



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



## INSTITUTO ADOLFO LUTZ

---

### Protocolo do Programa de Ensaio de Proficiência para Colinesterase

Centro de Patologia - NHB/02

Atividade enzimática da colinesterase plasmática

(Plasma humano)

Rodada 21 – Outubro - 2017

### ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO

Instituto Adolfo Lutz (IAL)  
Centro de Patologia  
Núcleo de Hematologia e Bioquímica  
Centro de Materiais de Referência

Coordenadores do Programa  
Coordenador Técnico: Marilena Oshiro  
Coordenador Técnico Substituto: Karen Miguita  
Av Dr. Arnaldo, 351 – 7º andar  
Cerqueira César - São Paulo – SP  
CEP 01246-902  
Tel. (11) 3068-2878 ou 3068-2873  
Fax: (11) 3068-2871  
Site: [www.ial.sp.gov.br](http://www.ial.sp.gov.br)  
e-mail: [maoshiro@ial.sp.gov.br](mailto:maoshiro@ial.sp.gov.br)  
[pepcol@ial.sp.gov.br](mailto:pepcol@ial.sp.gov.br)

### APOIO

Este programa de ensaio de proficiência tem apoio da FINEP/SIBRATEC – Rede de Laboratórios para sangue e hemoderivados.



Ministério da  
Ciência, Tecnologia  
e Inovação



### INTRODUÇÃO

O PEP-Col busca atender às novas demandas metrológicas no setor da saúde ocupacional e toxicologia. Oferece uma ferramenta de avaliação da competência técnica dos laboratórios na análise da colinesterase sanguínea. Propicia subsídios para a implementação de ações preventivas e ações corretivas visando melhoria no processo analítico. Podem-se gerar informações sobre o desempenho do método e do kit, as quais poderão auxiliar na melhor escolha para os propósitos de diagnóstico e monitoramento das intoxicações por organofosforados e carbamatos.

O Sistema de Gestão da Qualidade do IAL tem como base as normas NBR/ISO/IEC 17025:2005 ou ABNT NBR NM ISO 15189:2008. O Instituto Adolfo Lutz, provedor de programas de comparação interlaboratorial, busca a melhoria contínua deste serviço com rigor científico, estabelece como prioridade a qualidade e cumpre com os critérios descritos na ISO/IEC 17043:2010. Alguns aspectos deste programa seguem o IUPAC/ISO/AOAC Protocolo Internacional Harmonizado para Ensaio de Proficiência de Laboratórios Analíticos (Químicos) e ISO 13528. A produção dos itens de ensaio segue as diretrizes estabelecidas pelas Boas Práticas de Fabricação presente na Portaria nº 686, de 27 de agosto de 1998, do Ministério da Saúde.

## **OBJETIVOS**

- Oferecer aos laboratórios que realizam o ensaio de colinesterase sanguínea uma ferramenta para avaliação externa da qualidade analítica e para o cumprimento da exigência da ANVISA na Resolução RDC nº 302/2005, quanto à participação dos laboratórios em Ensaio de Proficiência;
- Determinar o desempenho individual dos laboratórios na análise da colinesterase plasmática;
- Propiciar subsídios para os laboratórios identificarem erros analíticos contribuindo na implementação das ações corretiva;

## **ESCOPO**

Determinação da atividade enzimática da colinesterase plasmática em plasma e/ou soro de origem animal e/ou humano, pelo método cinético-colorimétrico. Os itens de ensaio poderão apresentar valores de atividade enzimática entre 2.000 a 9.000 U/L.

## **EQUIPE TÉCNICA**

Marilena Oshiro – Pesquisador Científico  
Karen Miguita – Pesquisador Científico  
Cristiani Martinez Salzone – Técnico de apoio à pesquisa  
Ana Lúcia Olympio – Agente técnico de assistência à saúde

## **PARTICIPAÇÃO**

A participação no Programa é aberta a todos os laboratórios da rede Pública Estadual e Municipal, bem como aos privados e universidade que realizam o ensaio quantitativo para colinesterase plasmática sanguínea, desde que tenham registro de funcionamento emitido pelo órgão de Vigilância Sanitária local.

Para participar é necessário enviar a ficha de inscrição (disponível no site [www.ial.sp.gov.br](http://www.ial.sp.gov.br)) via Fax (11) 3068-2871 ou para o endereço eletrônico [pepcol@ial.sp.gov.br](mailto:pepcol@ial.sp.gov.br).

Prazo de inscrição **até 06 de fevereiro de 2017.**

O participante deverá designar um responsável técnico e seu substituto que farão a conexão com provedor.

## **Compromisso do laboratório participante**

- Informar ao PEP-Col qualquer mudança quanto ao responsável técnico, ao método de ensaio, ao equipamento ou de qualquer eventualidade que impeça a sua participação na rodada;
- Verificar no ato do recebimento do item de ensaio se houve violação, vazamento ou quebra dos frascos. É obrigatório o preenchimento e o envio do Formulário de Recebimento ao provedor;
- Solicitar uma nova amostra nos casos de perdas e ou acidentes durante o prazo de execução dos ensaios;
- Seguir rigorosamente todas as informações contidas em cada rodada;
- Cumprir prazos estabelecidos no cronograma;
- Repassar aos profissionais, que farão as análises, todas as informações necessárias do procedimento;
- Não subcontratar os ensaios do PEP-Col;

- Informar qualquer problema técnico que tenha ocorrido durante as análises;
- Realizar uma análise crítica da avaliação de cada rodada e definir ações corretivas ou de melhoria, quando a avaliação de desempenho for questionável ou insatisfatória;
- Evitar fraudes, falsificação e colusão dos resultados;
- Entrar em contato com o PEP-Col nos casos de dúvidas ou discordância na avaliação.

## **CONFIDENCIALIDADE**

Todas as informações fornecidas pelo laboratório participante ao provedor são tratadas de forma confidencial. Em circunstâncias excepcionais, por solicitação de autoridades regulamentadoras ou de acreditação, o provedor fornece os resultados diretamente a estas autoridades. Nestes casos, esta ação é notificada por escrito aos laboratórios envolvidos. O laboratório enviará um acordo também por escrito.

Cada laboratório é identificado por código aleatório que será utilizado no relatório geral e se altera a cada rodada do programa. Este código de identificação do laboratório será enviado por e-mail ao responsável do laboratório participante ou seu substituto e sua divulgação é de responsabilidade do mesmo.

O provedor pode divulgar os resultados do programa em eventos e revistas científicas, mantendo o sigilo dos laboratórios participantes.

## **DOCUMENTOS DO PROGRAMA**

O Formulário de Inscrição, Formulário de Recebimento do Item de Ensaio e o Formulário de Registro de Resultados estarão disponíveis no site [www.ial.sp.gov.br](http://www.ial.sp.gov.br). O Relatório do Programa será enviado por e-mail ao responsável técnico do laboratório participante ou seu substituto.

## **ITENS DE ENSAIO**

Os itens de ensaio para análise da colinesterase plasmática são provenientes de material biológico, que podem ser de origem humana ou animal. O plasma ou soro depois de passarem por processo de centrifugação são adicionados inibidores quinidina ou tetraisopropil pirofosforamida para obtenção de amostras com atividade enzimática menor que 5.000 U/L. Para amostra com atividade entre 5.000 a 9.000 U/L não é adicionado nenhum componente na matriz. Após a liofilização, cada frasco é identificado com numeração aleatória e unívoca. Ficarão armazenados em temperatura entre -20 a -32°C até serem distribuídas aos laboratórios participantes. O volume de cada frasco de soro ou plasma após a reconstituição será de 3 ml.

## **ENVIO DOS ITENS DE ENSAIO**

Nesta rodada, serão distribuídos 3 itens de ensaio a todos os laboratórios por Sedex, acondicionados de maneira a proteger a estabilidade e integridade dos itens de ensaio. O PEP-Col informará aos responsáveis técnicos ou seus substitutos a data de despacho dos itens de ensaio.

Para o transporte, os frascos estarão acondicionados em caixa de isopor para minimizar a exposição das amostras às variações de temperatura durante o transporte. A embalagem externa será uma caixa de papelão devidamente identificada. A temperatura de transporte é a temperatura ambiente.

Os itens de ensaio deverão chegar aos laboratórios participantes em até cinco dias após o despacho (data prevista para despachar **16/10/2017**). O laboratório que não receber dentro deste prazo, deverá entrar em contato com o provedor para as devidas providências. O coordenador do PEP-Col poderá enviar uma nova remessa, no caso de alguma irregularidade ocasionada durante o transporte, desde que haja tempo hábil para realização do ensaio no prazo pré-estabelecido.

No ato do recebimento dos itens de ensaio, o laboratório deverá realizar uma inspeção para verificar algum dano ou alteração das condições que possa invalidar os resultados das análises. O resultado desta inspeção deverá ser registrado no Formulário de Recebimento disponível no site [www.ial.sp.gov.br](http://www.ial.sp.gov.br) e ser enviado ao PEP-Col até **31/10/2017**.

## MANUSEIO DOS ITENS DE ENSAIO

Os itens de ensaio devem ser manuseados como materiais potencialmente infectantes. Devem ser classificados e descartados como resíduos do Grupo A segundo a Resolução CONAMA nº 283, para preservar a saúde pública e a qualidade do meio ambiente. No manuseio dos itens de ensaio, o laboratório deverá cumprir com a norma regulamentação referente à biossegurança para o manuseio e descarte de amostras biológicas. Recomenda-se que as amostras sejam tratadas de maneira semelhante das amostras ensaiadas (de pacientes) na rotina.

O descarte deverá seguir de acordo com RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004- que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde e da Resolução CONAMA nº358, de 29 de abril de 2005- que dispõe sobre tratamento e disposição final dos resíduos dos serviços de saúde.

## ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO DOS ITENS DE ENSAIO

Os frascos não abertos são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, desde que mantidos em temperatura mínima de -16°C.

Após a reconstituição é estável por até 24h desde que mantidos em temperatura entre 4 e 8°C.

## TESTE DE HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE

O PEP-Col garante a homogeneidade e a estabilidade dos itens de ensaio. São avaliadas conforme a ISO 13528.

Os testes de homogeneidade são realizados antes da liberação de cada rodada.

A estabilidade dos itens de ensaio é garantida até o final do período estabelecido para a análise, desde que os itens tenham sido armazenados fechados e sem reconstituição em temperatura mínima de -16°C.

O provedor informará aos participantes sobre o adiamento ou cancelamento da rodada, nos casos em que os itens de ensaio não se apresentarem suficientemente homogêneos ou estáveis, antes e após sua distribuição, respectivamente. Caso a rodada seja adiada ou cancelada, os participantes serão imediatamente comunicados e uma nova data poderá ser estabelecida.

## CRONOGRAMA

Prazo final para inscrição	06/10/2017
Envio dos itens de ensaio, via SEDEX (data estimada)	16/10/2017
Prazo para envio dos resultados à coordenação do PEP-Col.	31/10/2017
Relatório Prévio, via e-mail.	22/11/2017
Período para contestações	22/11 a 01/12/2017
Relatório Final, via e-mail.	11/12/2017

## MÉTODOS DE ENSAIO

O método analítico deverá ser o cinético-colorimétrico, utilizando temperatura de reação a 37°C, podendo ser executado manualmente ou através de equipamentos de bioquímica clínica. O método deverá ser o mesmo da rotina.

Deverão utilizar kits comerciais com registro em órgão competente do Ministério da Saúde ou soluções preparadas pelo laboratório para métodos manuais.

Na utilização de kits comerciais, as medições deverão ser realizadas de acordo com a bula do fabricante.

O laboratório deverá reconstituir os itens de ensaio, seguindo as etapas abaixo:

- Adicionar em cada frasco, exatamente 3 ml de água bidestilada ou tipo I (classificação ASTM);
- Fechar o frasco e homogeneizar suavemente por rotação manual até dissolver a amostra por completo;
- Aguardar por 20 minutos, homogeneizar e utilizar de imediato;
- Se não for utilizar de imediato, guardar em temperatura entre 4 e 8°C, no máximo por até 24 horas.

Para cada frasco, fazer a análise em replicata (5x) em condições de repetitividade, ou seja, nas mesmas condições sem alterações de dia, local, kit, método, técnico e equipamento.

Os resultados obtidos deverão ser expressos em U/L. Os resultados que não estiverem nestas unidades não serão avaliados.

## **REGISTRO DOS RESULTADOS**

O laboratório deve reportar os resultados no Formulário de Registro dos Resultados e enviar ao provedor até **31/10/2017** para os e-mails : [pepcol@ial.sp.gov.br](mailto:pepcol@ial.sp.gov.br) e [maoshiro@ial.sp.gov.br](mailto:maoshiro@ial.sp.gov.br). Não serão avaliados os resultados que forem enviados após esta data.

Seguir as seguintes instruções:

- Preencher todos os campos do formulário;
- Informar os cinco resultados obtidos, correspondente a cada frasco;
- Os resultados deverão estar na unidade de U/L, com algarismos inteiros (ex.: 7.196 U/L);
- Somente para o sistema Test-Mate os resultados deverão estar em U/mL, com duas casas decimais (ex.: 1,32 U/mL).

Obs. Para aqueles que não utilizaram kits comerciais, informar o método.

Em caso de dúvida no preenchimento da planilha de resultado, o laboratório deverá entrar em contato com a coordenação do PEP-Col pelos e-mails : [pepcol@ial.sp.gov.br](mailto:pepcol@ial.sp.gov.br) ou [maoshiro@ial.sp.gov.br](mailto:maoshiro@ial.sp.gov.br).

## **ANÁLISE DOS RESULTADOS**

A avaliação de desempenho dos laboratórios participantes será baseada na estatística de grupo, no qual os resultados dos ensaios serão agrupados de acordo com a semelhança entre os sistemas analíticos utilizados (método/Kit/equipamento). O número mínimo de resultado para cada grupo deverá ser de dez. Não havendo este mínimo de dez resultados, o laboratório receberá apenas os resultados da média, desvio padrão e coeficiente de variação de suas replicações.

Serão excluídos da análise estatística os laboratórios que não reportarem os cinco valores (replicatas) de cada item de ensaio, resultados fora da unidade de grandeza definida, utilização de kits sem o registro do órgão competente do Ministério da Saúde ou utilização de métodos proscritos.

O método estatístico utilizado no PEP-Col será o conforme a ISO 13528, ISO/IEC 17043 e IUPAC/ISO/AOAC.

### **Valor designado ( $\mu$ )**

O valor de consenso será utilizado como o valor designado no PEP-Col. A cada rodada, um novo valor de consenso será calculado, por ele estar baseado nos resultados obtidos pelos participantes. O valor designado será a média robusta, obtida através da análise robusta por meio do Algoritmo A, conforme a ISO 13528:2005

## Desvio padrão para avaliação de proficiência ( $\sigma$ )

Será estabelecido a partir de uma das seguintes possibilidades:

- desvio padrão robusto descrita na ISO 13528:2005 ou,
- calculado por um valor fixo de 8,3% do valor designado

## Incerteza

Incerteza é “um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos ao mensurando” (VIM).

Neste Programa será utilizada a incerteza expandida tipo A, a qual será adquirida através do desvio padrão das replicatas de cada laboratório. A incerteza expandida dá uma probabilidade de abrangência dentro do qual se crê encontrar o valor do mensurando com maior grau de confiança.

## AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS LABORATÓRIOS

### Elipse de Confiança

É uma técnica utilizada para verificar a compatibilidade entre os laboratórios na forma gráfica, possibilitando identificar se os desvios apresentados por eles são devidos a erros aleatórios ou sistemáticos, direcionando as ações corretivas.

Esta técnica só será utilizada quando o número de laboratório participante com resultado válido for igual ou maior que 10 e quando na rodada for prevista a distribuição de par de amostras semelhante, ou seja, de níveis de atividade enzimática da colinesterase próximas.

### Índice z

O desempenho de cada laboratório será avaliado pelo índice z por meio da seguinte equação:

$$z = \frac{x_i - \mu}{\sigma}$$

Onde  $x_i$  é a média dos resultados das replicatas de cada laboratório.

$\mu$  é o valor designado

$\sigma$  é o desvio padrão para avaliação de proficiência

Os laboratórios serão classificados da seguinte forma:

$$\begin{aligned} |Z| \leq 2 &= \text{satisfatório} \\ 2 < |Z| < 3 &= \text{questionável} \\ |Z| \geq 3 &= \text{insatisfatório} \end{aligned}$$

## RELATÓRIO

O relatório prévio será enviado por e-mail ao responsável do laboratório participante ou seu substituto a partir do dia **22/11/2017**.

Os laboratórios poderão contestar os resultados de avaliação do relatório no período de **22/11 a 01/12/2017**. Deverão enviar suas contestações para o coordenador do PEP-Col por e-mail : [pepcol@ial.sp.gov.br](mailto:pepcol@ial.sp.gov.br) ou [maoshiro@ial.sp.gov.br](mailto:maoshiro@ial.sp.gov.br).

O Relatório Final será enviado por e-mail ao responsável do laboratório participante ou seu substituto a partir do dia **11/12/2017**.

No relatório haverá comentário e conclusão geral da rodada. Não haverá comentários individualizados para cada laboratório participante.

## **RECLAMAÇÕES E CONTESTAÇÕES**

O provedor tem procedimentos para o tratamento e as soluções das contestações contra a avaliação de desempenho do programa, recebidas dos laboratórios participantes, clientes e outras partes. O provedor tem o compromisso de corrigir prontamente qualquer equívoco que tenha cometido e de emitir novo relatório, se necessário.

O laboratório pode enviar à coordenação do PEP-Col suas considerações, sugestões, dúvidas e contestações a respeito do programa, por meio eletrônico para os endereços: [pepcol@ial.sp.gov.br](mailto:pepcol@ial.sp.gov.br) e [maoshiro@ial.sp.gov.br](mailto:maoshiro@ial.sp.gov.br).

## **SERVIÇOS SUBCONTRATADOS**

O Programa de Ensaio de Proficiência para Colinesterase do IAL não subcontrata qualquer atividade. Se ocorrer a subcontratação, o provedor será o responsável pelo trabalho do subcontratado.

## **ATENDIMENTO AO PARTICIPANTE**

O provedor tem disponibilidade de cooperar com os participantes e outros clientes, no atendimento às solicitações, dúvidas e sugestões e para o monitoramento e aconselhamento técnico em relação ao desempenho, mantendo a confidencialidade dos participantes. O provedor busca a avaliação dos participantes, tanto positiva quanto negativa, com o objetivo de aperfeiçoar o sistema de gestão do PEP-Col e os serviços prestados aos clientes.

## **TAXA**

A participação no Programa de Ensaio de Proficiência para Colinesterase é gratuita. .

---