

**RESPOSTAS ÀS QUESTÕES MAIS FREQUENTES SOBRE
O NOVO SITE DA BASE DE DADOS DE VARIABILIDADE
BIOLÓGICA DA FEDERAÇÃO EUROPEIA DO
LABORATÓRIO MÉDICO (EFLM)
ATIVADO EM JUNHO DE 2022**

15 de julho de 2022



**Colégio de Biologia Humana e Saúde
Ordem dos Biólogos**



**Comissão de Laboratório Clínico e Genética Humana
dos Bioquímicos Clínicos
Associação Nacional de Bioquímicos**

O presente documento é resultante do trabalho conjunto entre o Colégio de Biologia Humana e Saúde da Ordem dos Biólogos (CBHS-OBIO) e a Comissão de Laboratório Clínico e Genética Humana de Bioquímicos Clínicos da Associação Nacional de Bioquímicos (LabGen-ANBIOQ). Foi elaborado com base na visão comum de equipa plural e de consciência integradora de diferentes competências, experiências e conhecimentos, e que se pretende alargada a toda a comunidade de profissionais de saúde.

É competência da Comissão de Qualidade da LabGen-ANBIOQ envolver os Bioquímicos Clínicos da ANBIOQ na sistematização, concentração e divulgação de informação atualizada sobre a Gestão Total da Qualidade nos Laboratórios Clínicos, de Genética Humana e de Embriologia/Reprodução Humana, contribuindo para a melhoria contínua e constante atualização de todos os profissionais nesta área.

Do mesmo modo, o CBHS-OBIO, criado em resultado da forte ligação profissional do Biólogo à saúde humana, tem como objetivos prioritários a valorização do conhecimento e a promoção da formação técnico-científica dos seus especialistas, garantindo as suas qualificação e competência para o bom exercício da sua atividade profissional nas várias vertentes da saúde humana. A ação destes incide essencialmente nas áreas das análises clínicas, da genética humana e da embriologia/reprodução humana, abrangendo todas as vertentes de laboratório clínico, investigação, desenvolvimento de produtos e ferramentas de ação terapêutica, assessoria técnico-científica e implementação de sistemas de gestão da qualidade, entre outros.

Introdução:

Em maio de 2022, a *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (EFLM), através do *Task and Finish Group of Practical Approach to Measurement Uncertainty*, publicou o artigo “Measurement uncertainty for practical use”⁽¹⁾, onde emitiu um conjunto de recomendações de cálculo prático da incerteza de medição e incerteza expandida de medição.

Em junho de 2022, a EFLM ativou um novo *site* da Base de Dados de Variabilidade Biológica⁽²⁾, onde disponibilizou os recursos de cálculo do RCV e dos Requisitos de Qualidade na forma de Incerteza Expandida de Medição permitida (sigla usada pela EFLM – MAU *Maximum allowable uncertainty*).

As recomendações e a Base de Dados da EFLM, vêm agora validar o procedimento desenvolvido em conjunto pelo CBHS-OBIO e pela LabGen-ANBIOQ em 2012, o qual foi revisto em 2016 e 2018⁽³⁾.

Na sequência destas novas alterações e recomendações da EFLM, totalmente alinhadas com as recomendações conjuntas do CBHS-OBIO e LabGen-ANBIOQ, a Ordem dos Biólogos e a Associação Nacional de Bioquímicos vêm por este meio divulgar um conjunto de respostas às questões que mais frequentemente nos têm sido colocadas, de forma a auxiliar a sua implementação.

Em algumas das questões a resposta dada é idêntica, pelo que são apresentadas várias questões aparentemente diferentes antes da resposta comum.

- 1- Se, até há um mês atrás, a EFLM não usava a Incerteza de Medição (UM) como métrica de definição de requisitos de qualidade, porque a incluiu agora? É melhor que o Erro Total (ET), porquê? E se continuarmos a usar apenas o ET como métrica de requisitos de qualidade? Calcular a UM é obrigatório, mas isso implica ter que usar a UM como métrica de definição de requisitos de qualidade laboratorial? Tenho de usar a UM e ET ao mesmo tempo para definir requisitos de qualidade laboratorial?

Resposta:

No *site* da EFLM, na secção de cálculo dos requisitos de qualidade laboratorial para cada magnitude biológica, encontra-se uma nota da EFLM a informar que o ET foi desenvolvido para estudos intercomparativos entre laboratórios diferentes dos Programas de Avaliação Externa da Qualidade e, por isso, deve ser usado com cautela porque trata a contribuição de dois erros (CVa imprecisão e Bias) de forma linear, o que é matematicamente incorreto quando se definem requisitos de qualidade interna para um mesmo laboratório, dado aumentar artificialmente o erro admissível.

A UM permite avaliar o impacto dos erros de incerteza no utente, porque engloba os erros numa única variável matemática, a qual ao fim de algum tempo mantém-se fixa tornando-se previsível ou conhecida (se se mantiverem as condições de trabalho e de produção de reagentes, calibradores e consumíveis). Por esse motivo a UM é a indicada para avaliar o impacto dos erros no risco de decisão clínica, com recurso às ferramentas da Variabilidade Biológica (RCV - *Reference Change Value* ou capacidade de deteção de alterações fisiopatológicas relevantes, como definido no procedimento conjunto CBHS-OBIO/LabGen-ANBIOQ⁽³⁾; Valores de referência personalizados; Número de amostras para achar o ponto homeostático real; Dispersão máximo de um doseamento; Avaliação e adaptação de Normas de Orientação Clínica ou Guias de Prática Clínica à realidade de cada laboratório/utente), abrindo as portas à medicina preditiva personalizada nos laboratórios clínicos de rotina.

Por exemplo, quando o laboratório consegue definir o requisito de qualidade UM inferior à Variabilidade Biológica intraindividual, sabe que todos os erros de incerteza são absorvidos pela variabilidade biológica intraindividual e que por isso o risco de decisão clínica depende apenas da variabilidade biológica intrínseca à magnitude biológica em causa⁽⁵⁾ (trabalho apresentado na 11ª Reunião Científica da Sociedade Portuguesa de Medicina Laboratorial; para mais informações contactar o autor principal: jorgevpinheiro@ci.uc.pt).

Todos os laboratórios que ainda estejam a iniciar-se no uso da UM, podem manter os dois sistemas de definição dos requisitos de qualidade laboratorial em paralelo. Com o tempo, o laboratório percebe as vantagens e ganha cada vez mais confiança no uso da UM.

- 2- Porque é que anteriormente a EFLM tinha a fórmula de cálculo clássica do RCV, exclusivamente com fator bidirecional e agora na nova fórmula coloca preferencialmente a possibilidade de usar o fator Unidirecional?

Resposta:

O CBHS-OBIO e a LabGen-ANBIOQ sempre recomendaram o uso do fator unidirecional também na fórmula clássica do RCV (o qual se encontra no [procedimento conjunto](#)), porque a realidade prática no processo de avaliação da condição clínica de qualquer paciente sob monitorização, é que entre dois doseamentos consecutivos só pode ocorrer uma de duas alterações: agravamento ou melhoria da condição inicial. Isto é, só ocorre um aumento ou uma diminuição de valores absolutos da magnitude em estudo quando existe uma alteração significativa entre dois doseamentos consecutivos. O uso do fator de cálculo unidirecional representa melhor essa utilidade clínica do cálculo do RCV.

3- Porque é que a EFLM mudou para a fórmula assimétrica (logarítmica) de cálculo do RCV e não usa agora a Fórmula clássica do RCV?

Resposta:

A fórmula assimétrica (logarítmica) é a que melhor representa a plausibilidade biológica. Em primeiro lugar, porque se pode ver nesta base de dados que os limites extremos dos intervalos de variação biológica intraindividual possuem uma distribuição logarítmica à volta de um ponto homeostático, com os limites superiores mais afastados da mediana do que os limites inferiores. Para além disso, esta fórmula também não permite descidas de valores paradoxais acima de 100% para o doseamento consecutivo seguinte, quando a UM e a variabilidade biológica intraindividual são elevadas⁽⁴⁾.

Esta fórmula tem em consideração o maior valor absoluto de partida, quando existe uma descida, ou o menor valor absoluto de partida, quando avaliamos uma subida, à volta de um possível ponto homeostático real de um utente, o que melhor representa a relevância clínica que se pretende dar durante um processo contínuo de monitorização do utente com recurso ao RCV. Por exemplo, indicando mais rapidamente que se encontra no caminho do regresso à normalidade, após um episódio agudo ou início de tratamento.

Nota importante:

Se o sistema LIS não suportar dois valores de RCV diferentes, um para subida e outro para descida, pode sempre usar a Fórmula de cálculo tradicional do RCV (que atribui um único valor de RCV para subida ou descida relevante), mesmo com uma incerteza expandida de medição superior a 10%. Nesse caso, não use a incerteza expandida ($2 \times CVa$) no cálculo do RCV, mas apenas a incerteza (média) de medição (CVa). Deve efetuar, então, o cálculo da percentagem de doseamentos que se encontram dentro e fora do CV médio, como referido na resposta à pergunta 6, para perceber qual a percentagem de falsos positivos nos alarmes RCV.

Pode obter a fórmula de cálculo tradicional do RCV para a probabilidade unidirecional de 95% no procedimento conjunto do CBHS-OBIO/LabGen-ANBIOQ⁽³⁾ no capítulo afeto ao cálculo da capacidade de deteção de alterações fisiopatológicas relevantes.

4- O cálculo da UM segundo a Guia Internacional da Incerteza de Medição (GUM) implica conhecer ou obter os dados de várias UM separadas (calibradores, equipamentos, material superior de referência metrológica, etc.). Por isso, é demasiado complexo para a rotina do dia-a-dia laboratorial. Existe algum método mais prático recomendado para os laboratórios clínicos?

Resposta:

Sim, existe.

É verdade que a GUM é aplicada de forma universal em todos os processos que usem quantidades de medida. Normalmente, os processos de engenharia, arquitetura, aeroespacial, etc., só possuem sistemas de confirmação mensurável em cada etapa do processo, pelo que uma primeira leitura linear da GUM parece indicar que se deve conhecer e calcular a Incerteza de Medição em cada passo e subpasso dos processos, cujos dados acumulam para o cálculo da incerteza do processo total. No entanto, o laboratório clínico possui uma particularidade que o distingue das demais áreas da ciência humana: o laboratório clínico confirma no FINAL de todo o processo qual a incerteza acumulada desde

o início do processo de rastreabilidade metrológica (matriz padrão metrológica superior do calibrador/reagente) até ao resultado final, através dos controlos internos de qualidade, em primeiro lugar, e dos controlos externos, como confirmação secundária.

Isto é, os controlos internos permitem observar qual a incerteza de medição acumulada de todo o processo da responsabilidade do fabricante (calibradores, reagentes, consumíveis, equipamentos), bem como da responsabilidade direta do laboratório (equipas, processo de lavagem do material do laboratório usado nos doseamentos, qualidade do ar, temperatura, humidade e luminosidade ambientes, procedimentos internos do laboratório e também a qualidade dos procedimentos pré-analíticos que interferem na fase analítica, como a colheita, transporte e acondicionamento/armazenamento das amostras biológicas).

Tal como indicado no procedimento conjunto do CBHS-OBIO/LabGen-ANBIOQ⁽³⁾ desde 2012, sendo agora também recomendado pela EFLM⁽¹⁾, é precisamente a incerteza acumulada resultante da contribuição de todos estes subprocessos que deve ser contabilizada para avaliar o impacto nos resultados dos utentes. Pelo que o cálculo da incerteza de medição do laboratório clínico pode ser obtido apenas com os dados da incerteza observada ao nível de controlos internos de qualidade, de forma simples e direta para qualquer uma das seguintes 3 situações:

- 1- de um único equipamento/método;
- 2- de vários equipamentos de um mesmo fabricante/método;
- 3- de vários equipamentos diferentes de fabricantes diferentes.

Na 9ª Reunião Científica da Sociedade Portuguesa de Medicina Laboratorial foi apresentado um trabalho sobre um Programa de Harmonização Laboratorial⁽⁶⁾, no qual é evidenciado como se obtém a incerteza expandida combinada de quatro equipamentos de química clínica de um mesmo fornecedor, distribuídos por três laboratórios de três unidades hospitalares, comparando-o com a variabilidade biológica intraindividual e o cálculo do RCV dos vários parâmetros envolvidos (para mais informações contactar o autor principal: jorgevpinheiro@ci.uc.pt).

5- No laboratório calculei que a MAU (incerteza expandida máxima admissível) para a albumina é 5%, em vez do 2,5% MAU desejável ou até 3,8% MAU mínimo admissível, pela EFLM. Quer dizer que estou em incumprimento? Qual é o impacto nos meus utentes?

Resposta:

O laboratório clínico tem a melhor tecnologia à sua disposição, mas nem sempre consegue que a incerteza de medição expandida real de trabalho seja inferior à variabilidade biológica intraindividual. Tal pode ser facilmente verificado usando os Peers de laboratórios para o mesmo lote de reagente, de equipamentos e métodos idênticos do mesmo fabricante do(s) seu(s) equipamento(s), observando o coeficiente de variação analítico (CV) combinado dos vários laboratórios desse Peer.

O conhecimento da sua incerteza real de medição expandida máxima admissível (verificada como sendo equivalente tecnicamente para os restantes laboratórios do Peer internacional, de forma a confirmar que não possui erros grosseiros inadmissíveis) permite ao laboratório usar esses dados no cálculo do RCV como informação interna de deteção de erros analíticos, na deteção de alterações fisiopatológicas relevantes, ou no cálculo do número de amostras necessárias para encontrar o ponto homeostático real ou, ainda, no cálculo da dispersão máxima de um doseamento. Dados esses que servem de base no processo de adaptação das Normas de Orientação Clínica à realidade do laboratório, de forma a usar essa informação nos comentários que podem ser introduzir nos boletins de resultados

e, até, personalizados ao utente. Pode encontrar exemplos concretos de avaliação e adaptação das NOCs à realidade dos laboratórios e comentários a introduzir nos boletins de resultados, nos apêndices do procedimento conjunto CBHS-OBIO/LabGen-ANBIOQ⁽³⁾.

- 6- **No cálculo do RCV, a EFLM solicita apenas o CV médio (incerteza de medição) do laboratório. Por que razão a EFLM também informa que se deve definir a incerteza expandida de medição (2xCV) e não apenas a incerteza de medição (CV), como requisito de qualidade?**

Resposta:

O RCV pode ser usado no laboratório clínico com dois propósitos distintos:

- a) **RCV como ferramenta técnica de deteção de erros analíticos que estão a ultrapassar a incerteza máxima de medição definida pelo laboratório.**

Alarmes de violação do RCV num número de pacientes acima do habitual, para o total de pacientes do laboratório, são uma indicação de elevada probabilidade de se estar na presença de um erro técnico sistemático ou aleatório, respetivamente se o alarme do RCV violado é tendencial no mesmo sentido, ou de sentido aleatório/bidirecional, no conjunto dos utentes afetados. Por isso deve ser usada a incerteza expandida de medição admissível pelo laboratório na variável do CV analítico no cálculo do RCV.

- b) **RCV como ferramenta de deteção precoce e personalizada de alterações fisiopatológicas relevantes para os utentes do laboratório.**

Uma das constatações referidas na *3th EFLM Strategic Conference* foi que, com o uso das ferramentas da variabilidade biológica (RCV e definição dos intervalos de referência personalizados para cada utente, entre outros), o laboratório clínico de rotina encontra-se a dar os primeiros passos na medicina (preditiva) personalizada (e não apenas na genética personalizada). Neste caso, e dependendo das características e missão, em algumas situações o laboratório pode ter vantagens em utilizar a incerteza de medição (CVa) no cálculo do RCV, em vez da incerteza expandida de medição (2xCVa), detetando mais depressa a alteração fisiopatológica relevante num grupo particular de utentes. No entanto, existirá sempre um outro grupo de utentes que possui erros analíticos superiores ao CVa e inferiores a 2xCVa, cujos resultados são admitidos pelo laboratório, mas cujos dados do RCV não podem ser usados para adaptar as NOCs ou como medicina personalizada na determinação dos valores de referência personalizados, por exemplo.

Assim sendo, recomendamos que o laboratório faça a sua própria simulação comparando o valor dos RCV quando calculado com a UM e a MAU.

Da experiência do CBHS-OBIO e da LabGen-ANBIOQ, na maioria dos casos não existe uma diferença significativa, pelo que o uso da Incerteza expandida de medição é o indicado para o cálculo do RCV no documento conjunto ⁽³⁾, de forma a garantir o uso simultâneo do RCV como ferramenta técnica de deteção precoce de alterações fisiopatológicas relevantes e de erros que ultrapassam a incerteza máxima de medição, definida pelo laboratório, para todos os doseamentos efetuados, sem exceção.

No caso de usar apenas a incerteza de medição no cálculo do RCV, deve estimar qual a percentagem de falsos positivos (percentagem de doseamentos que irão ter erro associado superior ao CV e inferior à incerteza expandida de medição admissível pelo laboratório, 2xCV) que o RCV irá originar, quer como ferramenta técnica de deteção de erros analíticos, quer no processo de deteção de alterações

fisiopatológicas relevantes ou como ferramenta de adaptação de NOCs ou definição de intervalos de referência personalizados e, em função disso, determinar se compensa o uso desse RCV.

Na 14^a Reunião Científica da Sociedade Portuguesa de Medicina Laboratorial foi apresentado um trabalho⁽⁷⁾ que explica como identificar a percentagem de doseamentos que se encontram dentro do erro da incerteza de medição (1 x CV) e a percentagem que se encontra dentro da incerteza expandida de medição (2 x CV), comparando os respetivos RCV (para mais informações contactar o autor principal: jorgevpinheiro@ci.uc.pt).

Bibliografia:

- (1) Coskun A, Theodorsson E, Oosterhuis WP, Sandberg S, European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Task and Finish Group on Practical Approach to Measurement Uncertainty. **Measurement uncertainty for practical use**. Clinica Chimica Acta 2022; 531:352–360, DOI <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.04.1003>.
- (2) EFLM - All Meta Calculations (https://biologicalvariation.eu/meta_calculations).
- (3) Procedimento Técnico de Avaliação e Otimização de Cartas de Controlo de Qualidade Interno no Laboratório Clínico ([http://ordembilogos.pt/wp-content/uploads/2015/11/Procedimento-v3-Maio2018-Revisao-Final-22052018 .pdf](http://ordembilogos.pt/wp-content/uploads/2015/11/Procedimento-v3-Maio2018-Revisao-Final-22052018.pdf)).
- (4) Fokkema MR, Herrmann Z, Muskiet FAJ, Moecks J. **Reference Change Values for Brain Natriuretic Peptides Revisited**. Clin Chem. 2006;52:1602–3, doi: 10.1373/clinchem.2006.069369.
- (5) Pinheiro J, *et all*. **“Do no harm”. An example of analytical bias “absorved” by biological variation**. Clin Chem Lab Med 2020; 58, pp eA73–eA74.
- (6) Pinheiro J, Castro R.. **Harmonizing results of 3 clinical chemistry laboratories of pathology service of Centro Hospitalar de Leiria EPE**. Clin Chem Lab Med 2018; 56(2): eA28–eA29.
- (7) Pinheiro J, *et all*. **A practical approach to evaluate the best analytical long-term CV for RCV Calculation** (a aguardar publicação).

Coordenação técnico-científica

Jorge Pinheiro

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

Coordenador da Comissão de Formação do Colégio de Biologia Humana e Saúde da Ordem dos Biólogos

Coordenador da Comissão de Laboratório Clínico e Genética Humana dos Bioquímicos Clínicos da Associação Nacional de Bioquímicos (LabGen-ANBIOQ)

Revisão

Ana Ramos Sousa

Especialista em Embriologia / Reprodução Humana da Ordem dos Biólogos

Ana Rita Tarelho

Especialista em Genética Humana da Ordem dos Biólogos

António Dinis

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Bárbara Marques

Especialista em Genética Humana da Ordem dos Biólogos

Carlos Vaz

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Cláudia Júlio

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

Isabel Moreira

Especialista em Genética Humana da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

José Grossinho

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

Luísa Ponte

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Mário Cunha

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Marta Nicolau

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Nuno Cunha

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Olga Rebelo

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Patrícia Fonseca

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

Paula Rendeiro

Especialista em Genética Humana da Ordem dos Biólogos

Paula Sobreira

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

Paulo Vieira

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Pedro Lacerda

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Rita Ribeiro

Especialista em Análises Clínicas da Ordem dos Biólogos

(LabGen-ANBIOQ)

Sílvia Lopo

Especialista em Análise Clínica da Ordem dos Biólogos

Soraia Pinto

Especialista em Embriologia / Reprodução Humana da Ordem dos Biólogos