



Avaliação Externa  
de Qualidade

Relatório Global  
Décima Quarta Avaliação Externa da  
Qualidade dos Testes de Genotipagem de HIV  
**14 AEQ14/Geno**



Ministério da Saúde  
Secretaria de Vigilância em Saúde  
Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais

**Relatório Global**  
Décima Quarta Avaliação Externa da  
Qualidade dos Testes de Genotipagem de HIV  
**14AEQ14/Geno**

2014  
Brasília – DF

## 1. INTRODUÇÃO

A Rede Nacional de laboratório de genotipagem está constituída atualmente por 22 laboratórios executores e treinados para realizar a genotipagem do HIV-1 e por um laboratório de resgate. Por serem parte de uma Rede Nacional que gera dados para critérios clínicos de tratamento, esses laboratórios devem estar aptos a apresentar resultados homogêneos quanto ao padrão de resistência de amostras pertencentes a painéis de controle de qualidade.

Como continuidade ao sistema de Avaliação Externa da Qualidade dos Testes de Genotipagem, com a finalidade de avaliar o desempenho dos laboratórios que compõem a Rede Nacional de laboratórios na realização dos testes de Genotipagem do HIV-1, foi elaborada a décima quarta avaliação, a partir de agora chamada de 14AEQ14.

## 2. OBJETIVOS

Para esta rodada, um painel-teste de amostras clínicas foi confeccionado e enviado, em 24 de março de 2014, para 22 laboratórios que compõem a Rede.

Este painel teve como objetivo principal avaliar o desempenho dos laboratórios quanto à qualidade dos procedimentos e dos resultados obtidos. Foram objetivos específicos:

- Avaliar a capacidade do laboratório em amplificar por PCR o gene *pol* de quatro amostras, com carga viral de aproximadamente entre 1.000 e 200.000 cópias / mL;
- Avaliar a capacidade dos laboratórios em gerar sequências sem contaminação de amostras;
- Avaliar a capacidade do técnico executor na montagem e edição das sequências no projeto.

## 3. METODOLOGIA

A metodologia da genotipagem do HIV-1 consiste, resumidamente, na obtenção satisfatória de sequências de nucleotídeos do HIV-1 isolados de amostras clínicas de indivíduos falhando em falha ao tratamento antirretroviral. Essas sequências devem compreender parte do gene *pol* do HIV-1, que codifica as enzimas protease e transcriptase reversa, que são os alvos terapêuticos dos antirretrovirais.

O método inicia-se com o isolamento do RNA viral de amostra do plasma do paciente, que é transformado em cDNA por reação de transcrição reversa, seguido de amplificação do gene *pol* do HIV-1 pela técnica de PCR ("polymerase chain reaction"). A partir do produto da amplificação, as sequências são geradas por sequenciamento genômico automático.

Após obtenção dessas sequências de DNA, o laboratório deve ser capaz de formar um "case" (ou projeto) que compara esse gene e suas proteínas resultantes com um protótipo viral padrão de laboratório sem mutações relacionadas à resistência aos antirretrovirais. A existência de polimorfismos genéticos é então indicada, notadamente os que se relacionam com resistência aos antirretrovirais. Esse resultado é fornecido em laudo específico para encaminhamento aos MRG (médicos referência em genotipagem) e em seguida aos médicos solicitantes.

#### 4. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras do painel da 14AEQ14 foram obtidas a partir de amostras clínicas de pacientes HIV-1 soropositivos. O painel foi preparado no Laboratório de Retrovirologia da Escola Paulista de Medicina da UNIFESP. As características das amostras estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1** - Caracterização das amostras do painel 14AEQ14

Amostra	Carga Viral (cópias/mL)
14AEQ14-1	10.000
14AEQ14-2	170.000
14AEQ14-3	1.300
14AEQ14-4	52.000

## 5. CRITÉRIOS UTILIZADOS NA ANÁLISE DOS DADOS

Os critérios escolhidos para análise dos dados da 14AEQ14 estão descritos e pontuados na Tabela 2.

**Tabela 2** – Pontuação das análises

Item	Pontos				Máximo de Pontos
	amostra 14AEQ14-1	amostra 14AEQ14-2	amostra 14AEQ14-3	amostra 14AEQ14-4	
Análises Qualitativas					
Sequenciamento Amostras	2.5	2.5	2.5	2.5	10
Análise de divergência genética Até 2%	20	20	20	20	80
Laudo Trugene e Algoritmo Brasileiro	2.5	2.5	2.5	2.5	10
Análises Quantitativas					
Número de seqüências obtidas por case:					
6 a 8 seqüências	5	5	5	5	20
5 seqüências	2.5	2.5	2.5	2.5	
< 5 seqüências	0	0	0	0	
Posições críticas analisadas (códon)					
códon da Protease					
Posição 1	2	2	2	2	40
Posição 2	2	2	2	2	
Posição 3	2	2	2	2	
Posição 4	2	2	2	2	
Posição 5	2	2	2	2	
códon da Transcriptase Reversa					
Posição 1	2	2	2	2	40
Posição 2	2	2	2	2	
Posição 3	2	2	2	2	
Posição 4	2	2	2	2	
Posição 5	2	2	2	2	
Total					200

## 5.1. Critérios qualitativos

Os resultados enviados pelos laboratórios participantes foram avaliados quanto à sensibilidade e à especificidade.

- A sensibilidade foi avaliada pela capacidade dos laboratórios em amplificar as quatro amostras-teste por PCR, com valor de carga viral dentro da faixa de sensibilidade do kit utilizado pela rede TRUGENE® HIV-1 GENOTYPING ASSAY, SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS).
- A especificidade foi avaliada pela capacidade dos laboratórios gerarem sequências semelhantes entre si, para cada amostra viral. Neste caso, se aceita certo grau de diversidade entre as sequências da mesma amostra obtidas pelos vários laboratórios decorrentes da diversidade genética da quase-espécie própria do HIV e da taxa natural de erro da transcriptase reversa (~ 1/500 incorporações errôneas).

A maneira objetiva de medir esse parâmetro foi a mensuração da distância genética das sequências geradas entre todos os laboratórios, para cada amostra do painel. Utilizamos os “softwares” BioEdit para o alinhamento e matriz de distância entre elas. Se a sequência de qualquer das duas amostras do laboratório tiver uma distância maior que 2% será considerada a possibilidade do produto amplificado ter sofrido contaminação por produto de PCR ou edições incorretas da sequência.

O amplicon (DNA amplificado) sequenciado nesse método possui aproximadamente 1300 pares de bases. Se considerarmos o critério anterior de 2% de diversidade, isso significa que um dado laboratório poderá classificar-se ainda que possua 26 nucleotídeos anotados que sejam diferentes ao consenso gerado. A matriz de distância pareada resultante, feita com as mesmas sequências, encontra-se nas Tabelas 3A, 3B, 3C e 3D.





**Tabela 3B.** Matriz de distâncias entre a sequência consenso e as geradas pelos Laboratórios da Rede de Genotipagem da amostra 14AEQ14-2

Cons	101-2	102-2	104-2	105-2	106-2	107-2	108-2	111-2	112-2	113-2	114-2	115-2	116-2	137-2	138-2	161-2	162-2	163-2	164-2	165-2	
101-2	0.00%																				
102-2	0.00%	0.00%																			
104-2	0.00%	0.00%	0.00%																		
105-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%																	
106-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%																
107-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%															
108-2	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%														
111-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%													
112-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%												
113-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%											
114-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%										
115-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%									
116-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%								
137-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%							
138-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%						
161-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%					
162-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%				
163-2	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%			
164-2	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.23%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%
165-2	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.23%	0.23%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.23%

Tabela 3C. Matriz de distâncias entre a sequência consenso e as geradas pelos Laboratórios da Rede de Genotipagem da amostra 14AEQ14-3

Cons	101-3	102-3	104-3	105-3	106-3	107-3	108-3	111-3	112-3	113-3	114-3	115-3	116-3	137-3	138-3	161-3	162-3	163-3	164-3	165-3	
101-3	0.23%																				
102-3	0.00%	0.23%																			
104-3	0.00%	0.23%	0.00%																		
105-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%																	
106-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%																
107-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%															
108-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%														
111-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%													
112-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%												
113-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%											
114-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%										
115-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%									
116-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%								
137-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%							
138-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%						
161-3	0.11%	0.34%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%					
162-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%				
163-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%			
164-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%		
165-3	0.00%	0.23%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

Tabela 3D. Matriz de distâncias entre a sequência consenso e as geradas pelos Laboratórios da Rede de Genotipagem da amostra 14AEQ14-4

Cons	101-4	104-4	105-4	106-4	107-4	108-4	111-4	112-4	113-4	114-4	115-4	116-4	137-4	161-4	162-4	163-4	165-4
101-4	0.00%																
104-4	0.00%	0.00%															
105-4	0.00%	0.00%	0.00%														
106-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%													
107-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%												
108-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%											
111-4	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%	0.11%										
112-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%									
113-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%								
114-4	0.34%	0.34%	0.34%	0.34%	0.34%	0.34%	0.34%	0.46%	0.34%	0.34%							
115-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.34%						
116-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.34%	0.00%					
137-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.34%	0.00%	0.00%				
161-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.34%	0.00%	0.00%	0.00%			
162-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.34%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%		
163-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.34%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	
165-4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.11%	0.00%	0.00%	0.34%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

## 5.2. Critérios quantitativos

### A - Número de sequências com alta qualidade por projeto montado, para cada amostra.

O projeto de um isolado viral é montado a partir de seis até oito diferentes sequências geradas pelo kit comercial utilizado. Essas sequências cobrem toda a região importante do gene pol para a avaliação de resistência (1300 nucleotídeos, sendo toda a protease viral e parte da transcriptase reversa). Essas oito sequências não só cobrem toda a região como geram sobreposições redundantes (interseções) entre si a partir de sequenciamento de direções diferentes (algumas no sentido 5' e outras no sentido 3'), e são importantes para ratificar o resultado final e validar polimorfismos genéticos encontrados. É importante que a sequência gerada em um sentido seja corroborada pela gerada em sentido oposto numa mesma região gênica. Quanto menor o número de sequências geradas por amplicon, para cada projeto, mais difícil será a edição e a montagem do case e maior a probabilidade de erros nas edições da sequência gerada.

**B – Códons críticos relacionados à resistência aos antirretrovirais, nos genes da protease e transcriptase reversa virais.** Nesse caso é avaliada a capacidade de cada laboratório participante em acertar os aminoácidos codificados na protease e transcriptase reversa em cinco posições-chave para resistência de cada uma das regiões. Foram utilizados os dados dos sequenciamentos das amostras realizados no Laboratório de Referência da RENAGENO de São Paulo e a sequência consenso das sequências geradas, como base para se escolher aleatoriamente as dez posições-chave a serem analisadas.

## 6. Resultados da avaliação

Os resultados obtidos, discriminados por parâmetro utilizado, estão demonstrados nas Tabelas 4A, 4B, 4C e 4D.

Tabela 4A. Resultados e pontuação discriminada de cada laboratório avaliado, para a amostra 14AEQ14-1.

Número do laboratório	Análise Qualitativa				Análise Quantitativa				TOTAL					
	Sequenciamento		Diversidade genética		Laudo Trugene e Algoritmo Brasileiro		Nº de seqüências obtidas			Posições críticas na Protease		Posições críticas na Transcriptase Reversa		
	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação		Resultados corretos	Pontuação	Resultados corretos	Pontuação	
101	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
102	NÃO	0	até 2%	0	NÃO	0	0	0	0	0	0	0	0	0
104	NÃO	0	até 2%	0	NÃO	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	NÃO	0	até 2%	0	NÃO	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
107	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
108	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
111	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
112	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
113	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
114	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	5	2.5	5	5	10	5	10	47.5
115	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
116	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
136	SIM	2.5	até 2%	0	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	30
137	NÃO	0	até 2%	0	NÃO	0	4	0	0	0	0	0	0	0
138	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
139	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
161	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	7	5	5	5	10	5	10	50
162	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
163	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
164	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	5	10	5	10	50
165	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50

**Tabela 4B.** Resultados e pontuação discriminada de cada laboratório avaliado, para a amostra 14AEQ14-2.

Número do laboratório	Análise Qualitativa				Análise Quantitativa				TOTAL					
	Sequenciamento		Diversidade genética		Laudo Trugene e Algoritmo Brasileiro		Nº de sequências obtidas		Posições críticas na Protease		Posições críticas na Transcriptase Reversa			
	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultados corretos	Pontuação	Resultados corretos	Pontuação		
101	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
102	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
104	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
105	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
106	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
107	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
108	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
111	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
112	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
113	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
114	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	5	2.5	5	5	10	5	10	47.5
115	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
116	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
136	SIM	2.5	até 2%	0	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	30
137	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
138	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
139	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
161	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
162	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
163	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
164	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50
165	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	5	10	5	10	50

**Tabela 4C.** Resultados e pontuação discriminada de cada laboratório avaliado, para a amostra 14AEQ14-3.

Número do laboratório	Análise Qualitativa				Análise Quantitativa				TOTAL				
	Sequenciamento		Diversidade genética		Laudo Trugene e Algoritmo Brasileiro		Nº de sequências obtidas			Posições críticas na Protease		Posições críticas na Transcriptase Reversa	
	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação		Resultados corretos	Pontuação	Resultados corretos	Pontuação
101	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
102	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
104	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
105	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	4.5	9	5	10	49
106	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
107	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
108	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	5	2.5	5	10	5	10	47.5
111	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	10	5	10	50
112	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
113	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
114	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	4.5	9	5	10	49
115	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
116	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
136	SIM	2.5	até 2%	0	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	30
137	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
138	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
139	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
161	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
162	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
163	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	10	5	10	50
164	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50
165	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	50

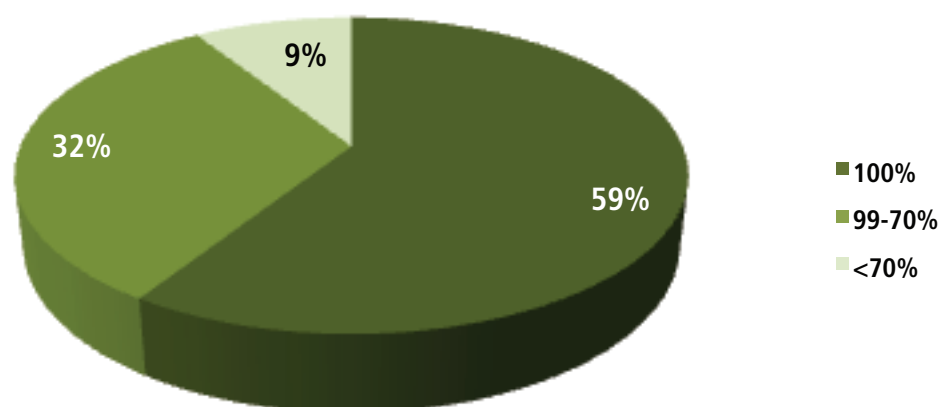
**Tabela 4D.** Resultados e pontuação discriminada de cada laboratório avaliado, para a amostra 14AEQ14-4.

Número do laboratório	Sequenciamento		Análise Qualitativa				Laudo Trugene e Algoritmo Brasileiro				Análise Quantitativa				TOTAL
	Resultado	Pontuação	Diversidade genética		Nº de sequências obtidas		Posições críticas na Protease		Posições críticas na Transcriptase Reversa		Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	
			Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultado	Pontuação	Resultados corretos	Pontuação					
101	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
102	NÃO	0	até 2%	0	NÃO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
104	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
105	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
106	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
107	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
108	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	7	5	5	10	5	10	5	10	50
111	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	10	5	10	5	10	50
112	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
113	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
114	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
115	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
116	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
136	SIM	2.5	até 2%	0	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	30
137	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	10	5	10	5	10	50
138	NÃO	0	até 2%	0	NÃO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
139	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
161	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
162	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50
163	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	6	5	5	10	5	10	5	10	50
164	NÃO	0	até 2%	0	NÃO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
165	SIM	2.5	até 2%	20	SIM	2.5	8	5	5	10	5	10	5	10	50



**Tabela 5.** Pontuação total de cada laboratório.

Laboratório	14AEQ14-1	14AEQ14-2	14AEQ14-3	14AEQ14-4	Pontuação	
101	50	50	50	50	200	100%
102	0	50	50	0	100	50%
104	0	50	50	50	150	75%
105	0	50	49	50	149	75%
106	50	50	50	50	200	100%
107	50	50	50	50	200	100%
108	50	50	47.5	50	197.5	99%
111	50	50	50	50	200	100%
112	50	50	50	50	200	100%
113	50	50	50	50	200	100%
114	47.5	47.5	49	50	194	97%
115	50	50	50	50	200	100%
116	50	50	50	50	200	100%
136	30	30	30	30	120	60%
137	0	50	50	50	150	75%
138	50	50	50	0	150	75%
139	50	50	50	50	200	100%
161	50	50	50	50	200	100%
162	50	50	50	50	200	100%
163	50	50	50	50	200	100%
164	50	50	50	0	150	75%
165	50	50	50	50	200	100%

**Figura 1.** Pontuação geral dos laboratórios no 14AEQ14.

## 7. CONCLUSÃO

A primeira avaliação externa da qualidade para os testes de genotipagem da RENAGENO foi realizada com um caráter ilustrativo e educativo. Teve como objetivo controlar a qualidade, levantar as condições de trabalho, de proficiência técnica e da adequação da metodologia de genotipagem utilizada na RENAGENO. A partir da segunda avaliação, mantiveram-se os mesmos princípios e objetivos, esperando-se, entretanto um desempenho adequado dos laboratórios participantes e servindo como indicador das intervenções técnicas corretivas que devem ser implementadas para manutenção da qualidade.

No conjunto dos resultados da 14AEQ14, observa-se que 13 (59%) dos laboratórios participantes foram aprovados com excelência, 07 (32%) foram aprovados com pontuação entre 99 e 70%. Dois laboratórios (09%) tiveram pontuação abaixo de 70%, sendo que um destes laboratórios só teve pontuação mais baixa pois enviou o CD vazio.

Lembramos que os resultados das Avaliações Externas da Qualidade são absolutamente confidenciais e que o número de seu laboratório é de conhecimento apenas do próprio laboratório e dos profissionais responsáveis pela análise dos resultados.

Recomendamos que os laboratórios, que obtiveram pontuação abaixo de 70%, verifiquem com atenção a rotina de trabalho com o intuito de identificar possíveis problemas de processamento. No ANEXO 1 pode-se visualizar a árvore filogenética de todas as sequências dos ensaios desta rodada. Podemos observar que as sequências apresentam-se mais uniformes e poucas são as diferenças nas edições (destacadas com setas), porém neste caso, as diferenças não foram significativas a ponto de prejudicar o resultado.

No ANEXO 2 estão listadas as ocorrências relatadas ou detectadas.

Consideramos também que um aspecto importante na manutenção da qualidade é a interação e o diálogo entre os laboratórios que compõem a rede e o comitê assessor do sistema de garantia da qualidade. Para tanto, sugerimos que dúvidas e sugestões sejam encaminhadas à Maria Cecília ([cecilia.araripe@unifesp.com](mailto:cecilia.araripe@unifesp.com)) e/ou Maria Luiza ([mlbazzo@yahoo.com.br](mailto:mlbazzo@yahoo.com.br)) e/ou Coordenação de Laboratório ([clab@aids.gov.br](mailto:clab@aids.gov.br)).

Por último, é necessário enfatizar que esta avaliação tem a finalidade de verificar o desempenho individual de cada um dos laboratórios que compõem a Rede Nacional de Laboratório na realização dos testes de Genotipagem do HIV-1, para a correção dos problemas, se houver, e para a homogeneização de suas condutas objetivando padrão de excelência, pois somente laboratório com comprovada qualidade pode garantir resultados confiáveis aos usuários do Sistema Único de Saúde.

## **PROGRAMA DE AVALIAÇÃO EXTERNA DA QUALIDADE (AEQ) DOS TESTES DE GENOTIPAGEM DO HIV-1 DO DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS**

### **PRODUÇÃO DO PAINEL**

Ricardo Sobhie Diaz e Maria Cecília Araripe Sucupira

Laboratório de Retrovirologia - Escola Paulista de Medicina - Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP-SP

### **MEMBROS DA COMISSÃO TÉCNICA ASSESSORA PARA O MONITORAMENTO LABORATORIAL**

Maria Luiza Bazzo - Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC-SC

Milena Brunialti - Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP-SP

Mônica Barcellos Arruda - Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ-RJ

Maria Cecília Araripe Sucupira - Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP-SP

### **MINISTÉRIO DA SAÚDE**

**SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE**

**DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS**

Diretor do Departamento de DST/AIDS e Hepatites Virais:

Fábio Mesquita

#### **Coordenação de Laboratório:**

Miriam Franchini (Coordenadora Geral de Laboratório)

Ana Flávia Nacif Coelho Pires

Ariadne Gisele Muniz Bonvino

Bianca Savia Ferreira Moulin

Bruna Lovizutto Protti

Fernanda Borges Magalhães

Mariana Villares Martins

Nubia Goncalves Dias

Pâmela Cristina Gaspar

Regina Aparecida Comparini

Roberta Barbosa Lopes Francisco

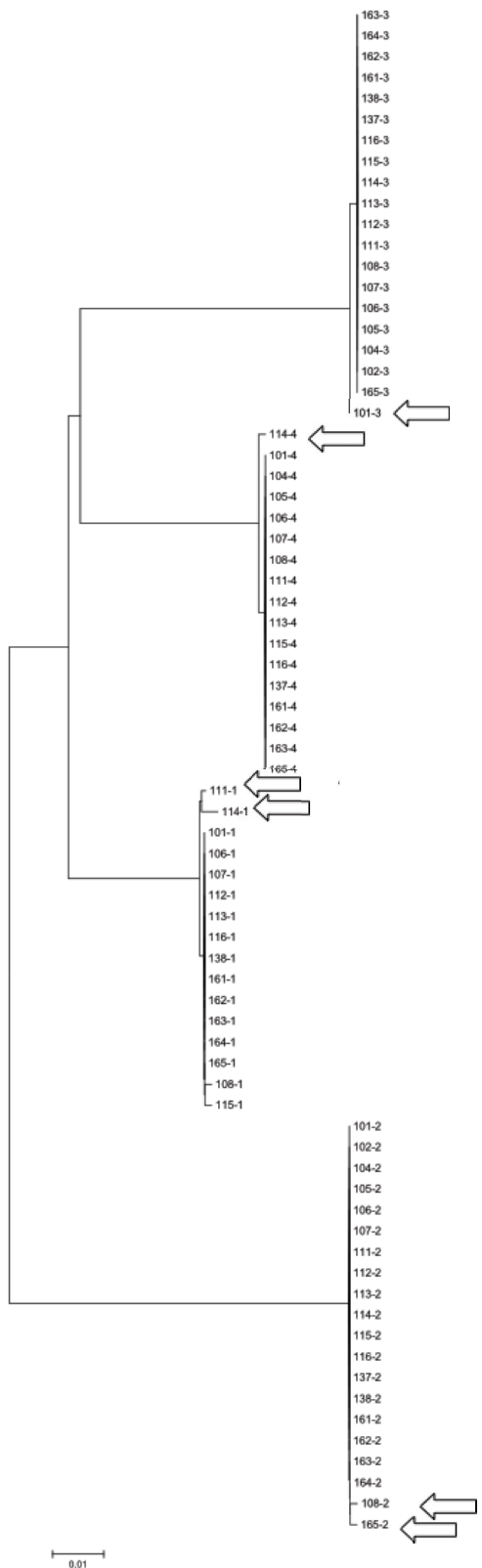
Walquiria Torres Malheiros

Projeto Gráfico

Ademildo Coelho Mendes

## ANEXO 1

Árvore Filogenética da região *pol* do HIV-1 das amostras encaminhadas para a décima quarta avaliação externa de qualidade dos laboratórios da RENAGENO



## ANEXO 2

Ocorrências relatadas pelos Laboratórios da RENAGENO participantes da 14AEQ14. Ocorrências detectadas nas análises dos dados encaminhados para avaliação.

- 102 – Na época da AEQ havia um chamado aberto na SIEMENS para calibração da torre, a descalibração não impediu a realização do AEQ, porém acham que pode ter afetado a qualidade das corridas.
- 104 – Observaram que as RT *beginning* de algumas amostras não estavam saindo muito boas, as vezes não funcionando.
- 107 – Repetiram algumas corridas (amostra 2 e 4) por apresentarem heterozigoses.
- 112 – Comentam que de maneira geral as linhas de base têm se apresentado com padrão não satisfatório principalmente na RT *beginning*. Abriram chamado na SIEMENS.
- 114 – Aplicaram as amostras no gel com pipeta monocal, pois a multicanal não estava funcionando e a Siemens não trocou a tempo para ser utilizada na 14AEQ.
- 111 – Relatam que apenas 6 *primers* funcionaram em todas as amostras. Que as amostras 1 e 2 observaram problemas nas linhas de base dos *primers* 5-8a.b RT e 9-12a.b RT e nas amostras 3 e 4 somente no *primer* 5-8a.b RT.
- 136 – enviou CD vazio.



**DISQUE SAÚDE**

**136**

Ouv doria Geral do SUS.  
[www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br)



Ministério da  
**Saúde**