

INSTRUÇÕES GERAIS DO CONTROLE DE QUALIDADE ABHI-2023

SUMÁRIO

1. INSTRUÇÕES GERAIS - 1ª RODADA e 2ª RODADA	
2. INSTRUÇÕES MODALIDADE TIPIFICAÇÃO HLA.....	5
2.1 Envio de Resultados Tipificação HLA.....	5
2.2 Critérios de Avaliação e Desempenho da Modalidade Tipificação HLA.....	8
3. INSTRUÇÕES MODALIDADE PRA.....	8
3.1. Envio de resultados Modalidade PRA.....	9
3.1.1 Screening	9
3.1.2 Painel de Fenótipos.....	9
3.1.3 Painel de Antígenos Isolados.....	10
3.2. Definição do Consenso para Modalidade PRA.....	11
3.3. Critérios de Avaliação Modalidade PRA.....	11
4. INSTRUÇÕES MODALIDADE PROVA CRUZADA.....	12
4.1. Envio de Resultados Modalidade Prova Cruzada.....	12
4.1.1 Resultados da Modalidade de Prova Cruzada por CDC.....	12
4.1.2 Resultados da Modalidade de Prova Cruzada por Citometria de Fluxo.....	13
4.2. Definições do Consenso para Modalidade Prova Cruzada.....	13
4.3. Critérios de Avaliação Modalidade Prova Cruzada.....	14

ANEXO I

Como gerar arquivo Excel com dados de MFI dos resultados do Painel de Antígenos Isolados.....	15
---	----

1. INSTRUÇÕES GERAIS – 1ª RODADA e 2ª RODADA

O Controle de Qualidade da ABHI foi concebido para avaliar o desempenho dos Laboratórios nas modalidades Tipificação HLA, PRA e Provas Cruzadas por CDC e/ou Citometria de Fluxo.

O laboratório inscrito junto ao Controle de Qualidade irá receber, de acordo com o cronograma e com a modalidade inscrita, amostras conforme tabela 1 e tabela 2.

TABELA 1

AMOSTRAS DA 1º RODADA DO CQ ABHI-2023			
TIPIFICAÇÃO HLA	PRA	PROVA CRUZADA CDC	PROVA CRUZADA CITOMETRIA DE FLUXO
5 Amostras de sangue em anticoagulante ACD (nº 163, 164, 165, 166, 167)	3 Amostras de soro (nº 112, 113, 114)	3 Amostras de soro (nº 112, 113, 114) e 2 Amostras de sangue em anticoagulante ACD (nº 89 e 90)	3 Amostras de soro (nº 112, 113, 114) e 2 Amostras de sangue em anticoagulante ACD (nº 91 e 92)

TABELA 2

AMOSTRAS DA 2º RODADA DO CQ ABHI-2023			
TIPIFICAÇÃO HLA	PRA	PROVA CRUZADA CDC	PROVA CRUZADA CITOMETRIA DE FLUXO
5 Amostras de sangue em anticoagulante ACD (nº 168, 169, 170, 171, 172)	3 Amostras de soro (nº 115, 116, 117)	3 Amostras de soro (nº 115, 116, 117) e 2 Amostras de sangue em anticoagulante ACD (nº 93 e 94)	3 Amostras de soro (nº 115, 116, 117) e 2 Amostras de sangue em anticoagulante ACD (nº 95 e 96)

IMPORTANTE: A partir de 2024, o Programa de Controle de Qualidade da ABHI irá aumentar o número de amostras para as modalidades PRA e Provas Cruzadas. Esta medida tornará o Programa mais robusto e coerente com as exigências dos Programas de Acreditação.

Para o Programa de Controle de Qualidade 2023, serão enviadas, para avaliação das modalidades PRA e Provas Cruzadas, as amostras de soro 112, 113, 114 e células 89, 90, 91 e 92 na primeira rodada e as amostras de soro 115, 116 e 117 e células 93, 94, 95 e 96 na segunda rodada, conforme descrito nas tabelas acima. Estas amostras serão consideradas para a avaliação de desempenho.

Além destas amostras, serão enviados dois soros extras por rodada para os laboratórios inscritos nas modalidades PRA e Provas Cruzadas.

O teste destas amostras é **OPCIONAL** e **NÃO** será considerado para a avaliação de desempenho do CQ 2023. Os laboratórios que optarem por testar e reportar os resultados obtidos com estes soros extras receberão um relatório de desempenho adicional.

Orientações para testes com os soros extras:

Os soros extras serão identificados como SE-01 e SE-02 para a primeira rodada e SE-03 e SE-04 para a segunda rodada.

Estas amostras devem ser testadas para as Modalidades PRA e Provas Cruzadas (conforme opção de inscrição do laboratório).

Para os testes de Provas Cruzadas, não serão enviadas amostras extras de células, devendo ser utilizadas as mesmas amostras do Programa CQ 2023, o seja, as células 89 e 90 para CDC, 91 e 92 para CF na primeira rodada e células 93 e 94 para CDC, 95 e 96 para CF na segunda rodada. Para viabilizar os testes, será enviado maior volume de sangue com ACD.

Atenção: Na impossibilidade de realizar todos os testes propostos, priorizar os exames com as amostras obrigatórias, que serão avaliadas no desempenho do Programa de Controle de Qualidade 2023.

a) Resultados:

- Todas as orientações e documentos pertinentes ao Controle de Qualidade 2023 estão disponíveis no site <https://www.cq.abhi.com.br>.
- Todos os resultados devem ser preenchidos no site <https://www.cq.abhi.com.br>.
A identificação do usuário (e-mail) e senha são obrigatórias. Se você esqueceu sua senha, entre em contato com a Comissão de Controle de Qualidade no e-mail qualidade@abhi.com.br, no prazo máximo de 72h antes do término do envio de resultados.
- Os resultados só poderão ser relatados conforme a inscrição realizada;
- O prazo máximo de envio dos resultados é: **1ª Rodada: 05 de julho de 2023** às 23h59min;
- O prazo máximo de envio dos resultados é: **2ª Rodada: 06 de outubro de 2023** às 23h59min;
- A inclusão tardia dos resultados não será aceita.

Na página do Controle de Qualidade, entrar em Resultados CQ-2023 e selecionar a rodada para a inserção de resultados.



Selecionar a modalidade inscrita (Tipificação HLA, PRA ou Prova Cruzada):



Atenção: Após o preenchimento de cada página de resultados clicar em **Salvar** e **Enviar Resultado**, caso contrário os resultados não serão transmitidos.

Declaramos que os resultados inseridos foram realizado por este laboratório.

SALVAR > **ENVIAR RESULTADO** >

Devem ser inseridos os resultados das duas rodadas, considerando o prazo máximo para envio dos resultados:

Os resultados da 1ª rodada poderão ser modificados até 05.07.23 às 23h59 e da 2ª rodada até 06.10.2023 às 23h59.

Os relatórios dos resultados enviados poderão ser salvos e impressos (recomendável).

b) Comentários:

Os comentários não serão considerados como parte dos resultados e não serão utilizados na análise de desempenho, exceto quando a comissão julgar pertinente.

c) Correção de erros:

Se forem detectados erros após os resultados terem sido enviados, entrar novamente com identificação do usuário (e-mail) e senha e modificar o que for necessário. As correções serão aceitas **somente** até o final do prazo de envio dos resultados, no dia **05 de julho de 2023 (1ª rodada) às 23h59** e **06 de outubro de 2023 às 23h59min (2ª rodada)**.

d) Desempenho:

Para avaliação de desempenho, serão consideradas todas as amostras enviadas no ano vigente.

A análise de desempenho só será realizada para laboratórios que participarem das duas rodadas de testes do ano vigente e realizarem todos os testes da modalidade para a qual se inscreveram.

Para determinação do consenso será considerado o número de laboratórios participantes **com resultados reportados**, respeitando o número mínimo de laboratórios participantes necessários por modalidade.

Será enviado relatório de desempenho conforme modalidade inscrita, com o resultado percentual de acertos em relação às amostras/teste consenso concordantes obtidas.

A análise de desempenho desta porcentagem fica a cargo do responsável técnico do laboratório – RT junto à equipe técnica, cabendo também divulgar aos profissionais do laboratório e tomar as tratativas necessárias conforme sua avaliação e sistema de gestão de qualidade implantado.

A falta de resultados para um ou mais testes da modalidade contratada será interpretado na análise de desempenho como DISCREPANTE.

A exceção a esta regra será aplicada quando **NENHUM** resultado for reportado, em **nenhuma** das rodadas, para uma determinada modalidade contratada. Neste caso, não será realizada a avaliação de desempenho para a modalidade não reportada.

Exemplo Modalidade I: O laboratório que contratou a modalidade tipificação HLA - A*, B*, C*, DRB1* e DQB1* de baixa resolução e não reportou NENHUM dos resultados do HLA-C*, em nenhuma rodada, não terá os resultados do HLA-C* avaliados.

Exemplo Modalidade II: O laboratório contratou a modalidade Screening e Antígenos Isolados. O Screening foi considerado negativo e o laboratório não realizou o Antígenos Isolados. O resultado do Antígenos Isolados dessa amostra/testes será considerado como não realizado e interpretado na análise de desempenho como discrepante.

Exemplo Modalidade III: O laboratório que contratou a modalidade Prova Cruzada contra Linfócitos T e B (CDC) e não reportou todos os resultados do linfócito B terá todos os resultados do linfócito B considerados como discrepante.

e) Questionamentos:

Os questionamentos serão aceitos apenas através do e-mail: qualidade@abhi.net.br.

2. INSTRUÇÕES MODALIDADE TIPIFICAÇÃO HLA

Os campos para inserção de resultados são habilitados conforme a inscrição realizada pelo laboratório. Para laboratórios inscritos em:

Baixa resolução - Apenas serão considerados os resultados reportados com dois dígitos;

Média resolução - Serão considerados os resultados reportados com códigos NMDP ou reportados em alta resolução nos casos em que o resultado obtido no teste de resolução intermediária resulte em um único alelo.

Alta resolução - Serão considerados os resultados reportados com pelo menos quatro dígitos (dois campos). Os resultados ambíguos devem ser reportados seguidos de sufixos P ou G (se aplicável).

Não reportar resultados ambíguos com código NMDP, pois este campo é destinado à inserção de resultados em resolução intermediária.

Os resultados de tipificações realizadas por NGS devem ser reportados preferencialmente com pelo menos 3 campos (se aplicável).

2.1 Envio de Resultados Tipificação HLA

Para inserir os resultados, primeiro selecione a amostra, preencha a qualidade da amostra recebida conforme critérios abaixo e comentários, se necessário.

Boa - Para amostras que obtiveram resultados satisfatórios sem dificuldades no processamento.

Aceitável - Para amostras que apresentaram dificuldades no processamento ou nos testes, mas a partir das quais resultados confiáveis foram obtidos.

Inaceitável - É reservada para as amostras cujos resultados não foram confiáveis por problemas da mesma.

Para cada loco HLA, selecione a metodologia utilizada.

Caso tenha sido utilizada uma metodologia diferente das que constam para seleção, descrever no campo comentários.

Caso o laboratório não tenha testado algum dos locos HLA para o qual estava inscrito, justificar no campo comentários.

Nos resultados onde é identificado apenas um alelo (homozigose), os dois campos devem ser preenchidos. Não utilizar “-” para identificar homozigoses.

Exemplo:

Tipificação						
	Baixa Resolução	Alta Resolução			Sufixos	NMDP
A*	02	:01	:01	:		:CUSFN
A*	02	:01	:01	:		:CUSFN

Para os locos HLA-A, -B, -C, -DRB1 e -DQB1, os resultados devem ser preenchidos de acordo com o nível de resolução contratado.

Para os locos HLA-DRB3/4/5, -DQA1, -DPA1 e -DPB1 só é possível reportar os resultados em alta resolução.

Laboratório inscrito em **baixa resolução**: Preencher a primeira coluna com os resultados em ordem crescente.

Laboratório inscrito em **média resolução**: Preencher a primeira coluna com os resultados em ordem crescente e a última coluna com os códigos NMDP correspondentes.

Obs. Caso o resultado obtido no teste de resolução intermediária gere um alelo em alta resolução, preencher a primeira coluna com os dois primeiros dígitos do nome do alelo e os demais no campo NMDP.

Laboratório inscrito em **alta resolução**: Preencher a primeira e segunda coluna (obrigatoriamente) (reportar os alelos em ordem crescente). A terceira, quarta e quinta colunas são de preenchimento opcional, porém é recomendável que os resultados sejam reportados com pelo menos 3 campos (se aplicável).

	Baixa Resolução	Alta Resolução			Sufixos	NMDP
A*	31	:15	:	:		:15
A*	68	:02	:01	:		:CKUHC
B*	40	:04	:01	:		:04
B*	51	:01	:01	:		:CVGKD

Para reportar os resultados dos locos **HLA-DRB3/4/5**, na primeira coluna digitar também o nome do loco (DRB3, DRB4 ou DRB5), seguido de “*” e os dois primeiros campos do nome do alelo.

As associações entre os locos HLA-DRB1 e -DRB3, -DRB4, -DRB5 devem ser avaliadas e o resultado **AUSENTE** deve ser reportado para as amostras que não apresentam HLA-DRB3, -DRB4 ou -DRB5.

Caso a amostra apresente apenas um HLA-DRB3, -DRB4 ou -DRB5, preencher os campos do primeiro alelo e o segundo alelo como AUSENTE.

Caso a amostra não apresente nenhum alelo HLA-DRB3, -DRB4 ou -DRB5, ambos os resultados devem ser reportados como AUSENTE.

Na coluna sufixos podem ser selecionados os sufixos de produção (N, L, S, Q) ou a nomenclatura P e G para resultados ambíguos.

Quando o laboratório não puder excluir alelos ambíguos que diferem fora dos exons 2 e 3 para classe I e fora do exon 2 para classe II deve-se usar os sufixos G e P, conforme definido pela Nomenclatura da OMS. As listas dos grupos de alelos P e G podem ser encontradas em <http://hla.alleles.org/alleles/index.html>.

Se o método de tipificação em alta resolução não distingue dois alelos que não são do grupo G ou P e que ambos estão especificados na lista dos Alelos Comuns, Intermediários e Bem Documentados, o resultado deve ser reportado como inconclusivo e será considerado discordante. (Common, intermediate and well-documented HLA alleles in world populations: CIWD version 3.0.0. [HLA. 2020 Jun; 95\(6\): 516–531. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tan.13811](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tan.13811)).

As ambiguidades que envolvem alelos cujas diferenças estão localizadas fora dos exons 2 e 3 para genes de classe I e fora do exon 2 para genes de classe II, mas que afetam sua expressão, como alelos nulos (N) ou de baixa expressão (L) devem ser resolvidas conforme as situações citadas na tabela abaixo (<https://bioinformatics.bethematchclinical.org/Policies/>).

Deve-se excluir ou confirmar o alelo N quando no fenótipo forem detectados os alelos ou grupos alélicos mencionados nesta tabela.

Tabela de alelos para os quais é mandatória investigação (exclusão ou inclusão do alelo N):

HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB345	HLA-DQB1	HLA-DPB1
A*01:04N* WD	B*07:67N WD	C*02:38N WD	DRB1*07:10N WD	DRB4*01:03:01:02N* WD	DQB1*02:18N WD	DPB1*61:01N WD
A*01:15N WD	B*07:181N WD	C*02:92N WD	DRB1*07:26N WD	DRB4*01:16N WD	DQB1*02:20N WD	DPB1*64:01N WD
A*01:16N WD	B*14:07N WD	C*04:09N* I	DRB1*12:24N WD	DRB4*02:01N WD	DQB1*03:118N WD	DPB1*120:01N WD
A*01:57N WD	B*15:01:01:02N* WD	C*04:93N WD		DRB4*03:01N WD	DQB1*06:26N WD	DPB1*154:01N WD
A*01:123N WD	B*15:79N WD	C*04:95N WD		DRB5*01:08N* WD	DQB1*06:75N WD	DPB1*161:01N WD
A*02:53N WD	B*15:181N WD	C*05:07N I		DRB5*01:10N WD	DQB1*06:77N WD	DPB1*218:01N WD
A*02:83N* WD	B*15:190N WD	C*05:99N WD			DQB1*06:144N WD	DPB1*357:01N WD
A*02:94N WD	B*35:165N WD	C*06:16N WD				DPB1*570:01N WD
A*02:113N WD	B*37:03N WD	C*06:79N WD				
A*02:125N WD	B*37:42N WD	C*07:32N WD				
A*02:227N WD	B*39:40N WD	C*07:33N WD				
A*02:514N WD	B*40:22N WD	C*07:55N WD				
A*03:21N* WD	B*40:142N WD	C*07:61N WD				
A*11:21N* WD	B*40:155N* WD	C*07:104N WD				
A*11:109N WD	B*44:23N WD	C*07:198N WD				
A*23:11N WD	B*51:11N* WD	C*07:227N WD				
A*23:19N WD		C*07:452N WD				
A*24:09N* WD		C*08:127N WD				
A*24:11N* WD		C*15:122N WD				
A*24:36N WD		C*16:30N WD				
A*24:84N WD						
A*24:90N WD						
A*24:252N WD						
A*25:12N WD						
A*30:70N WD						
A*30:78N WD						
A*31:14N* WD						
A*31:60N WD						
A*32:27N WD						
A*32:45N WD						
A*34:10N WD						
A*68:18N WD						

Table

1: C=Common; I=Intermediate; WD=Well-Documented

2: Null alleles listed were observed at least five times in the total population group of the most current dataset (CIWD 3.0.0). The table does not list all non-expressed alleles from IPD-IMGT/HLA version 3.31.0.

3: The highlighted alleles* are CIWD null alleles within the G group. When reporting G level resolution, exclusion of these null alleles are required. Documentation of the exclusion on form 117/22 e-submission and on the lab report is required.

Fonte: 2021 National Marrow Donor Program®

Title: NMDP Policy for HLA Confirmatory Typing Requirements for Unrelated Adult Donors and HLA Typing Requirement for Patients

Ao reportar um resultado em grupo G, os alelos ambíguos (não excluídos da análise) devem ser descritos no campo de Comentários.

Por exemplo: Se o resultado DQB1*03:01:01G foi utilizado para reportar os alelos ambíguos DQB1*03:01:01 e DQB1*03:276N, descrever estes alelos no campo de comentários.

Os resultados ambíguos em alta resolução não devem ser reportados com códigos NMDP.

Casos sejam reportados resultados ambíguos utilizando grupos P ou G inexistentes (que não constam na nomenclatura oficial), estes serão considerados discrepantes.

Se for identificado um provável novo alelo, digite "Novo" no campo de resultados e descreva os seus comentários no campo específico.

2.2 Critérios de Avaliação e Desempenho da Modalidade Tipificação HLA

A partir de 2023 a contratação de laboratório de referência não será mais necessária, uma vez que o Programa de Controle de Qualidade da ABHI já conta com a participação de número suficiente de laboratórios para determinação de resultados consenso.

A análise de desempenho será realizada conforme critérios abaixo:

No relatório de desempenho irá constar o percentual de amostras CONCORDANTES com o consenso.

A amostra será considerada discordante caso apresente um ou mais resultados discordantes do consenso.

a) Baixa Resolução

A análise da tipificação HLA de baixa resolução só poderá ser realizada quando os seguintes critérios forem preenchidos:

- Mínimo de 10 participantes;
- Consenso de 80% entre os laboratórios.

b) Média Resolução

A análise da tipificação HLA de média resolução só poderá ser realizada quando os seguintes critérios forem preenchidos:

- Mínimo de 10 participantes;
- Consenso de 80% entre os laboratórios.

Os resultados em média resolução serão considerados corretos quando os códigos NMDP incluírem o alelo consenso.

Os resultados liberados com códigos XX ou códigos inválidos na coluna NMDP serão considerados erros em média resolução. Resultados reportados em alta resolução, obtidos por metodologia de resolução intermediária, serão considerados para a análise de média resolução.

c) Alta Resolução

A análise da tipificação HLA de alta resolução só poderá ser realizada quando os seguintes critérios forem preenchidos:

- Mínimo de 10 participantes;
- Consenso de 80% entre os laboratórios.

3. INSTRUÇÕES MODALIDADE PRA

Os resultados devem ser reportados conforme os métodos utilizados para a realização do teste e inscrição realizada.

O resultado do *Screening*, Painel de fenótipos e Antígenos isolados serão analisados independentemente.

3.1. Envio de resultados Modalidade PRA

Ao preencher como Análise indeterminada, não será mais possível preencher o resultado do teste (positivo/negativo). O laboratório deverá justificar o preenchimento do resultado indeterminado no campo comentários. Se na análise final dos resultados for possível obter consenso na análise dessa amostra/teste, a marcação como “resultado indeterminado” será analisada como “discrepante (DP)”.

Independente da modalidade contratada, para cada soro é obrigatório indicar a qualidade do espécime como:

Boa - Para amostras que obtiveram resultados satisfatórios sem dificuldades no processamento.

Aceitável - Para amostras que apresentaram dificuldades no processamento ou nos testes, mas a partir das quais resultados confiáveis foram obtidos.

Inaceitável - É reservada para as amostras cujos resultados não foram confiáveis por problemas da mesma. O campo comentário poderá ser utilizado para descrever potenciais problemas com o soro.

3.1.1 Screening

Para inserir os resultados, primeiro selecione a amostra, descreva a qualidade da amostra de soro e se necessário discorra comentários sobre a condição da amostra. Relate o fabricante, selecione o resultado (Positivo ou Negativo), selecione a metodologia utilizada (caso tenha utilizado uma metodologia diferente das opções da tela, incluir a metodologia no campo “outro”). Nos campos de “Controle”, insira o MFI das beads controles positivos (PC) e das beads negativo (NC).

3.1.2 Painel de Fenótipos

Para inserir os resultados, primeiro selecione a amostra, descreva a qualidade da amostra de soro e se necessário discorra comentários sobre a condição da amostra. Relate o fabricante, registre o valor do *cut off* estabelecido pelo laboratório para a análise dos resultados (caso não tenha, marcar como não) e selecione a metodologia utilizada (caso tenha utilizado uma metodologia diferente das opções da tela, incluir a metodologia no campo “outro”). Nos campos de “Controle”, insira o MFI das beads controle positivo (PC) e das beads controle negativo (NC).

Por padrão, todas as especificidades estarão selecionadas como negativas. Sendo assim, somente as especificidades positivas deverão ser alteradas.

Atenção: Anticorpos anti-alelo deverão ser reportados de duas formas diferentes: (1) se o anticorpo for contra algum antígeno HLA próprio, o equivalente sorológico deverá ser liberado como negativo e o anticorpo anti-alelo deverá ser reportado no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico".

Exemplo: paciente expressa o HLA DRB1*04, mas no soro foi identificado anticorpos contra o DRB1*04:02. A especificidade DR4 deverá ser assinalada como negativa, e no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico" deverá ser reportado: DRB1*04:02. (2) se o anticorpo anti-alelo não for contra antígeno HLA próprio, a especificidade DR4 deverá ser assinalada como positiva e no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico" deverá ser reportado o alelo positivo. Exemplo: Paciente DRB1*01,07 com anticorpos contra DRB1*04:02. A especificidade DR4 deverá ser assinalada como positiva, e o no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico" deverá ser reportado: DRB1*04:02.

Os valores das porcentagens do PRA HLA classe I e II deverão ser informados no campo "PRA CLASSE I: (%)" e "PRA CLASSE II: (%)", respectivamente.

3.1.3 Pannel de Antígenos Isolados

Para inserir os resultados, primeiro selecione a amostra, descreva a qualidade da amostra de soro e se necessário discorra comentários sobre a condição da amostra. Relate o fabricante, registre o valor do *cut off* estabelecido pelo laboratório para a análise dos resultados (caso não tenha, marcar como não) e selecione a metodologia utilizada (caso tenha utilizado uma metodologia diferente das opções da tela, incluir a metodologia no campo "outro"). Nos campos de "Controle", insira o MFI das beads controle positivo (PC) e das beads controle negativo (NC).

Por padrão, todas as especificidades estarão selecionadas como negativas. Sendo assim, somente as especificidades positivas deverão ser alteradas. Caso presentes, os anticorpos anti-alelos deverão ser descritos no campo "Anticorpos anti-HLA alelo específicos".

Atenção: Anticorpos anti-alelo deverão ser reportados de duas formas diferentes: (1) se o anticorpo for contra algum antígeno HLA próprio, o equivalente sorológico deverá ser liberado como negativo e o anticorpo anti-alelo deverá ser reportado no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico". Exemplo: paciente expressa o HLA DRB1*04, mas no soro foi identificado anticorpos contra o DRB1*04:02. A especificidade DR4 deverá ser assinalada como negativa, e no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico" deverá ser reportado: DRB1*04:02. (2) se o anticorpo anti-alelo não for contra antígeno HLA próprio, a especificidade DR4 deverá ser assinalada como positiva e no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico" deverá ser reportado o alelo positivo. Exemplo: Paciente DRB1*01,07 com anticorpos contra DRB1*04:02. A especificidade DR4 deverá ser assinalada como positiva, e o no campo "anticorpos anti-HLA alelo específico" deverá ser reportado: DRB1*04:02.

Os valores das porcentagens do PRA HLA classe I e II deverão ser informados no campo "PRA CLASSE I: (%)" e "PRA CLASSE II: (%)", respectivamente.

Solicitamos que seja enviado os valores de MFI de cada teste realizado. O envio não é obrigatório e não será considerado na avaliação de desempenho. Para gerar o arquivo, consultar o **Anexo I - Modalidade PRA - Pannel de Antígenos Isolados: Instruções para gerar arquivo MFI**, dessa carta de instruções. O arquivo pode ser enviado através do site no campo "Upload de MFI".

3.2. Definição do Consenso para Modalidade PRA

A análise dos resultados de PRA só poderá ser realizada quando os seguintes critérios forem atingidos:

- Mínimo de 10 participantes por categoria;
- Amostra/Teste com consenso: Amostra/Teste na qual tivemos resultado consensual entre 80% dos laboratórios participantes. A Amostra/Teste será considerada negativa quando 80% dos laboratórios participantes relatarem o resultado como negativo. A amostra será considerada positiva quando 80% dos laboratórios relatarem pelo menos uma especificidade consenso como positiva;
- Amostra/Teste sem consenso: Quando o resultado da Amostra/Teste não for concordante em 80% dos laboratórios, a amostra será considerada sem consenso e não entrará no cálculo de desempenho dos laboratórios. Sendo assim, se em uma determinada Amostra/Teste não houver nenhuma especificidade consenso positiva relatada por 80% dos laboratórios, ou se menos de 80% dos laboratórios relataram o resultado como negativo, a amostra será considerada como sem consenso.

O desempenho só será dado com o mínimo de 10 participantes, por categoria. Para as modalidades em que não forem atingidos 10 laboratórios participantes, o laboratório terá acesso aos resultados obtidos e poderá avaliar sua metodologia de forma comparativa (métodos alternativos) sem a obtenção de consenso, mas de acordo com a legislação específica vigente - GP-29A - *Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing is Not Available: Approved Guideline* e ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011 - Avaliação de conformidade - requisitos gerais para ensaios de proficiência.

3.3. Critérios de Avaliação Modalidade PRA

a) Para *Screening*

Critério de avaliação para cada amostra/teste requer concordância com o consenso dos laboratórios. Os resultados serão classificados como:

Concordante (CC)- Resultado em concordância com o consenso.

Discrepante (DP): Resultados reportados sem concordância com o resultado consenso.

Sem Consenso (SC): Quando não houver concordância de resultado entre os laboratórios participantes.

b) Para determinação de Especificidades - Pannel de Fenótipos e Antígenos Isolados

Especificidade Consenso: Especificidade relatada por 80% dos laboratórios em uma determinada Amostra/Teste com consenso.

Especificidades Intermediárias: Especificidades relatadas por mais de um laboratório, mas que não atingiram o consenso de 80%.

Especificidades Discrepantes: Especificidade relatada por um único laboratório em uma determinada Amostra/Teste com consenso.

Para um laboratório ter uma Amostra/Teste classificada como “consenso”, deverá:

- Reportar, no mínimo, 80% das especificidades consenso de cada Amostra/Teste com 5 ou mais especificidades consenso;
- Reportar, no mínimo, 65% das especificidades consenso de cada Amostra/Teste com consenso para 4 ou menos especificidades.

No caso da Amostra/Teste ter resultado consenso negativo, somente os laboratórios que relataram a Amostra/Teste como negativo serão classificados como “consenso”. Os laboratórios que, nessa situação de amostra/teste consenso negativo, relatarem uma ou mais especificidades serão classificados como “discrepantes”.

Se um laboratório relatar 3 ou mais especificidades discrepantes em uma mesma amostra teste, independentemente de ter relatado 80% das especificidades consenso, o resultado será considerado como “discrepante” nessa Amostra/Teste.

4. INSTRUÇÕES MODALIDADE PROVA CRUZADA

As tipificações HLA das amostras de sangue enviadas estarão disponíveis na página de instruções do site www.cq.abhi.com.br.

Os resultados devem ser relatados conforme os métodos utilizados para a realização do teste e conforme inscrição realizada.

4.1. Envio de Resultados Modalidade Prova Cruzada

Para inserir os resultados, escolha a modalidade contratada (CDC ou citometria de fluxo) e a células que deseja preencher os resultados. Após selecionar a modalidade/célula, o laboratório deverá preencher a qualidade da amostra.

Independente da modalidade contratada, para cada célula é obrigatório indicar a qualidade do espécime como:

Boa - Para amostras que obtiveram resultados satisfatórios sem dificuldades no processamento.

Aceitável - Para amostras que apresentaram dificuldades no processamento ou nos testes, mas a partir das quais resultados confiáveis foram obtidos.

Inaceitável - É reservada para as amostras cujos resultados não foram confiáveis por problemas da mesma.

O campo comentário poderá ser utilizado para descrever potenciais problemas com a célula.

4.1.1 Resultados da Modalidade de Prova Cruzada por CDC

Na avaliação do desempenho será considerado o resultado obtido com a amostra de soro tratada com Dithiotreitol (DTT) e para linfócitos T, somente na presença de AGH.

Para cada soro enviado, o laboratório deverá preencher os campos como:

Qualidade da amostra: Qualificar a amostra de soro como Boa, aceitável e inaceitável. Pode-se comentar a característica do soro no campo comentários.

Viabilidade (%): Viabilidade da célula obtida para prova cruzada CDC.

Fabricante: Fornecedor do kit de separação celular. Caso o laboratório não utilize nenhum dos fornecedores descrito na tela, especificar o nome do fornecedor e o método de separação (seleção negativa ou positiva) no campo “outro”.

Resultado do CDC (válido para Linfócitos T + AGH e B): Selecionar o resultado como “Positivo”, “Negativo” ou “Não Testado” (observação: ler a sessão de avaliação de resultado de CDC caso escolha a opção “Não Testado”). Marcar o “score” obtido no CDC com a célula/soro. **Observação:** A avaliação do resultado levará em consideração somente o resultado como “Positivo” ou “Negativo”. O score terá caráter apenas informativo na justificativa de amostras/testes com resultados discrepantes.

4.1.2 Resultados da Modalidade de Prova Cruzada por Citometria de Fluxo

Na tela de resultados o laboratório deve escolher a modalidade Citometria de fluxo com a célula que deseja reportar os resultados. Para cada soro, deverá ser preenchido:

Qualidade da amostra: Qualificar a amostra de soro como Boa, aceitável e inaceitável. Pode-se comentar a característica do soro no campo comentários.

MCF Soro controle Positivo: Valor de “median channel fluorescence” obtido na prova cruzada por citometria de fluxo com o soro controle positivo **utilizado pelo laboratório.**

MCF Soro controle Negativo: Valor de “median channel fluorescence” obtido na prova cruzada por citometria de fluxo com o soro controle negativo **utilizado pelo laboratório.**

Cutoff: Valor composto pelo MCF do controle Negativo somado aos desvios padrão calculado pelo laboratório.

MCF soro Teste: Valor de “median channel fluorescence” obtido na prova cruzada por citometria de fluxo com o soro enviado para teste.

Resultado: Interpretação do resultado da prova cruzada por citometria de fluxo para cada soro. O resultado poderá ser classificado como “Negativo”, “Positivo”, “Indeterminado” ou “Não Testado”. Caso o resultado seja classificado como “indeterminado” ou “Não Testado” em uma modalidade contratada e o resultado tenha consenso entre o laboratório de referência e com os laboratórios participantes do CQ da ABHI, o resultado será classificado como “discrepante” ao consenso.

O laboratório deverá informar se as células foram ou não tratada com pronase.

Os laboratórios participantes do protocolo “Halifax” ou “Halifaster” receberão por e-mail uma planilha na qual deverão ser preenchidas informações gerais sobre o recebimento, processamento e resultados dos testes. A planilha poderá ser anexada através do campo “**Upload Protocolo Halifax**”. Os resultados enviados serão utilizados em uma avaliação personalizada em que será possível observar a evolução de cada laboratório ao longo de sua participação no CQ da ABHI.

4.2. Definições do Consenso para Modalidade Prova Cruzada

a) Modalidade Prova Cruzada por CDC

A análise dos resultados de Prova Cruzada por CDC só poderá ser realizada quando os seguintes critérios forem atingidos:

- Mínimo de 10 participantes;
- Concordância do resultado de 80 % entre os laboratórios participantes.

b) Modalidade Prova Cruzada por Citometria de Fluxo

A partir de 2023 a contratação de laboratório de referência não será mais necessária, uma vez que o Programa de Controle de Qualidade da ABHI já conta com a participação de número suficiente de laboratórios para determinação de resultados consenso.

A análise dos resultados de Prova Cruzada por Citometria de Fluxo só poderá ser realizada quando os seguintes critérios forem atingidos:

- Mínimo de 10 participantes;
- Consenso de 80% entre os laboratórios;

4.3. Critérios de Avaliação Modalidade Prova Cruzada

Os resultados serão avaliados para cada resultado de prova cruzada, considerando cada soro e cada tipo celular.

Os resultados serão classificados como:

CONCORDANTE (CC): resultado em concordância com o consenso.

DISCREPANTE (DP): Resultados reportados sem concordância com o resultado consenso.

SEM CONSENSO (SC): Quando não houver concordância de resultado para cada combinação.

A falta de resultado, ou resultados reportados como “Não Testado”, “Indeterminado” em testes contratados e que nos quais houve consenso de resultados entre os laboratórios, será considerada como resultado “discrepante”.

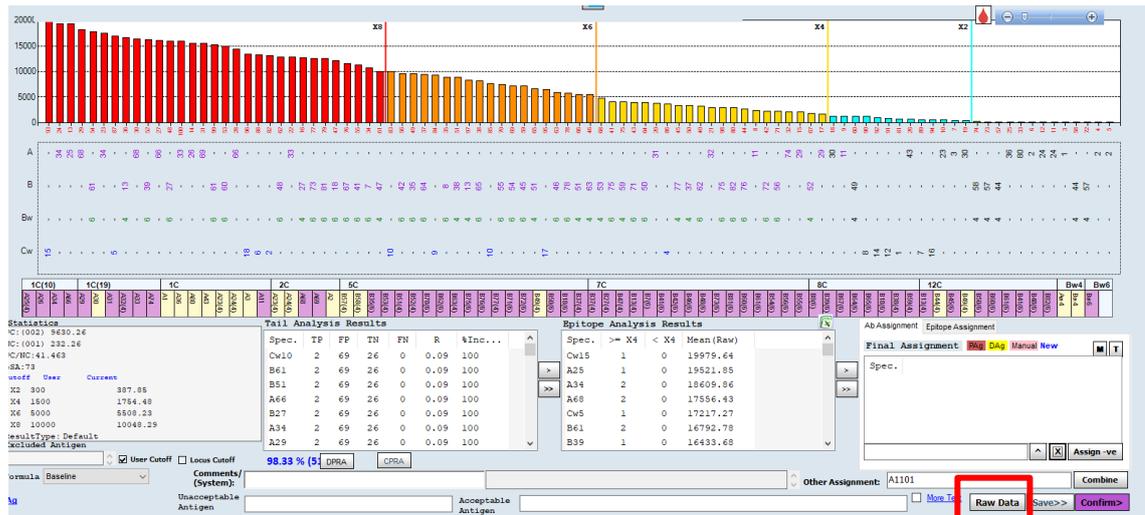
Cada resultado da prova cruzada T e B de cada amostra será reportado no relatório de desempenho.

ANEXO I

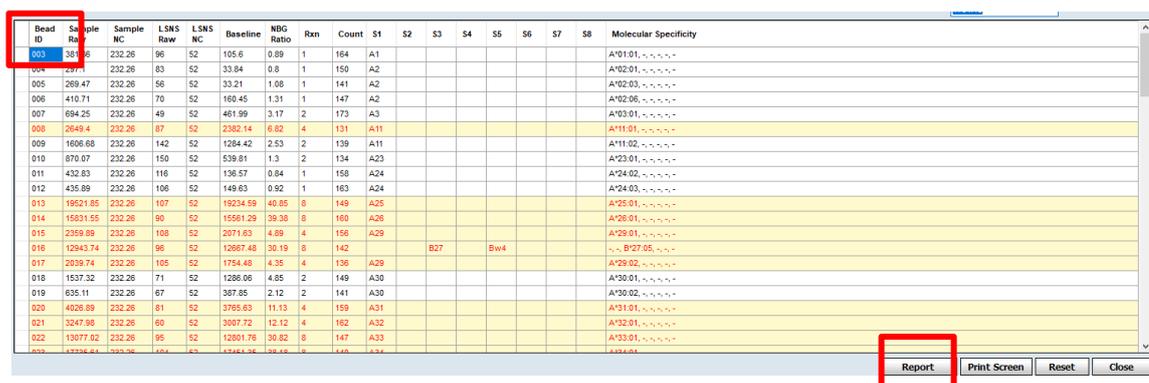
COMO GERAR ARQUIVO EXCEL COM DADOS DE MFI DOS RESULTADOS DO PAINEL DE ANTÍGENOS ISOLADOS

1 - Tutorial para programa HLA Fusion, One Lambda

Dentro da tela de resultado do painel de antígenos isolados (Single Antigen) do programa HLA Fusion, clicar em “Raw Data” como indicado na figura 1.



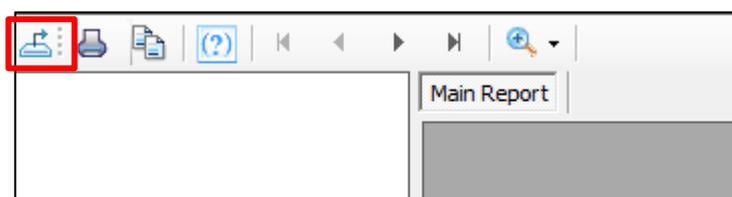
Na tela de abrir, ordenar os dados clicando em “Bead ID” na parte superior da tela. Após isso, clicar em “Report” na parte inferior da tela (figura 2).



Bead ID	Sample No	Sample NC	LSNS Raw	LSNS WC	Baseline	NBS Ratio	Ran	Count	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	Molecular Specificity
003	383	6	232.26	96	52	105.6	0.89	1	164	A1							A*01:01
004	383	6	232.26	83	52	33.84	0.8	1	150	A2							A*02:01
005	269	47	232.26	56	52	33.21	1.08	1	141	A2							A*02:03
006	410	71	232.26	70	52	160.45	1.31	1	147	A2							A*02:06
007	694	25	232.26	49	52	461.99	3.17	2	173	A3							A*03:01
008	2649	4	232.26	87	52	2382.14	6.82	4	131	A11							A*11:01
009	1606	88	232.26	142	52	1284.42	2.53	2	139	A11							A*11:02
010	870	07	232.26	150	52	539.81	1.3	2	134	A23							A*23:01
011	432	83	232.26	116	52	136.57	0.84	1	158	A24							A*24:02
012	435	89	232.26	106	52	149.63	0.92	1	163	A24							A*24:03
013	19521	85	232.26	107	52	19234.59	40.85	8	149	A25							A*25:01
014	15831	55	232.26	90	52	15561.29	36.38	8	160	A26							A*26:01
015	2359	89	232.26	108	52	2071.63	4.89	4	156	A29							A*29:01
016	12843	74	232.26	96	52	12687.48	30.19	8	142		B27		Bw4				A*29:02
017	2039	74	232.26	105	52	1754.48	4.35	4	136	A29							A*29:02
018	1537	32	232.26	71	52	1296.06	4.85	2	149	A30							A*30:01
019	635	11	232.26	67	52	387.85	2.12	2	141	A30							A*30:02
020	4026	89	232.26	81	52	3765.63	11.13	4	159	A31							A*31:01
021	3247	98	232.26	60	52	3007.72	12.12	4	162	A32							A*32:01
022	13077	02	232.26	95	52	12801.76	30.82	8	147	A33							A*33:01
033	4333	84	232.26	154	63	43464.36	98.18	8	146	A34							A*34:01

Fig 2: Tela com os “Raw Data” do single antigen no programa HLA Fusion.

Após clicar em **Report**, uma nova tela será aberta. Clique no ícone destacado em vermelho na figura 3.



Uma nova janela irá abrir com as opções para salvar o arquivo. O arquivo deverá ser nomeado como explicado no item 3 desse anexo. Escolher a opção: Microsoft Excel (97-2003)(*.xls) e clicar em salvar (figura 4)

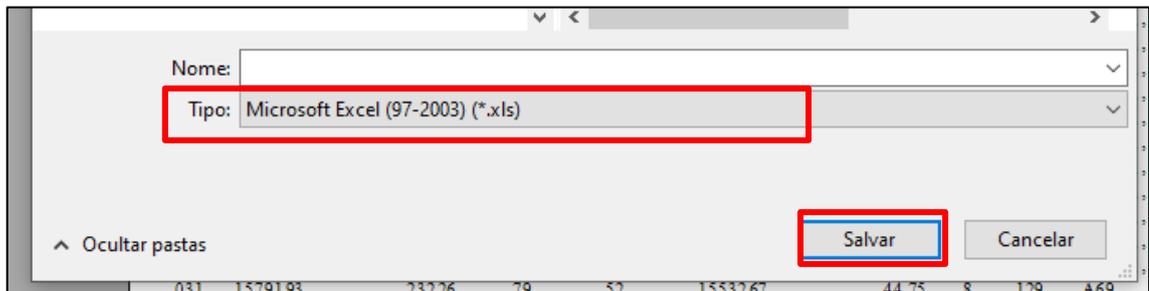


Fig 4: Tipo de arquivo que deve ser gerado. Após nomear o arquivo, clicar em salvar.

O arquivo está pronto para ser enviado através do site no campo "Upload de MFI".

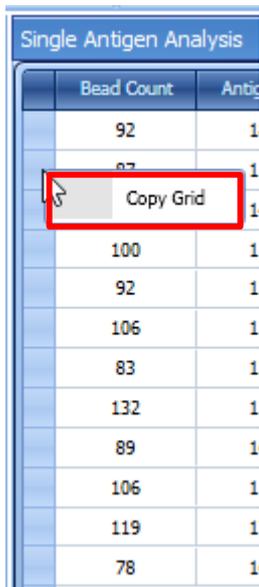
2 - Tutorial para programa MATCH IT, IMMUCOR.

Dentro da tela de resultados de Single Antigen do programa Match IT, clicar com o botão direito em qualquer parte da área delimitada em vermelho, como demonstrado na figura abaixo (figura 5).

Single Antigen Analysis														
Bead Count	Antigen ID	Cut-off	Raw Value	MFI/LRA	Assignment	BG Adjusted	AD-MFI	AD-BG Adjusted	A	B	C	Bw	A Serology	B Serology
92	183	3.58	3723	23.19	Positive	3598	6374	6160			C*02:02			
87	118	4.09	601	7.56	Negative	492	604	494	A*29:02				A29(19)	
107	147	3.79	670	7.02	Negative	580	587	508		B*18:01		Bw6		B18
100	117	4.67	524	6.58	Negative	420	638	512	A*29:01				A29(19)	
92	138	4.05	547	5.72	Negative	419	510	390		B*14:01		Bw6		B64(14)
106	139	4.37	538	5.63	Negative	419	594	462		B*14:02		Bw6		B65(14)
83	122	3.76	440	5.53	Negative	352	437	350	A*33:01				A33(19)	
132	136	3.75	334	3.49	Negative	238	284	202		B*08:01		Bw6		B8
89	163	4.75	329	3.45	Negative	170	413	214		B*46:01				B46
106	116	4.18	265	3.33	Negative	156	274	161	A*26:01				A26(10)	
119	179	4.02	314	3.29	Negative	234	311	232		B*78:01		Bw6		B78
78	168	4.06	310	3.25	Negative	203	356	233		B*53:01		Bw4		B51(5)
88	131	4.52	251	3.16	Negative	106	343	145	A*69:01				A69(28)	
115	123	4.29	248	3.12	Negative	131	262	138	A*33:03				A33(19)	
95	124	3.96	240	3.02	Negative	149	233	145	A*34:02				A34(10)	
90	125	4.00	239	3.01	Negative	158	223	147	A*36:01				A36	
80	178	4.14	285	2.98	Negative	113	325	129		B*73:01				B73
90	126	4.27	221	2.78	Negative	95	220	95	A*43:01				A43	
95	167	3.97	251	2.63	Negative	160	241	153		B*50:01		Bw6		B50(21)
109	107	4.17	209	2.63	Negative	99	224	106	A*02:03				A203	
96	169	4.12	249	2.61	Negative	140	280	157		B*52:01		Bw4		B52(5)
104	182	3.60	404	2.51	Negative	249	515	317			C*01:02			

Fig 5: clicar com o botão direito do mouse dentro da área delimitada em vermelho.

Após clicar em vermelho, selecionar a opção "copy Grid", como na figura 6.



Bead Count	Antig
92	1
97	1
Copy Grid	1
100	1
92	1
106	1
83	1
132	1
89	1
106	1
119	1
78	1

Fig 6: clicar em copy Grid. Todo os dados serão copiados para a área de transferência do sistema operacional do seu computador.

Após copiar os dados, abrir um arquivo tipo excel e colocar os dados na célula 1A. O arquivo gerado dever ser salvo com o formato excel (nomeado de acordo com o item 3).

O arquivo está pronto para ser enviado através do site no campo “Upload de MFI”.

3 - Modelo de nome do arquivo criado.

Cada arquivo criado deverá ser nomeado com informações que remetem ao teste (single Antigen classe I ou II), nome da amostra, lote do kit utilizado e lote do SCN.

Exemplo:

SAI_S71_Lote13_CN23

SAII_S71_Lote3009350_CN30

O arquivo está pronto para ser enviado através do site no campo “Upload de MFI”.

Comissão do Controle de Qualidade