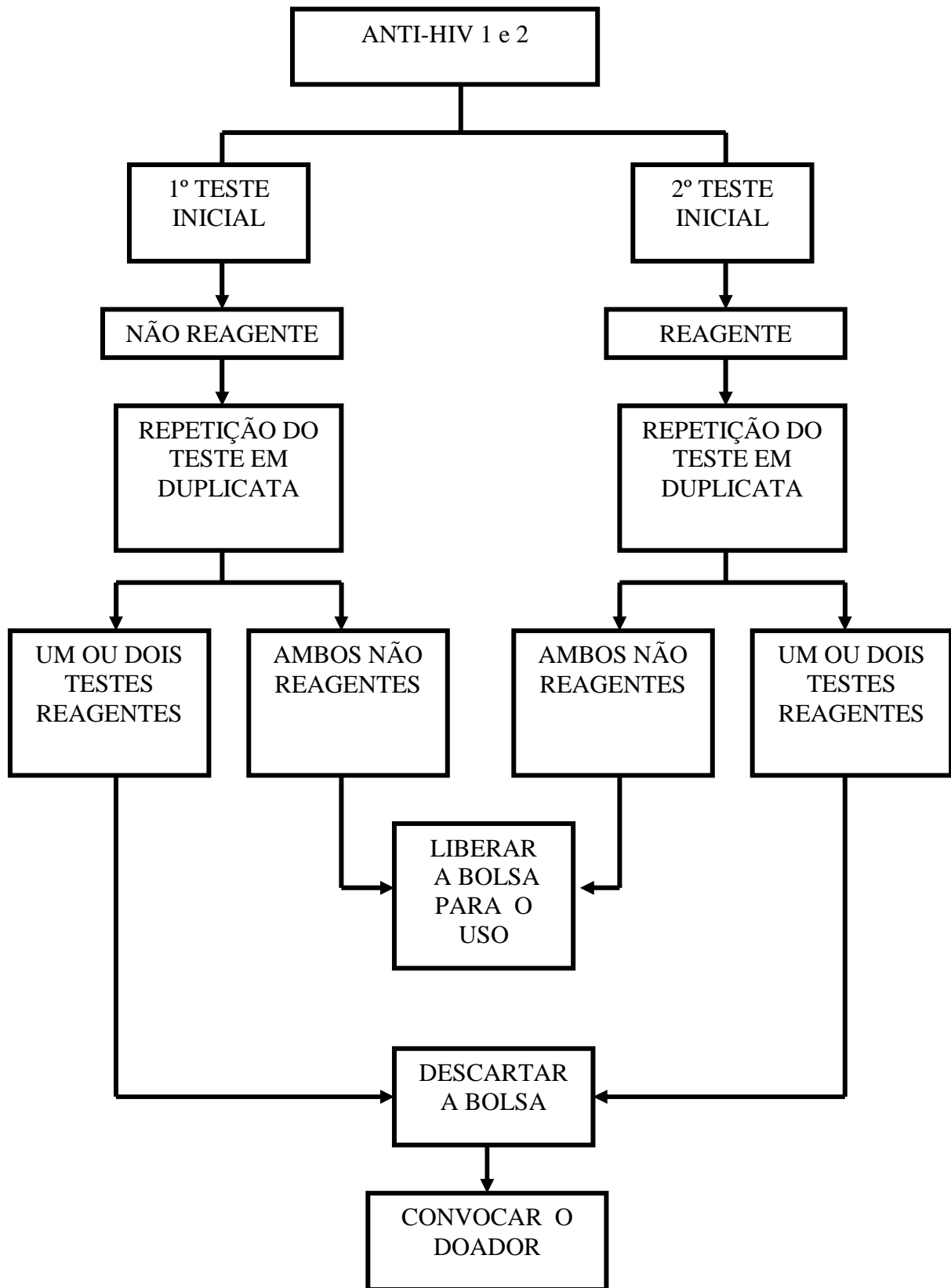


Figura 4- Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando houver um teste reagente e outro teste não reagente para HIV.

Fonte: ANVISA, 2004

1.3.2 Infecção pelo HTLV

Os vírus oncogênicos são vírus que participam do processo de transformação celular. Esses vírus estabelecem uma associação com a célula infectada que, ao contrário de destruí-la, cria condições para manter seu ciclo replicativo. Diversos vírus são oncogênicos para animais e humanos. Entre os vírus que participam do processo de oncogênese em humanos, destacam-se o Vírus Linfotrópico de Célula T Humana tipo 1 (HTLV-I), responsável pela Leucemia de células T do adulto e o Vírus Linfotrópico de Célula T Humana tipo 2 (HTLV-II), responsável pela Leucemia de células T pilosas (Romanos, 2002).

O HTLV-I ocorre, freqüentemente, nas populações de ilhas situadas no sudeste do arquipélago do Japão, em diversas ilhas do Caribe (Jamaica, Martinica, Haiti e outras), em partes do continente africano e na América do Sul. No Brasil, estudos realizados principalmente em doadores de sangue detectaram a presença do vírus em todos os locais pesquisados, ocorrendo em maior ou menor escala, dependendo da cidade e do estado.

O HTLV-II tem sido descrito com mais freqüência entre usuários de drogas injetáveis, sendo endêmico, entre esse grupo, nos Estados Unidos, Europa, América do Sul e sudeste da Ásia. No Brasil, essa endemicidade tem sido observada na área urbana e entre populações indígenas (Harrison et al, 1998).

1.3.2.1 – Agente Etiológico

O HTLV pertence à família dos retrovírus (a mesma do HIV), sub-família Oncoviridae. Infecta os linfócitos T e pode causar uma série de doenças, a principal delas é conhecida como leucemia das células T do adulto (ATL), que em quase sua totalidade é fatal. Também pode causar a síndrome de desmilenização conhecida como paraparesia espástica tropical (PET) ou mielopatia associada ao HTLV-I.

Os retrovírus, cujo material genético é composto de RNA, foram os primeiros vírus descritos a infectar os mamíferos. Sua relação com algumas doenças em seres humanos permaneceu obscura até 1980, quando nos EUA foi identificado pela primeira vez, um retrovírus, chamado de HTLV-I (vírus

linfotrópico humano de células T, ou em inglês human T-lymphotrophic viruses) em uma linhagem de células T isolado de um paciente com linfoma cutâneo (Romanos, 2002).

Posteriormente, após a descoberta do HTLV-I, estudos moleculares detalhados realizados em pacientes com leucemia, identificaram um outro retrovírus, com algumas características diferentes do HTLV-I, que veio a ser chamado de HTLV-II. Este retrovírus foi isolado de outra linhagem de células T derivada do baço de um paciente com uma forma rara de leucemia.

Embora o HTLV-I e o HTLV-II tenham antígenos específicos, são necessários testes especiais para diferenciá-los. Os seus produtos protéicos apresentam grande semelhança ocasionando reações cruzadas em testes sorológicos. Sendo assim, segundo a referência Brasil, Ministério da Saúde - HTLV (1998), o HTLV-I/II são referidos em conjunto.

1.3.2.2 – Formas de Transmissão

A maioria dos indivíduos infectados com HTLV-I e HTLV-II apresenta uma infecção assintomática. O HTLV é transmitido da mesma forma que o HIV, ou seja, através de contato sexual, transfusão sanguínea e uso de seringas com sangue contaminado, entre usuários de drogas injetáveis. Ocorre também, a transmissão de mãe para filho, principalmente através da amamentação (ANVISA, 2004).

No período de agosto de 2001 a maio de 2003, Melo et al (2004), detectaram 86 casos reativos de HTLV entre os doadores de sangue da Fundação Hemoam, o que representou 0,11% de um total de doadores (76.478).

No período de janeiro de 1997 a dezembro de 2003, Dias et al (2004), analisaram 669.889 amostras de doadores de sangue do Hemorio, Foi evidenciada uma diminuição da taxa de positividade para HTLV de 1,70% em 1998, após a introdução em de automação a taxa foi de 0,58% e em 2003 para 0,25%.

1.3.2.3 – Testes Sorológicos

O diagnóstico da infecção pelo HTLV-I/II é feito, habitualmente, com testes sorológicos. Esses testes são baseados na pesquisa de anticorpos contra antígenos do vírus presente no soro do indivíduo infectado.

Para a pesquisa de anticorpos é feita, inicialmente, uma triagem pelo método de ensaio imunoenzimático (EIE), empregando-se lisado viral, algumas vezes enriquecido com antígenos recombinantes. O resultado positivo deve ser confirmado pelo teste de Western Blotting. O Western Blotting, além de servir como um teste confirmatório, é empregado também para diferenciar a infecção causada pelos HTLV-I e HTLV-II.

A figura 6 (página 30) apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando o teste utilizado para o diagnóstico da infecção pelo HTLV for reagente ou não reagente.

Do ponto de vista dos serviços de hemoterapia e de acordo com a RDC 343, deverá ser realizado dois testes de metodologias diferentes.

1.3.3 Doença de Chagas

O *Trypanosoma cruzi* e a doença por ele causada, foram descobertos em 1909 pelo brasileiro Carlos Justiniano Chagas, na pequena localidade de Lassance, situada no Norte do Estado de Minas Gerais (Goulart, 1978). A Doença de Chagas é uma infecção endêmica e evolução crônica. Ainda de acordo com Goulart, o que Chagas percebeu em 1909 e o levou, por raciocínio e não por acaso, à descoberta da doença que tem o seu nome, foi o inter-relacionamento ecológico de diferentes seres no mesmo ambiente.

O sanitarista brasileiro Carlos Justiniano Chagas descreveu o ciclo completo da doença. Ele identificou o parasita, o transmissor, o reservatório animal dos parasitas e as manifestações clínicas da doença que levou seu nome. Chagas denominou o parasita de *T. cruzi*, em homenagem a Oswaldo Cruz. Chagas dividiu as formas clínicas da doença em aguda e crônica (Brasil, Ministério da Saúde - Doença de Chagas, 1998).

No período inicial da infecção (fase aguda), o parasita é encontrado em quase todos os órgãos e tecidos; a musculatura cardíaca lisa e estriada constituem os tecidos preferenciais para sua nidificação. Na fase crônica, graças ao mecanismo imunitário, ocorre a redução no número de parasitas e dos focos inflamatórios, por vezes constituindo granulomas (ANVISA, 2004).

A Doença de Chagas está limitada ao continente americano. A área geográfica onde existem vetores infectados se estende desde o sul dos

Estados Unidos até o extremo sul da Argentina e Chile. Todavia, a área endêmica, com tripanossomótica para o ser humano, é bem menor e se concentra em alguns países da América do Sul, principalmente Brasil, Argentina, Bolívia, Chile e Colômbia (Andrade, 1998).

1.3.3.1 – Agente Etiológico

O *Trypanosoma Cruzi* é um protozoário flagelado da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidas, caracterizado pela presença de um flagelo e uma única mitocôndria. No sangue dos vertebrados, o *Trypanosoma Cruzi* se apresenta sob a forma de tripomastigota e, nos tecidos como amastigotas. Nos invertebrados (insetos vetores), ocorre um ciclo com a transformação dos tripomastigotas sanguíneos em epimastigotas, que depois se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos, que são as formas infectantes acumuladas nas fezes do inseto (Fundação Nacional de Saúde, 1999).

1.3.3.2 – Formas de Transmissão

A transmissão natural ou primária da Doença de Chagas é a vetorial, que se dá através das fezes dos triatomíneos, também conhecidos como “barbeiros” ou chupões. Com a diminuição da densidade triatomínica domiciliar ou mesmo com a eliminação daquela espécie estritamente domiciliar (*Triatoma infestans*), reduziu-se significativamente, a transmissão vetorial que, na década de 70, foi estimado ser responsável por 80% das infecções humanas (Silva et al, 1996).

A infecção na Doença de Chagas também pode ocorrer por transmissão congênita, transfusão de sangue, pelo leite materno, via digestiva e em transplantes de órgãos.

De acordo com Silva (1996), em relação à Doença de Chagas, ocorreu uma inversão no modo de transmissão no Brasil, ou seja, diminuindo o percentual por via vetorial e aumentando através da transfusão sanguínea. Tal fato ocorreu, principalmente, em função da mudança do quadro demográfico nas últimas décadas, verificando-se o esvaziamento da área rural, com a migração de cerca 70% da população para a área urbana. Atualmente, o maior

número de pessoas portadoras da Doença de Chagas residem nas grandes e médias cidades do Brasil, determinando a urbanização da doença.

Essa migração ocorreu na América Latina nas décadas de 70 e 80, mudando o padrão epidemiológico da Doença de Chagas em especial na transfusão sanguínea, tornando-se em uma importante rota de transmissão de áreas endêmicas para áreas não endêmicas (Umezawa, 2003).

De Paula et al 2004, avaliaram a prevalência da Doença de Chagas em 351 pacientes poli transfundidos. Os resultados obtidos, demonstraram uma prevalência de 0,84%, que foi similar com a prevalência encontrada entre doadores de sangue (0,6%).

No Brasil, segundo estudo sobre inquéritos sorológicos para a Doença de Chagas realizados sistematicamente entre escolares (7 – 14 anos de idade) de todos os estados endêmicos, no período de 1989 a 1999, de 244.770 amostras colhidas, apenas 329 foram positivas, resultando em uma prevalência média geral de 0,13% (Brasil. Fundação Nacional de Saúde, 2002).

1.3.3.3 – Testes Sorológicos

O primeiro teste utilizado para a detecção da infecção pelo *T. cruzi* foi a reação de fixação de complemento, desenvolvida por Guerreiro e Machado, em 1913. Hoje esse teste apresenta apenas valor histórico, dada a existência de testes sorológicos mais simples e precisos (Goulart, 1978).

Segundo Sàez-Alquèzar (1995), as técnicas sorológicas utilizadas para triagem e diagnóstico da Doença de Chagas que detectam a presença de anticorpos contra frações antigênicas do *Trypanosoma cruzi*, com graus de sensibilidade e especificidade variáveis. As mais utilizadas são a hemaglutinação indireta, imunofluorescência indireta e o ensaio imunoenzimático.

A utilização rotineira dos testes sorológicos em Serviços de Hemoterapia tem contribuído, de forma decisiva, para a redução do número de casos pós-transfusionais da infecção pelo *T. cruzi* (Brasil, Ministério da Saúde – Doença de Chagas, 1998).

A figura 5 apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando os testes utilizados para o diagnóstico da Doença de Chagas for reagente ou não reagente.

Atualmente, o algoritmo para Doença de Chagas, é representada na figura 6 (página 30), onde apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando o teste utilizado para o diagnóstico da infecção para a Doença de Chagas for reagente ou não reagente.

Do ponto de vista dos serviços de hemoterapia e de acordo com a RDC 343, deverá ser realizado dois testes de metodologias diferentes na triagem sorológica.

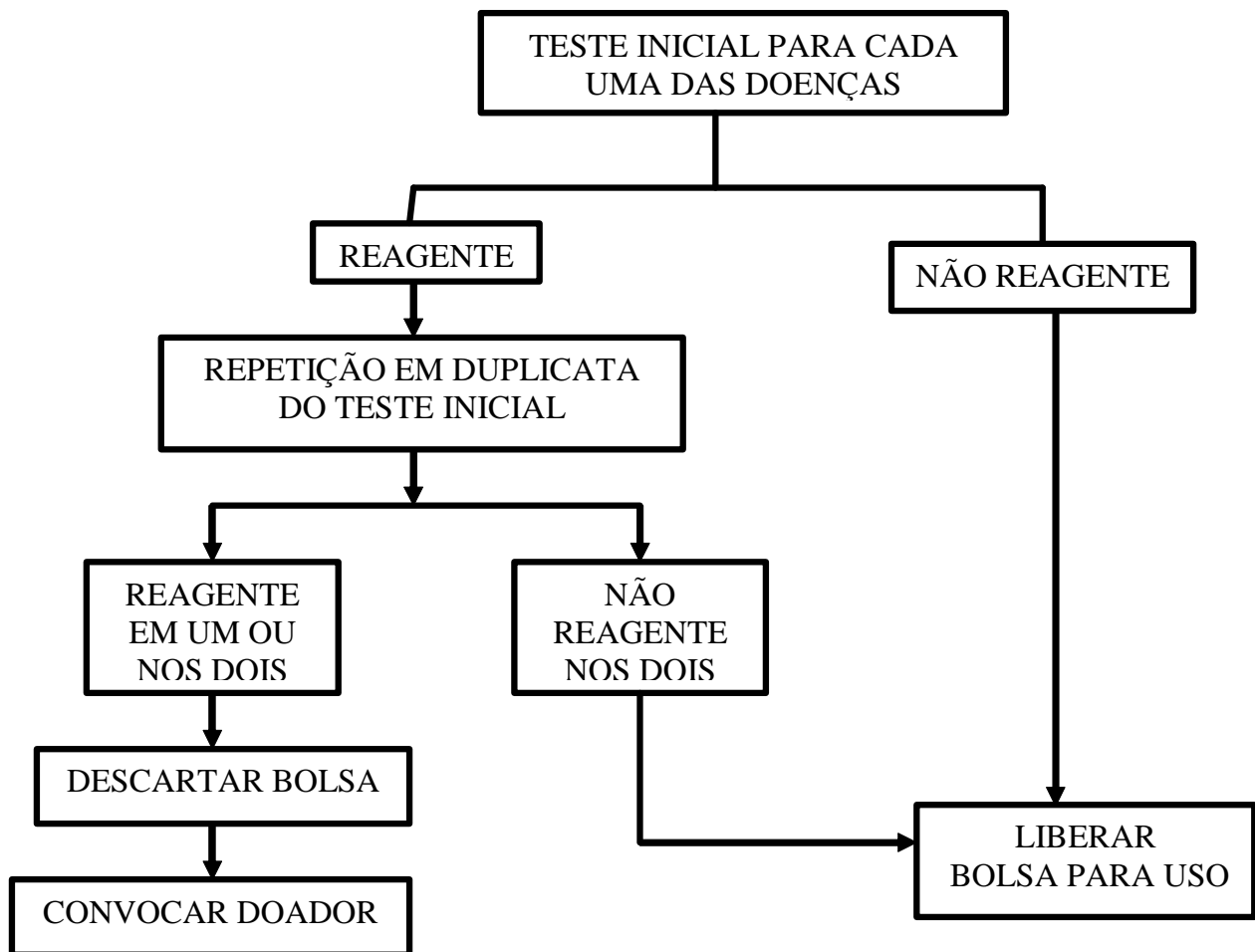


Figura 5- Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue de testes para Doença de Chagas.

Fonte: Brasil, Ministério da Saúde, 1998

1.3.4 Hepatites

Hepatite é qualquer processo inflamatório que resulte em necrose de hepatócitos. Uma grande variedade de agentes infecciosos, substâncias tóxicas e drogas pode lesar o fígado, resultando numa constelação de manifestações clínicas, bioquímicas, imunológicas e morfológicas (Coelho, 1998).

Em 1968, Blumberg, pesquisando as proteínas do sangue, observou no soro de um australiano a presença de um antígeno que denominou de “Antígeno Austrália” (AU), hoje reconhecido como “antígeno de superfície do vírus da hepatite B”, representado pela sigla HBsAg. Desde então, a rápida evolução dos conhecimentos possibilitou a detecção de diferentes vírus capazes de causar hepatites em humanos (ANVISA, 2004).

A hepatite C, anteriormente conhecida como hepatite não-A e não-B é uma forma diferenciada de hepatite que pode ser produzida por, pelo menos, três vírus diferentes. Representa a forma de maior incidência de hepatite transmitida através do sangue e derivados. A frequência da hepatite C é semelhante à das hepatites A e B; os seus portadores têm maior risco de desenvolver hepatocarcinoma (Souza et al, 1996).

As hepatites virais apresentam ampla distribuição mundial e estão entre as doenças infecciosas de maior importância em saúde pública (Brasil, Ministério da Saúde - Hepatites Virais, 1998).

A Hepatite B é uma doença mundialmente distribuída e estima-se cerca de 300 milhões de indivíduos são portadores crônicos. Dentre estes, uma minoria significativa poderá vir a desenvolver hepatocarcinoma, e atualmente, mais de um (01) milhão vão a óbito (Liberto et al, 2002).

No Brasil, assume-se que a hepatite B apresenta três padrões de endemicidade, de acordo com estimativas de prevalência de portadores assintomáticos (HBsAg). O primeiro padrão, definido como de alta endemicidade, com prevalência superior a 7%, presente na região Amazônica, Espírito Santo, e oeste de Santa Catarina; um segundo padrão, de média endemicidade, com prevalência entre 2 e 7% nas regiões nordeste e centro-oeste do Brasil; e um terceiro padrão, de baixa endemicidade, com prevalência

abaixo de 2%, nas regiões sul e sudeste (Brasil, Fundação Nacional de Saúde, 2002).

Segundo Brandão (2001), a infecção pelo vírus da hepatite C é um problema de saúde pública em todo o mundo, inclusive no Brasil. Para o Brasil, a OMS sugere uma estimativa de prevalência na faixa de 3%.

1.3.4.1 – Agente Etiológico

O vírus da hepatite B (HBV) pertence à família Hepadnaviridae. É uma partícula contendo DNA de fita dupla (incompleta), formada de material antigênico em um núcleo interno (antígeno central da hepatite B: HBcAg), de material antigênico em um revestimento externo (antígeno de superfície da hepatite B: HBsAg). Cada antígeno leva à produção de seu anticorpo específico, a saber: anti-HBc e anti-HBs (Liberto, 2002).

O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus RNA de cadeia única, pertence a família Flaviviridae, gênero Hepacavírus, com uma grande variabilidade do seu genoma (Alter et al, 2000). Com base nessas variações, foram até agora identificados seis (6) genótipos, cada um dos quais pode ser dividido em subtipos. Os genótipos têm uma distribuição geográfica variável e a sua identificação é importante por apresentarem uma resposta desigual à terapêutica (Simmonds et al, 1993).

1.3.4.2 – Formas de Transmissão

Os vírus da hepatites B e C, em geral, são transmitidos por via parenteral, incluindo receptores de sangue ou derivados, pacientes em hemodiálise, hemofílicos, usuários de drogas endovenosas, tatuagens, acupuntura, profissionais da área de saúde, entre outros. A via sexual, a transmissão materno-fetal e familiar existem, embora sejam consideradas não freqüentes (Brasil, Ministério da Saúde - Hepatites virais, 1998).

1.3.4.3 – Testes Sorológicos

A utilização rotineira dos testes sorológicos em Serviços de Hemoterapia tem contribuído, de forma decisiva, para a redução do número de casos de

hepatites B e C pós-transfusionais. Na triagem sorológica de doadores são pesquisados, obrigatoriamente, os marcadores HBsAg, anti-HBc e o anti-HCV (Brasil, Ministério da Saúde - Hepatites virais, 1998).

A figura 6 (página 30) apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando o teste utilizado para o diagnóstico da infecção para Hepatite B e C for reagente ou não reagente.

Do ponto de vista dos serviços de hemoterapia e de acordo com a RDC 343, os marcadores da Hepatite B a serem pesquisados são HBsAg e anti-HBc, que podem ser realizados por métodos imunoenzimáticos ou por quimioluminescência, ou outras metodologias previamente validadas. Para a Hepatite C deverá ser realizado um teste enzimático ou por quimioluminescência na triagem sorológica.

1.3.5 Sífilis

Sífilis ou Lues é uma Doença Sexualmente Transmissível (DST) muito perigosa pelo fato de difundir-se em todo o organismo e por sua sintomatologia, que é menos exuberante. Incomoda pouco o paciente o qual, dificilmente, procura o médico nas fases iniciais (e menos grave) da doença, fazendo-o geralmente em fases tardias quando conseqüências, até irreversíveis, já estão presentes (ANVISA, 2004).

Acredita-se que a Sífilis foi introduzida na Europa em 1493 por um grupo de marinheiros retornando da primeira expedição de Cristóvão Colombo à América. No século XVI, já era o maior problema de saúde pública da época. O espiroqueta responsável pela doença foi identificado, em 1905, pelo zoólogo alemão Fritz Schaudinn.

Em 1906 o bacteriologista alemão August Vom Wassermann desenvolveu o primeiro exame de sangue para diagnosticar a doença.

Em 1909, outro bacteriologista alemão, Paul Ehrlich, desenvolveu o primeiro tratamento efetivo. Em 1943, a penicilina mostrou-se bastante efetiva no combate à Sífilis e, até hoje, continua sendo o medicamento mais utilizado para o tratamento dessa doença (Brasil, Ministério da Saúde - Sífilis, 1997).

A Sífilis apresenta distribuição universal, sendo que os dados existentes indicam que não tem predileção por raça ou sexo, mas, é mais comum entre os

juvenis. A partir de 1960, houve considerável aumento na sua prevalência tendo em vista às mudanças de comportamento da sociedade. É importante ressaltar a frequência cada vez maior nas formas latentes ou de curso clínico modificado devido ao tratamento inadequado de casos e de contatos (Azulay et al, 1998).

A OMS estimou para o Brasil a ocorrência de mais de 12 milhões de novos casos de algumas das DST curáveis. Esse fato, associado ao alto índice de automedicação, torna o problema ainda maior, já que muitos dos casos não recebem orientação e tratamento adequados, tornando-se subclínicos, permanecendo transmissores, e, mantendo-se como elos fundamentais na cadeia de transmissão das doenças, incluindo a transmissão transfusional (ANVISA, 2004).

1.3.5.1 – Agente Etiológico

A Sífilis é uma doença infecciosa de evolução crônica, sujeita a surtos de agudização que acomete múltiplos sistemas. É causada pela bactéria *Treponema pallidum*, uma espiroqueta em forma de agulha, bastante móvel, que sempre determina seus efeitos localmente (Azulay et al, 1998).

1.3.5.2 – Formas de Transmissão

Esta doença apresenta sua transmissão essencialmente sexual, pelo contato da espiroqueta com a pele ou mucosas que apresentam pequenas erosões e permitam a penetração da bactéria. Há ainda a possibilidade que após o contágio esta bactéria ganha a circulação, ela estar presente no sangue, e a transfusão deste é uma via eficaz de contaminação. Outra forma bastante importante de adquirir a Sífilis é a contaminação do feto pela mãe infectada, uma vez que a bactéria atravessa a barreira placentária, caracterizando a Sífilis congênita, e que pode trazer conseqüências graves e até o óbito do bebê (ANVISA, 2004).

1.3.5.3 – Testes Sorológicos

O primeiro teste para diagnóstico da sífilis foi desenvolvido em 1906 pelo cientista alemão August Von Wassermann. Em 1941, foi desenvolvido o método diagnóstico VDRL (Venereal disease Research Laboratory), uma reação de microaglutinação sendo utilizado até hoje (Brasil, Ministério da Saúde - Sífilis, 1997). Segundo Azulay (1998), atualmente, a sorologia para Sífilis baseia-se no uso de provas não treponêmicas para triagem e treponêmicas para testes confirmatórios.

Testes não treponêmicos (triagem): VDRL e RPR (Rapid Plasma Reagin) - são testes que detectam anticorpos anticardiolipínicos, também chamados reaginas. Estes anticorpos não são específicos para o *Treponema pallidum*, porém estão presentes na sífilis.

Testes treponêmicos (confirmatórios): FTA-Abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption) e TPHA (*Treponema pallidum* hemagglutination) - são testes que empregam como antígeno o *Treponema pallidum*, detectando anticorpos antitreponêmicos. Estes testes devem ser realizados em todas as amostras que forem reagentes nas reações não treponêmicas (especialmente para resultados duvidosos ou em amostras que apresentaram títulos baixos nos testes treponêmicos).

No FTA-Abs, a metodologia utilizada é a imunofluorescência indireta, é o teste considerado como padrão ouro para o diagnóstico da infecção pelo *Treponema pallidum*.

A figura 6 (página 30) apresenta o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue quando o teste utilizado para o diagnóstico da infecção para Sífilis for reagente ou não reagente.

Do ponto de vista dos serviços de hemoterapia e de acordo com a RDC 343, deverá ser realizado um teste não treponêmico ou treponêmico na triagem sorológica.

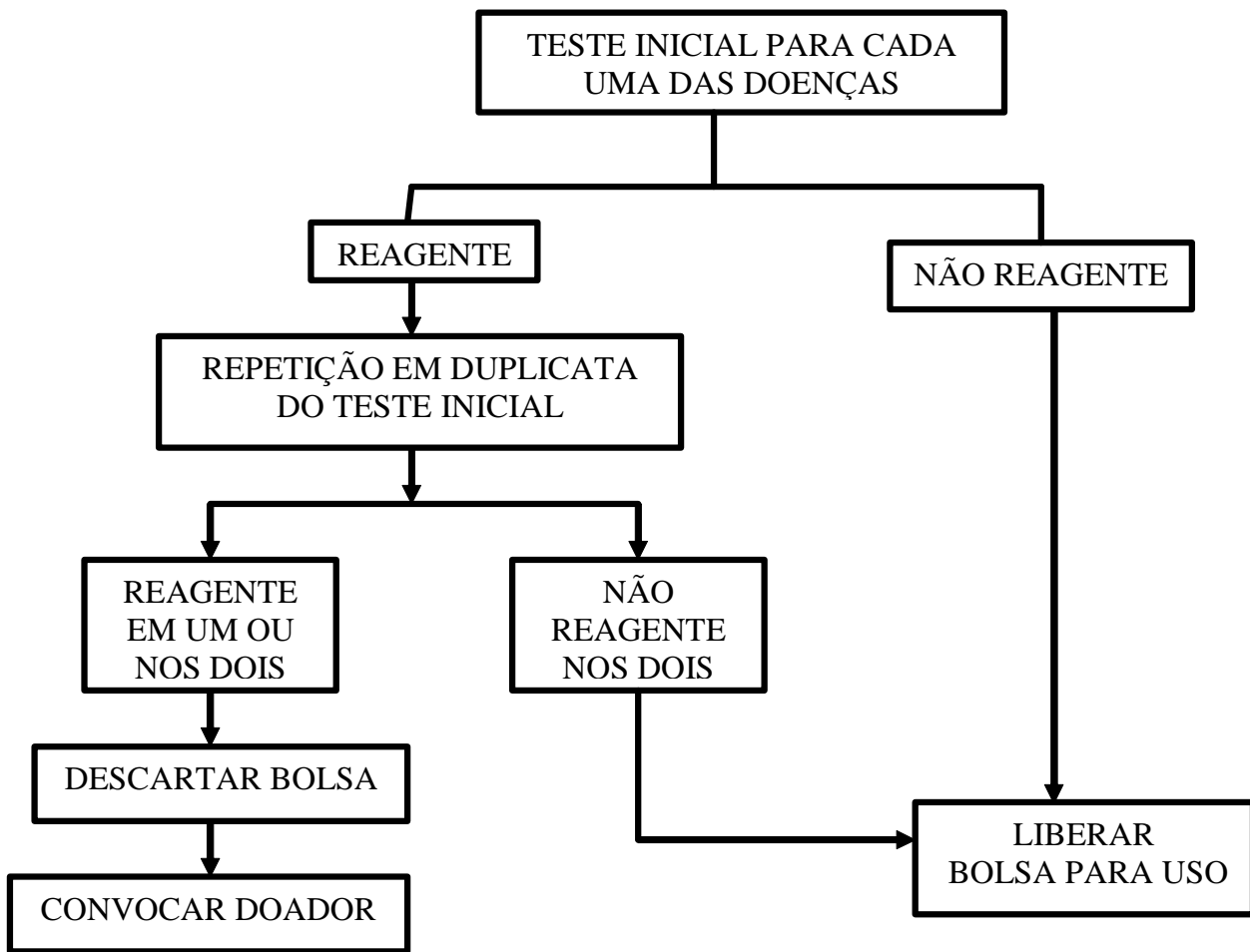


Figura 6- Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue de testes para HTLV, Hepatites B e C e Sífilis.
 Fonte: ANVISA, 2004

1.4 Confiabilidade

Confiabilidade é a extensão em que medidas de um exame laboratorial (ou clínico) repetido por pessoas e/ou instrumentos diferentes, em momentos e/ou lugares diferentes, alcançam resultados semelhantes. A confiabilidade de aferições laboratoriais pode ser estabelecida utilizando-se exames repetidos, por exemplo, do mesmo soro examinado por diferentes técnicos e instrumentos (Fletcher et al, 1996).

Reprodutibilidade intraobservador é o grau de concordância entre resultados de um mesmo laboratório (Hulley, 2003). Reprodutibilidade interobservador é o grau de concordância dos resultados entre diferentes laboratórios (Hulley, 2003).

Neste estudo a variável a ser comparada foi o resultado de exames sorológicos, todos eles expressos de forma dicotômica como reagente ou não reagente. Há diversas maneiras de verificar a concordância de resultados entre leituras de um mesmo evento ou comparar métodos diagnósticos diferentes, e assim, estimar a discordância na sua aferição.

A confiabilidade tem algumas restrições, por exemplo, ela não garante validade, isto é: quando os resultados de um teste dicotômico são comparados com um padrão – ouro, os resultados podem ser sumarizados pela sensibilidade, especificidade do teste. A sensibilidade é definida como a proporção de sujeitos com a infecção para os quais o teste fornece a resposta correta (teste positivo), enquanto a especificidade é a proporção de sujeitos sem a infecção para os quais o teste fornece a resposta correta (teste negativo) (Newman, 2003).

Segundo Klein (2003), para medir a confiabilidade de técnicas de medidas discretas, com pequeno número de categorias, um dos indicadores mais utilizados é o Kappa (K). A estatística Kappa de Cohen (Cohen, 1960) é utilizada para expressar a confiabilidade de um teste e constitui um avanço em relação à taxa geral de concordância por ser um indicador de concordância ajustada, que também leva em consideração na sua fórmula a concordância devida à chance ou acaso. O Kappa relaciona a proporção de concordância observada com aquela esperada pelo acaso e varia de -1 a 1.

Este índice apresenta algumas restrições, pois varia com a sensibilidade e a especificidade (principalmente nos casos em que a prevalência é baixa) e diretamente com a prevalência do atributo em estudo (menores prevalência menores valores de Kappa).

O índice Kappa (K) relaciona: (**P_o**) a proporção de concordâncias observadas, com as esperadas pelo acaso (**P_e**), conforme a expressão abaixo:

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

$$P_o = \frac{a + d}{N} \quad \text{onde} \quad N = a + b + c + d$$

$$P_e = \frac{\sum_k n_{.j} n_{.i}}{N^2} \quad \text{onde "n}_i \text{ n}_j\text{" são as marginais da tabela 2 x 2}$$

A tabela 1 exemplifica as células de uma tabela 2 x 2 com o cálculo de Kappa. O primeiro examinador identifica resultados positivos (a+c) e resultados negativos (b+d), enquanto o segundo examinador identifica resultados positivos (a+b) e resultados negativos (c+d).

Tabela 1: Tabela 2 x 2 com resultados de uma Prova de Confiabilidade

		Primeiro examinador		Total
		+	-	
Segundo examinador	+	a	b	n _i
	-	c	d	n _i
		n _j	n _j	N

onde: (a) concordância em resultados positivos;
 (b) discordância;
 (c) discordância;
 (d) concordância em resultados negativos

A interpretação dos níveis de concordância segundo os valores de kappa para efeitos deste estudo, segue a de certa forma arbitrariamente proposta por Landis & Koch, 1977, apresentada no Quadro 4.

Considerando que:

$K < 0$ a concordância é menor que a esperada pelo acaso;

$K = 0$ concordância igual à esperada ao acaso;

$K > 0$ a concordância é maior que a esperada pelo acaso e

$K = 1$ a concordância é perfeita

Quadro 4: Interpretação do grau de concordância segundo os valores Kappa (adaptado de Landis & Koch; 1977).

Valor de Kappa	Nível de Concordância
< 0	Sofrível
0 – 0,20	Ruim
0,21 – 0,40	Regular
0,41 – 0,60	Moderada
0,61 – 0,80	Boa
0,81 – 1,00	Excelente

Fonte: Landis & Koch, 1977

2. JUSTIFICATIVA

A segurança da transfusão sanguínea depende de vários fatores, que em conjunto, podem proporcionar melhor qualidade do sangue e de seus hemocomponentes. Dentre esse fatores, a triagem sorológica tem um significado estratégico, pois a partir de um determinado momento é o único procedimento que vai validar ou não, a utilização dos hemocomponentes.

Resultados incorretos nos testes sorológicos podem acarretar graves conseqüências tanto ao receptor quanto ao doador. Resultados falso-negativos, com a conseqüente transfusão de sangue ou seus componentes contaminados, podem levar a danos irreparáveis, inclusive a morte de receptores dessas unidades, assim como resultados falso-positivos e ou falso-negativos, podem levar a danos irreversíveis ao doador.

A confiabilidade ou precisão dos testes diagnósticos é pré-requisito para a validade dos mesmos, embora não a garanta. Pode-se afirmar que o controle externo é um instrumento necessário de avaliação da qualidade e confiabilidade dos testes sorológicos.

A implantação em 2001 do Programa de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) em Sorologia além da contribuição para o fortalecimento da “cultura da qualidade” nos diversos Serviços de Hemoterapia gerou a oportunidade de acesso a um banco de dados, cujo teor ainda não havia sido totalmente explorado,

Este estudo justifica-se por estar plenamente alinhado às políticas públicas de saúde brasileiras para o setor de sangue e hemoderivados, integrando-se ao já estabelecido Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia, constituindo um dos doze projetos da Meta Mobilizadora do Setor Saúde. Os resultados obtidos através deste trabalho visam expandir as técnicas de análise de dados do banco constituído pelos resultados laboratoriais de 6 (seis) avaliações dos painéis sorológicos enviados a cerca de 130 laboratórios participantes que revelarão a situação atual dos serviços de hemoterapia do país, especificamente no que diz respeito à confiabilidade dos testes, somando a avaliação da qualidade dos testes de triagem sorológica, realizados no Brasil.

3. OBJETIVO GERAL:

Analisar a confiabilidade dos testes de triagem sorológica realizados por aproximadamente 130 serviços de hemoterapia do Brasil participantes do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliação da confiabilidade dos testes diagnósticos para os marcadores sorológicos do HIV, HTLV, Hepatite B (HBV) e Hepatite C (HCV), Doença de Chagas e Sífilis;
- Avaliação da confiabilidade para cada kit de diagnóstico utilizado em testes de triagem sorológica e em testes confirmatórios;
- Avaliação da confiabilidade de cada serviço de hemoterapia;
- Ampliação das técnicas para análise das informações (resultados laboratoriais gerados por esta avaliação) disponibilizadas no Banco de Dados do Programa de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) em Sorologia.

4. SUJEITOS E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo de confiabilidade de testes sorológicos realizados em serviços de hemoterapia participantes do Programa de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ). Os resultados dos laboratórios participantes foram comparados com os resultados obtidos na caracterização sorológica realizada pelos laboratórios de referência.

4.2 Casuística

A população alvo foi constituída pelo conjunto de resultados sorológicos dos exames laboratoriais executados nos 6 (seis) Programas AEQ, no período de 2001 a 2003, dos cerca de 130 laboratórios participantes. No Quadro 5 se encontra a relação de todos os participantes segundo o estado e a federação.

A tabela 2 apresenta o número de laboratórios participantes e o número de resultados devolvidos por cada AEQ.

4.2.1 Critérios de Elegibilidade

Para efeitos de estudo de confiabilidade foram analisados os resultados dos laboratórios que atenderam aos seguintes critérios:

Critérios de inclusão: laboratórios que realizaram análise em pelo menos 18 amostras, ou seja, participaram em pelo menos 3 AEQs.

Critérios de exclusão: resultados indeterminados, kits utilizados em menos de 3 AEQs.

Tabela 2: Número (%) de Instituições participantes no Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia.

Laboratórios	AEQ-1	AEQ-2	AEQ-3	AEQ-4	AEQ-5	AEQ-6
Laboratórios participantes	81	131	131	130	129	127
Resultados Devolvidos (%)	78 (96%)	109 (83%)	123 (94%)	126 (97%)	118 (91%)	119 (94%)

Quadro 5: Relação de regiões federativas e o número de Laboratórios participantes por estado que participaram do Programa AEQ de 2001 a 2003.

Região	Estado	AEQ-1	AEQ-2	AEQ-3	AEQ-4	AEQ-5	AEQ-6	
Sudeste	Rio de Janeiro	3	11	10	12	7	7	
	São Paulo	13	15	15	14	13	15	
	Minas Gerais	11	13	13	13	13	13	
	Espírito Santo	1	3	3	3	3	3	
Cento-Oeste	Goiás	1	5	6	6	4	4	
	Distrito Federal	2	2	2	3	3	3	
	Mato Grosso	1	3	3	3	3	3	
	Mato Grosso Sul	3	4	5	3	4	3	
Norte	Amapá	1	1	1	1	1	1	
	Rondônia	1	2	2	2	2	2	
	Amazonas	1	1	2	2	2	2	
	Acre	1	1	1	1	1	1	
	Pará	1	1	1	1	1	1	
	Tocantins	2	2	2	2	2	2	
	Roraima	1	1	1	1	1	1	
	Nordeste	Pernambuco	2	1	3	1	1	1
		Ceará	1	1	2	2	2	2
Sergipe		1	1	1	1	1	1	
Bahia		2	1	3	5	5	3	
Alagoas		2	1	3	6	5	6	
Maranhão		1	1	1	1	1	1	
Piauí		1	1	1	1	1	1	
Rio Grande Norte		1	1	1	1	1	1	
Paraíba		2	5	5	4	4	3	
Sul	Santa Catarina	10	8	7	7	7	7	
	Paraná	9	10	4	14	15	14	
	Rio Grande Sul	2	13	15	16	15	18	
TOTAL		78	109	123	126	118	119	

4.3 Composição dos Painéis Sorológicos

Para fins do Programa de Avaliação Externa de Qualidade , mais de 600 bolsas de plasma provenientes dos Hemocentros de Manaus (HEMOAM), Recife (HEMOPE), Salvador (HEMOBA), Belo Horizonte (HEMOMINAS), Campinas (HEMOCAMP) e do Rio de Janeiro (HEMORIO), foram processadas pelo LAPPS/Bio-Manginhos/FIOCRUZ.

A confirmação sorológica também denominada de caracterização das 600 amostras foi determinada em cinco laboratórios de excelência abaixo mencionados:

- Laboratório de Produção de Painéis Sorológicos (LAPPS) de Bio-Manginhos/FIOCRUZ, RJ – execução dos testes - HIV-1/2;
- Centro de Referência Nacional para Hepatites Virais, CRNHV, FIOCRUZ/RJ – execução dos testes - HBV e HCV;
- Laboratório de Saúde Pública, - LASP, BA – execução dos testes - HTLV-I/II;
- Universidade Federal de Goiás, GO – execução dos testes - Doença de Chagas;
- Universidade Federal de Santa Catarina, SC – execução dos testes - Sífilis.

Das 600 amostras analisadas, 108 amostras foram selecionadas para compor os painéis sorológicos utilizados nas seis “Avaliações Externas de Qualidade” (AEQ), porque os resultados delas foram inequivocamente positivo ou negativo em todos os testes utilizados na caracterização (triagem e confirmatório) segundo os critérios abaixo. As 108 amostras foram analisadas pelos serviços de hemoterapia brasileiros na triagem sorológica dos doadores de sangue: testes anti-HIV-1/2, anti-HTLV I/II, anti-HCV, anti-HBc, HBsAg e testes para Sífilis e para Doença de Chagas.

A caracterização/confirmação das amostras analisadas pelos Laboratórios de Referência, foi realizada de acordo com os Critérios para Habilitação de Provedores de Ensaio de Proficiência (2002), e segundo os Procedimentos Operacionais da Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde – (REBLAS) / Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública – (GGLAS) / Agência Geral de Vigilância Sanitária – (ANVISA). Os materiais para

sorologia devem ser preparados a partir de matriz humana, não devendo ser utilizadas técnicas de “pool” de materiais positivos para o seu preparo (Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2002).

A REBLAS preconiza que a confirmação sorológica mínima para cada infecção é a seguinte:

- Anti-HIV: 3 (três) métodos diferentes, incluindo confirmatório
- Anti-HTLV: 2 (dois) métodos, incluindo confirmatório
- Doença de Chagas: 3 (três) métodos diferentes
- Hepatite B (HbsAg e Anti-HBc): 2 (dois) métodos diferentes
- Anti-HCV: 2 (dois) métodos, incluindo confirmatório
- Sífilis: 3 (três) métodos diferentes, incluindo confirmatório

Para a confirmação das amostras, os Laboratórios de Referência utilizaram os seguintes critérios por infecção:

- Anti-HIV: 5 (cinco) métodos diferentes e 2 (dois) confirmatórios (Imunofluorescência e Western Blotting)
- Anti-HTLV: 3 (três) métodos, incluindo confirmatório
- Doença de Chagas: 4 (quatro) métodos diferentes
- Hepatite B (HbsAg e Anti-HBc): 2 (dois) métodos diferentes e 1 (um) confirmatório para HbsAg
- Anti-HCV: 3 (três) métodos , incluindo confirmatório
- Sífilis: 6 (seis) métodos diferentes, incluindo confirmatório

Cada uma das seis AEQ, foi composta de um total de 18 amostras (volume de 1,5 mL cada), agrupados em três conjuntos ou painéis (cegos), contendo 6 amostras cada um, e enviados aos cerca de 130 serviços de hemoterapia brasileiros.

O primeiro conjunto/painel foi composto por 6 amostras para os marcadores de HIV, HTLV e Doença de Chagas. Já o segundo foi testado para os marcadores de Hepatite B e C enquanto o terceiro foi testado para Sífilis. Cada infecção foi examinada em 36 amostras ao longo das 6 AEQs.

As amostras que compuseram os conjuntos/painéis foram também confirmadas sorologicamente como verdadeiros positivos e verdadeiros negativos pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS, FIOCRUZ/RJ.

Após a realização dos testes pelos Laboratórios Participantes e o envio dos resultados ao Laboratório Organizador (LAPPS), este elaborou um Relatório Global apresentando os dados gerais do Programa. Este relatório manteve a identificação dos serviços de hemoterapia em sigilo, observando o caráter confidencial e não punitivo do Programa. Cada Laboratório Participante recebeu uma cópia do Relatório Global, bem como um relatório individual contendo os dados – codificação dos erros e acertos – e comentários pertinentes à sua instituição.

A resolução – RDC nº 196, de 11 de agosto de 2004 no artigo 2º designa os membros que compõem o Comitê Técnico de Sorologia, que tem como objetivo principal analisar o fluxo de informações gerenciais, de orientações técnicas além do acompanhamento do Sistema. Este comitê é composto por especialistas, que por sua, idoneidade e experiência reunidas e agregadas ao compromisso de **“educar para corrigir falhas”** contribuem de forma direta na melhoria dos serviços realizados.

O patrocínio do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia foi da Gerência de Sangue outros Tecidos e Órgãos / GGSTO / ANVISA / MS. A Figura 7 apresenta o fluxograma do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia. Abaixo a identificação das setas, onde:

- **1 e 2** - Fluxo de informações gerenciais, de orientações técnicas e acompanhamento do Programa entre GGSTO, Bio-Manguinhos e comitê técnico;
- **3** – Envio das 600 bolsas de plasma (acompanhadas dos resultados obtidos nos Hemocentros) dos Hemocentros fornecedores para Bio-Manguinhos;
- **4** – Envio de amostras processadas para confirmação sorológica de Bio-Manguinhos para os Laboratórios de Referência;
- **5** – Envio dos resultados da confirmação sorológica das amostras dos Laboratórios de Referência para Bio-Manguinhos;
- **6** – Envio dos painéis para confirmação sorológica de Bio-Manguinhos para o INCQS;
- **7** – Envio dos laudos de análise e aprovação dos painéis do INCQS para Bio-Manguinhos;

- **8** – Envio dos painéis sorológicos de Bio-Manguinhos para os Serviços de Hemoterapia;
- **9** – Envio dos resultados obtidos pelos Serviços de Hemoterapia para serem analisados por Bio-Manguinhos;
- **10**- Envio de relatórios individuais de desempenho e relatórios globais de Bio-Manguinhos para os Serviços de Hemoterapia.

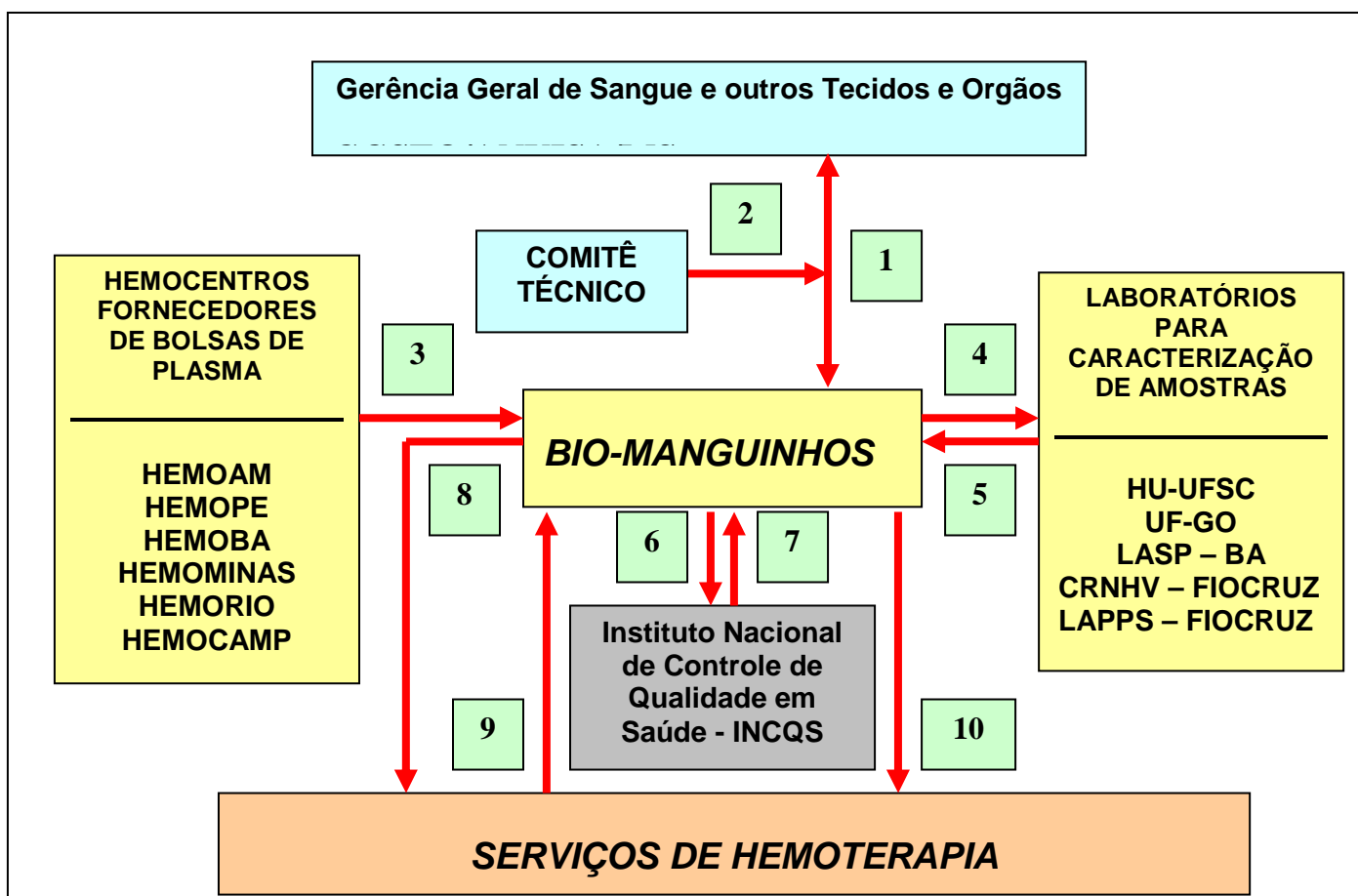


FIGURA 7: Fluxograma de apresentação do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia.

4.4. VARIÁVEIS DE INTERESSE:

São os resultados das técnicas utilizadas na execução dos testes de hemaglutinação, testes imunoenzimáticos, testes de imunofluorescência, e testes de floculação distribuídas pelos vários Kits disponíveis para cada infecção avaliada e laboratórios participantes codificadas. Essas variáveis constam dos resultados dos painéis enviados em planilhas pelos laboratórios e já digitados em planilha eletrônica de dados. Esses exames foram expressos em resultados do tipo dicotômico, isso é, presença ou ausência da infecção.

4.4.1. Técnicas dos testes sorológicos avaliados

Testes sorológicos são testes imunológicos que detectam no soro, antígenos (Ag) e/ou anticorpos (Ac) em vários tipos de infecção. Estes testes são utilizados na execução das metodologias de Hemaglutinação indireta (HAI), ensaio imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência indireta (IFI), e teste de microaglutinação (VDRL), descritas a seguir e distribuídas pelos vários Kits disponíveis para cada infecção avaliada pelos serviços de hemoterapia participantes. O quadro 6 resume as doenças infecciosas e as metodologias mais utilizadas nos testes de triagem de doadores de sangue.

Dentre várias características de um teste que devem ser consideradas em um programa de triagem sorológica são representadas pela sensibilidade e especificidade.

Sensibilidade é a capacidade de um teste detectar os indivíduos realmente portadores da doença, condição ou agravo. Representa a probabilidade de os indivíduos com a doença terem um teste positivo. Um teste é tanto mais sensível quanto menor for o número de exames falso-negativos que ele produz (ANVISA, 2004).

Especificidade é a capacidade de um teste definir os indivíduos realmente não portadores. Representa a probabilidade de os indivíduos sem a doença terem um teste negativo. A especificidade de um teste será tanto melhor quanto maior for a sua capacidade de não produzir resultados falso-positivos (ANVISA, 2004).

Quadro 6: Distribuição das metodologias mais utilizadas nos testes para triagem laboratorial de doenças infecciosas em doadores de sangue.

INFECÇÃO	METODOLOGIA	DETECÇÃO	OBSERVAÇÕES
Doença de Chagas	EIE	Anticorpo anti-T. cruzi	EIE mais utilizado que HAI
	HAI	Anticorpo anti-T. cruzi	
	IFI	Anticorpo anti-T. cruzi	
Sífilis	VDRL	Anticorpo anti-cardiolipina	Teste não-Treponêmico
Infecção pelo HBV	EIE - HBsAg	Antígeno HBs	
	EIE - anti-HBc	Anticorpo anti-HBc	
Infecção pelo HCV	EIE	Anticorpo anti-HCV	
Infecção pelo HTLV-III	EIE	Anticorpo anti-HTLV-III	
Infecção pelo HIV 1/2	EIE a	Anticorpo anti-HIV 1/2	Recomenda-se que EIE a e EIE b utilizem metodologias ou composição antigênicas diferentes
	EIE b	Anticorpo anti-HIV 1/2	

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.

4.4.1.1 Teste de Hemaglutinação passiva ou indireta (HAI)

A verificação de Boyden, em 1951, de que proteínas podiam ser adsorvidas a hemácias tratadas com ácido tânico e que essas células podiam ser aglutinadas por anticorpos específicos possibilitou o emprego dos métodos de aglutinação para a detecção de anticorpos contra várias substâncias.

Hemácias estão entre os melhores suportes de antígenos para os testes de aglutinação, pois há uma série de antígenos que pode ser ligada à sua superfície para fornecer um sistema indicador sensível na detecção de anticorpos.

O teste em placa utiliza pequenas quantidades de reagentes e é considerado positivo quando se verifica a formação de tapete cobrindo o fundo da cavidade da placa em “V”, e negativo quando as hemácias sedimentam formando um “botão” compacto. O título da amostra testada será a máxima diluição em que ainda se observa a formação do tapete.

O teste detecta anticorpos das classes IgG e IgM e, embora os anticorpos IgM sejam 750 vezes mais eficientes na aglutinação que os IgG, a quantidade de antígeno necessária para se obter a máxima reatividade com IgM é muito maior do que a necessária para a máxima reatividade com IgG. Empregando-se hemácias sensibilizadas com antígenos protéicos, quando adequadamente padronizado, o teste detecta anticorpos em níveis de concentração de 0,01 µg/ml.

No teste de HAI, a capacidade de hemaglutinação é bloqueada quando o agente reage com o anticorpo específico. No primeiro estágio, o agente hemaglutinante é misturado com o anticorpo. Se o anticorpo é específico para o agente, irá se ligar a este e inibir a capacidade de produzir hemaglutinação. No segundo estágio, são adicionadas hemácias à mistura do primeiro estágio; o agente complexado ao anticorpo não tem a capacidade de produzir a hemaglutinação. Quando o anticorpo, no primeiro estágio, não é específico para o agente, não há formação do complexo agente-anticorpo, e o vírus mantém a sua capacidade de induzir hemaglutinação. A técnica é aplicável apenas a agentes com capacidade hemaglutinante. Para a detecção de anticorpos, um agente hemaglutinante conhecido é misturado com o soro do paciente. Se o soro inibir a hemaglutinação pelo agente, o anticorpo no soro é

detectado. O teste de HAI também pode ser usado para identificação do agente. O agente é misturado com soros padrões contendo anticorpos específicos. Se os anticorpos inibirem a hemaglutinação, o agente é identificado (Sanchez, 2001).

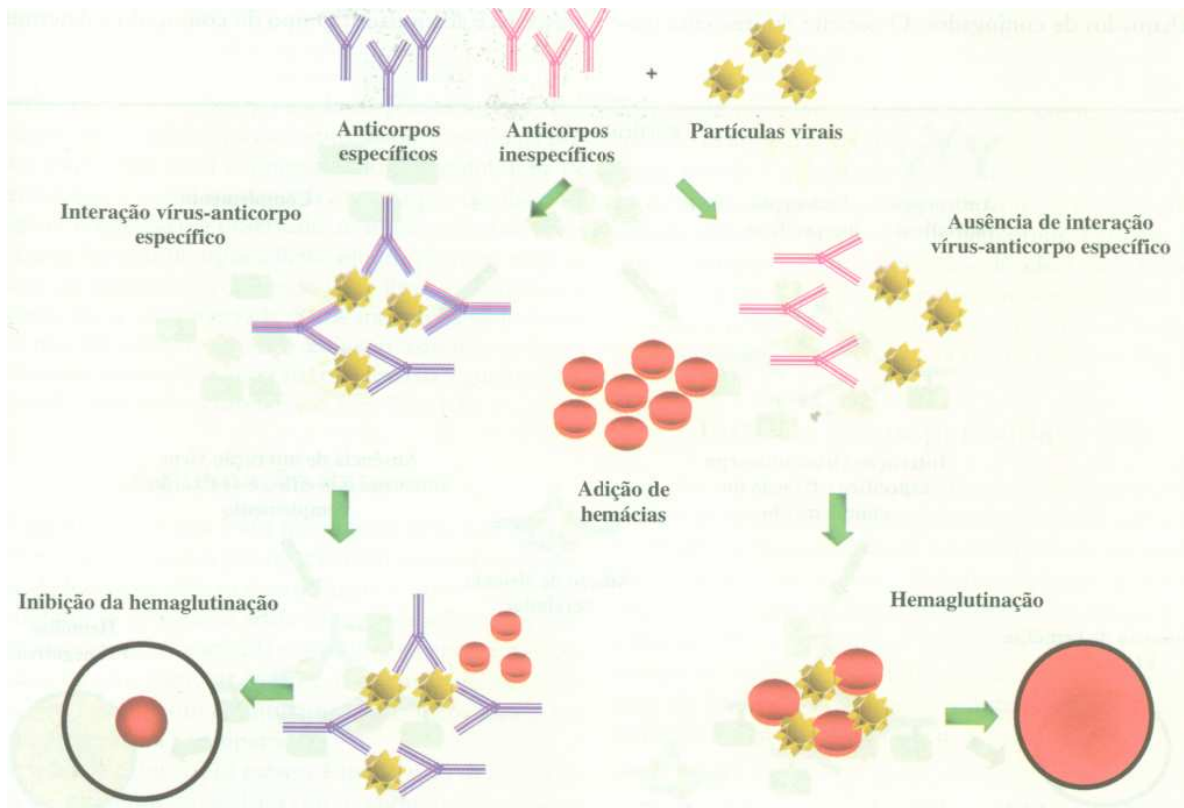


Figura 8: Esquema do Teste de Hemaglutinação passiva ou indireta
Fonte: Santos NSO, 2002

4.4.1.2 Teste Imunoenzimático (EIE ou ELISA)

O EIE, também denominado ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent assay) é uma reação imunoenzimática, e foi desenvolvido como uma alternativa ao radioimunoensaio. O objetivo do ensaio é a quantificação ou detecção da presença de antígenos ou anticorpos.

O seu princípio básico é a imobilização de um dos reagentes em uma fase sólida, enquanto outro reagente pode ser ligado a uma enzima, com preservação tanto da atividade enzimática como da imunológica do anticorpo.

A fase sólida pode ser constituída por partículas de agarose, poliácridamida, dextran, poliestireno, etc. Placas plásticas são as mais difundidas, por permitirem a realização de múltiplos ensaios e automação.

O teste detecta quantidades extremamente pequenas de antígenos ou anticorpos, podendo ter elevada precisão se os reagentes e os parâmetros do ensaio forem bem padronizados. Especial atenção deve ser dada a fase sólida, cujas propriedades podem variar de acordo com a composição. O grau de pureza do antígeno ou do anticorpo da fase sólida é muito importante, pois qualquer material heterólogo competirá pelo espaço na placa.

O sistema envolve a detecção do imunocomplexo fixo em um suporte, usando para isso um anticorpo conjugado a uma enzima. O resultado do teste é determinado pela observação ou medida espectrofotométrica da coloração produzida pela reação da enzima sobre o substrato. Assim sendo, o teste envolve as seguintes etapas: (1) formação do imunocomplexo (Ag-Ac); (2) adição do conjugado (Ac + enzima); e (3) revelação (adição do substrato-reação colorida) (Sanchez, 2001).

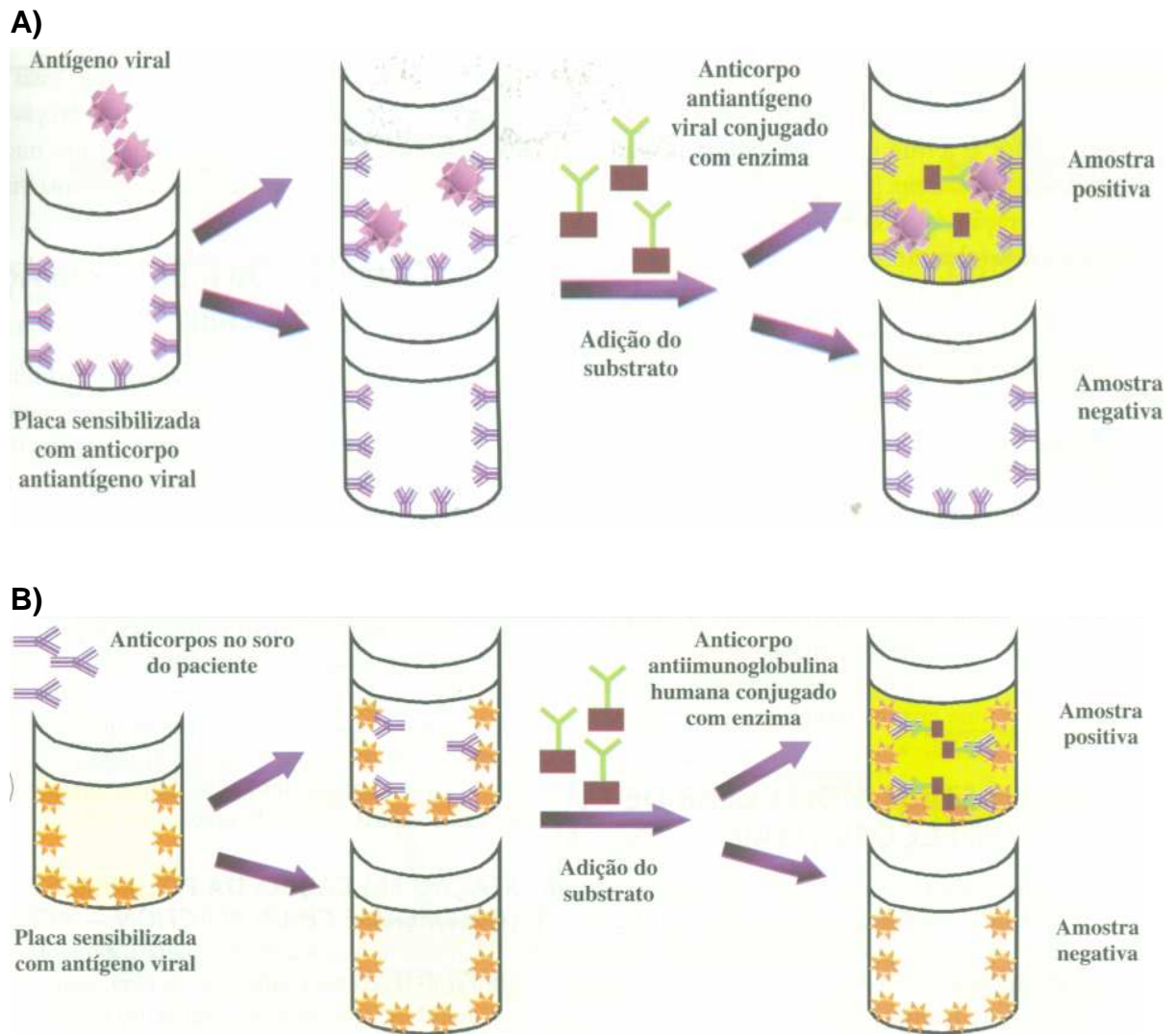


Figura 9: Esquema do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para a detecção de antígenos (A) e anticorpos(B)
 Fonte: Santos NSO, 2002.

4.4.1.3 Teste de Imunofluorescência (IF)

O teste de imunofluorescência é um dos mais utilizados no diagnóstico de laboratório para a pesquisa de anticorpos e cada vez mais com anticorpos monoclonais para a pesquisa de microrganismos e seus componentes em espécimes clínicas.

A técnica de imunofluorescência utiliza anticorpos marcados com corantes fluorescentes. Os anticorpos marcados são chamados de conjugados. O corante fluorescente usado mais freqüentemente é o isotiocianato de fluoresceína (ITCF), que absorve a luz azul (490 nm) e emite uma fluorescência amarelo-esverdeada intensa (517 nm).

A coloração do anticorpo fluorescente das moléculas celulares ou componentes do tecido pode ser direta ou indireta. Na coloração direta, o anticorpo específico (o anticorpo primário) é conjugado diretamente com fluoresceína. **A imunofluorescência indireta (IFI)** é a mais usada para a detecção de anticorpos.

O teste é realizado em duas etapas. Na primeira, anticorpos não marcados são adicionados a células infectadas fixadas a uma lâmina de microscópio. Após incubação, as lâminas são lavadas para remover anticorpos não ligados. Na segunda etapa, um anticorpo antiimunoglobulina conjugado a fluoresceína é adicionado. O tipo de conjugado é determinado pela espécie de anticorpo usado na primeira etapa. Por exemplo, se um anticorpo humano é usado na primeira etapa, então o conjugado antiimunoglobulina humana é usado na segunda etapa. Após incubação e lavagem, o esfregaço é observado ao microscópio de fluorescência. Se os anticorpos adicionados na primeira etapa se ligarem ao antígeno, o conjugado irá se ligar as células infectadas fixadas na lâmina de microscópio, e a fluorescência será observada. Se os anticorpos na primeira etapa não são específicos, logo não irão se ligar a este e o conjugado não se ligará ao complexo na segunda etapa, não sendo observada fluorescência (Sanchez, 2001).

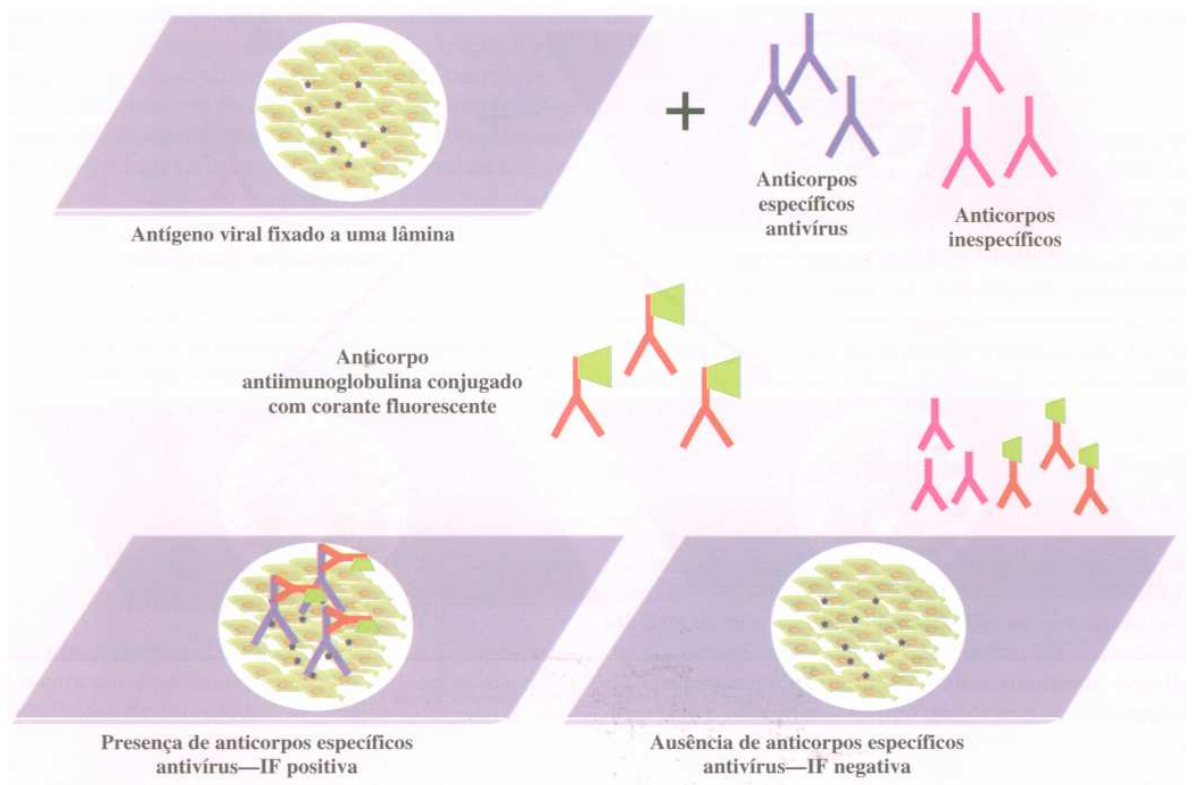


Figura 10: Esquema do Teste de imunofluorescência indireta
 Fonte: Santos NSO, 2002.

4.4.1.4 Teste de Floculação - Teste não treponêmico

Testes não treponêmicos são utilizados na triagem sorológica da Sífilis e detectam anticorpos anticardiolipínicos, também chamados reaginas. Apesar destes anticorpos não serem específicos para o *Treponema pallidum*, estão presentes na Sífilis, e ocasionalmente em outras patologias como o lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide e infecções virais. Também são detectados na gravidez.

Simple reação de floculação, o teste cardiolipínico do VDRL (Venereal disease Research Laboratory) e suas variantes como o teste RPR (Rapid Plasm Reagin), vieram substituir as técnicas de fixação de complemento, hoje abandonadas.

O antígeno de VDRL é uma solução alcoólica de cardiolipina, lecitina e colesterol. Esta solução, quando adicionado à salina tamponada para VDRL, forma uma suspensão de partículas muito finas. Estas partículas combinarão com reaginas que estão presentes no soro humano durante a infecção sífilítica.

A combinação da reagina com a suspensão antigênica de VDRL formará grumos de partículas antigênicas que se tornam visíveis ao microscópio. A floculação das partículas antigênicas dá uma visível evidência de que a reagina está presente no soro do paciente. Ausência da floculação indica uma reação negativa (Sanchez, 2001).

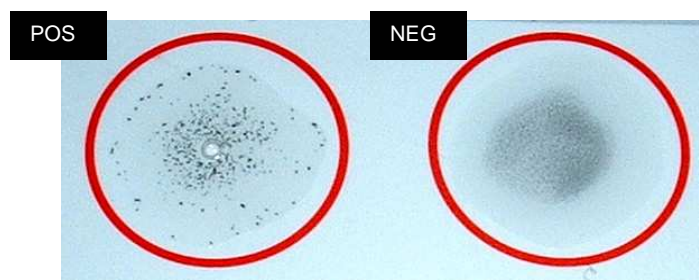


Figura 11: Esquema do teste de floculação

Fonte: <http://membres.lycos.fr/btsab/vdrl-charbon.html>

4.5. Análise de dados

Os resultados do Programa que se encontravam disponíveis em planilha eletrônica de dados foram compatibilizados e editados no software “Statistical Package for the Social Sciences SPSS-WIN, versão 11.0” durante o primeiro semestre de 2004.

O sistema de informática utilizado no Programa de Avaliação de Qualidade gerou uma planilha eletrônica de dados para cada AEQ e por doença no total de 30 planilhas até 2003. Cada um das 6 planilhas eletrônica de dados, de cada uma das 5 infecções, foi transposta para bancos de dados em SPSS com as informações dos Kits utilizados. Só foram transpostas planilhas de kits que foram utilizados em pelo menos 3 AEQs (18 amostras).

Nas linhas (dos bancos de dados criados em SPSS) constaram as amostras (total máximo de 36) e nas colunas (variáveis) os laboratórios participantes (total máximo limitado aqueles que realizaram pelo menos 18 exames ao longo das 6 AEQs).

Esta arquitetura permite a comparação dos resultados obtidos entre os laboratórios e a caracterização.

A confiabilidade inter-avaliadores (inter-laboratório) foi aferida através do coeficiente Kappa de Cohen para uma variável dicotômica relativa à presença ou ausência da infecção (Fleiss, 1981) no software SPSS-win 11.0.

No SPSS foram realizadas as análises de confiabilidade através do coeficiente Kappa de Cohen para uma variável dicotômica relativa à presença ou ausência do diagnóstico de cada marcador sorológico, para cada kit que foi testado em pelo menos 18 amostras (3 AEQs).

4.6. Local de realização:

Por possuir a tecnologia necessária para a produção de painéis de soros em larga escala e pela seriedade e qualidade de seu trabalho, o Laboratório de Produção de Painéis Sorológicos (LAPPS) do Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED) de Bio-Manguinhos/ Fundação Oswaldo Cruz, atuou como “Laboratório Organizador” junto a outros cinco laboratórios nacionais de excelência no âmbito do Programa de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) em Sorologia, do Ministério da Saúde para a execução deste estudo.

4.7. Considerações éticas

Não há identificação nominal de indivíduos ou serviços. As bolsas de plasma vêm identificadas apenas pelo código de barras. A cada Serviço de Hemoterapia / laboratório foi atribuído um código numérico.

O Programa Brasileiro de Qualidade e Produtividade – PBQP/ Meta Mobilizadora Nacional do Setor Saúde : “Sangue com garantia em todo o seu Processo até 2003”/ANVISA/MS onde a política adotada é não punitiva, educativa e de confidencialidade a divulgação global dos resultados foi feita de forma consolidada, e é oferecido um retorno específico para cada laboratório de modo sigiloso para propiciar sua auto-avaliação.

5. RESULTADOS

Nas seis Avaliações Externas da Qualidade (AEQs) em Sorologia, foram utilizados diferentes Kits pelos Serviços de Hemoterapia participantes (Quadro 7), sendo que alguns deles também foram utilizados pelos Laboratórios de Referência (Quadro 8) na caracterização sorológica das amostras que compuseram os painéis sorológicos.

Cabe ressaltar que nas seis AEQS, foram testadas 36 amostras (seis amostras por cada AEQ) para cada marcador sorológico. Neste estudo foram considerados apenas os Kits analisados por pelo menos 18 amostras, ou seja, os que foram utilizados em pelo menos três AEQs. Os resultados dos valores de Kappa estão apresentados em tabelas abaixo.

Quadro 7: Kits utilizados pelos Serviços de Hemoterapia participantes do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia

Código do Kit / Marcador Sorológico						
HIV	HTLV	D. Chagas	HBsAg	HBcAg	HCV	Sífilis
3	01	1	3	3	3	1
12	03	2	9	5	6	4
15	04	3	11	6	7	6
17	–	4	12	7	8	9
23	–	5	15	8	11	12
32	–	6	16	9	13	13
36	–	19	–	–	14	–
45	–	–	–	–	–	–

Quadro 8: Kits utilizados pelos Laboratórios de Referência e pelos Serviços de Hemoterapia Participantes

Código do Kit / Marcador Sorológico						
HIV	HTLV	D. Chagas	HBsAg	HBcAg	HCV	Sífilis
15	01	1	11	7	8	9
17	03	2	12	8	–	–
23	–	5	–	–	–	–
32	–	6	–	–	–	–
45	–	19	–	–	–	–

5.1 Resultados de Kappa para teste sorológico HIV

Para o marcador sorológico – HIV foram utilizados oito diferentes Kits codificados por 117 laboratórios participantes (tabela 3). Destes, 114 laboratórios (97,4%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,88 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 3 laboratórios (2,6%) obtiveram resultados de Kappa entre 0,62 a 0,79, evidenciando confiabilidade boa. Os resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HIV, por kit, segundo laboratório participante, estão no Anexo 1.

Tabela 3: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o ensaio imunoenzimático – (EIE) para HIV segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
03	–	–	–	–	–	10
12	–	–	–	–	–	5
15	–	–	–	–	–	28
17	–	–	–	–	1	28
23	–	–	–	–	–	7
32	–	–	–	–	–	22
36	–	–	–	–	1	7
45	–	–	–	–	1	7

5.2 Resultados de Kappa para teste sorológico HTLV

Para o marcador sorológico – HTLV foram utilizados três diferentes Kits codificados por 101 laboratórios participantes (tabela 4). Destes, 99 laboratórios (98%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,86 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 2 laboratórios (2%) obtiveram resultados de Kappa de 0,57, evidenciando confiabilidade moderada. Os resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HTLV, por kit, segundo laboratório participante estão no Anexo 2.

Tabela 4: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o ensaio imunoenzimático – (EIE) para HTLV segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
01	–	–	–	–	–	19
03	–	–	–	1	–	72
04	–	–	–	1	–	8

5.3 Resultados de Kappa para teste sorológico Doença de Chagas

Para o marcador sorológico – Doença de Chagas foram utilizados três diferentes Kits codificados na metodologia de ensaio imunoenzimático (EIE) por 76 laboratórios participantes (tabela 5). Destes, 74 laboratórios (97,4%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,91 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 2 laboratórios (2,6%) obtiveram resultados de Kappa entre 0,73 e 0,76, evidenciando confiabilidade boa.

Na metodologia de hemaglutinação indireta (HAI), foram utilizados três diferentes Kits codificados por 54 laboratórios (tabela 6). Destes, 45 (83,3%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,81 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 3 (3,8%) obtiveram resultados de Kappa, variando de 0,64 a 0,75, evidenciando confiabilidade boa; 4 (7,4) os resultados foram de 0,44 a 0,57 com confiabilidade moderada; 1 (1,9%) com Kappa de 0,40 confiabilidade regular e 1(1,9%) com Kappa de 0,19 com confiabilidade

ruim. Este resultado foi verificado com a planilha eletrônica de dados e no formulário enviado pelo Serviço de Hemoterapia.

Somente um Kit codificado foi utilizado na imunofluorescência indireta (IFI), por 13 laboratórios (tabela 7), sendo que 12 (92,3%) obtiveram Kappa de 0,87 a 1,00, com confiabilidade excelente e 1 laboratório obteve kappa de 0,80, logo com confiabilidade boa. Os resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE), de hemaglutinação indireta (HAI) e de imunofluorescência indireta (IFI) realizados no diagnóstico da Doença de Chagas, por kit, segundo laboratório participante estão no Anexo 3.

Tabela 5: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o ensaio imunoenzimático – (EIE) para Doença de Chagas segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
01	–	–	–	–	1	26
03	–	–	–	–	1	41
06	–	–	–	–	–	7

Tabela 6: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o método de Hemaglutinação Indireta - HAI para Doença de Chagas segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
02	–	–	1	2	1	39
04	–	1	–	2	–	1
05	–	–	–	–	2	5

Tabela 7: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o método de imunofluorescência Indireta - IFI para Doença de Chagas segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
12	–	–	–	–	1	12

5.4 Resultados de Kappa para teste sorológico HBsAg

Para o marcador sorológico – HBsAg foram utilizados quatro diferentes Kits codificados por 80 laboratórios participantes (tabela 8). Destes, 76 laboratórios (95%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,81 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 1 laboratório (1,3%) obteve resultado de Kappa 0,77, evidenciando confiabilidade boa; 1 (1,3%) com Kappa de 0,57 e confiabilidade moderada e 1 (1,3%) com kappa de 0,40 confiabilidade regular. Os resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HBsAg, por kit, segundo laboratório participante estão no Anexo 4.

Tabela 8: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o ensaio imunoenzimático – (EIE) para HBsAg segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
03	–	–	1	–	–	7
09	–	–	–	–	1	6
11	–	–	–	1	–	31
12	–	–	–	–	–	14
15	–	–	–	–	–	4
16	–	–	–	–	–	15

5.5 Resultados de Kappa para teste sorológico HBcAg

Para o marcador sorológico – HBcAg, foram utilizados seis diferentes Kits codificados por 95 laboratórios participantes (tabela 9). Destes, 92 laboratórios (96,8%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,88 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 3 laboratórios (3,2%) obtiveram resultados de Kappa entre 0,73 a 0,79, evidenciando confiabilidade boa. Os Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HBcAg, por kit, segundo laboratório participante estão no Anexo 5.

Tabela 9: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o ensaio imunoenzimático – (EIE) para HBcAg segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
03	–	–	–	–	–	14
05	–	–	–	–	–	6
06	–	–	–	–	2	10
07	–	–	–	–	1	29
08	–	–	–	–	–	18
09	–	–	–	–	–	15

5.6 Resultados de Kappa para teste sorológico HCV

Para o marcador sorológico – HCV, foram utilizados cinco diferentes Kits codificados por 81 laboratórios participantes (tabela 10). Destes, 78 laboratórios (96,3%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,83 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 3 laboratórios (3,7%) obtiveram resultados de Kappa entre 0,78 a 0,79, evidenciando confiabilidade boa. Os Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HCV, por kit, segundo laboratório participante estão no Anexo 6.

Tabela 10: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para o ensaio imunoenzimático – (EIE) para HCV segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
03	–	–	–	–	2	2
06	–	–	–	–	–	5
07	–	–	–	–	–	6
08	–	–	–	–	1	12
11	–	–	–	–	–	6
13	–	–	–	–	–	44
14	–	–	–	–	–	3

5.7 Resultados de Kappa para teste sorológico Sífilis

Para o marcador sorológico – Sífilis, foram utilizados cinco diferentes Kits codificados para o teste não treponêmico VDRL por 61 laboratórios participantes (tabela 11). Destes, 40 laboratórios (65,6%) apresentaram resultados de Kappa, variando de 0,81 a 1,00, evidenciando confiabilidade excelente. Somente 14 laboratórios (23%) obtiveram resultados de Kappa entre 0,73 a 0,80, evidenciando confiabilidade boa; 4 laboratórios (6,6%) os resultados de Kappa foram de 0,45 a 0,57, com confiabilidade de moderada; 2 laboratórios (3,8%) com Kappa de 0,21 e 0,40 com confiabilidade regular e 1

(1,6%) com kappa de -0,091 com confiabilidade sofrível. Este resultado foi verificado com a planilha eletrônica de dados e no formulário enviado pelo Serviço de Hemoterapia.

Para o teste não treponêmico RPR, foi utilizado um Kit codificado por 23 laboratórios participantes (tabela 12). Destes, 3 laboratórios (13%) apresentaram resultados de Kappa de 0,87 a 0,92, evidenciando confiabilidade excelente, 15 laboratórios (65,2%) apresentaram resultados de Kappa entre 0,65 a 0,80, com confiabilidade boa; 4 (17,4%) com Kappa entre 0,44 a 0,49 e confiabilidade moderada e 1 (4,3%) com Kappa 0,40 e confiabilidade regular . Os resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico da Sífilis, por kit, segundo laboratório participante estão no Anexo 7.

Tabela 11: Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para VDRL para Sífilis segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
01	–	–	1	–	2	7
04	–	–	–	–	2	3
09	–	–	–	–	–	12
12	–	–	1	–	4	6
13	1	–	–	4	6	12

Tabela 12 Quantitativo (nº absolutos) de resultados Kappa para RPR para Sífilis segundo o Kit utilizado

Código do Kit	Valores de Kappa/ Nº de Serviços de Hemoterapia					
	<0	0-0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-0,80	0,81-1,00
06	–	–	1	4	15	3

6. DISCUSSÃO

A transmissão de doenças infecciosas por transfusão pode ser minimizada através da seleção adequada de doadores, do aperfeiçoamento da triagem sorológica das doenças infecciosas e da redução das transfusões a um número mínimo compatível ao uso apropriado do sangue e seus componentes. A triagem sorológica é a porta de entrada no que tange à garantia da segurança na transfusão do sangue e seus componentes (Schmuñis, 2000).

Segundo Schmuñis (2000), a triagem sorológica de doadores é de especial importância na América Latina, onde a doação voluntária recorrente é a exceção e não a regra e, portanto, onde a maioria das doações é realizada por novos doadores para os quais a prevalência dos testes sorológicos positivos por doenças infecciosas é maior do que para doadores regulares, submetidos à triagem periódica.

Ainda de acordo com Schmuñis (2000), a segurança do suprimento de sangue, a qualidade dos procedimentos de triagem e a prevenção da transmissão de doenças infecciosas por transfusão sanguínea podem ser avaliadas em qualquer país através da revisão dos registros de doações/triagens e da determinação de marcadores sorológicos para doenças infecciosas.

Considerando estas recomendações este estudo buscou avaliar os resultados dos testes de triagem sorológica para os marcadores do HIV, HTLV, HBV, HCV, Doença de Chagas e Sífilis, obtidos pelos cerca de 130 laboratórios que participaram do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Sorologia (AEQ). Estes resultados foram comparados, por grau de concordância, a resultados-padrão, previamente estabelecidos por Laboratórios Nacionais de Referência em Sorologia e pelo Laboratório Organizador do Programa. Para tanto, utilizou-se o índice estatístico Kappa (K) que relaciona a concordância entre os resultados observados àqueles esperados pelo acaso.

Segundo o algoritmo estabelecido pela RDC 343 de 13 de setembro de 2002 para testes e liberação das bolsas de sangue, cada serviço de hemoterapia deve realizar dois procedimentos de teste para triagem do HIV-1/2, sendo um deles necessariamente um ensaio imunoenzimático (EIE). Para

os dois ensaios imunoenzimáticos realizados na triagem do HIV, oito kits diferentes foram utilizados por 117 laboratórios participantes (tabela 3). A grande maioria (97,4%) apresentou confiabilidade excelente, com os demais (2%) mantendo ainda confiabilidade boa. Observa-se que apesar da variação de kits a qualidade não é substancialmente afetada.

O procedimento de teste para a triagem do HTLV-I/II em todos 101 laboratórios foi um ensaio imunoenzimático, mas com uma variedade menor (total de três) de kits utilizados (tabela 4). A grande maioria dos kits com uma performance excelente (98%), entretanto em duas utilizações os kits 3 e 4 apresentaram confiabilidade apenas moderada (Kappa 0,57) .

Portanto, os testes de triagem sorológica do HIV e HTLV demonstraram resultados compatíveis aos resultados esperados num grau elevado de concordância, o que pôde ser evidenciado pelos altos valores de Kappa obtidos para os mesmos.

A RDC 343 preconiza dois procedimentos de teste para a triagem da Doença de Chagas, empregando metodologias diferentes. Neste estudo foram analisados três kits de ensaio imunoenzimático (EIE), três de hemaglutinação indireta (HAI) e um de imunofluorescência (IFI). Os três kits de ELISA (EIE) utilizados por 76 laboratórios participantes (tabela 5), não suscitam preocupação uma vez que apresentaram em sua maioria (97,4%) confiabilidade excelente e os demais (2,6%) confiabilidade boa. Já no que se refere aos três kits de hemaglutinação indireta (HAI) os resultados foram muito variados. Dos 54 laboratórios participantes (tabela 6), 83,3% apresentaram confiabilidade excelente; 3,8% boa; e 11,2% confiabilidade de moderada a ruim. A menos utilizada das metodologias foi a imunofluorescência indireta (IFI), com apenas um kit utilizado por somente 13 laboratórios em que quase todos (12) obtiveram confiabilidade excelente (tabela 7). A Hemaglutinação Indireta foi a que apresentou os graus mais baixos de confiabilidade (confiabilidade regular), enquanto a IFI e os EIE apresentaram os graus mais altos (confiabilidade boa a excelente). Lorca et al., 1994, avaliaram kits comerciais para Doença de Chagas com as metodologias de hemaglutinação indireta (HAI) e ensaio imunoenzimático (EIE) e encontraram valores de sensibilidade dos Kits variando de 60 a 100%. A hemaglutinação indireta (HAI) foi a metodologia com a menor sensibilidade. Lorca et al., 2004 recomendaram

o uso do ensaio imunoenzimático (EIE) para detecção da Doença de Chagas em banco de sangue.

A magnitude do problema relativo a erros de detecção de doadores portadores de D. Chagas pode ser dimensionado considerando a estimativa derivada do trabalho de Moraes-Souza et al., 1994 de uma proporção de 1% de potenciais doadores com sorologia positiva para anticorpos anti-Trypanossoma cruzi.

A legislação recomenda um teste para a triagem de cada um dos dois marcadores do HBV (HBsAg e anti-HBc), podendo ser um ensaio imunoenzimático ou de quimioluminescência. Em nosso estudo os kits utilizados eram do tipo imunoenzimático. Para o marcador sorológico HBsAg da Hepatite B foram utilizados seis kits por 80 serviços de hemoterapia (tabela 8). Destes, 76 laboratórios participantes (95%) apresentaram resultados de Kappa com confiabilidade excelente ou boa (1,3%); somente dois kits (3 e 11) apresentaram confiabilidade moderada (Kappa de 0,57) e regular (K = 0,40). Para o outro marcador sorológico, HBcAg, da Hepatite B, seis kits diferentes foram utilizados por 95 laboratórios participantes quase todos com (96,8%) com confiabilidade excelente e os demais (3,2%) boa (tabela 9). Recomenda-se apenas um teste (imunoenzimático ou quimioluminescência) para a triagem do HCV. Foram utilizados sete kits diferentes por 81 serviços de hemoterapia dos quais quase todos (96,3%) apresentaram confiabilidade excelente e os demais (3,7%) boa (tabela 10). Portanto, no que diz respeito aos testes realizados para os marcadores sorológicos das Hepatites B e C observou-se que, em sua maioria, os resultados obtidos se encaixaram na faixa de excelente a bom, com exceção de alguns procedimentos realizados para a triagem do HBsAg, cuja confiabilidade variou de regular a moderada.

Embora sejam baixas (giram em torno de 0,30%) as prevalências de hepatite B e C em doadores voluntários (Pita-Ramirez & Torres-Ortiz, 1997), um consenso de especialista do NIH, desde 1995, recomenda a manutenção do teste sorológico para marcador sorológico para anticorpo contra o antígeno core da hepatite B (HBcAg), a fim de prevenir casos de hepatite B pós-transfusional (NIH Consensus Development Panel, 1995). Este teste obteve uma melhor performance em nosso estudo comparado ao anti-HBsAg.

Atualmente, a sorologia para Sífilis baseia-se no uso de provas não treponêmicas e treponêmicas, sendo as primeiras, de triagem. Para a realização dos testes não treponêmicos VDRL, cinco kits foram utilizados por 61 laboratórios participantes (tabela 11). Cerca de dois terços (65,6%) apresentaram confiabilidade excelente, um quarto (23%) confiabilidade boa, 6,6% moderada, 3,8% regular e somente um (1,6%) dos laboratórios, com kappa de -0,091, o único cuja confiabilidade foi sofrível. Para o teste não treponêmico RPR, 23 laboratórios participantes utilizaram apenas um tipo de kit (tabela 12). Destes laboratórios, 13% evidenciaram confiabilidade excelente; 65,2% com confiabilidade boa; 17,4% confiabilidade moderada; e 4,3%, um Kappa de 0,40 com confiabilidade regular.

Os resultados dos testes realizados para a triagem sorológica dos marcadores da Doença de Chagas (metodologia HAI) e da Sífilis foram os que demonstraram a maior variabilidade, tendo apresentado valores de Kappa entre 0,19 e 1,00 e entre -0,09 e 1,00, respectivamente. A variabilidade observada para os resultados obtidos com os testes para Doença de Chagas pode ser parcialmente atribuída ao fato de serem realizadas mais de um tipo de metodologia de teste na triagem do marcador desta patologia. No caso da triagem para Sífilis, embora a RDC 343 preconizasse o algoritmo para a realização de um teste não treponêmico ou treponêmico, somente testes não treponêmicos (VDRL e RPR) foram empregados por todos os laboratórios participantes. Os piores resultados ocorreram em metodologias não automatizadas. Os EIE foram a única metodologia utilizada na triagem das hepatites virais (B e C), do HTLV e do HIV, para a qual foram obtidos resultados de confiabilidade em sua maioria, excelentes.

É possível que o menor grau de confiabilidade alcançado por alguns kits de determinados laboratórios nos testes de triagem sorológica da Doença de Chagas e da Sífilis não se deva a questões relacionadas à capacidade instalada dos serviços participantes ou à capacitação dos profissionais responsáveis pela realização dos testes, mas sim ao fato de serem necessárias mais de uma metodologia disponível para a realização dos testes, metodologias estas que apresentam padrões diferentes de sensibilidade e especificidade, bem como limitações no que diz respeito à sua realização.

Apesar de seu baixo custo e fácil execução, os testes não treponêmicos (VDRL e RPR) utilizados no diagnóstico da Sífilis, apresentam uma baixa especificidade o que permite a ocorrência de reações falso-positivas. Outra desvantagem apresentada por estes testes é de que os mesmos não são passíveis de automação, o que implica num ritmo mais lento de triagem e de geração de resultados, limitando a capacidade de absorção de maiores demandas.

O desempenho dos testes diagnósticos para a triagem sorológica da Doença de Chagas, fundamentados na detecção de anticorpos anti-Tripanossoma cruzi, pode ser em parte atribuído à existência de diferentes cepas de T. cruzi em circulação na América Latina (ANVISA, 2004). Outro fator a ser considerado é a utilização de extratos de epimastigotas como fonte de antígenos para os testes sorológicos, pois o epimastigota – forma que o T. cruzi apresenta em culturas in vitro – é diferente da forma tripomastigota, que está presente na infecção humana (Umezawa et al, 2003).

Outro aspecto que pode estar contribuindo para o desempenho relativamente baixo dos testes/kits utilizados atualmente na triagem sorológica da Doença de Chagas e da Sífilis, é a escassez de investimentos financeiros por parte das empresas multinacionais no desenvolvimento ou no aprimoramento dos testes/kits destas infecções de baixa prevalência nos países do primeiro mundo. Por outro lado, muito se investiu para melhorar os testes diagnósticos do HIV, HTLV e mesmo das hepatites virais, o que provavelmente se refletiu na melhor confiabilidade destes testes.

Dias et al (2004), estudando o impacto da automação total dos ensaios de triagem sorológica para marcadores virais na rotina de doadores de sangue do Hemorio, evidenciaram uma diminuição da taxa de positividade para HIV, HTLV, HBsAg, HBc e HCV, após a introdução de um sistema totalmente automatizado.

Em suma, pode-se dizer que os resultados obtidos por intermédio neste estudo foram ótimos, pois permitiram traçar um panorama geral sobre o desempenho dos laboratórios de hemoterapia brasileira no que se refere à utilização rotineira de kits para diagnóstico, ao emprego de metodologias específicas, e à confiabilidade dos resultados obtidos pelos testes de triagem sorológica preconizados por lei.

Os testes sorológicos utilizados na triagem devem ter alta sensibilidade e, quando possível, alta especificidade, visando o aumento da segurança para o receptor. Porém, a combinação de alta sensibilidade com baixa prevalência pode acarretar resultados falso-positivos, o que traz sérias conseqüências aos doadores de sangue, que terão que lidar com o estigma de um teste supostamente reagente, até o esclarecimento diagnóstico. Para os Serviços de Hemoterapia isso implica em descarte de bolsas e desperdício de sangue (Saéz-Alquézar 1995).

Uma das limitações do desenho do estudo reside na utilização de inúmeros Kits pelos Serviços de Hemoterapia participantes. A falta de padronização dos kits utilizados para determinadas metodologias nos serviços de hemoterapia públicos poderia estar contribuindo para variações na confiabilidade. A sensibilidade dos kits empregados também é variável e conseqüentemente o número de resultados falso-positivos obtidos entre os laboratórios, acarreta o descarte desnecessário de bolsas de sangue.

Segundo Salles (2003), a taxa de descarte sorológico nos bancos de sangue no Brasil varia de 10 a 20%, um índice mais alto do que o registrado nos países desenvolvidos. Um dos fatores que contribui de forma mais significativa para este problema é a freqüente troca na marca dos kits utilizados na triagem sorológica, em função das normas de licitação a que estão subordinados os bancos de sangue públicos para a compra de tais produtos. Esta troca constante na marca dos kits introduz como variável, a possibilidade de reatividade cruzada do doador ao menos uma das diferentes marcas em uso, o que não ocorreria caso uma só marca fosse utilizada (Ownby et al, 1997).

De acordo com Dias et al (2004), que em seu estudo verificou uma queda no descarte de bolsas de 12,69% em 1997 para 4,02% em 2003, conclui que a diminuição do descarte sorológico é conseqüência de uma triagem clínica mais rigorosa e da utilização de metodologia mais específica na triagem sorológica, associada à automação total.

A confiabilidade de um procedimento laboratorial é pré-requisito da validade do resultado, embora por si só a reprodutibilidade de um resultado não garanta que seja correto. A análise da confiabilidade comparando com a caracterização nos fornece as duas informações numa situação peculiar,

porém neste estudo não se trata de acurácia de um dado kit porque os lotes utilizados pelos serviços variaram, bem como nem todos os kits utilizados pelos serviços de hemoterapia foram usados pelos Laboratórios de Referência na caracterização do painel.

O fato dos kits de uma mesma marca, utilizados pelos diferentes Serviços de Hemoterapia, para uma mesma metodologia de teste, serem provenientes de lotes diferentes, introduz outra variável a ser levada em consideração quando da avaliação da reprodutibilidade dos resultados obtidos e da confiabilidade dos kits e laboratórios. Numa situação ideal, todos os kits de uma marca específica utilizados nos diferentes Serviços de Hemoterapia para uma mesma metodologia deveriam ser provenientes dos mesmos lotes. Contudo, devido às diferentes épocas em que as licitações são realizadas – o que está diretamente associado à disponibilidade orçamentária, ao planejamento, a logística e ao funcionamento de cada hemocentro, em particular – a eliminação da variável “lote” se torna impossível na prática.

Atualmente, existem poucos estudos na literatura indexada sobre a prevalência de doenças infecto-contagiosas transmissíveis pelo sangue na população brasileira de doadores, realizada a partir de exames sorológicos de triagem em serviços de hemoterapia. Isso se deve parcialmente ao fato de que não é obrigatória em nosso país a realização de testes confirmatórios em amostras reativas pelos métodos de triagem sorológica. É possível que algumas amostras possam ser amostras falso-positivas (positivas na triagem, porém negativas em testes confirmatórios caso estes fossem realizados).

Uma outra limitação do estudo reside no fato de haver perdas de adesão ao Programa de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ), com a conseqüente redução do número de Serviços de Hemoterapia participantes a cada novo AEQ. Além disso, alguns kits foram empregados em menos de 3 AEQs o que totalizava menos de 18 amostras disponíveis para comparação de resultados e configurou critério de exclusão para efeitos deste estudo de confiabilidade.

Embora o Programa de Avaliação Externa da Qualidade não seja a ferramenta mais precisa para a avaliação do desempenho dos kits diagnósticos comercializados em nosso país, ele pode fornecer indícios importantes sobre o que vem ocorrendo com estes produtos na rotina dos laboratórios participantes e sobre a qualidade dos resultados gerados através de sua utilização. Essas

informações podem subsidiar o setor competente da GGSTO/ANVISA, agência governamental que gerencia, juntamente a outras instâncias do Ministério da Saúde, as questões ligadas à qualidade e segurança da área de sangue/hemoderivados, na tomada de decisões para a definição dos testes/kits que devem ser prioritariamente submetidos a análises fiscais para a verificação do seu desempenho.

O fato deste estudo ter se baseado numa análise de enfoque quantitativo não permitiu que outras causas, não relacionadas necessariamente ao desempenho dos testes/kits, pudessem ser avaliadas, como potenciais fatores contribuintes para a variabilidade dos resultados obtidos para os procedimentos realizados no diagnóstico da Sífilis e da Doença de Chagas. A análise de fatores como o nível de capacitação dos recursos humanos disponíveis nos laboratórios participantes, a execução das técnicas sorológicas utilizadas, os detalhes sobre os aspectos físicos e a capacidade instalada de cada serviço, constaria de um estudo qualitativo que poderia contribuir para melhor elucidar as razões para a obtenção de resultados de confiabilidade insatisfatórios e guiar os laboratórios participantes na re-orientação de suas rotinas de trabalho.

Algumas medidas poderiam contribuir para aumentar ainda mais a confiabilidade dos testes como por exemplo:

1) treinamento dos responsáveis pela execução dos testes sorológicos através dos cursos gratuitos do Sistema de Ensino à Distância para Profissionais de Saúde – TELELAB, do Ministério da Saúde, com vistas à reciclagem e atualização de conhecimentos no que tange às práticas e técnicas de diagnóstico laboratorial por eles utilizadas;

2) observância rigorosa das portarias vigentes para a área de sorologia no que diz respeito à realização correta dos procedimentos de testagem de amostras;

3) adoção por todas as instituições de medidas de controle de qualidade interno, pois a utilização de controles internos – produzidos nos próprios serviços – e sua incorporação à rotina laboratorial diária, constitui um

procedimento essencial ao monitoramento da qualidade dos testes realizados nestes laboratórios;

4) programa de certificação dos Serviços de Hemoterapia Participantes;

5) certificação de qualidade dos produtos (Kits);

6) assistência técnica permanente e contínua.

7. CONCLUSÕES:

No que tange ao desempenho (performance) dos Serviços de Hemoterapia participantes em geral, pode-se dizer que mais de 90% dos laboratórios avaliados para os kits/testes de triagem do HIV, HTLV e das Hepatite B e C, demonstraram possuir confiabilidade excelente. Os demais demonstraram confiabilidade boa. Dois Serviços de Hemoterapia apresentaram confiabilidade moderada a regular para diagnóstico da hepatite B (HBsAg).

O mesmo não se verificou para os serviços avaliados para os kits/testes de triagem da Doença de Chagas (metodologia de hemaglutinação indireta – HAI) e da Sífilis os quais evidenciaram grande variabilidade no que tange aos graus de confiabilidade obtidos. Em sua maioria, os serviços, kits e testes empregados no diagnóstico destas patologias, apresentaram uma confiabilidade boa. Contudo, muitos ainda apresentaram confiabilidade moderada, ruim e mesmo sofrível, o que os colocou num patamar muito inferior àqueles voltados para o diagnóstico das demais patologias.

Entre os kits e testes sorológicos para Doença de Chagas, por exemplo, apenas 65% demonstraram confiabilidade excelente e 23%, confiabilidade boa.

A baixa performance da metodologia de hemaglutinação indireta (HAI) detectado neste estudo é corroborada pela RDC 153 de 14 de junho de 2004, no qual para a Doença de Chagas o algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue é a realização de um teste imunoenzimático de alta sensibilidade, ao invés de dois testes de metodologias diferentes (RDC 343 de 13 de setembro de 2002).

Quanto aos testes sorológicos para Sífilis cerca de dois terços (65%) dos Serviços de Hemoterapia apresentaram confiabilidade boa e somente um (1,6%) apresentou confiabilidade sofrível. Apesar de este percentual ser relativamente baixo, este tipo de desempenho não pode ser negligenciado quando da avaliação dos Serviços de Hemoterapia.

Os resultados para Doença de Chagas e para Sífilis, sugerem que mais recursos sejam destinados para o desenvolvimento de técnicas semi-automatizadas ou até mesmo com automação total para a triagem sorológica destas doenças.

Os dados analisados neste estudo podem servir de subsídio para a melhoria dos atuais padrões de qualidade dos Serviços de Hemoterapia participantes.

Este estudo não apenas retratou a realidade atual destes serviços em sua capacidade de reproduzir resultados confiáveis de testes de triagem sorológica que garantam a segurança das transfusões sanguíneas, como também contribuiu para a efetiva implementação de um programa nacional de avaliação externa da qualidade ao tecer recomendações essenciais que, se seguidas pelos serviços, podem acarretar em ganhos significativos de qualidade para a rede e de saúde para a população brasileira.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Sugerimos como possível desdobramento do presente trabalho, a realização de um estudo qualitativo de avaliação externa da qualidade, voltado especialmente para o aprimoramento daqueles Serviços de Hemoterapia que se encontram abaixo dos níveis necessários e desejados.

9. ANEXOS

ANEXO 1

Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HIV, por kit, segundo laboratório participante.

Tabela 1.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 03 – EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
9	1,00	18
10	1,00	24
26	0,88	18
63	1,00	30
65	1,00	30
75	1,00	18
84	1,00	18
95	1,00	24
113	1,00	18
130	1,00	18

Tabela 1.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12 – EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
2	1,00	18
11	1,00	18
27	0,88	18
106	1,00	18
117	1,00	18

Tabela 1.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 15 -- EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	0,88	18
16	1,00	36
23	1,00	24
24	0,93	30
25	1,00	24
27	1,00	18
29	1,00	18
32	1,00	18
33	0,88	18
38	1,00	18
41	1,00	18
44	1,00	30
45	1,00	24
47	0,91	24
50	1,00	36
52	1,00	30
61	1,00	18
64	1,00	30
67	1,00	24
70	1,00	36
72	1,00	18
74	1,00	18
77	0,94	36
90	0,91	24
102	1,00	30
105	1,00	18
112	1,00	18
138	1,00	24

Tabela 1.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 17 – EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	1,00	30
4	1,00	36
11	1,00	18
15	1,00	24
16	1,00	30
17	1,00	30
19	1,00	24
21	1,00	30
24	1,00	30
25	1,00	36
28	0,88	36
31	1,00	36
33	0,91	24

38	1,00	18
44	0,94	36
50	1,00	18
52	1,00	36
57	1,00	36
62	0,79	30
64	1,00	36
67	1,00	30
69	1,00	18
71	1,00	24
77	0,88	18
84	1,00	18
96	1,00	18
98	0,93	30
114	1,00	24
115	1,00	30

Tabela 1.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 23 – EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
19	1,00	30
22	0,89	18
49	1,00	18
66	1,00	36
85	1,00	18
122	1,00	18
143	0,88	18

Tabela 1.6: Resultados do Kappa obtido para HIV Kit 32 – EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
3	0,82	35
8	1,00	18
13	1,00	18
14	1,00	18
20	1,00	24
23	1,00	18
40	1,00	18
41	1,00	36
47	0,94	36
48	1,00	30
59	1,00	30
62	1,00	18
70	1,00	30
75	1,00	18
77	1,00	18
95	1,00	18
99	1,00	18

100	1,00	18
114	1,00	24
121	1,00	18
132	1,00	18
136	1,00	18

Tabela 1.7: Resultados do Kappa obtido para o Kit 36 – EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
78	1,00	18
81	1,00	24
88	1,00	18
104	0,62	24
110	1,00	18
121	1,00	18
132	1,00	18
134	1,00	18

Tabela 1.8: Resultados do Kappa obtido para o Kit 45 – EIE para HIV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
15	1,00	18
17	1,00	18
21	1,00	18
23	1,00	18
28	0,75	18
30	1,00	24
65	1,00	24
105	1,00	24

ANEXO 2

Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HTLV, por kit, segundo laboratório participante.

Tabela 2.1: Resultados do Kappa obtidos para o Kit 1- EIE para HTLV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	1,00	36
12	1,00	24
15	1,00	30
17	1,00	36
21	1,00	36
24	1,00	36
25	1,00	30
31	1,00	30
33	1,00	24
38	1,00	30
44	1,00	30
52	1,00	30
57	1,00	30
64	1,00	30
67	0,92	29
85	1,00	24
96	1,00	18
98	1,00	30
115	1,00	30

Tabela 2.2: Resultados do Kappa obtidos para o Kit 3 – EIE HTLV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
4	1,00	30
5	1,00	30
7	0,94	36
8	1,00	28
9	0,57	18
10	1,00	30
11	1,00	30
13	1,00	30
14	1,00	36
16	1,00	36
19	1,00	18
20	1,00	28

23	1,00	36
27	1,00	30
29	1,00	24
32	1,00	24
35	1,00	24
36	0,94	36
37	1,00	30
39	1,00	36
40	1,00	36
41	1,00	24
43	1,00	24
45	1,00	30
47	1,00	30
48	1,00	36
51	0,94	36
56	1,00	24
59	1,00	36
61	1,00	18
63	1,00	30
66	1,00	18
68	1,00	28
69	0,93	30
70	1,00	36
71	1,00	30
72	1,00	24
73	1,00	24
75	1,00	24
77	1,00	24
78	1,00	18
80	1,00	18
84	1,00	18
86	1,00	24
87	0,88	18
90	1,00	30
92	1,00	24
94	1,00	24
95	1,00	24
97	1,00	18
99	1,00	30
100	1,00	30
101	1,00	18
104	1,00	30
106	0,86	30
107	1,00	30
109	1,00	24
112	1,00	24
113	1,00	18
114	1,00	30
116	1,00	30
117	1,00	30

119	1,00	30
121	1,00	30
122	1,00	18
128	1,00	18
130	1,00	24
132	1,00	24
133	1,00	24
136	1,00	24
137	1,00	24
140	1,00	24
145	1,00	18

Tabela 2.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 4 – EIE HTLV.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
3	1,00	24
49	1,00	18
50	1,00	30
58	1,00	18
91	0,57	24
102	1,00	30
120	1,00	18
138	1,00	24
141	0,87	18

ANEXO 3

Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE), de hemaglutinação indireta (HAI) e de imunofluorescência indireta (IFI) realizados no diagnóstico da Doença de Chagas, por kit, segundo laboratório participante.

Tabela 3.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 1 – EIE Doença de Chagas.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	0,92	30
3	1,00	18
4	1,00	24
12	1,00	18
16	1,00	30
17	1,00	24
21	1,00	36
24	1,00	36
25	1,00	36
30	1,00	30
31	1,00	36
33	1,00	18
41	1,00	36
44	1,00	36
50	1,00	36
52	1,00	30
57	1,00	24
64	1,00	36
65	1,00	30
67	0,76	35
69	1,00	18
70	1,00	30
90	1,00	30
100	1,00	24
112	1,00	24
115	1,00	24
120	1,00	24

Tabela 3.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 2 –HAI Doença de Chagas.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	0,40	18
4	1,00	18
5	0,94	36
13	0,92	30
14	1,00	18
15	0,90	24
16	0,90	24
19	0,87	18
21	0,87	18
28	1,00	18
30	0,44	18
33	1,00	23
38	1,00	24
41	0,87	18
43	0,81	24
47	0,75	18
49	0,81	24
51	0,45	18
56	0,87	18
59	1,00	18
62	0,87	18
68	1,00	18
70	0,87	18
71	1,00	18
73	0,87	18
77	1,00	24
81	1,00	18
84	1,00	30
92	1,00	18
97	1,00	18
98	1,00	30
100	1,00	24
101	1,00	18
102	1,00	18
105	1,00	18
107	0,90	24
114	1,00	18
117	1,00	30
120	1,00	24
133	1,00	24
138	1,00	18
139	1,00	24

Tabela 3.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE Doença de Chagas.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
2	1,00	18
3	1,00	18
7	1,00	24
8	1,00	18
9	1,00	36
22	1,00	30
27	1,00	36
29	1,00	36
32	0,94	36
35	1,00	36
36	1,00	36
38	1,00	30
43	0,73	18
45	1,00	18
48	1,00	18
59	1,00	30
61	1,00	18
63	1,00	24
72	1,00	30
73	1,00	18
78	1,00	18
81	1,00	30
85	1,00	18
91	1,00	18
94	1,00	24
96	1,00	18
98	1,00	24
99	1,00	30
102	1,00	18
105	1,00	30
106	1,00	18
109	1,00	18
110	0,91	24
113	1,00	24
114	1,00	30
116	1,00	24
132	1,00	18
133	1,00	18
137	1,00	18
140	1,00	24
141	1,00	18
143	1,00	18

Tabela 3.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 4 – HAI Doença de Chagas
(kit descontinuado)

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
27	0,19	18
48	0,54	18
75	1,00	18
116	0.57	18

Tabela 3.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 5 -- HAI Doença de Chagas.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
3	1,00	30
37	0,73	18
39	1,00	25
56	0,64	18
78	1,00	18
104	1,00	30
119	1,00	18

Tabela 3.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6 – EIE Doença de Chagas.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
5	1,00	24
11	1,00	18
14	1,00	24
19	1,00	18
23	1,00	24
51	1,00	18
66	0,92	30

Tabela 3.7: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12 – IFI Doença de Chagas.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
7	1,00	18
14	1,00	30
15	0,87	18
24	1,00	24
25	1,00	30
31	1,00	20
44	1,00	24
57	1,00	24
62	1,00	18
64	0,80	32
67	1,00	23
84	1,00	26
92	1,00	30

ANEXO 4

Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HBsAg, por kit, segundo laboratório participante.

Tabela 4.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE HBsAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
9	1,00	36
26	0,82	24
59	1,00	18
65	0,92	30
80	0,88	18
95	0,40	30
130	1,00	24
137	0,90	24

Tabela 4.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 9 – EIE HBsAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
47	1,00	18
78	1,00	18
104	1,00	29
110	0,77	18
132	1,00	18
138	1,00	18
139	1,00	24

Tabela 4.3: Resultados do Kappa para Kit 11- EIE HBsAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	0,94	36
4	1,00	36
8	1,00	24
10	1,00	30
14	1,00	36
15	1,00	36
16	1,00	36
17	1,00	30
21	1,00	24
23	1,00	24
27	1,00	18

28	1,00	36
29	1,00	30
33	1,00	36
35	1,00	18
38	1,00	30
41	1,00	18
43	0,90	23
45	1,00	18
49	1,00	30
50	1,00	30
62	0,88	18
70	1,00	30
71	1,00	36
72	1,00	24
73	0,57	18
77	1,00	30
91	1,00	18
97	1,00	18
102	0,92	30
105	1,00	30
120	1,00	18

Tabela 4.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12 – EIE HBsAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
11	1,00	18
12	1,00	18
24	0,92	30
25	1,00	30
31	0,92	30
36	1,00	24
44	1,00	30
52	1,00	30
64	1,00	30
67	1,00	24
69	1,00	30
96	1,00	18
98	1,00	18
115	1,00	30

Tabela 4.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 15 – EIE HBsAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
3	1,00	24
59	1,00	18
78	1,00	30
116	1,00	30

Tabela 4.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 16 – EIE HBsAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
20	1,00	24
37	0,81	24
39	1,00	24
40	0,85	30
45	1,00	18
63	1,00	36
68	1,00	18
90	1,00	30
94	1,00	18
106	1,00	18
107	1,00	24
114	1,00	30
119	1,00	18
136	1,00	18
145	1,00	18

ANEXO 5

Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HBcAg, por kit, segundo laboratório participante.

Tabela 5.1: Resultados do Kappa obtidos para o Kit 3 – EIE HBcAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
7	1,00	36
9	1,00	36
20	1,00	18
26	1,00	24
59	0,88	18
63	1,00	30
65	1,00	30
75	1,00	24
80	0,85	18
95	0,85	29
113	1,00	30
119	1,00	18
130	1,00	24
137	1,00	24

Tabela 5.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 5 – EIE HBcAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
13	1,00	18
62	1,00	18
100	1,00	18
102	1,00	30
109	1,00	18
112	1,00	30

Tabela 5.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6 – EIE HBcAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
37	0,88	18
47	1,00	30
78	1,00	18
86	1,00	30
92	0,88	24
104	1,00	30
106	0,73	24
107	1,00	24
121	0,78	18
132	1,00	24
138	1,00	24
139	1,00	24

Tabela 5.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 7 – EIE HBcAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
10	0,86	30
11	1,00	30
12	1,00	18
14	0,86	30
15	1,00	36
16	0,93	30
17	1,00	36
21	1,00	24
23	1,00	36
27	1,00	30
29	1,00	36
35	0,93	30
41	1,00	36
43	1,00	24
45	1,00	18
50	1,00	36
58	1,00	18
61	0,91	24
62	0,89	18
70	0,79	30
72	1,00	24
74	1,00	18
77	1,00	30
81	0,91	24
89	0,87	18
91	1,00	24
97	1,00	18
105	1,00	30
117	1,00	22
120	1,00	18

Tabela 5.5: Resultados do Kappa obtidos para o Kit 8 – EIE HBcAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	0,92	29
4	1,00	36
12	1,00	18
24	1,00	24
25	0,93	30
28	1,00	30
31	1,00	30
33	0,91	24
38	1,00	36
44	1,00	30
52	1,00	30
57	1,00	30
64	0,93	30
67	0,86	30
69	1,00	18
71	1,00	24
96	1,00	18
115	1,00	30

Tabela 5.6: Resultados do Kappa obtidos para o Kit 9 – EIE HBcAg.

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
3	0,93	34
19	1,00	30
22	1,00	24
36	1,00	18
49	1,00	30
51	0,88	18
56	1,00	18
59	1,00	18
78	1,00	18
85	1,00	18
94	1,00	24
99	1,00	24
116	0,91	24
122	1,00	24
145	1,00	18

ANEXO 6

Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico do HCV, por kit, segundo laboratório participante.

Tabela 6.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 3 – EIE HCV

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
26	0,91	24
80	0,78	18
95	0,79	30
130	0,91	24

Tabela 6.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6 –EIE HCV

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
116	0,88	18
138	0,91	24
139	1,00	18

Tabela 6.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 7 – EIE HCV

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
8	0,89	18
16	1,00	24
33	1,00	18
51	0,91	24
69	1,00	24
99	1,00	24

Tabela 6.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 8 – EIE HCV

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
1	0,83	24
4	1,00	24
21	0,93	30
25	0,86	30
31	0,80	30
33	0,88	18
38	0,89	36
64	0,93	30
67	0,93	30
96	1,00	18
98	0,79	30
114	0,86	30
115	0,86	30

Tabela 6.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 11 –EIE HCV

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
22	0,88	18
81	0,93	30
91	0,91	24
102	0,93	30
132	1,00	24
141	1,00	18

Tabela 6.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 13 – EIE HCV

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
3	0,89	18
9	1,00	30
10	1,00	30
11	1,00	24
12	1,00	36
13	1,00	18
14	1,00	36
16	1,00	18
17	1,00	18
20	1,00	30
23	1,00	30
27	1,00	30
28	1,00	24

32	1,00	24
35	1,00	24
36	1,00	30
37	1,00	24
40	1,00	36
41	1,00	24
43	1,00	18
45	1,00	24
47	1,00	36
48	1,00	24
49	1,00	30
56	0,86	30
59	0,94	36
62	1,00	24
63	0,93	30
70	1,00	36
72	1,00	18
73	1,00	18
77	1,00	36
86	0,83	24
90	0,93	30
92	1,00	18
94	1,00	24
107	1,00	30
113	1,00	18
117	1,00	24
119	1,00	24
136	1,00	18
140	1,00	18
145	1,00	18

Tabela 6.7: Resultados do Kappa obtido para o Kit 14 – EIE HCV

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
61	0,83	36
89	0,83	24
135	1,00	24

ANEXO 7

Resultados do Kappa obtidos para os testes imunoenzimáticos (EIE) realizados no diagnóstico da Sífilis, por kit, segundo laboratório participante.

Tabela 7.1: Resultados do Kappa obtido para o Kit 1- VDRL Sífilis

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
3	0,73	29
14	1,00	18
16	0,84	30
23	1,00	36
30	0,21	18
45	1,00	24
49	0,86	35
85	0,80	24
115	0,84	30
130	0,68	23

Tabela 7.2: Resultados do Kappa obtido para o Kit 4- VDRL Sífilis

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
37	0,73	36
78	1,00	23
105	0,92	30
138	0,73	18
139	0,87	18

Tabela 7.3: Resultados do Kappa obtido para o Kit 6- RPR Sífilis

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
4	0,92	30
7	0,90	24
24	0,76	30
25	0,80	24
27	0,65	36
28	0,87	36
29	0,67	30
31	0,44	24
32	0,49	36
33	0,34	36
35	0,73	36
36	0,80	36
44	0,80	24
52	0,80	24
57	0,80	24
58	0,73	18
59	0,76	30
64	0,80	24
67	0,80	24
71	0,40	36
72	0,76	30
118	0,44	18
120	0,80	24

Tabela 7.4: Resultados do Kappa obtido para o Kit 9- VDRL Sífilis

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
11	1,00	18
12	1,00	30
13	1,00	30
15	1,00	18
56	1,00	18
61	1,00	18
65	1,00	30
69	1,00	36
84	1,00	24
96	1,00	30
99	1,00	24
100	1,00	18
112	1,00	18

Tabela 7.5: Resultados do Kappa obtido para o Kit 12- VDRL Sífilis

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
10	0,40	18
26	0,90	24
39	0,81	28
51	0,87	18
56	0,87	18
77	0,76	30
80	0,73	18
83	0,80	24
93	1,00	24
106	1,00	18
119	1,00	18

Tabela 7.6: Resultados do Kappa obtido para o Kit 13- VDRL Sífilis

Laboratório Participante	Kappa	Quantidade de Amostras
8	0,73	18
14	1,00	18
20	0,73	36
30	0,73	18
41	0,57	24
47	0,57	18
50	0,73	18
61	0,45	18
63	0,93	30
75	0,84	30
88	-0,091	18
92	0,84	30
94	0,84	30
95	0,47	30
98	0,90	24
101	0,73	18
107	0,84	30
109	1,00	18
114	0,84	30
116	0,87	18
117	0,80	24
122	1,00	18
133	1,00	24

ANEXO 8

Leis

Lei n.º 10.205, de 21 de março de 2001:

Regulamenta a coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue e seus hemoderivados e dá outras providências.

Lei n.º 7.649, de 25 de janeiro de 1988:

Estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue, bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doenças e dá outras providências.

Lei n.º 1.075/MS, de 27 de março de 1950 – DOU de 27/3/1950:

Dispõe sobre doação voluntária de sangue. Será consignada com louvor na folha de serviço de militar, de funcionário público civil ou de servidor de autarquia, a doação voluntária de sangue, feita a banco mantido por organismo de serviço estatal ou paraestatal, devidamente comprovada por atestado oficial da instituição.

ANEXO 9

Decretos:

Decreto n.º 3.990, de 30 de outubro de 2001:

O Sistema Nacional de Sangue, Componentes e Derivados (Sinasan), integrante do Sistema Único de Saúde (SUS), a que se refere o art. 8.º da Lei n.º 10.205, de 21 de março de 2001.

Decreto n.º 95.721, de 11 de fevereiro de 1988:

Regulamenta a Lei n.º 7.649, de 25 de janeiro de 1988, que estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue, bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doenças.

Decreto n.º 53.988, de 30 de junho de 1964:

Institui o Dia Nacional do Doador Voluntário de Sangue.

ANEXO 10:

Portarias:

Portaria n.º 79, de 31 de janeiro de 2003:

Determinar a implantação, no âmbito da Hemorrede Nacional, nos Serviços de Hemoterapia públicos, filantrópicos, privados contratados pelo SUS e exclusivamente privados, da realização dos testes de amplificação e de detecção de ácidos nucleicos (NAT), para HIV e para HCV, nas amostras de sangue de doadores.

Portaria n.º 59, de 28 de janeiro de 2003:

A sub-rede de laboratórios do Programa Nacional de DST e Aids, no que concerne ao diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV, será composta por todos os laboratórios, públicos e conveniados ao SUS, que realizam testes sorológicos para a detecção de anticorpos anti-HIV e de antígenos do HIV, organizados hierarquicamente, de acordo com a esfera de gestão do SUS à qual pertencem.

Portaria n.º 1407, de 1.º de agosto de 2002:

Determinar a inclusão, no âmbito da Hemorrede Nacional, nos Serviços de Hemoterapia públicos, filantrópicos, privados contratados pelo SUS e exclusivamente privados, a realização dos Testes para Detecção de Ácidos Nucleicos NAT, para HIV e HCV, nas amostras de sangue de doadores.

Portaria n.º 263, de 5 de fevereiro de 2002:

Instituir, no âmbito do SUS, o Programa Nacional para a Prevenção e o Controle das Hepatites Virais, a ser desenvolvido de forma articulada pelo

Ministério da Saúde e pelas Secretarias de Saúde dos estados, Distrito Federal e municípios.

Portaria/MS n.º 1.943, de 18 de outubro de 2001:

Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional.

Portaria n.º 35, de 4 de fevereiro de 2000:

Credencia os técnicos abaixo relacionados, de nível superior, especializados, que exercem atividades de Vigilância Sanitária, nos órgãos competentes do SUS das Unidades Federadas, para representar a ANVS/MS no desenvolvimento do Programa Nacional de Inspeção em Unidades Hemoterápicas (PNIUH), em conjunto com os técnicos dos serviços estaduais e/ou municipais de Vigilância Sanitária.

Portaria n.º 1.334, de 17 de novembro de 1999:

Dispõe sobre as transferências do Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde e demais atividades relativas a sangue e hemoderivados para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Portaria n.º 488, de 17 de junho de 1998:

Estabelece procedimentos seqüenciados para detecção de anticorpos anti-HIV, que deverão ser seguidos pelas unidades hemoterápicas, públicas ou privadas, visando à redução de resultados falso-positivos ou falso-negativos.

Portaria n.º 127, de 8 de dezembro de 1995:

Institui o Programa Nacional de Inspeção em Unidades Hemoterápicas (PNIUH) com o objetivo de executar inspeções para avaliar a qualidade dos processos nas Unidades Hemoterápicas existentes no País.

Portaria n.º 121, de 24 de novembro de 1995:

Institui, como norma de inspeção para os órgãos de vigilância sanitária do Sistema Único de Saúde, o “Roteiro para inspeção em Unidades Hemoterápicas”, conforme o Anexo I da presente Portaria.

ANEXO 11

Resoluções:

Resolução - RDC n.º 153, de 14 de junho de 2004:

Aprova o Regulamento Técnico para os procedimentos de hemoterapia para coleta, processamento, testagem, armazenamento, transporte, utilização e controle de qualidade do sangue e seus componentes obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea para uso humano.

Resolução - RDC n.º 190, de 18 de julho de 2003:

Determina Normas Técnicas para o funcionamento dos bancos de sangue de cordão umbilical e placentário.

Resolução - RDC n.º 24, de 24 de janeiro de 2002:

Aprova o Regulamento Técnico com a finalidade de obter plasma fresco congelado - PFC, de qualidade, seja para fins transfusionais seja para a produção de hemoderivados.

Resolução - RDC n.º 23, de 24 de janeiro de 2002:

Aprova o Regulamento Técnico sobre a indicação de uso de crioprecipitado.

Resolução - RDC n.º 151, de 21 de agosto de 2001

Aprova o Regulamento Técnico sobre Níveis de Complexidade dos Serviços de Hemoterapia.

Resolução - RDC n.º 149, de 14 de agosto de 2001:

Para o adequado gerenciamento do Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados, de que trata o art. 1.º da Portaria do Ministério da Saúde n.º

1.334, de 17 de novembro de 1999, o disposto no parágrafo único do art. 3.º e no art. 8.º da Lei n.º 7.649, de 25 de janeiro de 1988, o disposto no art. 3.º, inciso VIII da Resolução - RDC n.º 73, de 3 de agosto de 2000 e a Lei n.º 10.205, de 21 de março de 2001.

Resolução - RDC n.º 108, de 20 de dezembro de 2000:

Complementa o disposto na RDC n.º 85 sobre a utilização do plasma fresco congelado excedente do uso terapêutico dos Serviços de Hemoterapia, para fins de fracionamento a ser realizado por intermédio do Ministério da Saúde.

Resolução - RDC n.º 85, de 15 de setembro de 2000:

Estabelece que o plasma congelado, excedente do uso terapêutico, estocado nos hemocentros listados no Anexo I ficará sujeito às definições dispostas nesta Resolução.

Resolução - RDC n.º 76, de 3 de agosto de 2000:

Ficam as empresas, relacionadas no anexo desta Resolução, dispensadas do uso da etiqueta de advertência determinada pela Portaria SVS/MS n.º 304, de 8 de abril de 1999.

Resolução - RDC n.º 73, de 3 de agosto de 2000:

Dispõe sobre o Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados, regula o uso e a disponibilidade do Plasma Fresco Congelado Excedente do Uso Terapêutico no Brasil e dá outras providências.

Resolução - RDC n.º 46, de 18 de maio de 2000:

Aprova o Regulamento Técnico para a Produção e Controle de Qualidade de Hemoderivados de Uso Humano, que consta como Anexo.

10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Manual Técnico para Investigação da transmissão de Doenças pelo Sangue. Brasília: 2004; 111p.

ANVISA. Sangue e Hemoderivados [online]. Rio de Janeiro, Brasil;1999. [capturado em 13 de abril de 2000] Disponível em:<http://anvs1.saude.gov.Br/sangue/histórico.htm>

Alter HJ. Hepatitis C vírus and eliminating post-transfusion hepatitis. **Nature Med** 2000; 6:1082.

Andrade ZA, Andrade SG. Doença de Chagas In: Schechter M, Movangoni DV, Orgs. Doenças Infecciosas: Conduta diagnóstica terapêutica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1998 p. 221-226.

Azulay D R & Azulay N M Doenças Sexualmente Transmissíveis In: Schechter M, Movangoni DV, Orgs. Doenças Infecciosas: Conduta diagnóstica terapêutica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1998 p. 467-489.

Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. **Science** 1983; 220: 868-71.

Blackman NJ, Koval JJ. Interval estimation for Cohen's Kappa as a measure of agreement. *Statistics in Medicine*; 1992. v 19 (5): 723-741.

Brandão ABM, Fuchs SC, Silva MAA, Emer LF. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health** 2001; 9 (3): 161-168.

Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 5ª Edição. Brasília, 2002.

Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Situação da Prevenção e Controle das Doenças Transmissíveis no Brasil. Brasília, set.2002:16-17.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 153 de 14 de junho de 2004.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 196 de 11 de agosto de 2004.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Procedimentos Operacionais da Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde. 2ª Edição. Brasília, 2002.

Brasil, Ministério da Saúde. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. Doença de Chagas – triagem e diagnóstico sorológico em Unidades Hemoterápicas e Laboratórios de Saúde Pública 1998 (série Telelab).

Brasil, Ministério da Saúde. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. Hepatites Virais – Triagem e diagnóstico sorológico em Unidades Hemoterápicas e Laboratórios de Saúde Pública 1998 (série Telelab).

Brasil, Ministério da Saúde. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. Diagnóstico sorológico do HIV – teste de triagem 1997 (série Telelab).

Brasil, Ministério da Saúde. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. HTLV I/II – Triagem e diagnóstico sorológico em Unidades Hemoterápicas e Laboratórios de Saúde Pública 1998 (série Telelab).

Brasil, Ministério da Saúde. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. Diagnóstico sorológico da Sífilis 1997 (série Telelab).

Carrazone C F V, Brito A M, Gomes Y M. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** 2004; 26 (2): 93-98.

Chamone DAF, Sáez-Alquézar A, Salles NA. Triagem Sorológica em Bancos de Sangue. In: Manual de Transfusão Sanguínea. Editores: Chamone DAF, Dorlhiac-Liacer PE, Novarette M. Editora ROCA, 1ª Edição, 2001: p 227-256.

Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, Chamaret S, Rey M, Santos-Ferreira MO, Laurent AC, Dauguet C, Katlama C, Rouzioux C, Klatzman D, Champalimaud JD, Montagnier L. Isolation of a new retrovirus from West African patients with AIDS. **Science** 1986; 233: 343-346.

CNDST/AIDS - Coordenação de DST e AIDS, Ministério da Saúde. Distribuição dos casos de AIDS segundo ano de diagnóstico e categoria de exposição hierarquizada. Brail, 1980-2000 [online]. Brasília; 2001. [capturado em: 20 mai 2000] Disponível em: URL:<http://www.aids.gov.br/sitebol/TAB04%20BOL.htm>

Coelho HSM. Hepatites por vírus In: Schechter M, Movangoni DV, Orgs. Doenças Infecciosas: Conduta diagnóstica terapêutica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1998 p. 374-380.

Cohen, J. A coefficient of agreement for nominal scales, *Educ. Psychological Megas* 1960, 20: 37 – 47.

De Paula EV, Gonçales NSL, Xueref S, Addas-Carvalho M Gilli SCO, Angerami RN et al. Prevalence of transfusion-transmitted Chagas disease among multitransfused patients in Brazil. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** 2004; 26 (2):280.

Dias SMC, Lajchter DM, Carvalho SMF. Impacto da automação total dos ensaios de triagem sorológica para marcadores virais na rotina de doadores de sangue do Hemorio. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter** 2004; 26 (2):287.

Donner A, Eliasziw M. A goodness-of-fit approach to inference procedures for the Kappa statistic: Confidence interval construction, significance-testing and simple size estimation *Statistics in Medicine*; 1992. 11: 1511-1519.

Durán MB, Guzmán MA. Evaluación externa de los resultados serológicos em los bancos de sangre de Colômbia. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public health* 2003; 13 (2/3): 138-143.

Ferreira AM. SPSS – Manual de Utilização. Escola Superior Agrária de Castelo Branco, 1999.

Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and proportions*. New York: John Wiley and Sons; 1981.

Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. Epidemiologia Clínica: Elementos Essenciais. 3ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1996.280 p.

Fundação Nacional de Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias do Ministério da Saúde. [online]. Brasil; 1999. [capturado 08 jan. 2005] Disponível em: <http://www.hemonline.com.br/chagas.htm>

Gahlinger JL, Abramson JH. Computer Programs for Epidemiologic Analysis – Pepi, versio 2.05. Georgia: USD Inc; 1985.

Galvão-Castro B, Couto-Fernandez JC, Castilho EA, Pereira M. Human immunodeficiency vírus infection in Brazil. **JAMA** 1987, 257: 2529-2593.

Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Fan PT, Wolf RA, Saxon A. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men. Evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **New Engl. J. Med.** 1981; 305: 1425-1431.

Goulart EG, Leite IC. Parasitologia e Micologia Humana: 2ª ed. Rio de Janeiro Editora Cultura Médica LTDA.; c 1978 p. 111-127.

Guimarães MDC, Castilho EA. Aspectos epidemiológicos da AIDS/HIV no Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1993; 26: 101-11.

Hepatites Virais. [online]. Secretaria de Estado de Saúde. Rio de Janeiro, Brasil. [capturado em 08 de janeiro de 2005]. Disponível em <http://www.saude.rj.gov.br/Hepatites/Doencas.shtml>

Harrison LH retrovíroses (HTLV) In: Schechter M, Movangoni DV, Orgs. Doenças Infecciosas: Conduta diagnóstica terapêutica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1998 p. 557-558.

Hoffman C, Kamps BS. Pathogenesis of HIV-1 Infection. In: Hofman C, Kamps BS. [online]. Editors. HIVMedicine: A Medical Textbook 2003 1: 17-40 [capturado em 08 jan.2005] Disponível em: www.hivmedicine.com

Hulley SB, Martin JN & Cummings SR. Planejando as Medições: Precisão e Acurácia .In: Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Hearst N, Newman TB. Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica. Porto Alegre: Editora ARTMED; 2003 374p.

Julien AM, Courouce AM, Richard D. Transmission of HIV by blood from seronegative donors. **Lancet** 1998; 26: 1248-1249.

Kim D U. The Quest for Quality Blood Banking Program in the New Millennium the American Way. **International Journal of Hematology** 2002; 76 suplement II: 258-262.

Klein CH, Bloch KV. In: Medronho RA, Carvalho DM, Bloch KV, Luiz RR, Werneck GL. Epidemiologia. Rio de Janeiro: Editora Atheneu; 2003. cap 9.

Landis, J.R & Koch, C.G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics** 1977, 33: 159 – 174.

Liberto MIM, Oliveira BCEPD, Cabral MC In: Santos NSO, Romanos MTV, Wigg MD. Introdução à Virologia Humana. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; c 2002 capítulo 11.

Lorca M, Child R, Garcia A, Silva M, Martinez L, Jerez G et al. Evaluation of commercial Kits used for Chagas disease diagnosis in blood banks in Chile. II Routine application. **Rev. Med. Chil.** 1994; 122 980:925 - 931.

Luby S, Khanani R, Zia M, Vellani Z, Ali M, Qureshi A et al. Evaluation of blood bank practices in Karachi, Pakistan, and the government's response. **Health Policy and Planning** 2000; 15 (2): 217-222.

Melo CS, Morais MPE, Takatani M, Torres KL, Alves LPR, Abraham CMM. Detecção do vírus HTLV tipo 2 entre doadores de sangue na fundação HEMOAM: Relato de caso. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter** 2004; 26 (2):276.

Moraes-Souza H, Wanderley DM, Brener S, Nascimento RD, Antunes CM, Dias JC. Hemotherapy and transfusional Chagas' disease in Brazil. **Bol Oficina Sanit Panam.** 1994; 116(5):406-18.

Newman TB, Browner WS, Cummings SR. In: Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Hearst N, Newman TB Orgs. Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica. 2ª ed. Editora ARTMED; 2003 p. 203-224.

NIH Consensus Development Panel on Infectious Disease Testing for Blood Transfusions. **JAMA** 1995; 274(17):13-49.

Norusis, M.J. SPSS / PC + for the IBM PC/XT/AT. Chicago, SPSS, 1986.

Oknaian S, Remesar M, Ferraro L, Pozo AE. Evaluación externa Del desempeño em el tamizaje de bancos de sangre em Argentina: resultados y estrategias para mejorarlo. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health** 2003; 13 (2/3): 149-153.

OPAS - Pan American Health Organization (Eng) 41st Directing Council: "Strengthening Blood Banks in the region of the Américas". CD41/13; 1999.

Ownby HE, Korelitz JJ, Busch MP, Williams AE, Kleinman SH, Gilcher RO, et al. Loss of volunteer blood donors because of unconfirmed enzyme immunoassay screening results. Retrovirus Epidemiology Donor Study. **Transfusion** 1997; 37(2):199-205.

Periago MR. Promoting quality blood services in the Region of the Americas. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health** 2003; 13 (2/3).

Pita-Ramirez L, Torres-Ortiz GE. Prevalence of viral antibodies and syphilis serology in blood donors from a hospital. *Rev. Invest Clin.* 1997; 49(6):475-80.

Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo R. Detection isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and pré-AIDS. **Science** 1984; 224: 497-500.

Regan F, Taylor C. Recent developments. Blood Transfusion medicine. **BMJ** 2002; 323: 43-147.

Romanos MTV, Santos NSO, Miranda MMFS In:Santos NSO, Romanos MTV, Wigg MD. Introdução à Virologia Humana. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; c 2002 capítulo 15.

Sáez-Alquézar A. Triagem Sorológica em Unidades Hemoterápicas. Boletim COSAH, coodenação de Sangue e Hemoderivados MS/SAS/DAPS Ano I – nº 5 [online]; 1995. [capturado em 16 de novembro de 2004]. Disponível em: <http://www.hemonline.com.br/triagem.htm>

Sáez-Alquézar A. Controle de Qualidade Externo em Laboratórios de Sorologia de Bancos de Sangue. Newslab. [online]. Rio de Janeiro, Brasil; 1999. [capturado em 21 de janeiro de 1999]. Disponível em: <http://www.newslab.com.br/controle.htm>

Sáez-Alquézar A, Otani MM, Sabino EC, Salles NA, Chamone DF. External serology quality control programs developed in Latin América with the support of PAHO from 1997 through 2000. **Rev Panam Salud Public** 2003. Feb-Mar; 13 (2/3):91-102.

Salles AN, Sabino EC, Barreto CC, Barreto AME, Otani MM, Chamone DF. Descarte de bolsas de sangue e prevalência de doenças infecciosas em doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health** 2003. Feb-Mar; 13 (2/3): 111-116.

Sanchez MCA. Testes Sorológicos In: Ferreira AW, Ávila, SLM. Diagnóstico Laboratorial das principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2001p 9 – 48.

Santos NSO, Romanos MTV, Wigg MD. Introdução à Virologia Humana In: Oliveira B, Câmara FP, Couceiro JN, Gonçalves JL, Hubinger MG, Liberto MI, Santos MG, Cabral MC, Wermelinger MC, Miranda, MM. Diagnóstico laboratorial das Virose. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; c 2002 p.25-46.

Schechter M. retrovíroses (SIDA/AIDS) In: Schechter M, Movangoni DV, Orgs. Doenças Infecciosas: Conduta diagnóstica terapêutica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1998 p. 558-559.

Schmuñis GA, Zicker F, Segura EL, Pozo E. Transfusion-transmitted infection diseases in Argentina, 1997 through 1997. **Transfusion** September 2000; 40 (9):1048.

Sífilis.[online]. Programa Nacional de DST e Aids. Brasil. [capturado em 25 de janeiro de 2005]. Disponível em http://www.aids.gov.br/assistencia/mandst99/man_sifilis.htm

Silva MC, Gomes MC, Rodrigues GM, Leite MLCB. Sorologia positiva em doadores de sangue no Distrito Federal. **Revista de Saúde do Distrito Federal** 1996 jul/set; 7 (3): 13-25.

Simmonds P, Holmes EC, Cha TA. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. **J Gen Virol** 1993; 74:2391.

Souza HM. Sangue 100% até 2003. **Revista Ciência Hoje** 1999; vol 26 nº 156.

Souza MHL, Rego MMs. Princípios de Hematologia e Hemoterapia. Manual de Instrução Programada. Centro Editorial Alfa Rio, Rio de Janeiro; 1996 parte XVI.

Szwarcwald CL & Castilho EA. Estimativa do número de pessoas de 15 a 49 anos infectadas pelo HIV, Brasil, 1998. **Cadernos de Saúde Pública** 2000; 16(Sup.1):135-141.

Umezawa ES, Bastos SF, Coura JR, Levin MJ, Gonzáles A, Rangel-Alda R, Zingales B, Luquetti AO, da Silveira JF. **Transfusion** 2003; 43 (1):91 – 97.

[UNAIDS] United Nations Joint Programme on Aids, World Health Organization. [online]. Report on the global HIV/AIDS epidemic. Geneve; 1998. [capturado 20 nov 1999]. Disponível em: URL: <http://www.unAids.org>

Wanderley D M V, Gonzáles TT, Pereira M S C A, Nascimento R D, Moraes-Sousa H. Controle da hemoterapia e da doença de Chagas transfusional: 1988 e 1990. **Rev. Saúde Pública** 1993 dez; 27 (6).