



**13° CONGRESO COLOMBIANO &
19° CONGRESO IBEROAMERICANO DE
BANCOS DE SANGRE, MEDICINA
TRANSFUSIONAL Y TERAPIA CELULAR**

—  **CONECTADOS CON EL PACIENTE**  —

Octubre 31 a Noviembre 3 del 2024
Bogotá Colombia, Hotel Sheraton

Calidad de proceso tamizaje de infecciosas

*13° Congreso Colombiano y 19° Congreso Iberoamericano de Bancos de Sangre,
Medicina Transfusional y Terapia Celular.*

31 de Octubre al 3 de Noviembre de 2024 – Bogotá

Amadeo Sáez Alquezar

Escenario actual del tamizaje en bancos de sangre para enfermedades transmisibles por transfusión

HIV – HTLV – HCV- HBV - Sífilis

- Inmunoensayos cualitativos

Chagas (anti-T.cruzi)

- En los 21 países endémicos de Latinoamérica y en otros donde exista riesgo de transmisión por transfusión

CMV – Malaria – Arbovirus – WNV – HEV..

- De acuerdo a las características epidemiológicas y al destino de las unidades recolectadas

HIV – HCV - HBV

- Pruebas moleculares NAT en paralelo con el tamizaje serológico

Tamizaje para enfermedades infecciosas transmitidas por transfusión en donantes de sangre*- Brasil

	Parámetro	Pruebas	Ensayo serológico	NAT	
Obligatorios	HIV	1	Anti-HIV 1+2+"O" Combo (Ac / Ag p24)	+	Retrovirus
	HTLV	1	Anti-HTLV I/II		
	HBV	2	Ag HBs Anti-HBc (IgG ou total)	+	Hepatitis por virus
	HCV	1	Anti-HCV Combo (Ac/Ag core)	+	
	Sífilis	1	Anti-T.pallidum VDRL / RPR		Bacteria
	Chagas	1	Anti-T.cruzi		Parásito
Malaria	1	Ag / ADN	+		
Opcionales	CMV	1	Anti-CMV IgG		

(*): órganos y tejidos

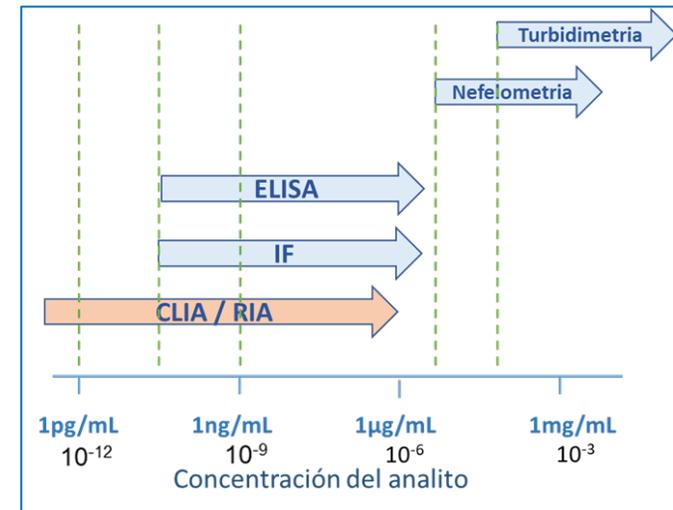
Brasil. MS portaria N.º 158, de 04 de febrero de 2016;

Metodologías para el tamizaje serológico

Pruebas cualitativas

Inmunoensayos

- Radio inmunoensayo (RIA)
 - Marcador radioactivo
- **Ensayo inmunoenzimático (ELISA)**
 - Marcador enzimático
- Inmunoensayos fluorescentes (FIA)
 - Marcador fluorescente
- **Quimioluminiscéncia (CLIA / CMIA)**
 - Marcador quimioluminiscentes*
- **Electro Quimioluminiscéncia (eCLIA)**
 - Marcador quimioluminiscentes**
- **Pruebas diagnósticos Rápidos (PDR / POCT)**

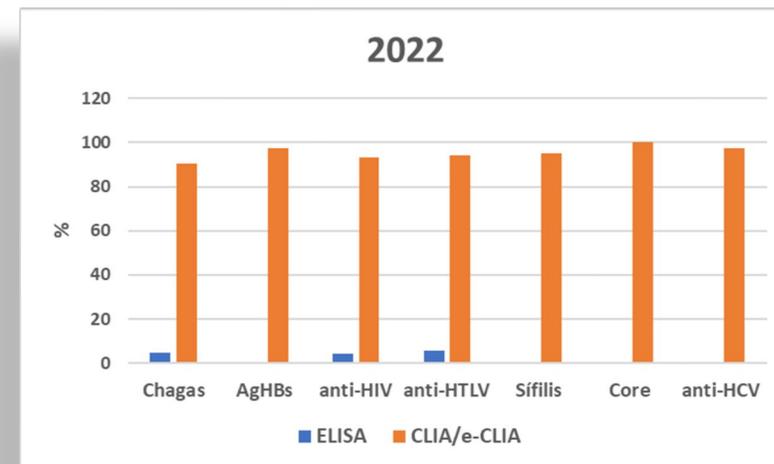
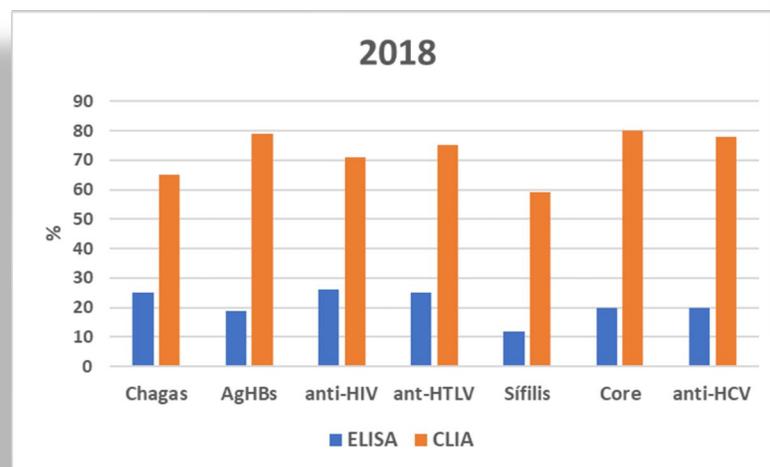
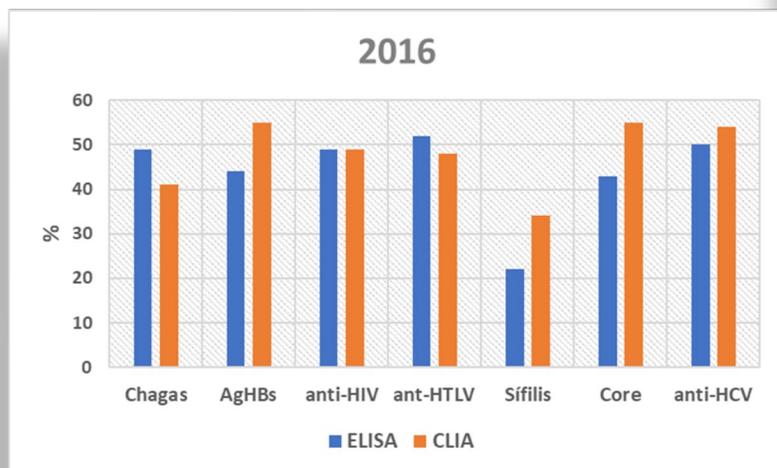


(*): producen luz cuando excitadas por reacción química
(**): producen luz cuando excitada por estímulo eléctrico

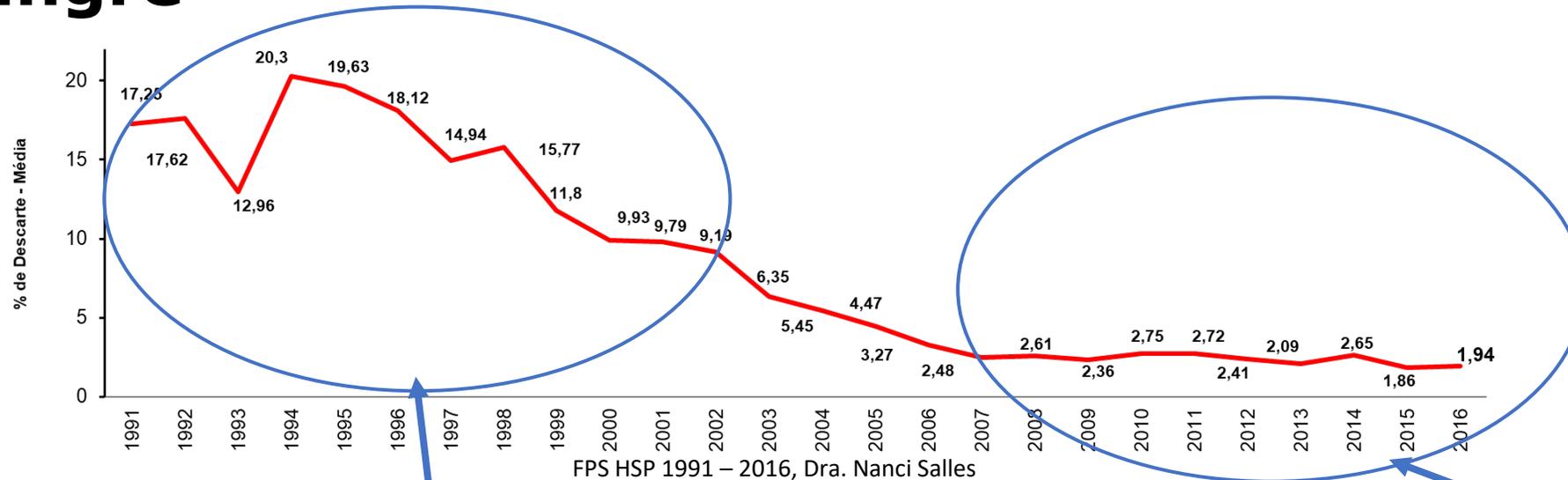
Metodologías para el tamizaje serológico

Pruebas ELISA – CLIA, en bancos de sangre

Retorno de resultados de los participantes en PEECs desarrollados por el PNCQ



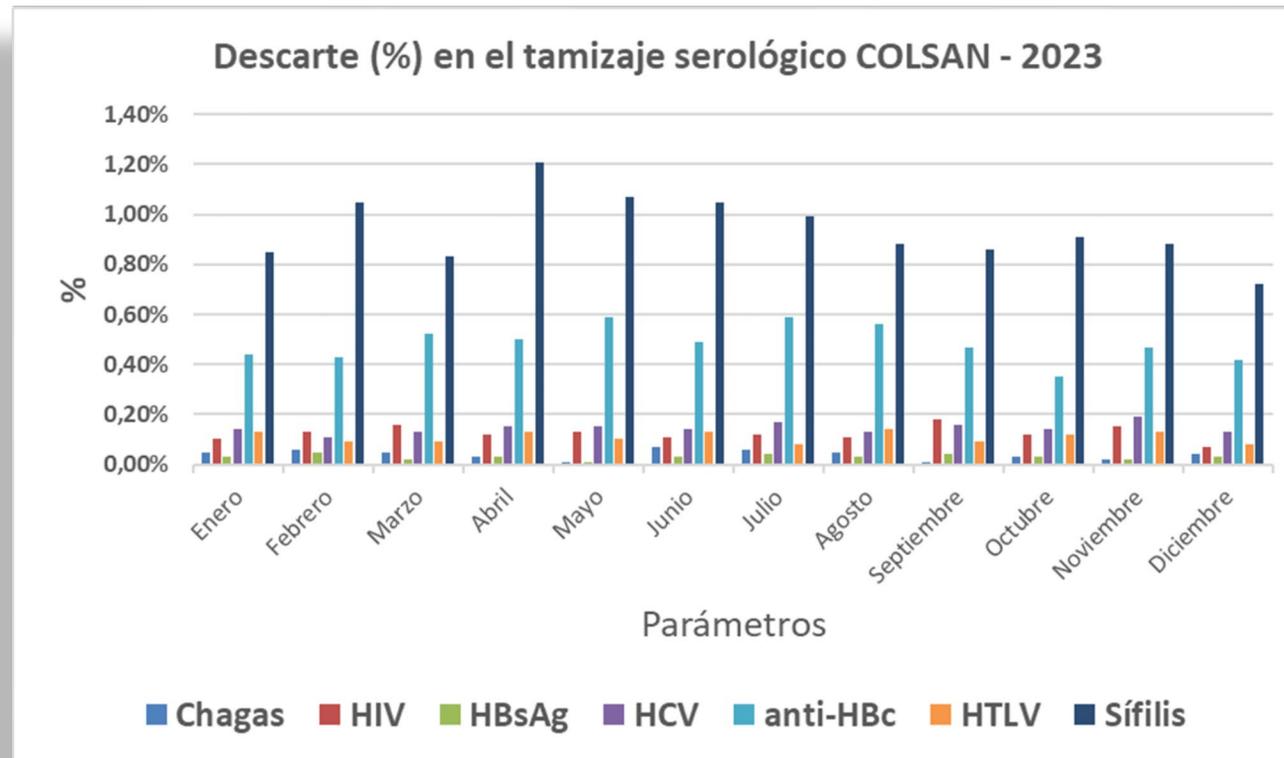
Descarte en el tamizaje serológico de donantes de sangre



- Inmunoensayos de baja E y baja S
 - Uso de pruebas “in house”
- Asociación desnecesaria de pruebas
- Sistemas de automatización precarios
 - Falta de informatización de los BS
- Falta de normatización en algunos países

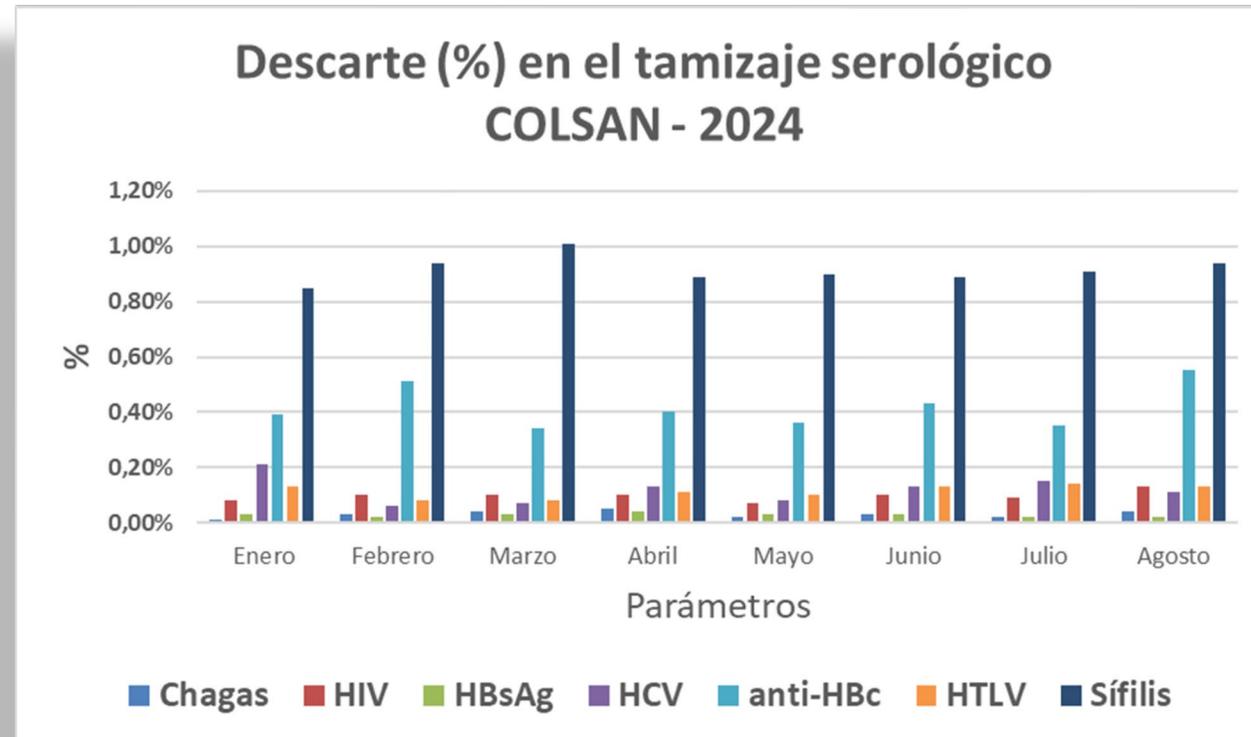
- Inmunoensayos con E y S mejoradas
- Asociación de pruebas solo con efectividad comprobada
- Sistemas de automatización mejorados
 - Informatización de los BS
- Normatización en la mayoría de los países
 - SGC / CCI / PEEC

Descarte (%) para los parámetros del tamizaje serológico – COLSAN- Brasil - 2023



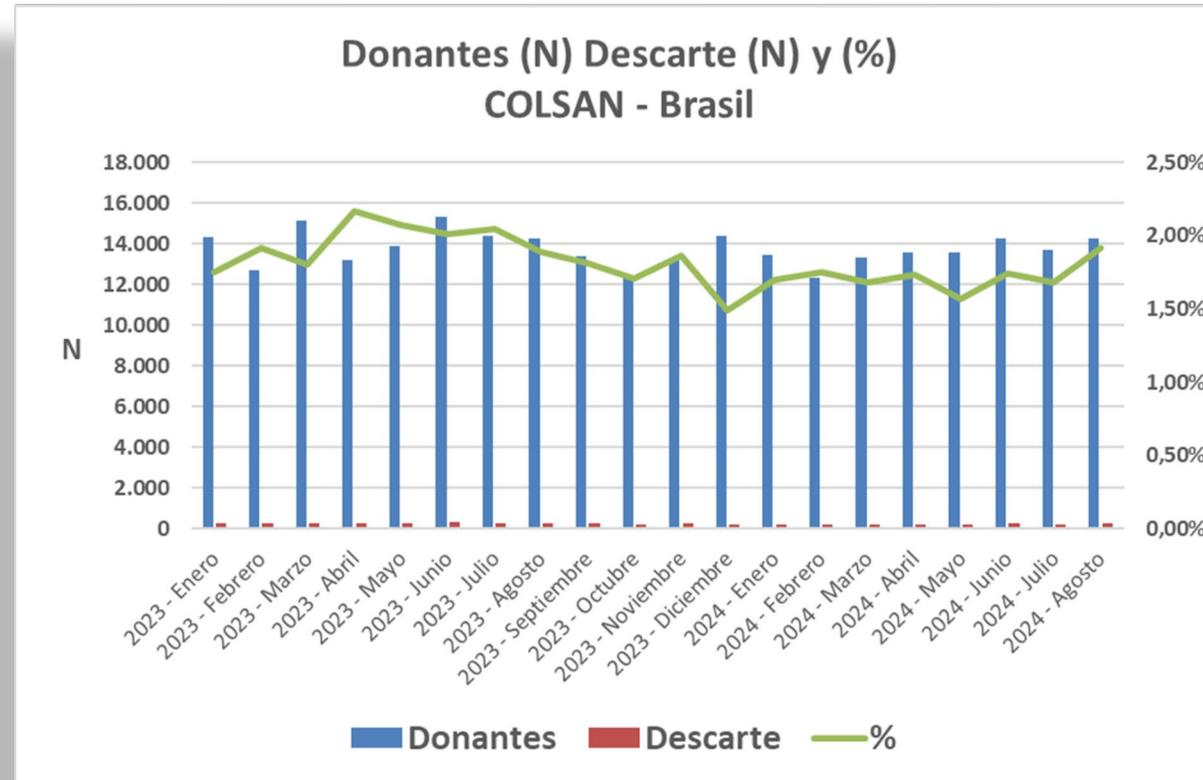
Dra. Nayara Moya / COLSAN

Descarte (%) para los parámetros del tamizaje serológico – COLSAN- Brasil - 2024



Dra. Nayara Moya / COLSAN

Descarte total (%) de donantes de sangue por tamizaje serológico – COLSAN – Brasil – 2023/2024



Dra. Nayara Moya / COLSAN

Metodologías para a Tamizaje Molecular

- **NAT** (nucleic acid amplification technology)

Las pruebas NAT corresponden a una metodología que permite detectar e identificar ácidos nucleicos (DNA / RNA) en muestras biológicas.

Presentan alta sensibilidad y especificidad, permitiendo reducir significativamente el riesgo de infecciones transmitidas por transfusión

A demás de reducir el período de ventana inmunológica para el diagnóstico (PV), también ayudan en la detección de variantes virales y en algunos casos consiguen identificar portadores de virus ocultos.

Reducción del período de ventana Inmunológica para HIV, HCV y HBV

HIV: 22, para \pm 10 días

HCV: 70, para \pm 14 días

HBV: 60 para \pm 10 días

(*): Houfer K, et al; Human Immunodeficiency virus 1 dual-target nucleic acid technology improves blood safety; 5 years experience Of the German Red Cross blood donor servisse BW-H; Transfusion 2018; 58; 2886-2893.

Implementación de las pruebas NAT

HIV / HCV



HBV



Técnicas moleculares

Ejemplos de plataformas para el NAT que permiten la detección cualitativa Simultánea* de: HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA y HBV DNA.

Cobas 6800 System – Roche (PCR)

Procleix Assays - Grifols (TMA)

Kit NAT HIV/HBV/HCV Bio-Manguinhos – Fiocruz. (PCR)

Kit NAT Plus HIV/HBV/HCV/Malária Bio-Manguinhos – Fiocruz. (PCR)

(*): pool de 06 muestras

The NAT solutions portfolio provides screening of: HIV-1, HIV-2, HCV, HBV, WNV, Parvovirus B19, HAV, HEV, Dengue Virus, Zika Virus, Babesia, and Plasmodium.

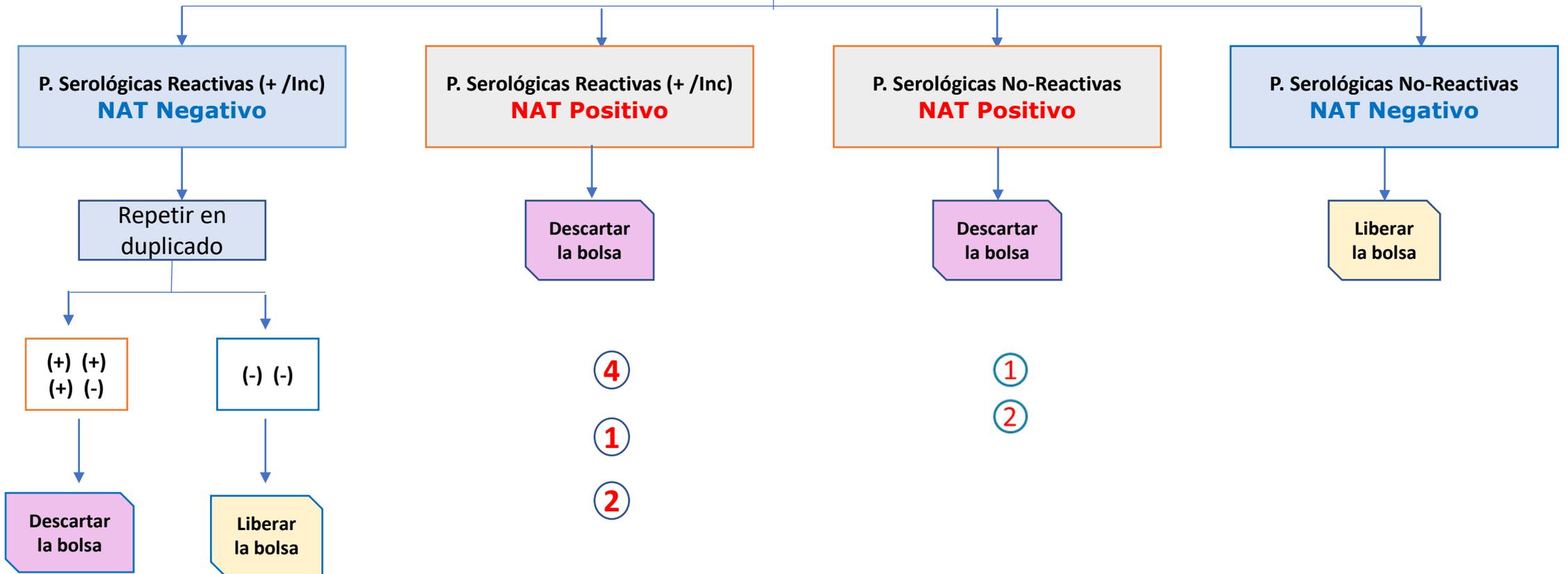
Recomendaciones internacionales para las pruebas NAT - Ejemplos

Los ensayos **NAT cualitativos para el HIV** destinados a detectar la presencia del HIV en la sangre, o en componentes sanguíneos, células, tejidos u órganos, o en cualquier de sus derivados, para determinar si son adecuados para transfusiones, trasplantes o suministro celular, deben **estar diseñados para detectar tanto el HIV-1 como el HIV-2.**

Las recomendaciones internacionales para el uso de los testes NAT indican que los ensayos NAT cualitativos para el HIV, estén diseñados para compensar posibles fallas de una región diana del NAT para el HIV-1, por ejemplo, **utilizando dos regiones blanco independientes**

DECISIÓN DE EJECUCIÓN (UE) 2019/1244 DE LA COMISIÓN de 1 de julio de 2019 por la que se modifica la Decisión 2002/364/CE en lo que concierne a los requisitos de las pruebas combinadas de detección del antígeno y el anticuerpo del VIH y el VHC y a los requisitos de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos por lo que respecta a los materiales de referencia y los ensayos cualitativos para el VIH [notificada con el número C(2019) 4632]

Tamizaje Inicial : HIV, HCV y HBV (serología y NAT)



1
2

3

1 **Convocar al donante:**

- Nueva muestra
- Orientación

2 **Si adecuado:**

- Investigar seroconversión.
- Retro vigilancia

3 **Evaluar la necesidad de Investigar las causas del Falso positivo inicial.**

4 **Repetir en duplicado**

Brasil – MS – tamizaje en donantes de sangre

Eficacia del tamizaje serológico / molecular, en donantes de sangre

- **Se consiguen excelentes resultados cuando trabajamos con:**
 - Selección adecuada de donantes.
 - Pruebas serológicas y moleculares de buena calidad.
 - Siguiendo Flujogramas y Algoritmos bien establecidos.
 - Adoptando procedimientos de Control de Calidad
 - Participando de programas de vigilancia epidemiológica.

Pero hemos de estar atentos a determinadas situaciones de riesgo

Situaciones de riesgo para transmisión por transfusión

Para HIV, HCV y HBV, cuando el donante se encuentre en el período de ventana inmunológica

Periodos de ventana para HIV / HBV/ HCV

	NAT ind	NAT minipool	Ag EIA/CLIA	Combo EIA/CLIA	Ab EIA/CLIA
HIV	8 4	11 7	14	16	21
HBV	27 17	37 27	42		
HCV	5 3	7 5	9	33	60

Periodo de ventana en días

WHO Expert Committee on Biological Standardization, 2017

Periodo de ventana inmunológica para la infección por HIV

NAT
Individual

NAT
"pool"

Inmunoensayo
4ª/5ª G
Ag/Ac
Combo

Inmunoensayo
3ª G
Anti-HIV1+2+O

Día cero
Infección

4 – 7 días

8 – 12 días

16 – 17 días

21 – 22 días

Periodo de ventana inmunológica para la infección por HCV

NAT
Individual

NAT
"pool"

Inmunoensayo
4ª G
Ag/Ac
Combo

Inmunoensayo
2ª / 3ª G
Anti-HCV

Día cero
Infección

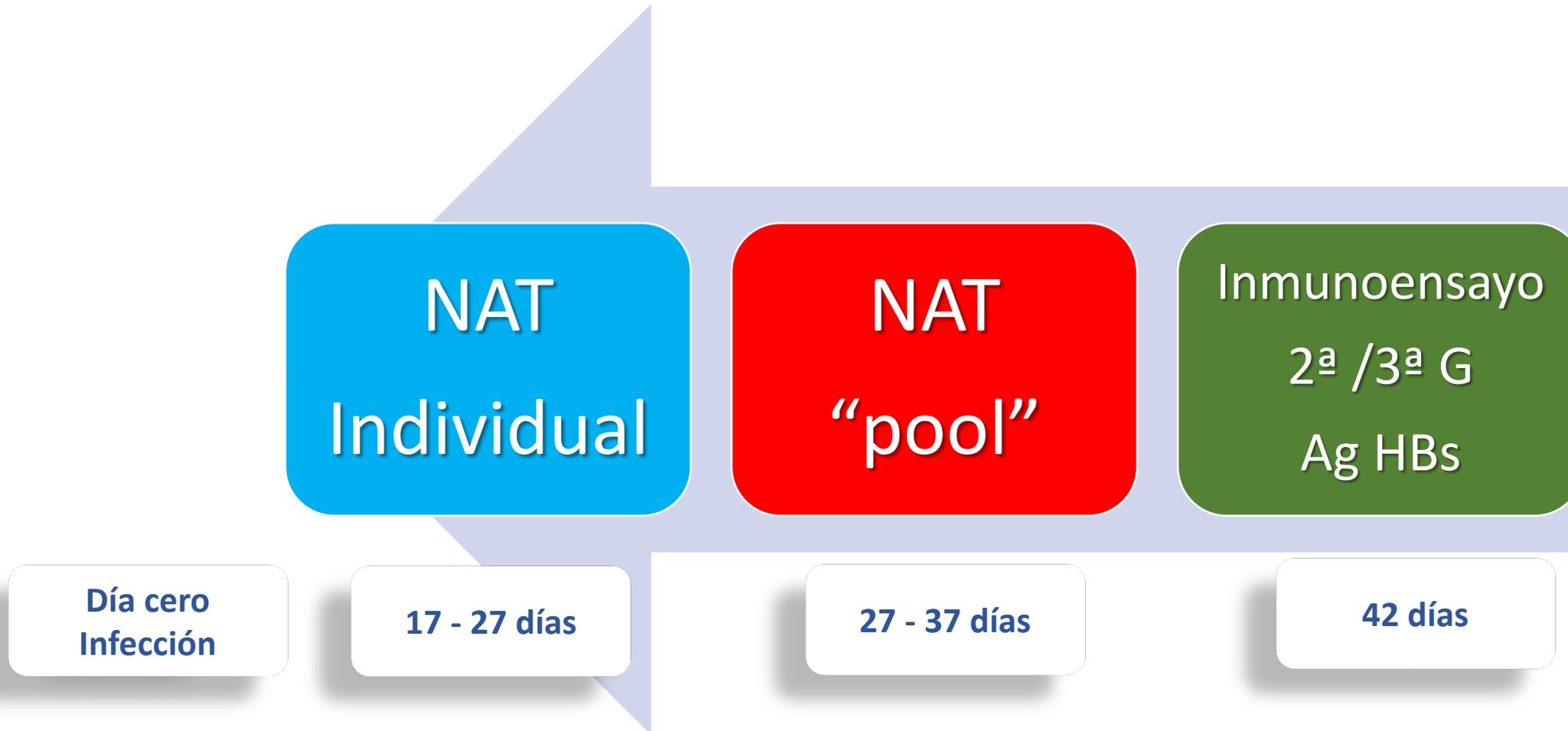
3 – 5 días

5 - 7 días
±14 días

38 días

>60 días

Periodo de ventana inmunológica para la infección por HBV



Riesgo residual – Tamizaje (NAT)

TABLE II
Comparison of the most commonly acknowledged transfusion transmitted agents in three countries: France, Brazil, and Cameroon

Infectious agent	France [103]	Brazil [104-106]	Cameroon
	Residual risk	Residual risk	Prevalence in blood donations
HIV		11×10^{-6}	1.6×10^{-2}
HIV with NAT	0.33×10^{-6}	4.2×10^{-6}	-
HCV		5×10^{-6}	1.8×10^{-2}
HCV with NAT	0.03×10^{-6}	0.6×10^{-6}	-
HBV		NA (prevalence: 2.89×10^{-3})	NA (incidence: 10.6×10^{-2})
HBV with NAT	0.16×10^{-6}	-	-
HTLV	0.11×10^{-6}	5×10^{-6}	NA (incidence: 1.2×10^{-2})
<i>Plasmodium</i> spp.	Exceptional	Incidental	NA (incidence: 6.5×10^{-2}) [107]

HIV: human immunodeficiency virus; HBV: hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; HTLV: human T leukemia virus; NA: not available.

Con la aplicación de las pruebas NAT, disminuye significativamente el riesgo Residual de transmisión para HIV, HCV y HBV por transfusión

Garraud O, et al; La Presse Medicale, vol45 (7-8) Jul, 2016

Situaciones de riesgo para transmisión por transfusión

De sífilis, cuando el tamizaje se realiza solamente con las pruebas No treponémicas VDRL/RPR.

Pruebas NO-Treponémicas: < costo; < sensibilidad; < especificidad;

Pruebas Treponémicas (CLIA/ELISA) IgG /IgM: > especificidad; > Sensibilidad;

Tamizaje en donantes 1.679/248.542 reactivos para Sífilis por CMIA(0.67%)
 Seleccionados: N = 1144 (68,1%)

ELISA (IgM) (+)	VDRL (+)	ELISA (IgM) (-)	VDRL (-)	%
X	X			16
	X	X		16,5
X			X	4,1
		X	X	63,4

Attie A, de Almeida-Neto C, S. Witkin S, et al. Detection and analysis of blood donors seropositive for syphilis. Transfusion Medicine. 2021;1–8.

Indian Journal of Pathology and Oncology, January-March, 2018;5(1):18-24

Tabela n° 3. Títulos observados em 20 amostras para os testes não treponêmicos.

Amostras	VDRL				RPR	
	Laborclin	Wiener (USR)	Wama (USR)	Laborclin Bras (USR)	Laborclin (TRUST)	Wama
1	1/4	1/32	1/8	1/8	1/2	1/4
2	1/2	1/4	1/2	Reagente	Reagente	1/2
3	1/2	1/4	1/2	1/2	1/4	1/2
4	NR	1/8	1/8	1/4	1/2	1/2
5	1/2	1/2	1/2	1/1	NR	NR
6	1/1	1/1	1/1	1/1	NR	NR
7	1/2	1/2	1/1	1/1	NR	NR
8	1/1	1/1	1/1	1/1	NR	NR
9	NR	1/1	1/1	1/1	NR	NR
10	1/1	1/2	NR	NR	NR	NR
11	1/1	NR	NR	NR	NR	NR
12	1/1	NR	NR	NR	NR	NR
13	1/1	NR	NR	NR	NR	NR
14	1/1	NR	NR	NR	NR	NR
15	1/1	NR	NR	NR	NR	NR
16	1/1	NR	NR	NR	NR	NR
17	NR	NR	NR	1/1	NR	NR
18	NR	NR	NR	1/1	NR	NR
19	NR	1/1	NR	NR	NR	NR
20	NR	NR	NR	NR	1/1	NR
Total	14	11	9	11	5	4

NR: Não Reagente
 Reagente: Material insuficiente para titulação

Sáez-Alquézar A, et al; Revista de Patologia Tropical 36: 215-228, 2007.

Situaciones de riesgo para transmisión por transfusión

- **De HBV, cuando el tamizaje se realiza solamente con Ag HBs, sin anti-HBc.**
- **De HBV, cuando el tamizaje se realiza con Ag HBs y NAT, pero sin anti-HBc.**

- OBI (solo anti-HBc +) (0,6%)
- Mutaciones del gen S (57,8%)
- Mutaciones de escape (T123N; G145A; D144G) (37,8%)
- Importancia de pruebas NAT de alta sensibilidad.
- Importancia de las tres pruebas: AgHBs, Anti-HBc, NAT HBV DNA

anti-HBc /NAT altamente sensible 0,8 copias [0,15 UI/ml] / métodos de reducción de patógenos.

- Nishiya AS, et al. Occult and active hepatitis B virus detection in donated blood in São Paulo, Brazil. *Transfusion*. 2021;1–10.

WHO Technical Report Series, No. 1004, 2017

I. W. Fong, Current Trends and Concerns in Infectious Diseases, Emerging Infectious Diseases of the 21st Century,

Situaciones de riesgo para transmisión por transfusión

De *T. cruzi*,

- Cuando la prueba usada en el tamizaje no es suficientemente sensible;
- Cuando la prueba usada en el tamizaje no es adecuada;
- Cuando las cepas presentes en la región presentan baja respuesta a los inmunoensayos utilizados;

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *T.cruzi*.

INDICACIÓN DE CADA PRUEBA PARA DISTINTAS SITUACIONES

Tamizaje serológico em donantes de Sangre y tejidos:

Una solo prueba de alta sensibilidad

- ELISA
- CLIA / e-CLIA

Estar atentos a la diversidad genética del *T.cruzi*.

Unidades de Tipificación discreta (DTU) De TcI a TcVII

Pruebas Parasitológicas

• Directas

- Gota gruesa / Frotis / Micro Hematocrito / Strout

• Indirectas

- Hemocultivo; Xenodiagnóstico

Fase aguda
T. Congénita
T. Oral

Pruebas moleculares

- PCR
- LAMP

Fase aguda
Transmisión:
congénita/oral
Seg. terapéutico

Pruebas serológicas convencionales

- HAI; IFI
- ELISA
- Lisado

CH Crónico
Lab: junto con
otras pruebas
BS ??

Pruebas serológicas mejoradas

- ELISA
 - Proteínas recombinantes / PS
- CLIA / e-CLIA (CMIA)
- Western Blot
 - TESA Blot
- PDR

CH Crónico
Diagnóstico
Tamizaje BS
Epidemiología

Sáez-Alquezar A et al, Geographical origin of chronic Chagas disease patients in Brazil impacts the performance of commercial tests for anti-T.cruzi IgG;
Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, vol116: e210032, 2021.

PRINCIPALES CONCLUSIONES:

Todas las pruebas* mostraron un rendimiento general satisfactorio. Sin embargo, se observaron variaciones asociadas con la región de origen de las muestras.

Nuestros análisis sugieren que las futuras evaluaciones de inmunoensayos deberían incluir muestras de sueros de las regiones donde se aplicará la prueba, además de los estándares internacionales de referencia biológica disponibles en la OMS.

(*): ELISA (6); CLIA (01); WB (01).



Mapa del Brasil donde están marcados los estados donde fueron colectadas las muestras: (AM, Amazonas; PI, Piauí; MG, Minas Gerais; MS, Mato Grosso do Sul)

Truyens C et al, Geographic Variations in Test Reactivity for the Serological Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* Infection;
J Clin Microbiol. 2021 Dec; 59(12): e01062-21.

- **La diversidad genética de los parásitos *T. cruzi* puede contribuir a las diferencias geográficas en el desempeño de las pruebas serológicas.**
- **Varios estudios han demostrado previamente que el uso de antígenos de parásitos derivados de cepas locales mejora el rendimiento de la prueba.**
- **Las diferencias geográficas en las cepas del parásito *T. cruzi*, así como las diferencias genéticas entre las poblaciones humanas, pueden contribuir a discrepancias en las pruebas serológicas.**

PROCEDIMIENTOS PARA ASEGURAR LA CALIDAD

▪ Sistema de Gestión de la Calidad

Para dirigir y controlar una organización con respecto a la calidad

▪ Control de Calidad

✓ Control de calidad Interno

- Calificación inicial de los kits
- Calibración periódica de equipamientos/plataformas/software
- Evaluación de las pruebas diagnósticas
- Monitoreo diario para liberar resultados

✓ Control de calidad externo

- Participación en PEEC

Reglamentaciones

■ Certificaciones

- Certifica que determinados, procesos o servicios son ejecutados de acuerdo con los requisitos especificados. (ISO 15.189)

■ Acreditaciones

- Evalúa los procedimientos para verificar si son adecuados a los servicios que están siendo ofrecidos y si cumplen los requisitos para la certificación. (AABB)

■ Auditorias externas / internas

- Que realmente constaten la calidad del servicio que se está realizando

Frecuentes!!

PROCEDIMENTOS PARA ASEGURAR LA CALIDAD

- **Calificación inicial de los kits diagnósticos**
 - Paneles específicos o de performance (Sensibilidad y Especificidad analíticas)
 - Paneles de sero conversión (Sensibilidad clínica)
 - Aprobar antes de la compra o del inicio de uso en el laboratorio
 - Atención especial los cambios de lotes de reactivos
- **Calibración periódica de equipamientos / plataformas**
 - Contratos, dentro de la gestión de la calidad
 - Mantenimiento preventivo y correctivo

Paneles Específicos y de Performance

Para evaluación de las pruebas serológicas usadas y en los cambios de lotes de reactivos

Panel de Performance - HBV								
Muestra	Ag HBs				Anti-HBs	Anti-HBc Total		FINAL
	ELISA	CMIO	CMIO	EChLIA	ELISA/CMIO	ELISA/CMIO		
	A (L/CO)	B (L/CO)	C (L/CO)	D (L/CO)	A / B (L/CO)	B (L/CO)	D (L/CO)	
1	R	R	R	R	NR	R	R	+
2	R	R	R	R	NR	R	R	+
3	R	R	R	R	NR	R	R	+
4	R	R	R	R	NR	R	R	+
5	R	R	R	R	NR	R	R	+
6	R	R	R	R	NR	R	R	+
7	R	R	R	R	NR	R	R	+
8 - 11	NR	NR	NR	NR	No Reactivas p/ HIV; HTLV; HCV; Chagas; Sífilis			
14 - 20	NR	NR	NR	NR	Reactivas p/ HIV o HTLV o HCV o Chagas o Sífilis			

Panel Específico - HIV						
Muestra	Anti-HIV 1+2+O o Ag /Ac HIV				Anti-HIV 1/2	FINAL
	ELISA	CMIO	CMIO	EChLIA	Western Blot	
	A (L/CO)	B (L/CO)	C (L/CO)	D (L/CO)	A / B (L/CO)	
1	NR	NR	NR	NR	Negativo	(-)
2	R	R	R	R	Positivo	+
3	R	R	R	R	Positivo	+
4	R	R	R	R	Positivo	+
5	R	R	R	R	Positivo	+
6	R	R	R	R	Positivo	+
7	R	R	R	R	Positivo	+
8	R	R	R	R	Positivo	+
9	R	R	R	R	Positivo	+
10	R	R	R	R	Positivo	+
11	R	R	R	R	Positivo	+

PNCQ

Control de Calidad

Conceptos de Control de Calidad reconocidos internacionalmente para supervisar el desempeño de los laboratorios.

Control de Calidad Interno*

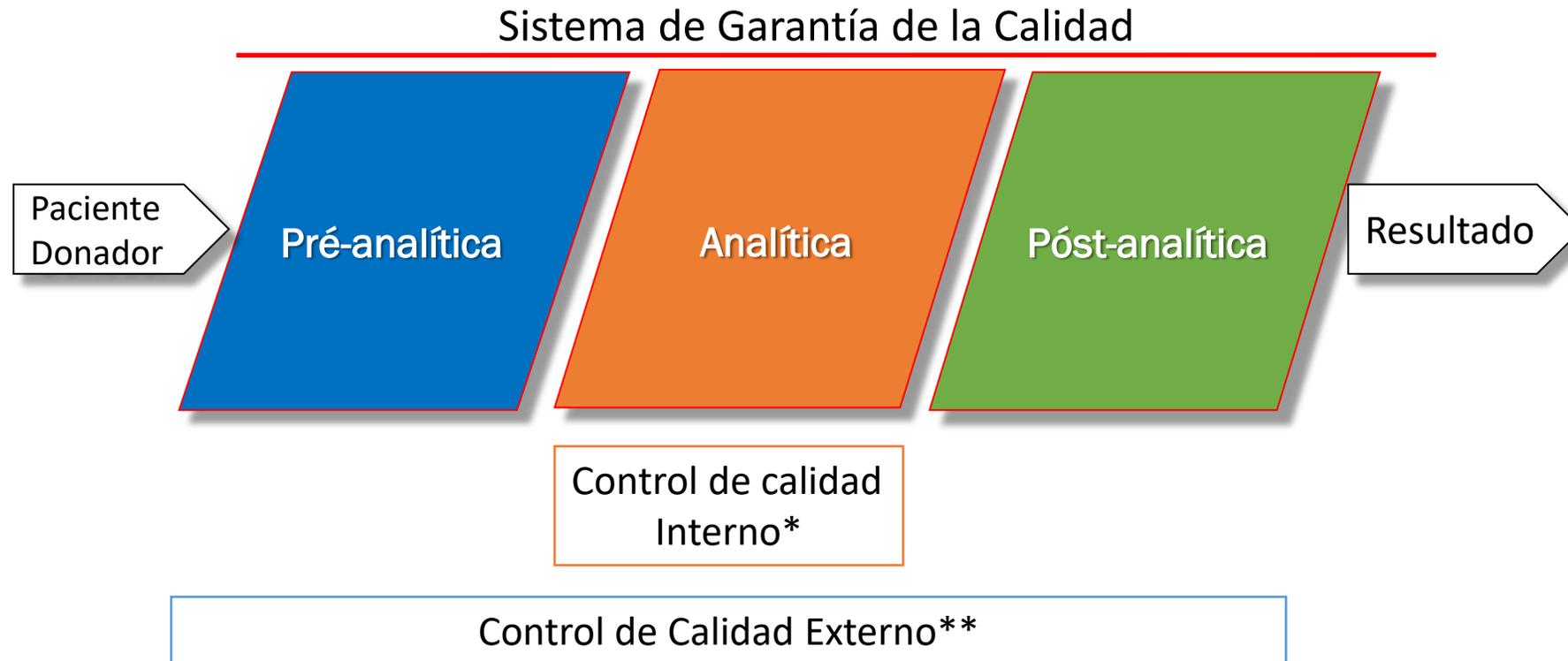
Control de Calidad Externo**

Se complementan

(*): Evalúa la imprecisión

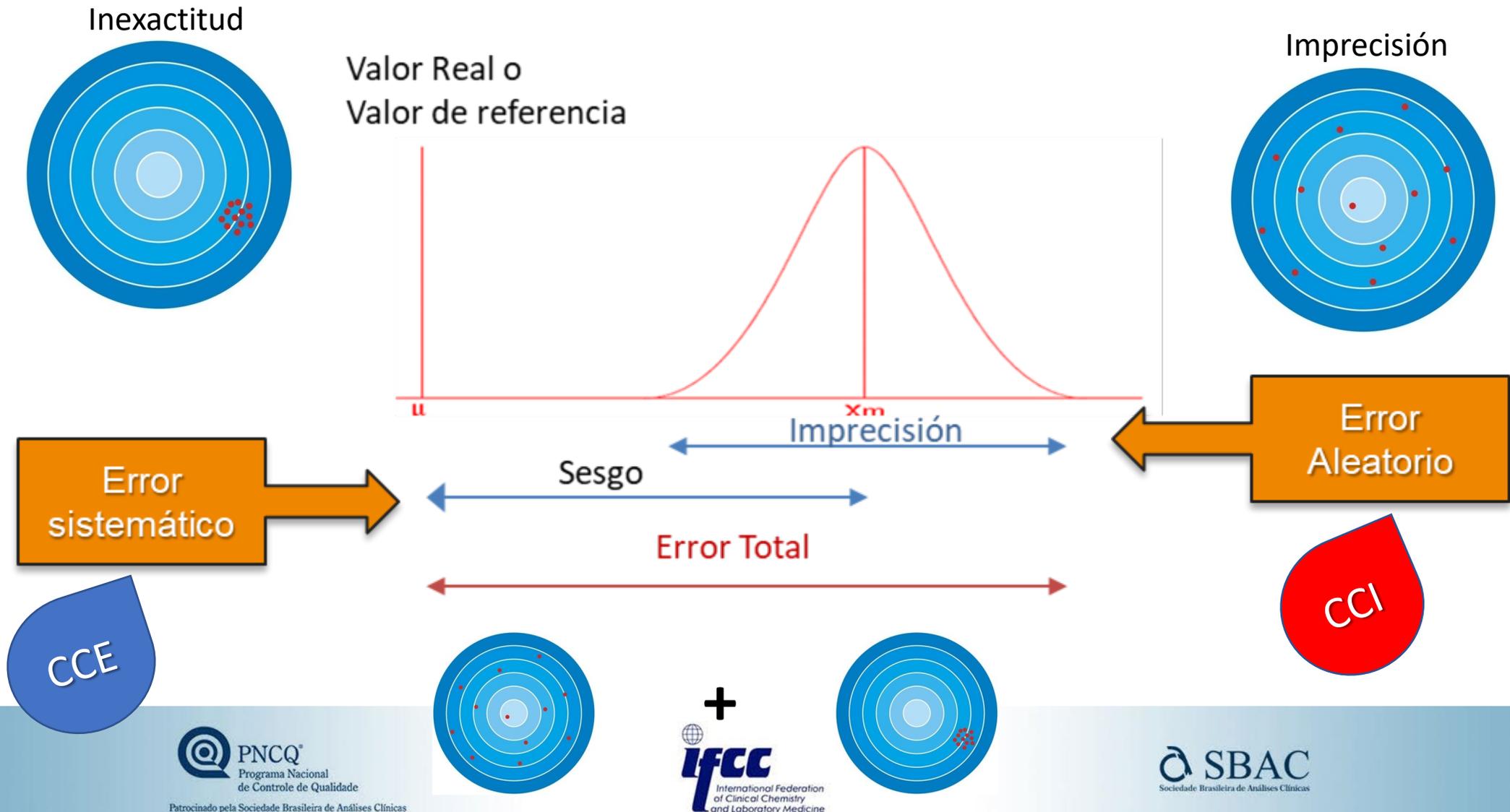
(**): PEEC – Programas de evaluación externa de la calidad – Evalúa la exactitud

Procedimientos de Control de Calidad

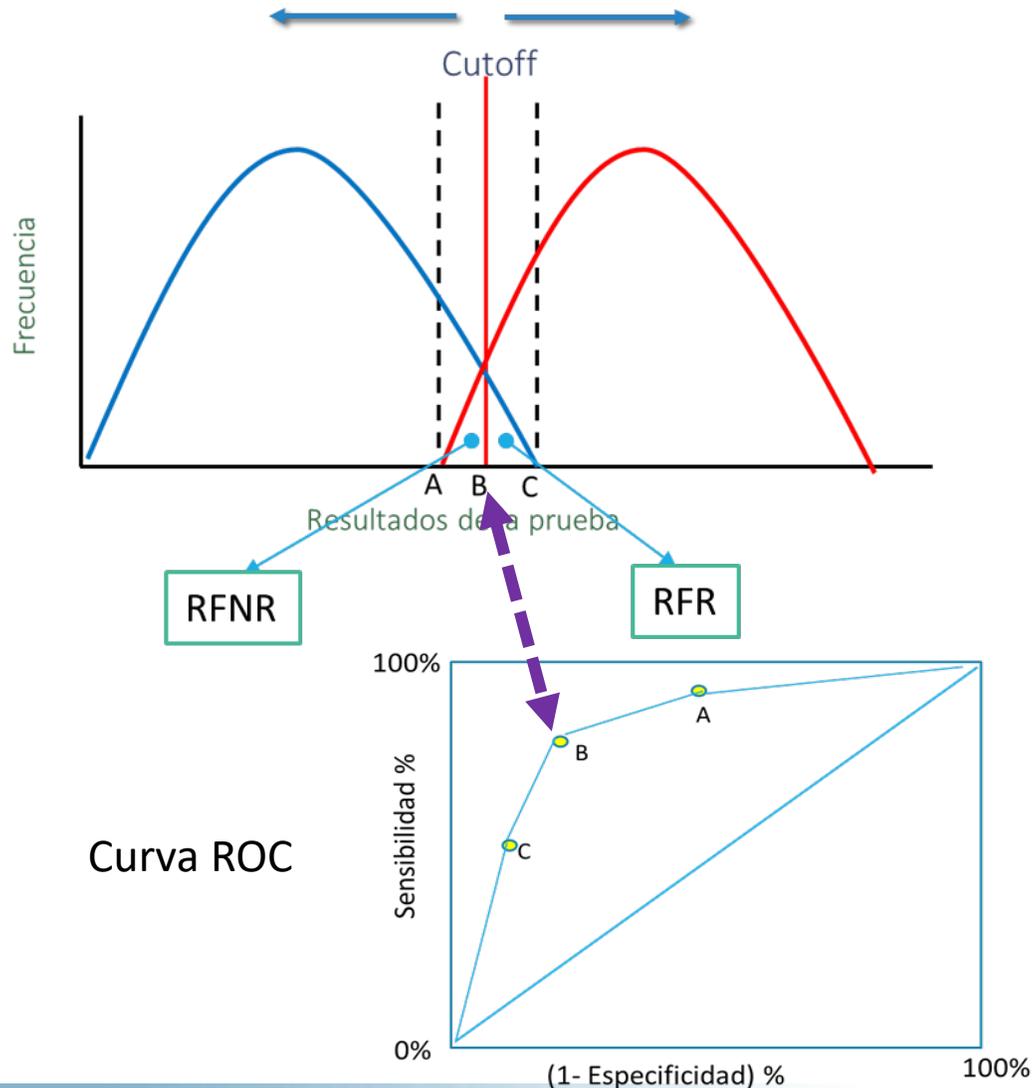


(*): evalúa la imprecisión; (**): evalúa la exactitud

Errores observados en el laboratorio



Inmunoensayos Cualitativos - Resultados



Existen solo dos posibilidades:

- Resultados Reactivos o Positivos
- Resultados No-Reactivos o Negativos

Cuando no correspondan al valor de referencia:

- Resultados Falsos Reactivos
- Resultados Falsos No-Reactivos

El único referencial aceptable es el cut off

- Valor de corte (cut off)
- Índice: Valor lectura / Valor de corte
- Zona gris (ZG) - Incertidumbre
- Valores reportados dentro de la ZG

Caracterización de las muestras control

- Deben servir como referencia
- Muestras de 3ª opinión (parte)

Muestras-Estándar y sueros control para Procedimientos de Control de Calidad (pruebas cualitativas)

Sueros Control Interno

- Baja reactividad (Lectura/Cut off 2.0 – 4,5)

Paneles de Performance

- Evaluaciones lote a lote

Multipaneles para PEEC

- Paneles ciegos para Programas de Evaluación Externa

Estándares de referencia

- WHO

Muestras
Positivas y Negativas

Muy bien caracterizadas

Control de Calidad Interno

Durante la Ronda Analítica.

- Vigilar la precisión y la exactitud
- Puede ocurrir efectos adversos que deben ser detectados de forma adecuada.
 - Para eso se utilizan MUESTRAS CONTROL para cada analito

(*): Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)

Sueros Control Interno (SCI)

p/ monitorar las corridas diarias del laboratorio

pruebas cualitativas

- **Muestras Control**
 - Sueros Positivos o Reactivos
 - Sueros Negativos o No Reactivos
- **Normalmente se usa una Muestra Control Positiva, de baja reactividad, para validar el desempeño diario de las corridas analíticas.**
- **Adicionalmente una Muestra Control Negativa.**

SUEROS CONTROL INTERNOS (SCI)

- **CONCEPTOS & CONSIDERACIONES**

Uso diario en la rutina del laboratorio para monitorear el comportamiento de cada prueba

Sufren variaciones en los cambios de lotes de los kits diagnósticos

Alícuotas para uso diario conservadas a -20°C

Pueden ser preparados en el laboratorio o comprados de proveedores fiables

Se recomienda que contengan conservantes y estén ajustados para las pruebas dentro del rango recomendado

Son diferentes de los controles de los kits diagnósticos!

Sueros Control Interno (SCI) (pruebas cualitativas)

Muestras de Suero Control Interno (SCI)

Para validar el desempeño diario de las corridas.

Sueros estables.

- Sueros Reactivos de baja reactividad. (+)
 - Sueros No Reactivos. (-)

SCI (+)

$L / CO > 1,0$

Rango recomendado:
2,0 – 4,5

Testes competitivos

$L / CO < 1,0$

Rango recomendado:
0,3 – 0,7

SCI (-)

$L / CO < 1,0$

Rango recomendado:
< 0,8

Testes competitivos

> 2,0

1,5 a 4,5 PRT MS/GM 158/2016, recomendada desde 1998

L: Lectura (D.O o U.R.L)

Consideraciones sobre el rango recomendado para la aplicación del Control interno

Este rango recomendado entre 2,0 – 4,5 L/Co corresponde a :

El que fue adoptado en Brasil y continúa siendo utilizado desde los años 90.

Modificado; Original: 1,5 – 4,5 L/Co

El que fue adoptado cuando desarrollamos los programas de control de calidad en LA junto a la OPS/OMS y continúa siendo adoptado en muchos países de LA.

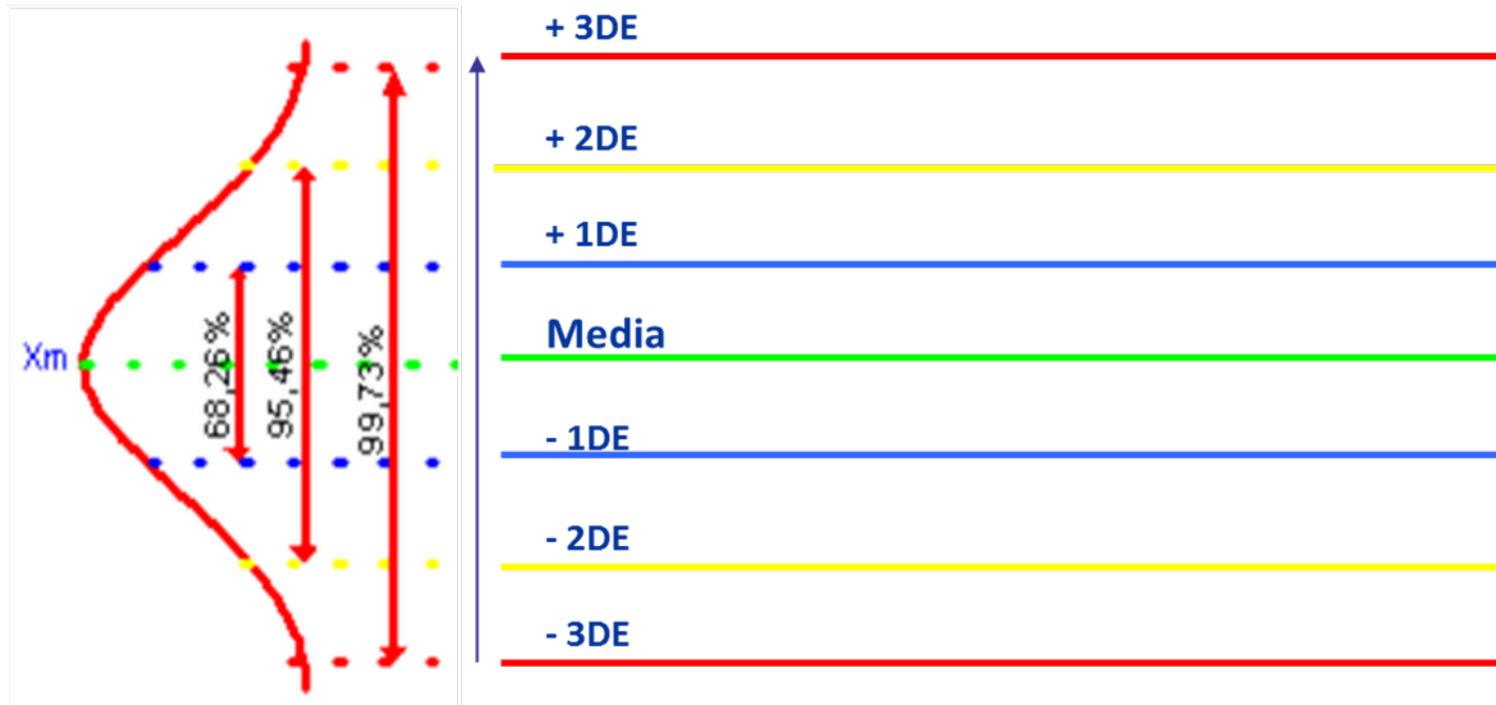
Otros países adoptan un rango menor, por ejemplo, hasta 3,0 L/Co.

Lo importante es que los laboratorios implementen los criterios que les sean más favorables para obtener Buenos resultados documentando sus acciones .

Etapas para aplicar los SCI en la rutina diaria

- **1ª Etapa**
 - Verificar la reactividad inicial
- **2ª Etapa**
 - Calibración de los SCI
 - Excluir valores extremos (outliers)
- **3ª Etapa**
 - Construir el gráfico de Levey-Jennings
 - Inserir los valores diarios del SCI
- **4ª Etapa**
 - Análisis de los resultados
 - Adopción de medidas (acciones)

3ª Etapa - Gráfico de Levey-Jennings



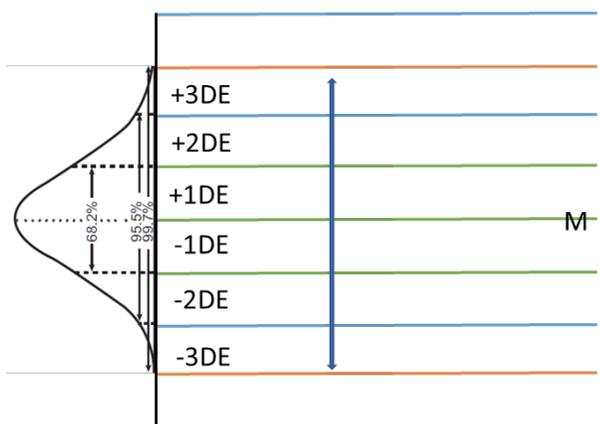
Inserir los valores obtenidos con los SCI en las corridas diarias para cada parámetro

Siempre el índice:
L/CO

Sirve para reportar los valores sucesivos de control.
Límites de decisión : ± 1 DE , ± 2 DE y ± 3 DE

4ª Etapa – Análisis de los resultados

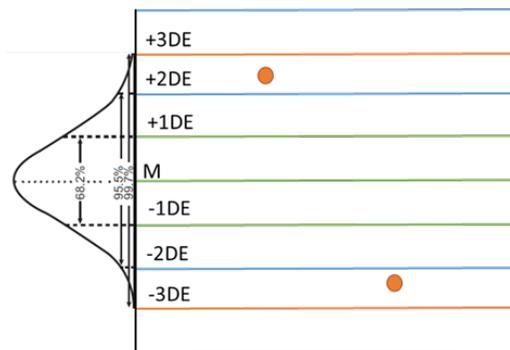
Se utilizan algunas reglas de Westgard para el análisis de los resultados



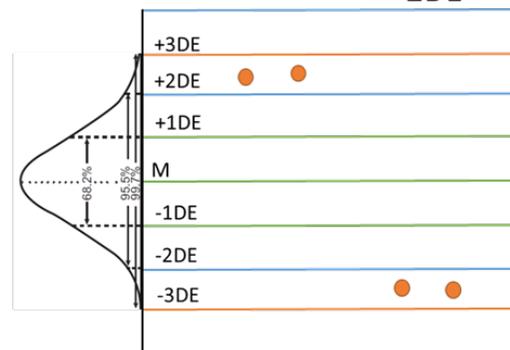
Rango de aceptación

Reglas de Westgard

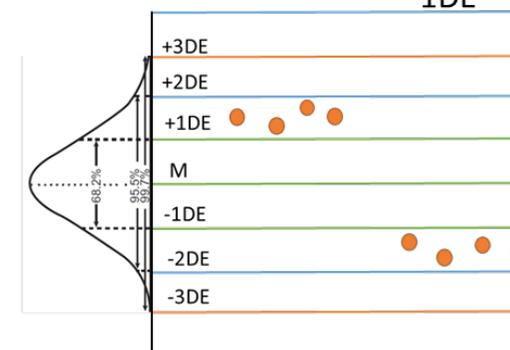
Alerta 1 $2DE$



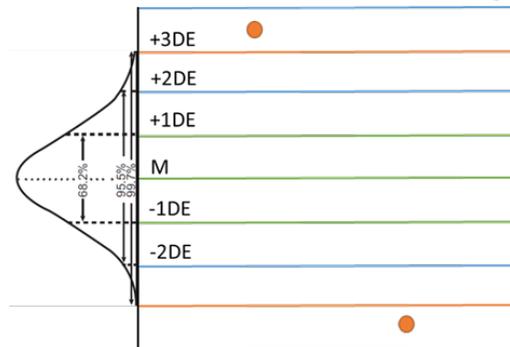
Alerta 2 $2DE$



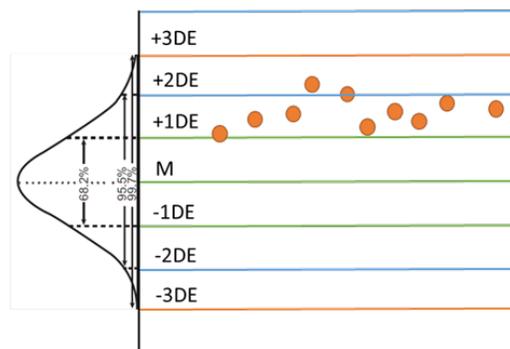
Alerta 4 $1DE$



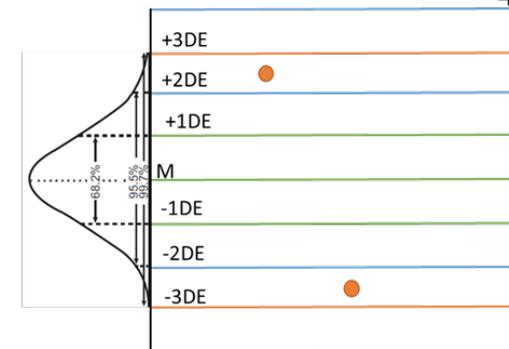
Mandatoria 1 $3DE$



Mandatoria 10 x



Mandatoria R $4DE$

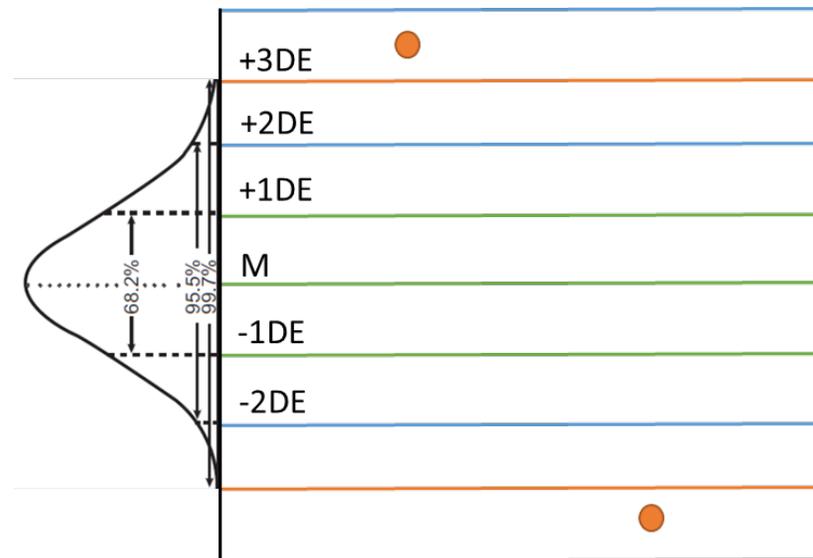


Para el análisis de los valores observados con el SCI (+)

Para o SCI (-) no se usan las reglas de Westgard

Reglas de Westgard

Mandataria 1 $3DE$



Es violada cuando el valor del SCI excede a la Media \pm 3DE

USO DE LOS SCI

- Hoy en día la mayoría de los laboratorios utilizan equipamientos/plataformas, de alimentación continua, que poseen softwares internos que controlan las rutinas, incluso utilizando los gráficos de Levey-Jennings. Las orientaciones de los fabricantes deben ser respetadas.
 - **Usar los sueros (+) y (-) del fabricante**
- Al mismo tiempo es importante que cada laboratorio aplique sus controles internos diariamente y verifique el comportamiento de sus SCI.
 - **Sueros Control interno de 3ª parte**
- Establecer los períodos en que los SCI deben ser introducidos en los equipamientos.
 - La frecuencia puede variar entre equipamientos, parámetros, marcas comerciales y metodologías.
- El laboratorio debe ser el responsable por el diseño del programa de control de calidad.

Acciones en la aplicación de las reglas de Westgard para verificar los resultados de los SCI

- Definir criterios para la validación de las corridas.
- Los criterios para aceptar, o no, una corrida deben constar de los POE de cada laboratorio.
 - Esos criterios pueden mostrar diferencias entre los analitos y las plataformas utilizadas.
- Deben ser obedecidos
- **ACEPTAR LA CORRIDA**
 - Cuando solamente una regla de Alerta es violada
- **RECHAZAR LA CORRIDA**
 - Cuando una regla mandataria es violada

MUESTRAS Control Interno

Es importante que las muestras de control interno sean de 3ª opinión o sea de producción distinta de la marca de reactivos (KITs) y equipamientos (plataformas) utilizadas en el laboratorio

Pueden ser líquidas o liofilizadas

Se recomienda que sean ajustadas para cada plataforma

Sueros Control Interno (SCI) ajustados para diferentes plataformas

Anti-HCV			
Metodología	Marca/plataforma	Media (Lectura/Cutoff)	DE
CLIA	<i>DiaSorin / Liaison XL</i>	2,84	0,28
CLIA	<i>Abbott / Architect</i>	3,15	0,32
E-CLIA	<i>Roche / Cobas</i>	4,31	0,43

Anti-VIH			
Metodología	Marca/plataforma	Media (Lectura/Cutoff)	DE
CLIA	<i>DiaSorin / Liaison XL</i>	3,49	0,35
CLIA	<i>Abbott / Architect</i>	3,74	0,37
E-CLIA	<i>Roche / Cobas</i>	4,23	0,42

Ag HBs			
Metodología	Marca/plataforma	Media (Lectura/Cutoff)	DE
CLIA	<i>DiaSorin / Liaison XL</i>	0,18*	0,02
CLIA	<i>Abbott / Architect</i>	2,95	0,3
E-CLIA	<i>Roche / Cobas</i>	2,55	0,26

PNCQ

Anti-HBc Total			
Metodología	Marca/plataforma	Media (Lectura/Cutoff)	DE
CLIA	<i>DiaSorin / Liaison XL</i>	0,31	0,03
CLIA	<i>Abbott / Architect</i>	3,16	0,32
E-CLIA	<i>Roche / Cobas</i>	0,68	0,07

Anti-HTLV			
Metodología	Marca/plataforma	Media (Lectura/Cutoff)	DE
CLIA	<i>DiaSorin / Liaison XL</i>	3,32	0,33
CLIA	<i>Abbott / Architect</i>	3,21	0,33
E-CLIA	<i>Roche /</i>	3,27	0,33

Anti-T.cruzi (Chagas)			
Metodología	Marca/plataforma	Media (Lectura/Cutoff)	DE
CLIA	<i>DiaSorin / Liaison XL</i>	3,30	0,33
CLIA	<i>Abbott / Architect</i>	3,98	0,40
E-CLIA	<i>Roche /</i>	4,15	0,41

Anti-T.pallidum (Sífilis)			
Metodología	Marca/plataforma	Media (Lectura/Cutoff)	DE
CLIA	<i>DiaSorin / Liaison XL</i>	3,31	0,33
CLIA	<i>Abbott / Architect</i>	2,95	0,30
E-CLIA	<i>Roche /</i>	3,51	0,35

Resultados en la aplicación del CCI

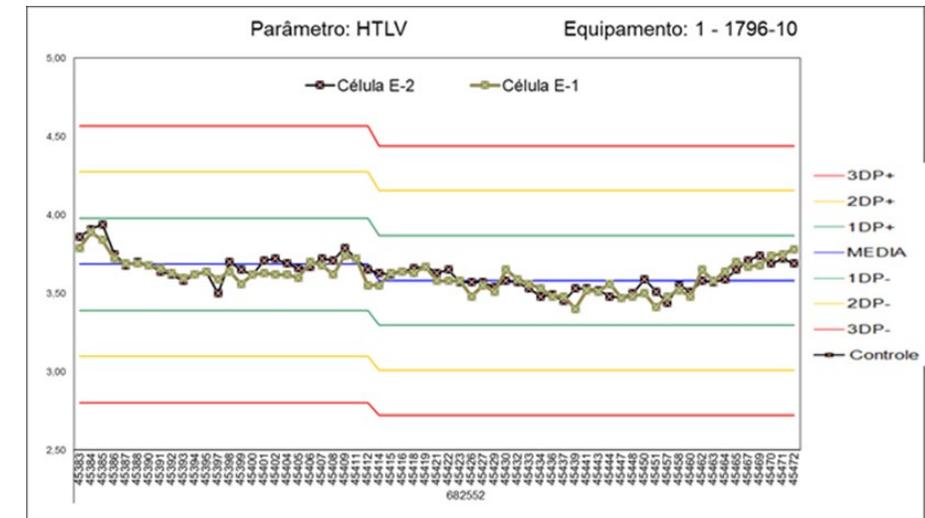
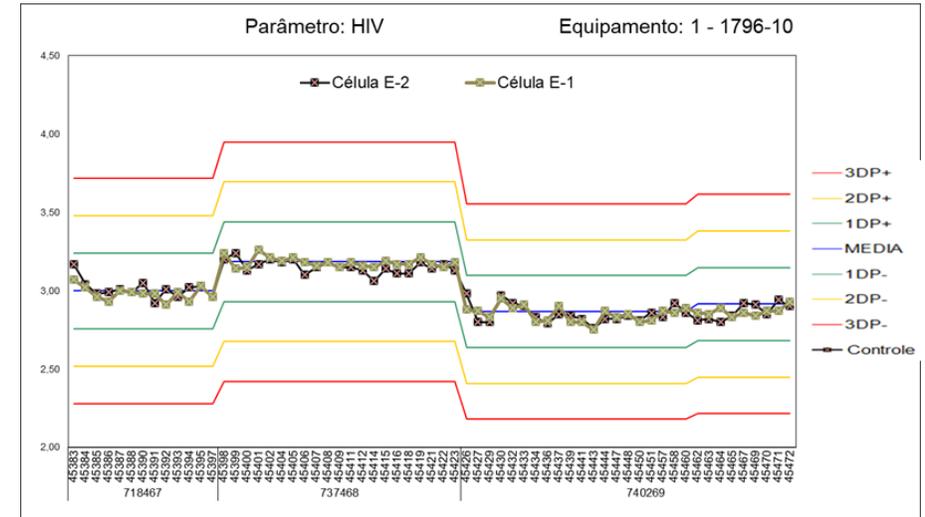
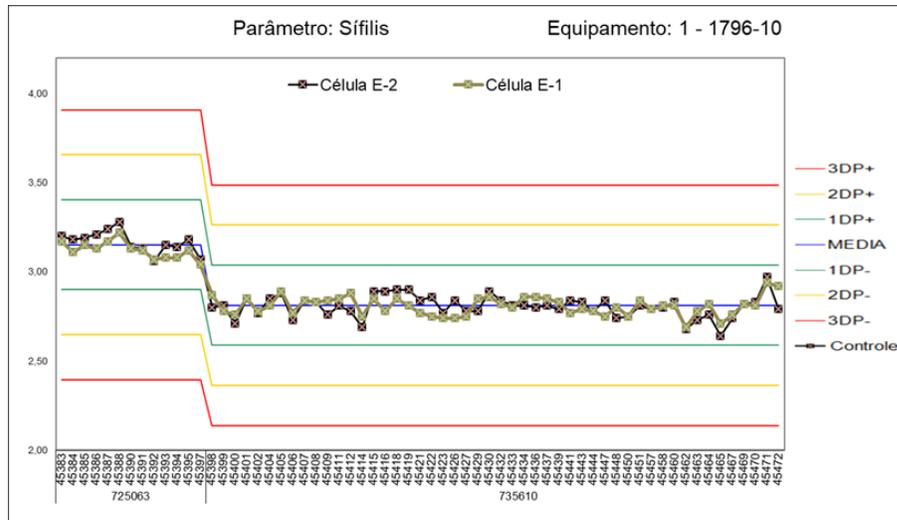
Uso diario
En todas las corridas
Para todos los analitos

Ejemplos

Muestras de SCI utilizadas para las pruebas de tamizaje de donantes de sangre. Brasil – COLSAN - 2024

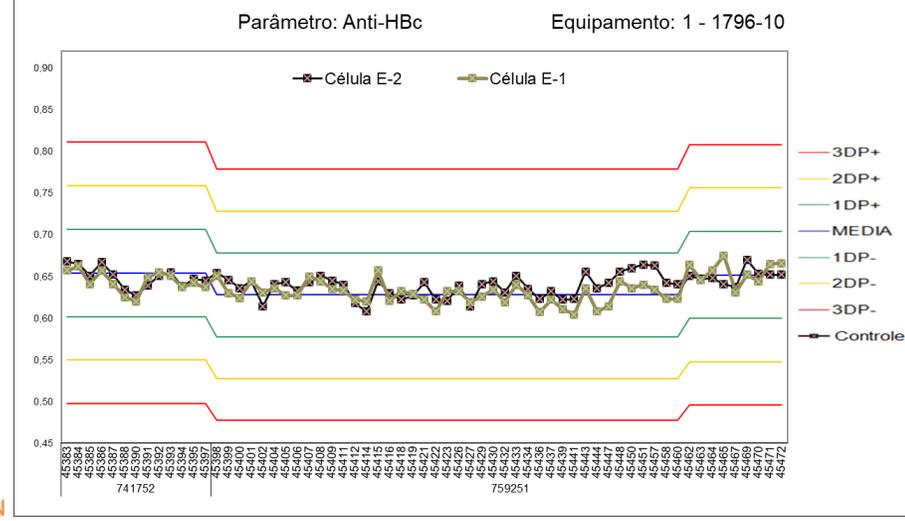
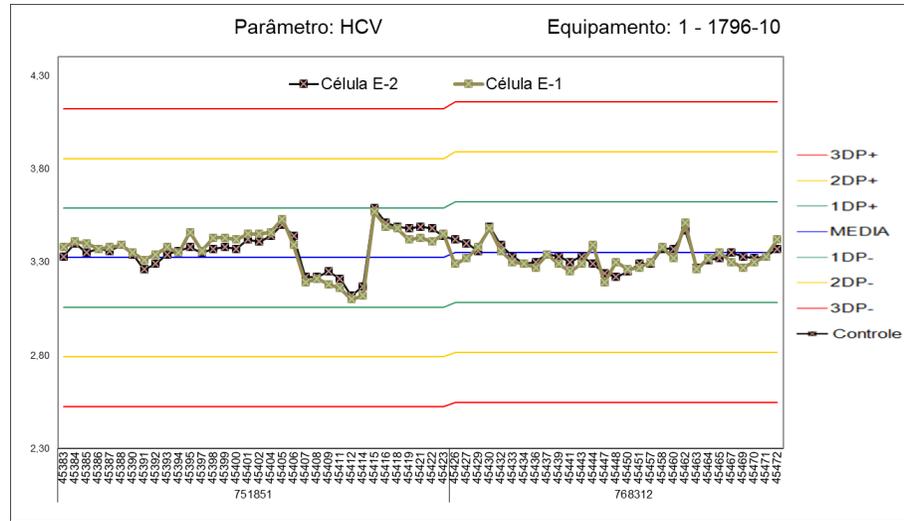
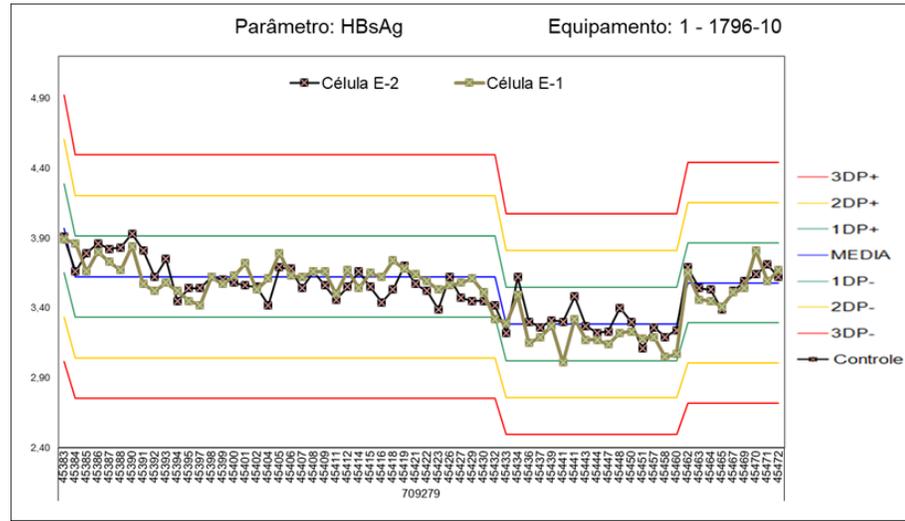
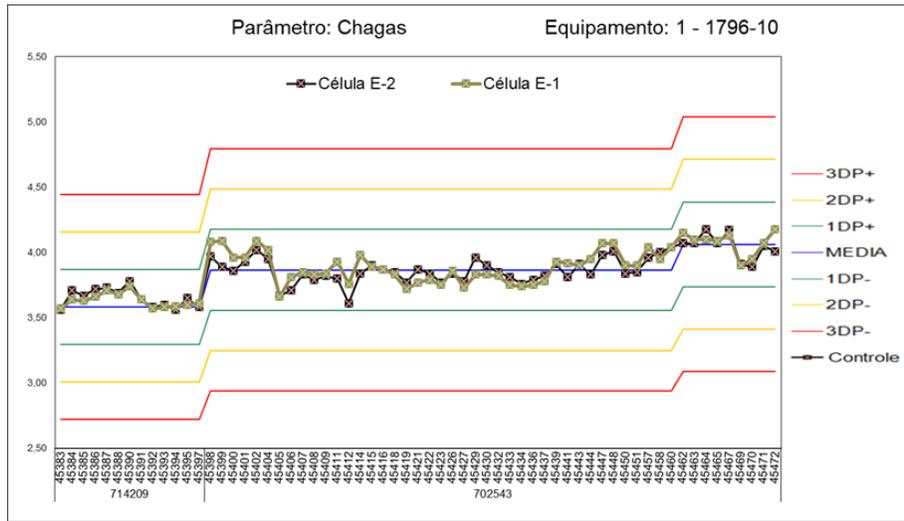
SCI – Valores médios utilizados COLSAN - Brasil

Chagas	3,95
Anti-HBc	0,57
Ag HBs	2,97
HCV	3,28
HIV	3,30
HTLV	3,38
Sífilis	3,27



Dra. Nayara Moya / COLSAN

Muestras de SCI utilizadas para las pruebas de tamizaje de donantes de sangre. Brasil – COLSAN - 2024



Dra. Nayara Moya / COLSAN

Pruebas serológicas Cualitativas

- **Faltan especificaciones sobre el error analítico total permitido.**
- **Falta de “patrones oro” aceptados universalmente.**
 - Trazabilidad?
 - Comparación entre diferentes pruebas?
 - **Diferentes metodologías.**
 - **Diferentes mensurados para el mismo agente.**
- **Para las pruebas serológicas la estandarización y la armonización son aspectos complicados.**

Galli C & Plebani M; **Quality controls for serology: an unfinished Agenda**; Clin Chem Lab Med 2020; 58(8): 1169–1170

Consideraciones sobre el control de calidad aplicado a las pruebas serológicas cualitativas

El uso diario de sueros control de baja reactividad aplicados en gráfico de LJ con un rango de aceptación de la media $\pm 3DE$ ha dado Buenos resultados, como pudimos observar.

A pesar de las limitaciones observadas con las pruebas cualitativas, se está aplicando la métrica **6Sigma** para que los laboratorios de serología evalúen el rendimiento de las pruebas frente a un objetivo de calidad y diseñen una estrategia de control de calidad óptima

Los valores de sigma se clasifican en seis niveles: de clase mundial: $\sigma \geq 6$; excelente: $5 \leq \sigma < 6$; bueno: $4 \leq \sigma < 5$; marginal: $3 \leq \sigma < 4$; pobre: $2 \leq \sigma < 3$; inaceptable: $\sigma < 2,0$;

$$\text{Sigma} = (\text{TEa}\% - |\text{Bias}\%|) / \text{CV}\%.$$

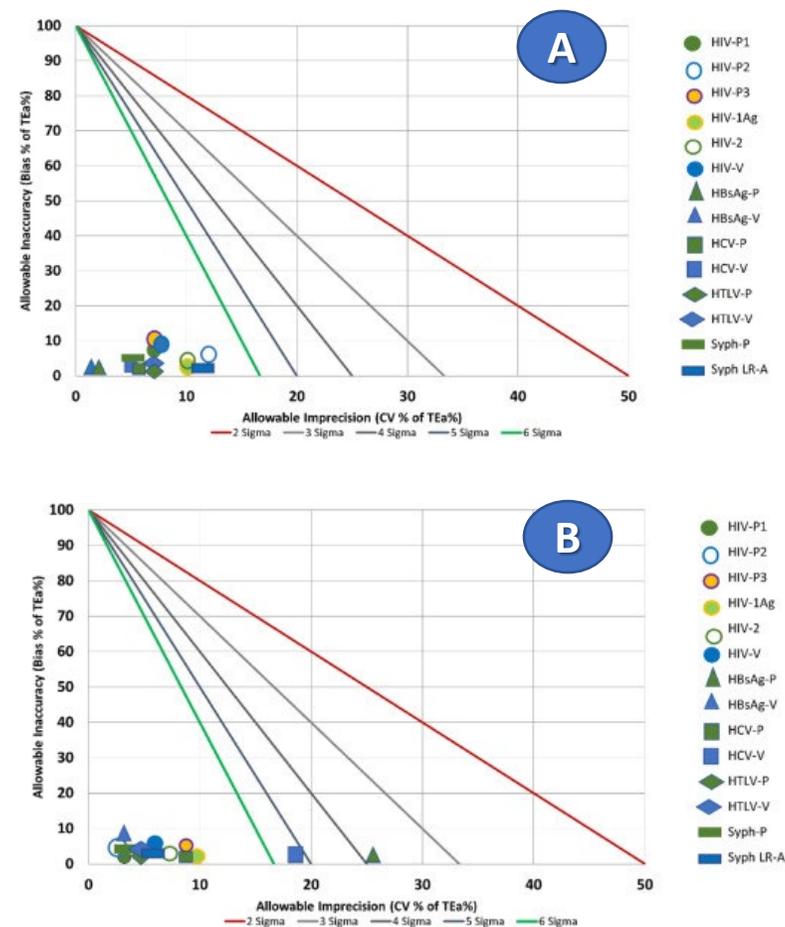
Análisis de métricas Sigma de ensayos de detección serológica para mejorar la calidad y la eficiencia en los servicios de sangre de Nueva Zelanda; Scheurich G, Bhatnagar S & Westgard S. Diagnostic Microbiology & Infectious Disease; 110 (2024) 116451

Ensayos (anti-HCV, HIV Ag/Ab combo, HTLV-I/II, HBsAg y sífilis) Control de calidad interno (IQC) y datos de control de calidad diarios de terceros extraídos de cuatro instrumentos Architect i2000SR.

Se calcularon la media, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV%), **asumiendo un sesgo cero**. Las métricas Sigma se determinaron utilizando el error total permitido (**TEa %**) **basado en la diferencia entre la media del control positivo y el valor de corte de señal /cutoff**.

La mayoría de los ensayos exhibieron valores de CV% $\leq 10\%$, excepto el IQC de HBsAg (18,5 %) y el CC de terceros anti-HCV (13,4 %) en B.

El porcentaje de TEa osciló entre el 38 % y el 90 %. En general, los ensayos demostraron un rendimiento de seis sigma ($\sigma > 6$), excepto el control de calidad interno de HBsAg (3,97) y el control de calidad de terceros anti-VHC (5,46) en B



Control de Calidad Externo

La forma más común de control de calidad externo (CCE) son los llamados programas de comparación entre laboratorios: En los países en que los programas de evaluación externa son obligatorios, los laboratorios participantes deben obtener resultados aceptables para poder ejercer sus actividades. En este caso, el Programa se denomina:

- **Ensayo o Prueba de Aptitud (PA).**

Los laboratorios participantes deben presentar un desempeño aceptable como condición necesaria para poder obtener la acreditación.

Programas de Control de Calidad Externo



(*): competencia de los productores de muestras de referencia y requisitos para los programas de evaluación externa.

(**): Requisitos para la calidad de los laboratorios.

Ensayos de Aptitud

Responsabilidades del Centro Organizador / Proveedor

**Utilizar muestras muy bien
caracterizadas
Producción propia o externa**

**Análisis de los datos;
Preparar Evaluaciones e
Informe Final**

**Desarrollar Programas de
Educación Continuada**

**Evaluar el grado de
satisfacción de los
Laboratorios Participantes**

Ensayos de Aptitud

Responsabilidades de los Laboratorios Participantes

Procesar las muestras control en las mismas condiciones de la rutina diaria

Enviar los resultados al CO dentro del plazo establecido

Verificar las evaluaciones y leer cuidadosamente el Informe Final

Documentar y tratar adecuadamente las no-conformidades observadas
Acciones correctivas adoptadas

Caracterización de las muestras usadas en los paneles de los ensayos de aptitud y sugerencias

- **Caracterización estricta para cada parámetro del tamizaje.**
 - Pruebas con metodologías distintas
 - Pruebas con procedencias distintas
 - Pruebas confirmatorias – (cuando sea posible)
- **La clasificación de las muestras como positivas o negativas.**
 - Servirá como referencia para la evaluación
- **Todas las informaciones deberán constar en el informe final de cada Programa.**

Programas de evaluación externa de la calidad (PEEC) para serología de bancos de sangre

Brasil / América Latina



Multipaneles

Programas de evaluación externa de la calidad (PEEC) para serología de bancos de sangre

Ene
Feb
Mar
Abr
May
Jun
Jul
Ago
Sep
Oct
Nov
Dic

1995 - 2011
PAHO/WHO
Latino América

Ene
Feb
Mar
Abr
May
Jun
Jul
Ago
Sep
Oct
Nov
Dic

1995 - 2009
Brasil

Ene
Feb
Mar
Abr
May
Jun
Jul
Ago
Sep
Oct
Nov
Dic

2010 – PNCQ
Brasil

Enero
Febrero
Marzo
Abril
Mayo
Junio
Julio
Agosto
Septiembre
Octubre
Noviembre
Diciembre

2011 / 2024
PNCQ – Brasil/LA

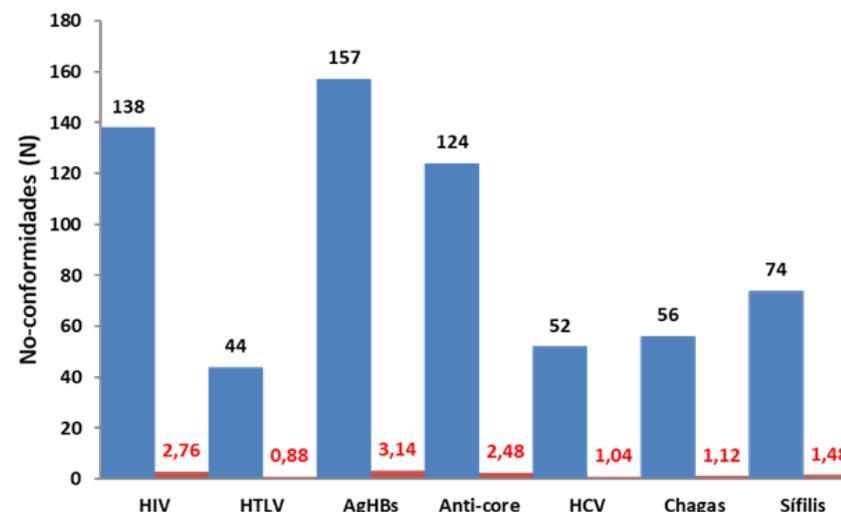
 Meses **CON** evaluación
 Meses **SIN** evaluación

Programas de evaluación externa de la calidad (PEEC) para serología de bancos de sangre



	HIV	HTLV	AgHBs	Anti-core	HCV	Chagas	Sífilis
Programas (N)	50	50	50	50	50	50	50
Total de NC	138	44	157	124	52	56	74
NC por programa	2,76	0,88	3,14	2,48	1,04	1,12	1,48

Tabla 1. Número total de No-conformidades (NC) observadas en el desarrollo de 50 PEEC con evaluación mensual y la participación de 68 bancos de sangre. El promedio de NC por programa corresponde al número total de NC dividido por 50 (número total de PEEC desarrollados)



eJIFCC2015vol26No4pp286-294

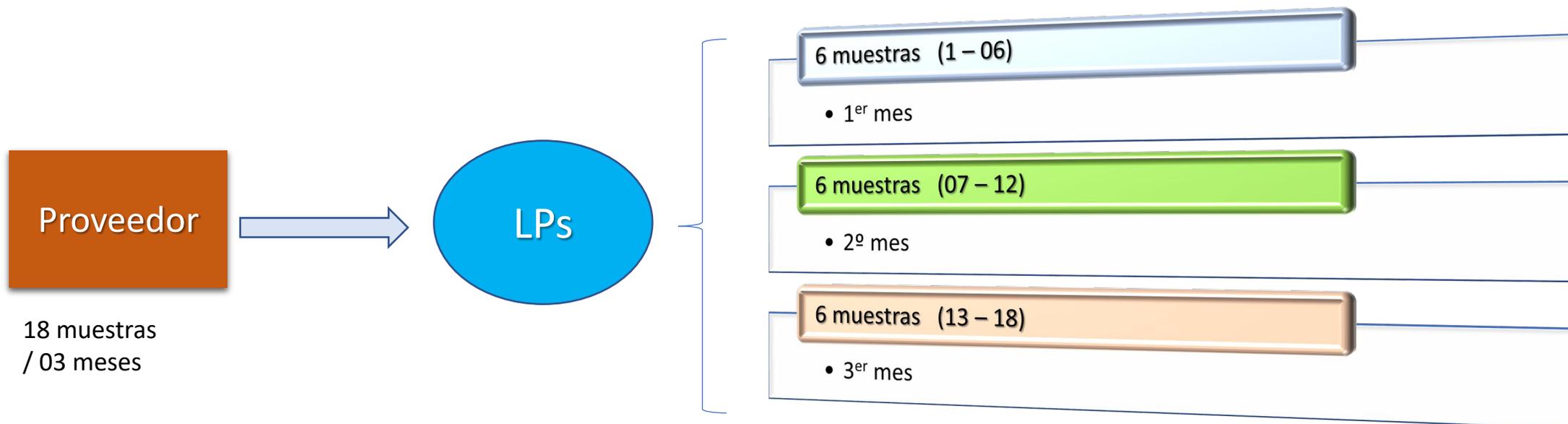
Factores que permitieron mejorar la evolución de los programas de evaluación externa

• Utilización de muestras de suero control liofilizadas

- Mejor estabilidad en el transporte
- Mejor conservación en el almacenamiento
- Menor costo para el transporte de las muestras control

Es muy importante que se trabaje en la armonización entre los Programas de Evaluación Externa, a nivel internacional, para poder permitir la comparación de los resultados entre laboratorios.

PEEC usando muestras control liofilizadas



Evaluación mensual



PNCQ

Multipaneles ciegos de 6 muestras usados en los Programas de Control de Calidad Externo

Pro-EX 402								
Muestra	anti-HIV	anti-HTLV	AgHBs	anti-HBc	anti-HCV	anti-T.cruzi	Sífilis	Negativa
1	1							
2		2						
3			3	3				
4					4			
5						5		
6							6	

Pro-EX (número)								
Muestra	anti-HIV	anti-HTLV	AgHBs	anti-HBc	anti-HCV	anti-T.cruzi	Sífilis	Negativa
1							1	
2								2
3					3			
4			4	4				
5		5						
6	6							

Pro-EX 403								
Muestra	anti-HIV	anti-HTLV	AgHBs	anti-HBc	anti-HCV	anti-T.cruzi	Sífilis	Negativa
7							7	
8	8							
9		9						
10			10	10				
11					11			
12						12		

Pro-EX 401								
Muestra	anti-HIV	anti-HTLV	AgHBs	anti-HBc	anti-HCV	anti-T.cruzi	Sífilis	Negativa
13					13			
14	14							
15							15	
16						16		
17		17						
18			18	18				

Multipaneles ciegos que contienen muestras reactivas para todos los parámetros del tamizaje serológico

PNCQ - Brasil

PNCQ

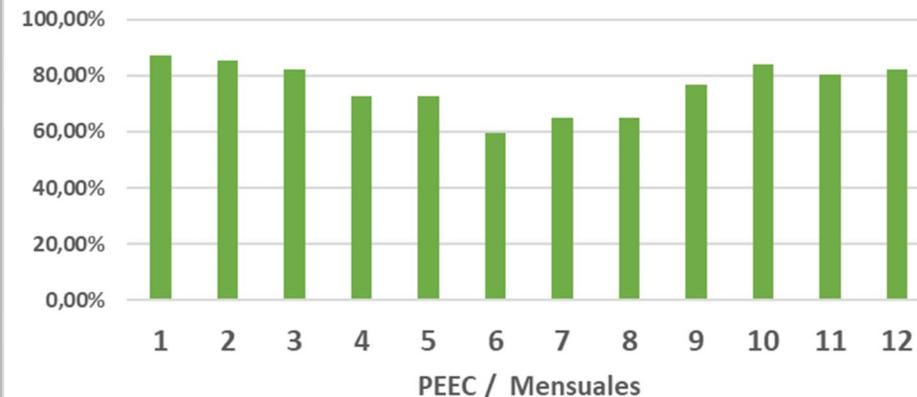
Inaptitudes en el desarrollo de PEEC para serología en bancos de sangre – PNCQ – Brasil (2023-2024)

Fueron seleccionados 57 PEEC desarrollados por el PNCQ en 5 países de LATAM*:

- Brasil (15)
- Chile (01)
- México (12)
- Paraguay (06)
- Perú (23)

(*): 07/06/2023 – 07/05/2024

Retorno de resultados de los Laboratorios Participantes de los PEEC

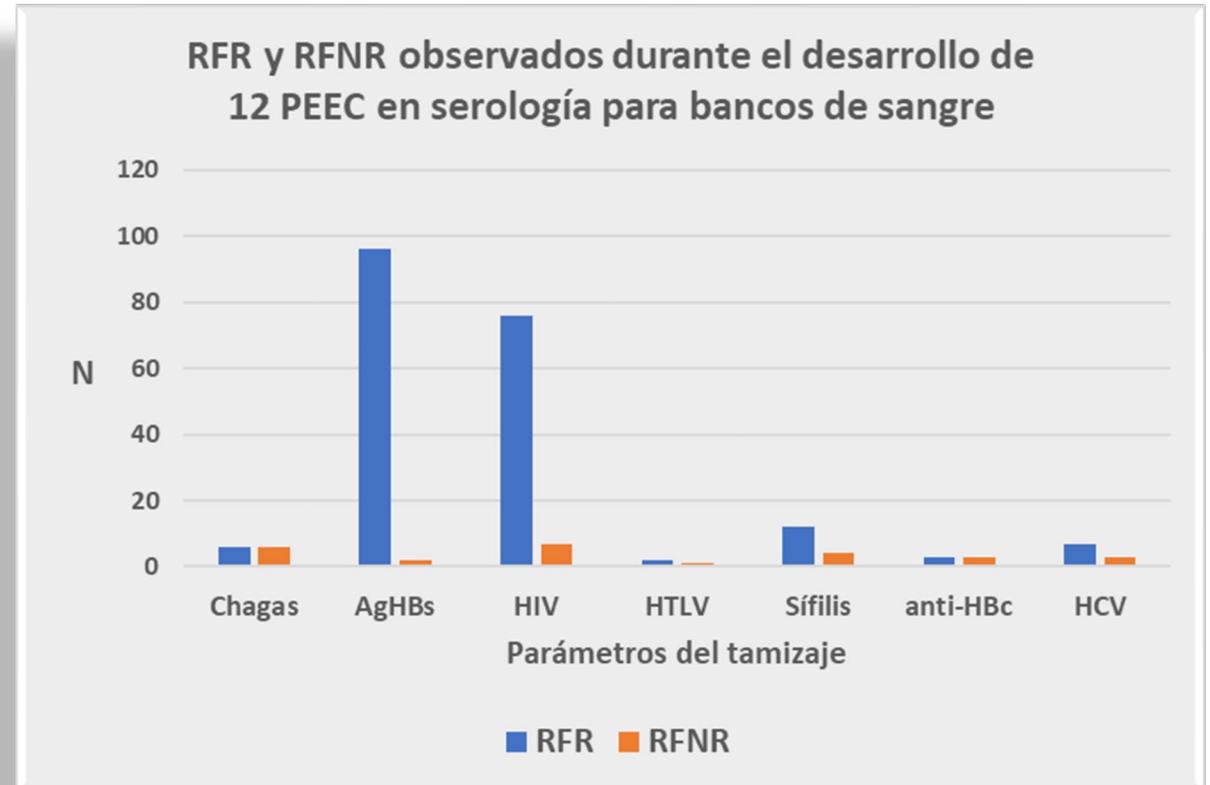


Inaptitudes en el desarrollo de PEEC para serología en bancos de sangre – PNCQ – Brasil (2023-2024)

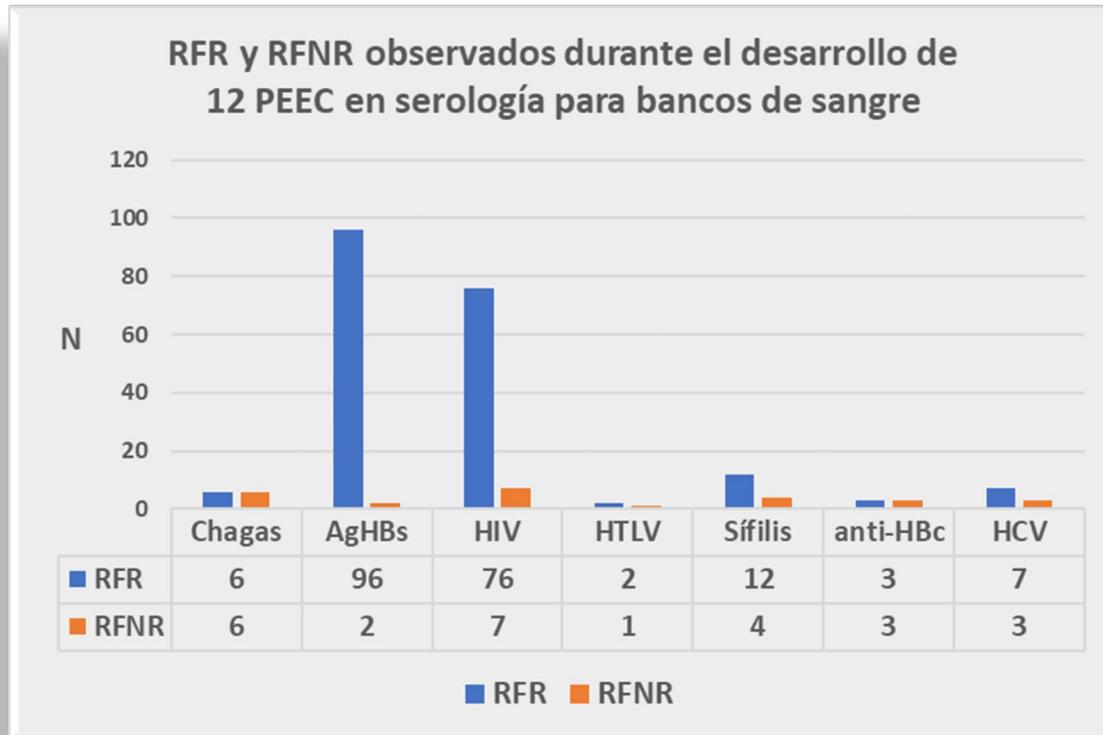
Fueron seleccionados 57 PEEC desarrollados por el PNCQ en 5 países de LATAM*:

- Brasil (15)
- Chile (01)
- México (12)
- Paraguay (06)
- Perú (23)

(*): 07/06/2023 – 07/05/2024



Inaptitudes en el desarrollo de PEEC para serología en bancos de sangre – PNCQ – Brasil (2023-2024)



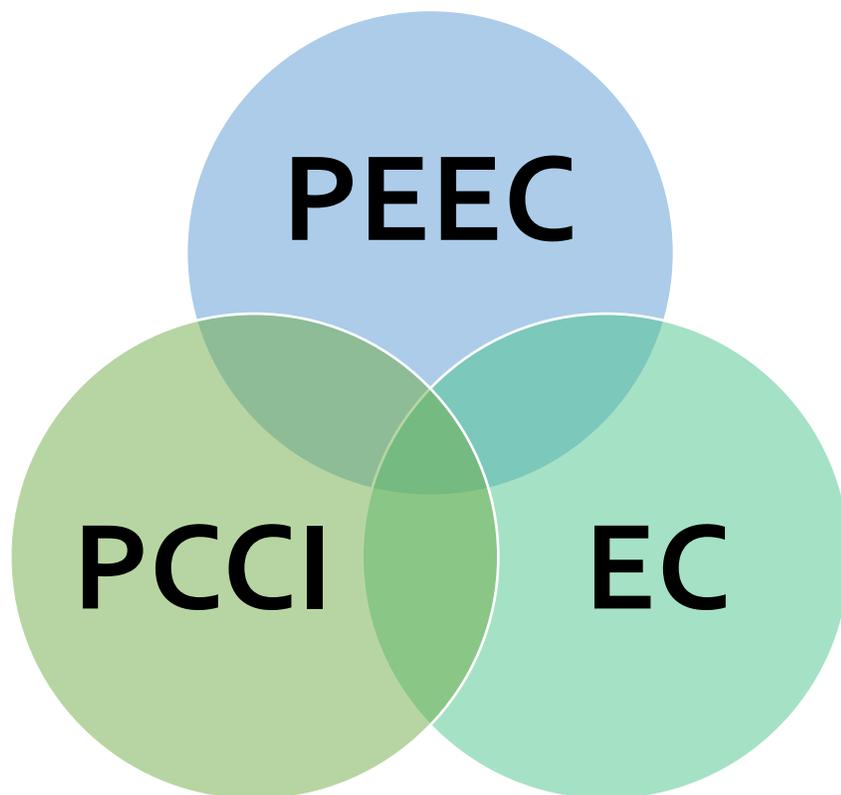
Los resultados demuestran:

La importancia de participar en los PEEC

La importancia de que la periodicidad de los PEEC sea mensual.

La importancia de mantener programas de Educación Continua junto a los PEEC

Trio Robusto para manter la Calidad



PEEC : Programas de Control de Calidad Externo

PCCI: Programa de Control de calidad Interno

EC: Educación Continuada

Educación Continua

Tamizaje serológico/molecular en donantes de sangre

- Temas referentes a:
 - **Enfermedades Infecciosas transmisibles por transfusión**
 - HIV, HTLV, HBV, HCV, Chagas, Sífilis, CMV, Malaria, WNV,
 - **Enfermedades infecciosas de interés en salud pública.**
 - HAV, HEV, YF, Dengue, Zika, COVID-19,
 - **Control de calidad y análisis estadístico**
 - PEEC, CCI,
 - **Estrategias de tamizaje**
 - Inmunoensayos, NAT,
 - **Metodologías**
 - ELISA, CLIA, E-CLIA, PCR, qPCR, TMA, WB

Educación Continua

Tamizaje serológico/molecular en donantes de sangre

Programa de Educación Continua a cada 03 meses

Para los participantes de los PEEC y PCCI

En cada programa 05 preguntas con 04 alternativas

Junto con las preguntas se envían referencias bibliográficas para consulta

Se da preferencia a temas y referencias recientes

En portugués y en español

Educación Continua

Tamizaje serológico/molecular en donantes de sangre

EDUCAR

- Lectura de temas de interés
- **El enunciado de la pregunta deberá ser un resumen del tema abordado**

ACTUALIZAR

- Lectura y análisis de temas de interés reciente en salud pública

CREAR HÁBITO

- Despertar el interés para consultas bibliográficas

Recomendaciones sobre el Control de Calidad

Control de Calidad Interno

- Aplicar diariamente en todas las corridas. Muestras de 3ª parte.
- Análisis diario de los valores de los SCI para validar as corridas.
 - Gráficos de Levey-Jennings
- Establecer criterios mínimos de aceptación y usarlos
 - Reglas de Westgard
- Evaluar nuevos lotes de kits

Control de Calidad Externo

- La frecuencia debe ser mensual.
- Muestras independientes, bien caracterizadas.
- No conformidades
 - Documentar
 - Investigar las causas
 - Medidas preventivas / correctivas
 - Mantener la confidencialidad

Tamizaje para enfermedades infecciosas

LO MÁS IMPORTANTE

**EVITAR RESULTADOS FALSOS
NEGATIVOS**

**EVITAR RESULTADOS FALSOS
POSITIVOS**

- PEEC con **frecuencia mensual**.
- CCI para todas las corridas con **evaluación diaria**.
- Evaluación de las pruebas **antes de entrar en la rutina***.
- Evaluación de las pruebas en el **cambio de lotes***.
- Tratamiento especial para resultados en la **zona de incertidumbre**.
- Pruebas NAT en paralelo para **encortar la VI y detectar variantes**.

(*): Paneles de sueros específicos o de performance

Muchas gracias por su atención

amadeo62@Gmail.com