



Avaliação Externa de Qualidade

Relatório de Desempenho – Rodada Teórica

Trigésima Sétima Avaliação Externa da Qualidade Testes
para Contagem de Linfócitos T-CD4+/CD8+

37AEQ-CD4+/CD8+
Teórica

Florianópolis

Maio de 2025

Relatório de Desempenho da 37ª Avaliação Externa da Qualidade**Testes para Contagem de Linfócitos T-CD4+/CD8+**

Em 24 de março de 2025, foi enviada uma rodada **teórica** (37AEQ-CD4+/CD8+) para os 72 laboratórios que compõem a Rede Nacional para Contagem de Linfócitos T-CD4+/CD8+. O questionário foi desenvolvido pela Equipe do Laboratório de Biologia Molecular, Microbiologia e Sorologia da Universidade Federal de Santa Catarina (LBMMS/UFSC), que coordena o Programa AEQ, e revisado pela equipe do Departamento de HIV/Aids, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis da Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente do Ministério da Saúde (DATHI/SVSA/MS) e pela empresa fornecedora dos equipamentos e insumos (BD).

O questionário teve como objetivo investigar o conhecimento dos profissionais da rede e aplicação desses conhecimentos em situação de problema pelos envolvidos na execução do teste de contagem de linfócitos T-CD4+/CD8+, uma vez que os profissionais da rede de laboratórios se encontram treinados e capacitados para realização dos testes. Com foco educacional e não punitivo, a AEQ permite o aperfeiçoamento contínuo por meio da identificação de problemas (não conformidades) e a elaboração de ações preventivas e corretivas, quando necessárias.

A avaliação foi constituída por 10 (dez) questões fechadas de múltipla escolha com quatro (4) alternativas possíveis de resposta, sendo que apenas uma (1) alternativa estava correta. O questionário foi disponibilizado por meio eletrônico, no Google formulários, no período de 24 de março a 24 de abril de 2025. A pontuação e o status para a certificação podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos laboratórios conforme pontuação obtida e percentual de acerto.

Pontuação	Acerto (%)	Status
10	100	Excelência
9 a 7	90 a 70	Aprovado
≤ 6	≤ 60	Reprovado

O Quadro 1 demonstra os resultados enviados pelos laboratórios para cada uma das questões da rodada. Dois laboratórios (código SISCEL 414 e 429) enviaram mais de uma resposta. A resposta considerada na análise foi a primeira enviada. A instituição 417 enviou duas respostas porque está em processo de substituição do FACSCalibur para o FACSLyric. Por estarem os dois equipamentos no serviço, ambas as respostas foram consideradas na avaliação.

Quadro 1: Gabarito, resultados enviados, pontuação e certificação dos laboratórios.

Código SISCEL	Questão 1	Questão 2	Questão 3	Questão 4	Questão 5	Questão 6	Questão 7	Citômetro	Questão 8	Questão 9	Questão 10	Pontuação	Certificação
Gabarito	D	B	C	A	B	C	B		A	D	C	10	Excelência
1	C	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
5	A	B	C	A	B	B	D	BD FACS Lyric	A	D	C	7	Aprovação
9	D	A	C	A	B	B	B	BD FACS Via	A	D	C	8	Aprovação
10	D	B	B	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
14	A	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
39	D	B	B	A	B	B	B	BD FACS Via	A	D	C	8	Aprovação
49	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
59	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
61	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
68	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
75	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
129	A	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	8	Aprovação
132	C	B	A	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	7	Aprovação
133	D	B	C	A	B	C	B	BD FACS Lyric	A	C	C	9	Aprovação
141	D	B	B	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	8	Aprovação
143	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
144	C	A	C	A	B	B	D	BD FACS Calibur	D	D	D	4	Reprovação
145	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
151	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
152	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
164	D	D	C	D	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	7	Aprovação
173	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
186	D	B	B	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	B	C	7	Aprovação
261	B	A	C	A	B	B	B	BD FACS Via	A	D	C	7	Aprovação
268	C	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	8	Aprovação
275	B	A	A	A	B	C	D	BD FACS Calibur	A	D	C	6	Reprovação
301	D	B	C	A	B	C	B	BD FACS Calibur	A	D	C	10	Excelência
321	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
357	D	B	B	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	8	Aprovação
359	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
362	C	B	D	A	B	B	A	BD FACS Calibur	A	C	C	5	Reprovação
363	A	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
364	D	B	B	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
368	D	B	B	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	8	Aprovação
370	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
371	D	A	D	D	B	A	A	BD FACS Lyric	A	D	C	5	Reprovação
375	D	B	B	A	A	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	7	Aprovação
388	C	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
389	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Via	A	D	C	9	Aprovação
400	C	B	B	A	B	B	B	BD FACS Calibur	B	D	C	6	Reprovação
407	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
409	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
414	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
415	B	A	C	A	B	B	D	BD FACS Calibur	A	C	C	5	Reprovação
417	B	A	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	7	Aprovação
417	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
420	D	B	C	A	B	C	B	BD FACS Calibur	A	D	C	10	Excelência
421	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Via	A	D	C	9	Aprovação
428	D	B	C	A	B	C	B	BD FACS Lyric	A	D	C	10	Excelência
429	D	B	C	A	B	C	B	BD FACS Calibur	A	D	C	10	Excelência
438	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
444	D	B	C	A	B	B	A	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
457	D	B	C	A	B	B	A	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
461	B	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
474	B	A	D	A	B	C	A	BD FACS Via	A	D	C	6	Reprovação
570	D	B	C	A	B	B	A	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
806	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Via	A	D	C	9	Aprovação
1019	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
1058	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
1090	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Lyric	A	D	C	9	Aprovação
1248	D	B	B	A	B	C	D	BD FACS Calibur	A	D	C	8	Aprovação
1546	B	B	C	A	B	B	A	BD FACS Calibur	A	D	C	7	Aprovação
1871	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
2059	D	B	C	A	B	B	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
2344	D	B	C	A	B	B	D	BD FACS Calibur	A	C	C	7	Aprovação
2598	B	B	C	A	B	B	A	BD FACS Lyric	A	C	C	6	Reprovação
2629	D	B	C	C	B	B	B	BD FACS Lyric	A	B	C	7	Aprovação
2814	D	D	C	A	B	B	A	BD FACS Via	A	D	C	7	Aprovação
32575	D	B	B	A	B	C	B	BD FACS Calibur	A	D	C	9	Aprovação
% de Acerto	72%	86%	77%	96%	99%	13%	78%		97%	90%	99%		
171	Não participou e não justificou												Reprovação
299	Não participou e não justificou												Reprovação
354	Não participou e não justificou												Reprovação
419	Não participou e não justificou												Reprovação

Nesta rodada foram enviadas três questões extra, não computadas na avaliação, sobre o Programa AEQ. As questões e as respostas estão no Apêndice B. As questões apresentam alto percentual de acerto (superior a 97%), o que demonstra que os profissionais conhecem os objetivos da AEQ.

CONCLUSÕES

Na 37AEQ-CD4+/CD8+, sessenta e oito laboratórios enviaram seus dados via Google Formulário e quatro não participaram e não justificaram o motivo da não participação. Dentre os 68 participantes, 4 (6%) obtiveram excelência, 56 (82%) aprovação e 8 (12%) laboratórios foram reprovados por pontuação (Tabela 2). Os quatro laboratórios que não participaram foram reprovados pela ausência de justificativa.

A questão 6 teve baixo percentual de acerto (13%). A orientação do fabricante é para não misturar múltiplos lotes de Tubos BD Trucount™ na mesma corrida. Caso o profissional tenha misturado, duas possíveis soluções seriam as apresentadas na sentença I e na III. No caso da sentença I, mais tempo e mais insumos seriam consumidos ao realizar a nova marcação, mas o procedimento está correto. No caso da sentença III, pode-se utilizar os Tubos BD Trucount™ já marcados, desde que o volume seja suficiente para uma nova aquisição. Nesta opção, não há uso de recursos extra (tempo e insumos), evitando o desperdício, sendo esta também uma solução possível. As demais questões tiveram acerto superior a 70%, o que demonstra que a rede possui bom conhecimento teórico (Tabela 2).

Tabela 2: Resumo do *status* de certificação.

Certificação	Total de serviços	Porcentagem
Excelência	4	6%*
Aprovação	56	82%*
Reprovação (por pontuação)	8	12%*
Total de participantes	68	94%
Reprovação (não participação)	4	6%**
Total da rede	72	100%

Nota: *calculado sobre o total de laboratórios participantes (68 serviços); **calculado sobre o total de laboratórios da rede (72 serviços).

Lembramos que os resultados das AEQ são sigilosos e por isso os laboratórios são identificados pelo código SISCEL.

A adesão dos laboratórios da Rede Nacional para Contagem de Linfócitos T-CD4+/CD8+ ao Programa AEQ reflete o compromisso dos laboratórios que compõem a rede e demonstra o empenho das equipes em atingir um elevado nível de proficiência. Somente laboratórios com comprovada qualidade podem assegurar aos usuários do Sistema Único de Saúde resultados confiáveis.

APÊNDICE A

Questões da rodada teórica 37AEQ-CD4+/CD8+

(comuns aos 3 equipamentos da rede)

1) O *gate* é uma seleção feita em cima de populações, em um gráfico (*dot plot*, por exemplo), para separar, identificar ou selecionar uma população desejada. Analise as sentenças e coloque “V” para as verdadeiras e “F” para as falsas.

() Ao inspecionar visualmente a plotagem de pontos CD45 vs SSC, não se deve prosseguir com a análise se as populações estiverem difusas e se houver pouca ou nenhuma separação entre os agrupamentos celulares (populações).

() A população de linfócitos deve aparecer como um grupo brilhante compacto com SSC baixo. Caso o *gate* esteja selecionando células na população de monócitos, deve-se proceder o ajuste do *gate*, uma vez que monócitos também são CD4+.

() Monócitos e granulócitos também devem aparecer como agrupamentos distintos, porém possuem maior SSC e FSC, o que facilita a distinção entre os linfócitos.

() Ao selecionar uma população fazendo um *gate*, o *software* do citômetro é capaz de mostrar a localização da mesma população celular em gráficos diferentes, o que torna possível a fenotipagem.

Selecione a alternativa CORRETA.

a) F, V, V, V

b) V, F, V, V

c) V, V, F, V

d) V, V, V, V

Comentário da questão:

A alternativa correta é a letra d). De acordo com os manuais do fabricante, todas as sentenças estão corretas.

2) A respeito da aquisição de uma amostra no citômetro de fluxo. Analise e assinale qual atitude CORRETA o profissional deve executar.

a) Antes de adquirir, a triagem correta deve ser realizada, pois amostras com fibrinas, com coágulos e/ou lipêmicas não devem ser processadas;

b) Deve-se ajustar os *gates* das *beads* e das populações de interesse CD45, CD3, CD4 e CD8, caso elas não estejam sendo abrangidas de forma correta;

- c) Jamais deve-se alterar manualmente os *gates* feitos automaticamente pelo equipamento na análise da amostra;
- d) Deve-se conferir as populações duplo negativas e duplo positivas para colocar observação no laudo caso sejam maiores que 20%.

Comentário da questão:

A alternativa correta é a letra b). A alternativa a) está incorreta pois amostras lipêmicas podem ser processadas, mas precisam passar por lavagem. A alternativa c) está incorreta pois os gates podem ser alterados caso não estejam corretos. Na alternativa d) o manual do fabricante recomenda que nos casos que houver mais que 10% de células duplo positivas deve-se fazer um cálculo para subtrair o valor dessas células duplo positivas dos linfócitos CD4+ e CD8+ (para o FACS Calibur). Para o FACS Lyric e FACS Via esse cálculo é feito automaticamente. Independentemente da plataforma, população de duplo positivos acima de 10% deve ser reportada como uma observação no laudo.

3) Sobre o reagente BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 e as populações celulares com ele detectadas, analise as sentenças e coloque “V” para as verdadeiras e “F” para as falsas.

() Com este reagente é possível determinar porcentagens ou contagens de CD3+CD8+ e CD3+CD4+ que são utilizadas para caracterizar e monitorar algumas formas de imunodeficiências e doenças autoimunes.

() A porcentagem relativa de CD8+ está elevada em muitos pacientes com deficiências imunológicas congênitas ou adquiridas, tais como imunodeficiência combinada severa (SCID) ou síndrome de imunodeficiência adquirida (Aids).

() Este reagente permite que linfócitos T helper/indutores (CD3+CD4+) sejam identificados e enumerados separadamente de monócitos (CD3-CD4+) contaminantes.

() Os reagentes BD Multitest™ empregam acionamento de fluorescência, permitindo gating direto de fluorescência da população de linfócitos a fim de reduzir a contaminação por eritrócitos não lisados ou nucleados no gate.

Assinale a alternativa que apresenta a sequência CORRETA:

- a) F, V, F, V;
b) V, V, V, F;
c) V, V, V, V;
d) F, V, F, F;

Comentário da questão:

A alternativa correta é a letra c). De acordo com os manuais do fabricante, todas as sentenças estão corretas.

4) A lipemia é uma condição que pode afetar os resultados dos testes de citometria de fluxo. A presença de lipídeos resulta na perda na resolução de parâmetros de tamanho e granulosidade, observando-se uma compressão das células no eixo de SSC, dificultando a separação das populações celulares em linfócitos, monócitos e granulócitos. Recomenda-se para esses casos uma lavagem da amostra duas vezes com solução fisiológica com o objetivo de remover o plasma lipêmico. A substituição do volume plasmático inclui algumas etapas:

1. Centrifugar a amostra aliquoteada a 400g por 3 a 5 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C);
2. Separar uma alíquota de 2 ml de sangue do tubo primário;
3. Homogeneizar a amostra suavemente 10 vezes por inversão;
4. Realizar a aquisição da amostra no citômetro de fluxo.
5. Homogeneizar suavemente e processar a amostra normalmente segundo o protocolo de marcação da técnica;
6. Substituir o volume de plasma retirado pelo mesmo volume de solução fisiológica;
7. Retirar o plasma cuidadosamente para que a camada leucocitária seja mantida intacta;

Assinale a alternativa que apresenta a sequência correta das etapas da substituição do volume plasmático:

- a) 3, 2, 1, 7, 6, 5, 4
- b) 3, 2, 5, 6, 1, 7, 4
- c) 2, 1, 5, 6, 7, 3, 4
- d) 5, 2, 1, 7, 6, 3, 4

Comentário da questão: De acordo com os manuais do fabricante, a alternativa que contém a sequência correta é a a).

5) Sobre o BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 com Tubos BD Trucount™ analise as sentenças e assinale as CORRETAS.

I - A presença de precipitação ou descoloração indica instabilidade ou deterioração do reagente BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4.

II – Embora o BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 contenha azida sódica como conservante, deve-se evitar contaminação microbiana, pois isso pode causar resultados errôneos.

III – Ao pipetar o sangue periférico nos Tubos BD Trucount™, o fabricante recomenda realizar a técnica de pipetagem direta.

IV - BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 contém CD3 marcado com PE, CD8 marcado com FITC, CD45 marcado com PerCP, e CD4 marcado com APC.

Assinale a alternativa CORRETA.

- a) I, II e III estão corretas.
- b) I e II estão corretas**
- c) I, II e IV estão corretas
- d) II e III estão corretas

Comentário da questão:

A alternativa correta é a letra b). As sentenças incorretas são a III e IV. Na III, ao utilizar Tubos BD Trucount™, o fabricante recomenda realizar a técnica de pipetagem **reversa** e na IV, BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4 contém CD3 marcado com **FITC**, CD8 marcado com **PE**, CD45 marcado com PerCP, e CD4 marcado com APC.

6) Um profissional executor realizou a marcação de 50 tubos para contagem de linfócitos CD4. Nos últimos cinco tubos ele precisou utilizar Tubos BD Trucount™ de um lote diferente (lote 2), pois o anterior havia terminado. No momento da aquisição ele esqueceu que eram lotes diferentes e passou todos na mesma configuração de lote (lote 1). Ao terminar, todos os tubos Tubos BD Trucount™ apresentavam amostra remanescente. Como a contagem de esferas varia por lote de Tubos BD Trucount™, analise as situações.

I - Desprezar os últimos 5 tubos, realizar a marcação novamente e adquirir com a configuração de lote correta (lote 2).

II - Desprezar todos os tubos, realizar a marcação novamente e adquirir com a configuração de lote correta (lote 1).

III - Fechar o software e abrir novamente para inserir a configuração de lote correta (lote 2). Adquirir novamente apenas os 5 tubos (já marcados).

IV - Fechar o software e abrir novamente para inserir a configuração de lote correta (lote 2). Adquirir novamente os 50 tubos já marcados.

Assinale a(s) alternativa(s) cujos procedimentos resolveriam o problema.

- a) I e IV estão corretas.
- b) Apenas a III.
- c) I e III estão corretas.**
- d) Apenas a II.

Comentário da questão:

A alternativa correta é a letra c). A orientação do fabricante é para não misturar múltiplos lotes de Tubos BD Trucount™ na mesma corrida. Caso o profissional tenha misturado, as possíveis soluções seriam as apresentadas nas sentenças I e III. No caso, a sentença I consumiria mais tempo e mais insumos ao realizar a nova marcação, mas o procedimento está correto. No caso da sentença III, pode-se utilizar os Tubos BD Trucount™ já marcados, desde que o volume seja suficiente para uma nova aquisição. Nesta opção não há uso de recursos extra (tempo e insumos), evitando o desperdício, e essa também é uma solução possível.

7) O processo de hemólise é classificado como a lise das hemácias, o resultado dessa lise é a liberação de uma série de moléculas pró-inflamatórias que podem influenciar a sobrevivência das outras células do sangue, como os linfócitos. Por isso, as amostras hemolisadas devem ser rejeitadas. Assinale V para as sentenças verdadeiras e F para as falsas.

() A hemólise pode ocorrer quando o sangue é armazenado sob temperaturas extremas (muito altas ou muito baixas). Por isso, a amostra para quantificação dos linfócitos CD4 devem ser mantidas sempre a temperatura ambiente (20º a 25ºC).

() A hemólise pode ocorrer quando o sangue é colhido de forma inadequada, por exemplo, por garroteamento prolongado.

() Quando as amostras chegam ao laboratório fora da temperatura aceitável, mas sem características físicas de hemólise, podem ser aceitas e processadas, desde que uma observação sobre a condição de temperatura na chegada seja adicionada no laudo.

() A hemólise pode ocorrer quando a proporção de sangue e anticoagulante não é respeitada (amostras com volume de sangue menor do que o recomendado para o tubo).

Assinale a alternativa CORRETA:

a) V, V, F, V

b) V, V, V, V

c) V, F, V, V

d) V, V, V, F

Comentário da questão: De acordo com os manuais do fabricante, a alternativa que contém a sequência correta é a b).

Questões específicas para FACSCalibur

8) Durante a realização do teste no FACSCalibur, eventualmente pode ocorrer o erro de baixa velocidade de eventos na amostra. Em uma dessas ocasiões, notou-se que esse erro foi ocasionado pelo entupimento no tubo de injeção da amostra. Assinale a seguir o que deve ser realizado para solucionar esse problema:

a) Colocar um tubo com hipoclorito 0,5% e deixar correr por 20 minutos. Posteriormente, colocar um tubo de água destilada e deixar correr por, no mínimo, 10 minutos.

b) Quando ocorre um entupimento, deve-se realizar a troca do tubo de injeção de amostra, pois a limpeza não é eficiente e podem ocorrer erros nos resultados dos testes;

c) Colocar um tubo de água destilada e deixar correr até notar que houve o desentupimento do tubo de injeção da amostra;

d) Colocar um tubo com hipoclorito 1% e deixar correr por 20 minutos. Posteriormente, testar uma nova amostra para verificar se o entupimento persiste.

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante, a alternativa que contém a sequência correta é a a).

9) A calibração do citômetro de fluxo FACSCalibur, realizada diariamente, é essencial para a correta distribuição das células nos gráficos e demonstra que o aparelho utilizado e a análise dos dados estão operando com total eficiência. Ao final da calibração, alguns pontos devem ser checados antes de colocá-los em uso. Assinale V (verdadeiro) para as sentenças que correspondem ao laudo final da calibração e F (falso) para as que não correspondem.

() Os parâmetros FSC, SSC, FL1, FL2, FL3 e FL4 devem passar no teste de sensibilidade (PASS);

() A potência do laser azul deve ser igual a $14,5 \pm 0,5$ mWatts;

() A potência do laser vermelho deve ser igual a 8 mWatts;

() Valores de compensação devem ser menores que 50%;

() O resultado da calibração do Time Delay deve ser Pass;

Assinale a sequência correta:

a) V, V, F, F, F.

b) V, V, V, F, V.

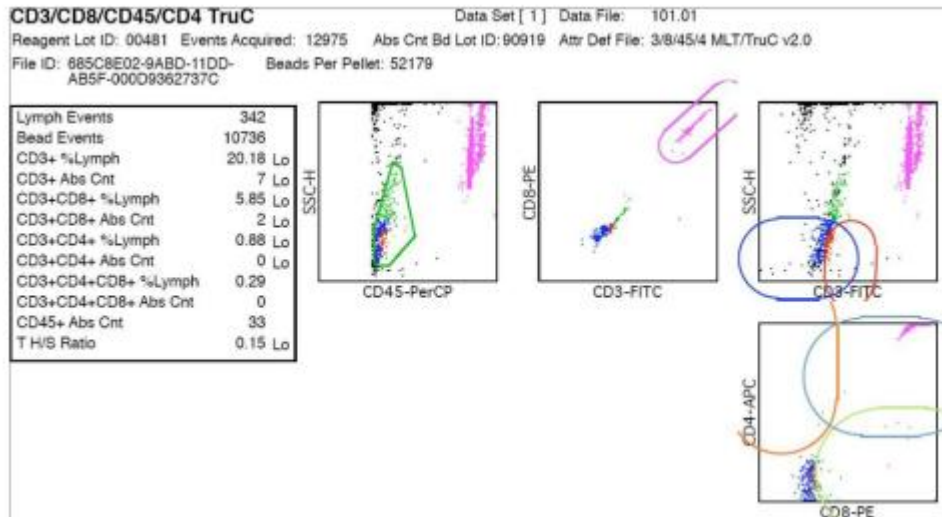
c) V, F, F, V, V

d) V, V, F, V, V.

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante, a alternativa que contém a sequência correta é a d). Não há definição de potência do laser vermelho como requisito para o laudo final de calibração no FACSCalibur.

10) Um profissional se deparou com os seguintes gráficos ao analisar os resultados do processamento de uma amostra.



Analise qual alternativa que apresenta o motivo mais provável pelo qual não é possível observar populações positivas para todos os marcadores.

- a) Uso de reagentes vencidos;
- b) Erro de software do equipamento;
- c) Amostra preparada sem adição de anticorpo;
- d) Amostra preparada com solução de lise diluída.

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante de Treinamento para Quantificação de Linfócitos T CD4+/CD8+, a alternativa correta é a c) devido à ausência de populações celulares nos dot plots.

Questões específicas para FACSLytic

8) Um profissional responsável pela execução dos exames de contagem de linfócitos T-CD4+/CD8+ assumiu, em sua rotina de trabalho, a função de realizar os procedimentos de controle de qualidade no equipamento FACSLytic. Para assegurar a precisão das análises dos controles de qualidade, reagentes utilizados e a periodicidade do monitoramento desses processos, o profissional deve estar atento. Analise as sentenças.

- I) Não se deve esquecer de realizar o procedimento “*Performance QC*”, pois deve ser realizado diariamente utilizando o reagente BD™ CS&T BEADS;
- II) Se não fosse a troca de lote, o procedimento “*Characterization QC*” só precisaria ser realizado a cada 6 meses;
- III) O procedimento de “*Update reference setting*” não foi realizado, pois deve ser feito uma vez por mês;
- IV) Os procedimentos de controle de qualidade possuem a vantagem de utilizarem o mesmo reagente BD™ CS&T BEADS para todos os procedimentos, evitando trocas;

Assinale a alternativa que apresenta as alternativas corretas:

- a) **I e II estão corretas;**
- b) I, III e IV estão corretas;
- c) II e III estão corretas;
- d) II e IV estão corretas;

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante de Treinamento para Quantificação de Linfócitos T CD4+/CD8+, a alternativa que contém a sequência correta é a a). A sentença III está incorreta pois esse procedimento deve ser realizado a cada 2 meses e na sentença IV afirma que os procedimentos de controle de qualidade utilizam o mesmo reagente, mas o procedimento “*Update reference setting*” utiliza o BD™ FC Beads, tornando alternativa incorreta.

9) A calibração do citômetro de fluxo FACSLyric, realizada diariamente, é essencial para a correta distribuição das células nos gráficos, e demonstra que o aparelho utilizado e a análise dos dados estão operando com total eficiência. Ao final da calibração, alguns pontos devem ser checados antes de colocar o citômetro em uso. Assinale V (verdadeiro) para as sentenças que correspondem ao laudo final da calibração e F (falso) para as que não correspondem.

- () Variação das voltagens dos PMTV devem estar iguais ou menores que 50 em módulo;
- () A potência do lasers azul e do vermelho devem ser igual a $14,5 \pm 0,5$ mWatts;
- () Os valores de % do coeficiente de variação robusta de uma população das esferas de alto brilho (% Bright Bead rCV) para FITC, PE, PERCP Cy 5.5 e APC devem ser menores que 6%;
- () A linearidade do instrumento (Linearity) para todos os parâmetros deve ser igual ou menor a 2%.

Assinale a sequência correta:

- a) V, V, F, F.
- b) V, V, F, V.

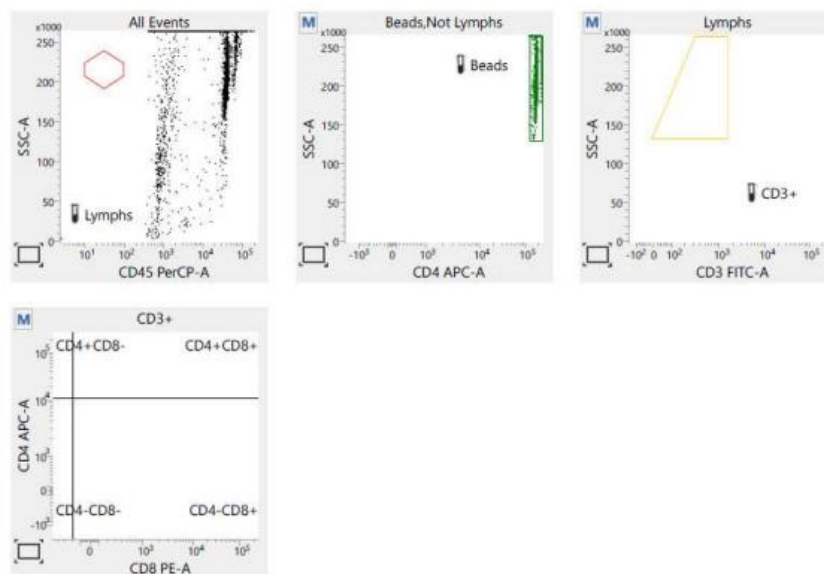
c) V, F, F, V.

d) V, F, V, V.

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante, a alternativa que contém a sequência correta é a d). Não há definição de potência dos lasers azul e vermelho como requisito para o laudo final de calibração no FACSLytic.

10) Um profissional se deparou com os seguintes gráficos ao analisar os resultados do processamento de uma amostra.



Analise qual alternativa apresenta o motivo mais provável pelo qual não é possível observar populações positivas para todos os marcadores.

- a) Uso de reagentes vencidos;
- b) Erro de software do equipamento;
- c) Amostra preparada sem adição de anticorpo;
- d) Amostra preparada com solução de lise diluída.

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante de Treinamento para Quantificação de Linfócitos T CD4+/CD8+, a alternativa correta é a c) devido à ausência de populações celulares nos dot plots.

Questões específicas para FACSVia

8) Em sua rotina de trabalho, um profissional se deparou com a seguinte mensagem de erro *"Did not acquire 600 events in Beads region"*. Analise as possíveis causas e soluções recomendadas para este erro.

I) Amostra muito concentrada, com a presença de muitas células, o tempo de execução será curto e um número insuficiente de Beads será adquirido;

II) Se o caso for de uma amostra muito concentrada, a solução é diluir, marque e adquira a amostra novamente;

III) Problema de software pode ocasionar esse erro, sendo necessário contactar a empresa para solucionar o ocorrido;

IV) O pellet de Beads estava ausente ou danificado, ocasionando o erro mencionado;

V) Se o pellet de Beads estava ausente ou danificado, repita a marcação com um novo tubo BD Trucount e verifique que o pellet está intacto;

Assinale a alternativa CORRETA:

- a) I, II, IV e V estão corretas;
- b) I, II e III estão corretas;
- c) III, IV e V estão corretas;
- d) I, III e V estão corretas;

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante de Treinamento para Quantificação de Linfócitos T CD4+/CD8+, a alternativa correta é a a). A opção III está incorreta pois não há previsão de que este problema na aquisição seja ocasionado por um problema de software, sendo as principais razões e soluções as apresentadas nas demais opções (I, II, IV e V).

9) A calibração do citômetro de fluxo FACSVia, realizada diariamente, é essencial para a correta distribuição das células nos gráficos e demonstra que o aparelho utilizado e a análise dos dados estão operando com total eficiência. Ao final da calibração, alguns pontos devem ser checados antes de colocá-los em uso. Marque com V as sentenças que correspondem ao laudo final da calibração e com F as que não correspondem.

() Os valores de Mediana das Esferas de Alto Brilho para FSC, SSC, FL1, FL2, FL3 e FL4 devem ser dentro do Intervalo de MFI (MFI Range);

() A potência do lasers azul e do vermelho devem ser igual a $14,5 \pm 0,5$ mWatts

() Os valores de rCV % das esferas de alto brilho para , FL1, FL2, FL3 e FL4 devem ser menores que 6%;

() A sensibilidade do Instrumento para todos os parâmetros deve ser igual ou maior que a especificação de sensibilidade.

Assinale a sequência correta:

a) V, V, F, F.

b) V, V, F, V.

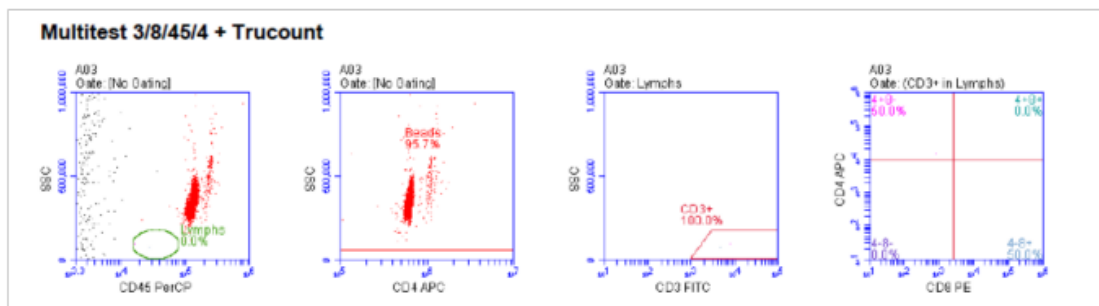
c) V, F, F, V.

d) V, F, V, V.

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante, a alternativa que contém a sequência correta é a d). Não há definição de potência dos lasers azul e vermelho como requisito para o laudo final de calibração no FACSVia.

10) Um profissional se deparou com os seguintes gráficos ao analisar os resultados do processamento de uma amostra.



Analise qual alternativa apresenta o motivo mais provável pelo qual não é possível observar populações positivas para todos os marcadores.

a) Uso de reagentes vencidos;

b) Erro de software do equipamento;

c) Amostra preparada sem adição de anticorpo;

d) Amostra preparada com solução de lise diluída.

Comentário da questão:

De acordo com os manuais do fabricante de Treinamento para Quantificação de Linfócitos T CD4+/CD8+, a alternativa correta é a c) devido à ausência de populações celulares nos dot plots.

APÊNDICE B

RESPOSTAS PARA AS QUESTÕES SOBRE O PROGRAMA AEQ

SISCEL	1AEQ	2 AEQ	3AEQ	Total
Gabarito	D	A	B	3
1	D	A	B	3
5	C	A	B	2
9	D	A	B	3
10	D	A	B	3
14	D	A	B	3
39	D	A	B	3
49	D	A	B	3
59	D	A	B	3
61	D	A	B	3
68	D	A	B	3
75	D	A	B	3
129	D	A	B	3
132	D	A	B	3
133	D	A	B	3
141	D	A	B	3
143	D	A	B	3
144	D	A	B	3
145	D	A	B	3
151	D	A	B	3
152	D	A	B	3
164	D	A	B	3
173	D	A	B	3
186	D	A	B	3
261	D	A	B	3
268	D	A	B	3
275	D	C	B	2
301	D	A	B	3
321	D	A	B	3
357	D	A	B	3
359	D	A	B	3
362	D	A	B	3
363	D	A	B	3
364	D	A	B	3
368	D	A	B	3
370	D	A	B	3
371	D	A	B	3
375	D	A	B	3
388	D	A	B	3
389	D	A	B	3
400	D	A	B	3
407	D	A	B	3
409	D	A	B	3
414	D	A	B	3
415	D	A	A	2
417	D	A	A	2
417	D	A	B	3
420	D	A	B	3
421	D	A	B	3
428	D	A	B	3
429	D	A	B	3
438	D	A	B	3
444	D	A	B	3
457	D	A	B	3
461	D	A	B	3
474	D	A	B	3
570	D	A	B	3
806	D	A	B	3
1019	D	A	B	3
1058	D	A	B	3
1090	D	A	B	3
1248	D	A	B	3
1546	B	A	B	2
1871	D	A	B	3
2059	D	A	B	3
2344	D	A	B	3
2598	D	A	B	3
2629	D	A	B	3
2814	D	A	B	3
32575	D	A	B	3
Acertos	97%	99%	97%	3

QUESTÕES SOBRE O PROGRAMA AEQ

1) Para a Rede de Contagem de Linfócitos T-CD4+, devido ao tempo de estabilidade das amostras, o painel AEQ é enviado via transportadora. Para que os painéis sejam entregues corretamente, o profissional do serviço deve:

I – manter atualizados e corretos os dados de contato do laboratório/serviço e dos profissionais executores (endereço da instituição, e-mails e telefones) no SISLOGLAB.

II – realizar a atualização cadastral no questionário da rodada teórica da AEQ.

III – não se preocupar com atualização do endereço pois é de inteira responsabilidade da transportadora encontrar o local correto para realizar a entrega dentro do serviço.

IV – monitorar a data prevista de entrega (início da rodada) dos painéis, conforme cronograma anual, e entrar em contato com a Equipe AEQ caso perceba atraso no recebimento do painel.

V – conferir se o endereço informado no cadastro da instituição é para a entrega do painel diretamente no serviço (setor). Caso seja em um almoxarifado central da instituição, verificar se a caixa já não foi entregue neste local antes de entrar em contato com a Equipe AEQ.

Assinale a alternativa CORRETA.

a) I, II e IV estão corretas

b) II, IV e V estão corretas

c) I e IV estão corretas

d) I, II, IV e V estão corretas

Comentários da questão: Alternativa correta: D

A sentença I está correta e o caminho para a atualização é: Menu Principal > Atualização Cadastral > Dados da Instituição. Apenas a sentença III está incorreta pois a atualização do endereço para a entrega é de responsabilidade da instituição/serviço. Inclusive, no questionário da rodada teórica da AEQ, o qual é utilizado como forma de confirmação/atualização do endereço, pede-se que seja informado o nome do setor para facilitar que a caixa seja entregue no local correto. Também é solicitado o nome do profissional responsável pelo recebimento do painel.

2) Nas rodadas práticas, os profissionais recebem amostras biológicas (painel AEQ) para serem testadas. Com relação ao painel, analise as sentenças.

I - O conteúdo do painel é potencialmente infectante e deve, obrigatoriamente, ser manipulado com o uso de equipamentos de proteção individual tais como: luvas, aventais, óculos de proteção etc.

II - O descarte definitivo das amostras do painel deve obedecer ao programa de gerenciamento de resíduos da instituição, da mesma forma como são descartadas as amostras da rotina de contagem de linfócitos T-CD4+.

III - O painel é composto por 04 (quatro) tubos criogênicos contendo 300µL de sangue total fresco que devem ser processados de forma especial, com mais cuidado e segregada das amostras da rotina.

IV – Em todas as rodadas, o profissional mais experiente deve ser designado para testar as amostras do painel, pois profissionais menos experientes têm mais chances de cometer erros prejudicando o resultado da rodada.

V – Os 04 (quatro) tubos do painel devem ser testados em um mesmo dia utilizando o kit de um único lote e segundo os procedimentos recomendados pelo fabricante.

Assinale a alternativa CORRETA.

- a) I, II e V
- b) I, III e V
- c) II, IV e V
- d) II e IV

Comentários da questão: Alternativa correta: A

A sentença III está incorreta. Cada tubo deve ser processado como se fosse uma amostra da rotina e em testagem única, sem tratamento especial, com o volume de pipetagem recomendado de sangue total para a técnica de contagem de linfócitos T-CD4+ conforme instruções do fabricante. As amostras AEQ podem ser processadas juntamente com as amostras da rotina.

A sentença IV está incorreta. O processamento das amostras AEQ deve ser semelhante ao processamento das amostras da rotina, ou seja, processadas pelo profissional que realiza os testes diariamente. O objetivo da AEQ é identificar possíveis não conformidades e corrigi-las. Dessa forma, profissionais que foram treinados a pouco tempo não devem ser privados de participar das rodadas AEQ.

3) O Programa AEQ é constituído por rodadas práticas e teóricas. Sobre essas rodadas, assinale “V” para as sentenças verdadeiras e “F” para as falsas.

() Cada instituição deve responder o questionário da rodada teórica apenas uma única vez. Se mais de uma resposta for enviada pela mesma instituição, será considerado o primeiro envio e as demais respostas não serão analisadas.

() Nas rodadas práticas, será considerado válido o último resultado enviado (caso tenha sido realizado mais de um envio por profissionais diferentes da mesma instituição).

() Os profissionais do serviço devem enviar individualmente as questões das rodadas teóricas, pois nem sempre é possível entrarem em um consenso sobre qual será a resposta selecionada em cada questão.

() A identificação de cada laboratório/serviço de saúde é confidencial e, por isso, pede-se o código do SISCEL tanto nas rodadas práticas quanto nas teóricas. Esse código será utilizado no relatório global.

() Deve-se registrar a informação da data e horário do recebimento do painel (entregue pela transportadora), pois esses dados serão solicitados no formulário de resultados.

Assinale a alternativa que contém a sequência CORRETA.

- a) F, V, V, V, V
- b) V, V, F, V, V**
- c) V, V, F, V, F
- d) F, V, V, F, V

Comentário da Questão: Alternativa correta: B

Apenas a terceira sentença é falsa. Os profissionais do serviço devem discutir as questões das rodadas teóricas e entrarem em um consenso sobre qual será a resposta selecionada em cada questão. As respostas escolhidas serão analisadas para avaliação da instituição, e não dos profissionais individualmente.

PROGRAMA DE AVALIAÇÃO EXTERNA DA QUALIDADE (AEQ) DOS TESTES PARA CONTAGEM DE LINFÓCITOS T-CD4+/CD8+ DO DEPARTAMENTO DE HIV/AIDS, TUBERCULOSE, HEPATITES VIRAIS E INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS

PROVEDOR DO ENSAIO DE PROFICIÊNCIA:

Equipe AEQ-TR da Universidade Federal de Santa Catarina
Telefone: (48) 3721-4562

Maria Luiza Bazzo (Coordenadora do Programa AEQ) Contato: (48) 3721-4562

Renata Cristina Messores Rudolf

Adriane Wendling Leismann

Fernando Hartmann Barazzetti

Maria Aparecida Rosa Cunha Cordeiro

Manoela Valmorbida

Clarice Iomara Silva

Felipe de Rocco

Marcos André Schörner

Jéssica Motta Martins

Julia Kinetz Wachter

Rafael Emmanuel Godoy Martinez

Bianca Cassiano

Thábata da Rosa Sant'Ana

Natália Groders

Ana Luísa Vieira Rocha

Christinni Machado Venturi

ÓRGÃO FINANCIADOR:

DEPARTAMENTO DE HIV/AIDS, TUBERCULOSE, HEPATITES VIRAIS E INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS (DATHI/SVSA/MS)

Draurio Barreira Cravo Neto (Diretor)

ÁREA DE DIAGNÓSTICO

Adson Belém Ferreira da Paixão

Álisson Bigolin

Amanda Alencar Cabral Moraes

Ana Cláudia Philippos

Fernanda Lopes Conte

Moyra Machado Portilho

Paula Pezzuto

Rafael Chitolina

Vinícius da Motta de Mello