

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

Avaliação do Desempenho de Métodos Qualitativos no Laboratório Clínico

Dissertação

Vilma Márcia de Oliveira Cordeiro

Orientadores:

Doutor Paulo António Rodrigues Pereira – Instituto Português do Sangue e da Transplantação -IPST

Doutora Ana Sofia Rodrigues Tavares – Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

Lisboa, 2023

Página intencionalmente deixada em branco

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

Avaliação do Desempenho de Métodos Qualitativos no Laboratório Clínico

Dissertação

Vilma Márcia de Oliveira Cordeiro

Orientadores: Doutor Paulo António Rodrigues Pereira
Doutora Ana Sofia Rodrigues Tavares

Júri:

Presidente: Doutora Edna Soraia Ribeiro – Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa

Arguente: Especialista Rúben Rodrigues Roque – Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil -IPO

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

Lisboa, 2023

Página intencionalmente deixada em branco

Agradecimentos

Um trabalho de mestrado é uma etapa importante, que ficará com certeza marcada na minha vida. Se por um lado me vou lembrar do grande desafio que representou, das incertezas e das dificuldades, por outro lado vou recordar-me do que aprendi e do quanto aumentei a minha capacidade de resiliência. A quem esteve presente e a quem deu o seu contributo, só me resta agradecer.

O mestrado foi um grande desafio que decidi abraçar e ao longo do caminho deparei-me com desafios que consegui ultrapassar devido a minha força de vontade e paixão que sempre tive na área da saúde, aprendi muito dentro da área que tanto me fascina.

A quem me acompanhou e deu o seu contributo em primeiro lugar aos meus orientadores, ao Professor Doutor Paulo Pereira e a Professora Doutora Ana Tavares que sempre me orientaram com a sua sabedoria, paciência e disponibilidade, contribuindo com o seu largo conhecimento para enriquecimento do trabalho e sempre motivando a não desistir, os meus colegas e amigos o meu agradecimento.

À minha família por acreditarem em mim e sempre apoiarem-me. Obrigada, também a Barbara Alves, um exemplo de amizade incentivando-me sempre no percurso deste mestrado a não desistir. A todos muito obrigada.

Página intencionalmente deixada em branco

A literatura refere que entre 60 a 70% das decisões clínicas baseiam-se em resultados laboratoriais, pelo que a contribuição dos resultados do laboratório para a decisão clínica é indubitável. As especificações de gestão e técnicas para os laboratórios clínicos estão publicadas na norma global ISO 15189 e englobam um conjunto de práticas que visam que os resultados laboratoriais favoreçam decisões clínicas adequadas.

O objectivo da dissertação será avaliar o desempenho dos testes qualitativos no laboratório clínico analisando a capacidade para corretamente serem classificadas as expressões qualitativas do objecto de estudo (avaliação do desempenho de um imunoensaio para rastreio do vírus da hepatite C em medicina transfusional). Esta avaliação reuniu um conjunto de metodologias, parcialmente transversais a todos os testes qualitativos. Para a realização deste estudo, utilizou-se uma metodologia assente numa abordagem que envolve um conjunto de modelos estatísticos complementares: sensibilidade clínica e especificidade clínicas, concordância de resultados, incerteza das proporções, curva da característica de operação do recetor, valor Delta e período de seroconversão. Para a avaliação do desempenho considerou-se o caso do rastreio de agentes microbiológicos utilizando resultados de amostras de indivíduos infetados pelo vírus da hepatite C e indivíduos saudáveis provenientes da base de dados do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P. Foram determinados critérios de elegibilidade com base, principalmente, na prevalência epidemiológica. Ao obter resultados de 100%, quer para a especificidade e sensibilidade clínicas, quer para concordância de resultados, estes sugerem, fundamentalmente, a adequação dos modelos de avaliação das especificações de desempenho em testes qualitativos. Assim, o estudo recomenda uma abordagem para a harmonização da avaliação da conformidade de testes qualitativos consistente com as boas práticas laboratoriais correntes.

Palavras-chave

avaliação do desempenho; vírus da hepatite C; especificidade clínica; sensibilidade clínica; legislação; teste qualitativo

Página intencionalmente deixada em branco

Abstract

According to the literature, laboratory results are used to make 60 to 70% of clinical decisions, so the contribution of laboratory results to clinical decision-making is undeniable. The management specifications and techniques for clinical laboratories are published in the global standard ISO 15189 and encompass a set of practices to ensure that laboratory results favor appropriate clinical decisions.

The objective of the dissertation is to evaluate the performance of qualitative tests in the clinical laboratory by analyzing the ability to correctly classify qualitative expressions of the object of study (evaluation of the performance of an immunoassay for screening the hepatitis C virus in transfusion medicine). This evaluation combined a set of methodologies, partially transversal to all qualitative tests.

For this study, we used a methodology based on an approach that involves a set of complementary statistical models: clinical sensitivity and clinical specificity, agreement of results, uncertainty of proportions, curve of the operation characteristic of the receptor, Delta value, and seroconversion period. For the evaluation of performance, we considered the case of screening for microbiological agents using results from samples of individuals infected by the hepatitis C virus and healthy individuals from the database of the Portuguese Institute of Blood and Transplantation, I.P. Eligibility criteria were determined based mainly on the epidemiological prevalence. The obtained results show a clinical specificity and sensitivity of 100%, along with a concordance of results. These findings suggest that the models used for evaluating performance specifications in qualitative tests are adequate. Therefore, the study recommends an approach to harmonizing conformity assessment of qualitative tests consistent with current good laboratory practice.

Key-words

performance evaluation; hepatitis C virus; clinical specificity; clinical sensitivity; legislation; qualitative test

Página intencionalmente deixada em branco

Índice geral

| | |
|---|-----|
| Índice de tabelas | i |
| Índice de figuras | iii |
| Lista de abreviaturas | v |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 2. Revisão da literatura | 5 |
| 2.1 Qualidade laboratorial e de dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> | 5 |
| 2.2 Especificações requeridas para a avaliação no contexto legislativo e ISO 15189 | |
| 2.2.1 Contexto legislativo..... | 7 |
| 2.2.2 Contexto ISO 15189 | 8 |
| 2.3 Avaliação do desempenho de dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> com expressão qualitativa | 10 |
| 2.3.1 Boas práticas laboratoriais | 10 |
| 2.3.2 Terminologia harmonizada para propriedades qualitativas | 12 |
| 2.3.3 Rastreabilidade da examinação | 13 |
| 2.3.4 Sensibilidade clínica e especificidade clínicas | 13 |
| 2.3.5 Concordância de resultados | 15 |
| 2.3.6 Incerteza das proporções | 15 |
| 2.3.7 Curva da característica de operação do recetor, <i>cutoff</i> em imunoensaios e limite de deteção em RT-PCR | 16 |
| 2.3.8 Valor Delta em imunoensaios..... | 17 |
| 2.3.9 Período de seroconversão..... | 18 |
| 2.4 A prática dos testes qualitativos de laboratórios clínicos em serviços de sangue e de medicina transfusional..... | 18 |
| 2.5 Rastreio de agentes transmissíveis em serviços de sangue: vírus da hepatite C | 20 |
| 3. Metodologia | 23 |
| 3.1 Caracterização e contextualização do estudo | 23 |
| 3.2 População alvo e estratégia de amostragem..... | 23 |

| | |
|--|----|
| 3.2.1 População | 23 |
| 3.2.2 Método de amostragem | 23 |
| 3.2.3 Critérios de inclusão | 23 |
| 3.2.4 Critérios de exclusão | 24 |
| 3.3 Instrumentos de recolha de dados | 24 |
| 3.4 Variáveis | 24 |
| 3.5 Tratamento e análise estatística dos dados..... | 25 |
| 3.5.1 Sensibilidade (Se) e especificidade clínicas (Sp) | 25 |
| 3.5.2 Concordância de resultados | 25 |
| 3.5.3 Incerteza das proporções | 26 |
| 3.5.4 Curva da característica de operação do recetor | 27 |
| 3.5.5 Valor Delta..... | 28 |
| 3.5.6 Período de seroconversão..... | 28 |
| 3.7 Considerações éticas e legais..... | 28 |
| 4. Resultados..... | 31 |
| 4.1 Sensibilidade clínica e especificidade clínicas e incerteza..... | 31 |
| 4.2 Concordância de resultados e incerteza..... | 32 |
| 4.3 Curva da característica de operação do recetor | 33 |
| 4.4 Valor Delta | 33 |
| 4.5 Período de seroconversão | 34 |
| 5 Discussão | 37 |
| 5.1 Limitações do estudo..... | 39 |
| 6 Conclusão..... | 43 |
| 6.1 Considerações finais | 43 |
| 6.2 Sugestões para estudos futuros..... | 43 |
| 7. Referências bibliográficas | 45 |
| 8.1 Anexo I - Resultados binários das amostras de doentes infetados pelo VHC para teste 1 (EIA) e teste 2 (EIA)..... | 53 |
| 8.2 Anexo II - Resultados binários das amostras de não doentes para teste 1 (EIA) e teste 2 (EIA) | 55 |

| | |
|--|----|
| 8.3 Anexo III - Parecer Ético do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P..... | 57 |
| 8.4 Anexo IV - Parecer do Conselho de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa..... | 58 |
| 9 Apêndices..... | 59 |
| 9.1 Cronograma do estudo..... | 59 |

Página intencionalmente deixada em branco

Índice de tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 4.1 Tabela de contingência 2x2 para a estimativa do desempenho clínico | 31 |
| Tabela 4.2 Desempenho clínico (exatidão clínica de 100%, IC [95%], 98 a 100%)..... | 32 |
| Tabela 4.3 Tabela de contingência 2x2 para a estimativa da concordância de resultados binários entre dois testes de rastreio do VHC. | 32 |
| Tabela 4.4 Desempenho clínico (concordância total de 100%, IC [95%], 98 a 100%). | 32 |
| Tabela 4.5 Valor Delta, médias e intervalos de confiança para sinais negativos e positivos em dois testes de rastreio do VHC. | 33 |
| Tabela 4.6 Número de dias de seroconversão para o EIA de rastreio anti-VHC (painel Seracare® (Milford, MA, EUA) PHV919)..... | 34 |

Página intencionalmente deixada em branco

Índice de figuras

| | |
|--|-----|
| Figura 2.1 Sete Princípios da Gestão da Qualidade (adaptado de (2))..... | 5 |
| Figura 2.2 Estrutura organizacional para falhas no serviço de saúde (adaptado (14)).. | 6 |
| Figura 2.3 Fatores para o risco de limitação do desempenho de testes de rastreio do SARS-Cov-2 na pandemia COVID-19 (adaptado de (17))..... | 7 |
| Figura 2.4 Abordagem por processos ISO15189 (adaptado de (20))..... | 9 |
| Figura 2.5 Requisitos para a qualidade e competência em laboratórios clínicos (adaptado de (21))..... | 10 |
| Figura 2.6 Curva ROC para um hipotético exame com área próxima de 1.0..... | 176 |
| Figura 4.1 Gráfico de bolhas para o número de resultados verdadeiros e falsos. | 31 |
| Figura 4.2 Gráfico de bolhas para o número de resultados concordante e não concordantes. | 32 |
| Figura 4.3 Curva ROC e AUC..... | 33 |
| Figura 4.4 Ilustração do valor Delta, médias e intervalos de confiança para sinais negativos e positivos em dois testes de rastreio do VHC. | 34 |
| Figura 4.5 Curva de seroconversão para o EIA de rastreio anti-VHC (painel Seracare® PHV919). | 35 |

Página intencionalmente deixada em branco

Lista de abreviaturas

| | |
|------------|--|
| Anti-VHC | Anticorpos anti-vírus da hepatite C |
| ARN | Ácido ribonucleico |
| AUC | Área sob a curva ROC |
| BIPM | Bureau International des Poids et Mesures |
| CITAC | Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry |
| CN | Concordância de resultados negativos |
| COVID-19 | Doença por coronavírus 2019 |
| CP | Concordância de resultados positivos |
| CTaLC | Comissão Técnica de Acreditação de Laboratórios Clínicos do Instituto Português de Acreditação |
| δ - | Delta negativo |
| δ + | Delta positivo |
| EIA | Imunoensaio enzimático |
| Es | Especificidade clínica |
| ESTeSL | Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa |
| IFCC | International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine |
| IPAC | Instituto Português de Acreditação |
| IPQ | Instituto Português da Qualidade |
| IPST | Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P. |
| ISO | Organização Internacional de Normalização |
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry |
| LoD | Limite de deteção |
| LI | Limite inferior |
| LS | Limite superior |
| MBPL | Manual de Boas Práticas Laboratoriais de Patologia Clínica ou Análises Clínicas |
| NP | Norma Portuguesa |
| PALOP | Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa |
| RIBA | Imunotransferência recombinante |
| ROC | Curva da característica de operação do recetor |
| RT-PCR | Reação em cadeia da polimerase em tempo real |
| SARS-Cov-2 | Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 |
| Se | Sensibilidade clínica |
| SGQ | Sistema de gestão da qualidade |
| SIDA | Síndrome de Imunodeficiência Adquirida |
| TAN | Testes de amplificação de ácidos nucleicos |
| VHC | Vírus da hepatite C |
| VIM | Vocabulário Internacional de Metrologia |

Página intencionalmente deixada em branco

1. Introdução

Em Portugal os laboratórios clínicos (também referido na legislação como «laboratórios de patologia clínica ou análises clínicas») são regulados pela Portaria n.º 392/2019 de 5 de novembro, que estabelece os requisitos mínimos relativos ao licenciamento, instalação, organização e funcionamento, recursos humanos e instalações técnicas dos laboratórios clínicos, assim como, dos respetivos postos de colheitas (1).

A Organização Internacional de Normalização (ISO) define qualidade como o "grau de satisfação de requisitos dados por um conjunto de características intrínsecas de um objeto" (p.24 de (2)). Consideremos o exemplo dum serviço prestado em cuidados de saúde. O "conjunto de características intrínsecas", ou seja, desse serviço, só terá um grau de qualidade aceitável se satisfazer os requisitos pré-estabelecidos, por exemplo pela legislação.

As especificações de gestão e técnicas para os laboratórios clínicos estão publicadas na norma global ISO 15189, publicada a versão em Portugal da 2.^a edição pelo Instituto Português da Qualidade (IPQ) em 2014 (3). Esta Norma foi publicada pela primeira vez em 2003, tendo sido revista em 2007, 2012 e 2022. Nesta dissertação referir-nos-emos à 3.^a edição (2012/2014), dado ser a presente edição da Norma Portuguesa.

A literatura refere que entre 60 a 70% das decisões clínicas baseiam-se em resultados laboratoriais (4). Apesar do rigor deste intervalo ter sido discutido (5), a contribuição dos resultados laboratoriais analíticos para a decisão clínica é inquestionável. De acordo com Bonini *et al.*, (6).entre 62,4 e 86,7% das falhas sucederam nas fases pré- e pós-exame. Por outro lado, na fase de exame sucedem entre 13,3 e 31,6% das falhas (6).

De acordo com estes achados, poderemos entender que ao reportar resultados qualitativos num processo com falhas de segurança, haverá um risco crítico de reportar falsos resultados. Este tipo de falhas poderá contribuir para erros graves em cuidados de saúde, tais como decisões clínicas incorretas. Estas falhas devem estar sujeitas a uma política de tratamento de ocorrências. A sua frequência depende da implementação bem-sucedida de um sistema de gestão da qualidade (SGQ) laboratorial (3).

A avaliação do desempenho de um dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* pode ser compreendida como a avaliação de um dispositivo através de técnicas estatísticas de controlo da qualidade. Estas técnicas incluem verificação¹ e validação², controlo de qualidade interno na secção 5.6.2.3 de (3), comparações interlaboratoriais, tal como, um programa de avaliação externa da qualidade, na secção 5.6.3 de (3), incerteza da medição (em testes quantitativos) na secção 5.5.1.4 de (3) e incerteza das proporções (em testes qualitativos, também referidos por “exames”) p. 18 de (7)).

O âmbito deste estudo enquadra o laboratório clínico no seu contexto legal e normativo. Será dado foco aos modelos para avaliação do desempenho de métodos qualitativos, os quais visam a mitigação do risco de reportar falsos resultados binários (falsos positivos / falsos negativos).

Na origem deste estudo esteve a seguinte questão de investigação: “Qual é a importância da avaliação do desempenho de métodos qualitativos no laboratório clínico para a veracidade dos resultados reportados?” Os objetivos do estudo foram definidos com base na questão de investigação. Assim, considerámos o objetivo geral:

- Avaliar o desempenho de métodos qualitativos no laboratório clínico, enquanto suporte à implementação de boas práticas em contexto laboratorial para deteção do VHC.

Para cumprir o objetivo geral, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- Analisar as especificações requeridas para a avaliação no contexto legislativo e ISO 15189;
- Identificar as metodologias para avaliação do desempenho de métodos qualitativos no laboratório clínico;
- Avaliar o desempenho de métodos qualitativos na deteção do VHC e;
- Comparar o desempenho em diferentes testes qualitativos.

A demonstração dos modelos de avaliação do desempenho envolverá resultados binários dum imunoensaio enzimático (EIA) para a deteção de anticorpos anti-vírus da hepatite C (anti-VHC) de 4.^a geração (G4).

Esta dissertação foi redigida segundo as normas de orientação da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (ESTeSL), encontra-se separada por capítulos e

¹ «Os procedimentos de exame validados sem modificações devem ser objeto de verificação independente pelo laboratório antes de serem introduzidos na rotina» (5.5.1.2 de (3))

² «O laboratório deve validar os procedimentos de exame, das seguintes proveniências: a) métodos não normalizados; b) métodos concebidos ou desenvolvidos pelo laboratório; c) métodos normalizados utilizados fora do âmbito de utilização previsto; d) métodos validados e posteriormente modificados.» (5.5.1.3 de (3))

subcapítulos. No capítulo “Introdução” encontra-se uma breve apresentação da temática em estudo, bem como a questão de investigação e os objetivos definidos para o estudo. No capítulo “Revisão da Literatura” situa-se o enquadramento teórico na base da investigação. De seguida, no capítulo “Metodologia” está descrita toda a fase metodológica: a definição da duração do estudo, o método de amostragem e os critérios de seleção das amostras humanas, as variáveis de investigação, a recolha de dados e o seu tratamento e ainda outras considerações. Os resultados obtidos estão apresentados no capítulo “Resultados” e a interpretação dos mesmos é feita no capítulo seguinte “Discussão”. O capítulo “Conclusão” compreende as considerações finais do estudo.

Página intencionalmente deixada em branco

2. Revisão da literatura

2.1 Qualidade laboratorial e de dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro*

A Norma Portuguesa ISO 9001 para certificação de sistemas de gestão (8) integra os Sete Princípios da Gestão da Qualidade constantes na ISO 9000 (2). Estes princípios estão reunidos na Figura 2.1 e devem ser compreendidos como inter-relacionados ou interatuantes, dependendo destes a qualidade dos requisitos, não só de gestão, mas também técnicos, mesmo não sendo a ISO 9001 uma norma técnica.

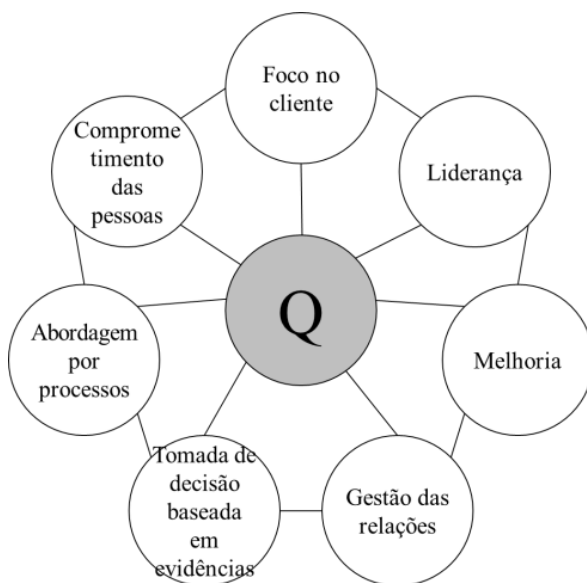


Figura 2.1 Sete Princípios da Gestão da Qualidade (adaptado de (2)).

A discussão acerca do impacto das falhas de segurança nos cuidados de saúde foi exposta em 2000 por Kohn *et al* (9). Quando extrapolamos os resultados do estudo norte-americano nos estados de Colorado e Utah relativos a mais de 33,6 milhões de internamentos em hospitais em 1997, estes associam-se, a pelo menos, 44 000 americanos que morreram como resultado de erros médicos. Os resultados deste estudo sugerem que o número pode ter chegado a 98.000. Mesmo usando a estimativa mais baixa, as mortes por erros médicos excederam o número atribuível à 8.^a causa de morte nos Estados Unidos. Neste período morreram mais pessoas por erros médicos do que de acidentes rodoviários (43 458), cancro da mama (42 297) ou SIDA (16 516). Este estudo expôs a criticidade do controlo da qualidade dos serviços prestados nos sistemas de saúde para uma prestação com nível de qualidade aceitável. Outro estudo destacou, também, o papel das falhas de segurança nos

cuidados de saúde, através da qualidade dos serviços prestados (10). Neste estudo é abordada a lógica do efeito das falhas de segurança, as quais contribuem para os erros médicos e estas para as falhas de qualidade, e, conseqüentemente, para as falhas nos cuidados, o que põe em causa a segurança do doente (ver Figura 2.2).



Figura 2.2 Estrutura organizacional para falhas no serviço de saúde (adaptado de (10)).

Os recipientes de amostras são igualmente considerados dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro*» (Artigo 2.º, 2 de (11)).

A importância da avaliação do desempenho dum dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* foi demonstrada durante a pandemia COVID-19 (12). Falsos resultados reportados associaram-se a alto risco de diagnósticos incorretos. Na verdade, a limitação na veracidade dos resultados reportados deveu-se, fundamentalmente, à necessidade de disponibilidade rápida de novos testes, tendo os requisitos de controlo de qualidade passado para nível de “autorização de uso de emergência”. Neste cenário, o fornecimento de testes sob pressão, principalmente, mas não só, por novos fabricantes ou concebidos ou desenvolvidos pelo laboratório, levou à introdução no mercado de testes com fraco nível de desempenho. Acrescentou-se ainda as fortes limitações da matriz de competências de técnicos de laboratório, principalmente, aquando da execução de exames por profissionais sem competência adequada, tal como no caso de testes de ácidos nucleicos (17,18). A Figura 2.3 ilustra as limitações na pandemia dos testes de rastreio, as quais contribuíram para risco de decisão clínica incorreta devido a fraco desempenho.

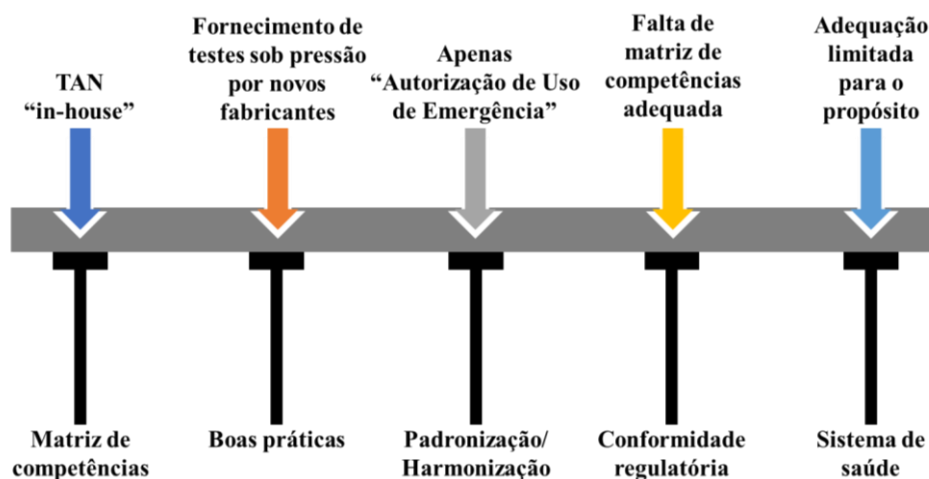


Figura 2.3 Fatores para o risco de limitação do desempenho de testes de rastreio do SARS-Cov-2 na pandemia COVID-19 (adaptado de (13)).

2.2 Especificações requeridas para a avaliação no contexto legislativo e ISO 15189

2.2.1 Contexto legislativo

A Portaria n.º 392/2019 considera os “laboratórios de patologia clínica ou análises clínicas” como “as unidades onde se realizem exames que contribuem para o diagnóstico, tratamento, monitorização ou prevenção de doenças humanas ou qualquer modificação do estado de equilíbrio fisiológico”. O Artigo 8.º desta Portaria, “Regulamento interno dos laboratórios de patologia clínica ou análises clínicas” requer que os laboratórios de patologia clínica possuam um plano de participação em programas de avaliação externa da qualidade, sempre que existam, assim como, procedimentos de controlo de qualidade. O Artigo 9.º, ainda desta Portaria, “Registo, conservação e arquivo”, requer, a conservação, durante um período mínimo de cinco anos, dos resultados dos programas de avaliação externa da qualidade, cartas de controlo e registos de cartas de controlo, assim como, acordos de colaboração com outros laboratórios e demonstração do seu sistema de qualidade. É requerido, também, a conservação, pelo mesmo período, dum plano de participação em programas de avaliação externa da qualidade (1).

É condição de funcionamento dum laboratório de patologia clínica, o cumprimento dos requisitos que permitam a garantia da qualidade técnica dos exames a prestar, segundo Manual de Boas Práticas Laboratoriais de Patologia Clínica ou Análises Clínicas (MBPL) (14), assim como, dos seus equipamentos. Assim, para se garantir a qualidade dos laboratórios clínicos e respeitar a privacidade e confidencialidade da

informação de saúde e dos utentes, segundo a Portaria n.º 392/2019, os laboratórios devem considerar, ainda, os requisitos descritos neste Manual, o qual foi aprovado pelo despacho n.º 10009/2019, Diário da República n.º 212/2019, Série II de 2019-11-05. Esta Portaria envolve a implementação de um sistema de qualidade em todos os laboratórios, públicos, privados ou sociais - que executem exames laboratoriais no âmbito da patologia clínica/análises clínicas. É requerido o registo escrito de todos os procedimentos. São abrangidas todas as fases laboratoriais, incluindo o pedido de análise, assim como, a disponibilização dos resultados e a sua discussão entre o médico prescritor e equipa médica envolvida. Sem prejuízo do estabelecido no MBPL, é da responsabilidade do Diretor Técnico, velar pela qualidade dos exames efetuados.

2.2.2 Contexto ISO 15189

O Instituto Português de Acreditação (IPAC) é a agência Portuguesa responsável pela acreditação de laboratórios, incluindo os laboratórios clínicos, neste caso pela ISO 15189. Para obter apoio e aconselhamento técnico às suas atividades, o IPAC determina Comissões Técnicas e Grupos de Trabalho, envolvendo peritos e representantes das partes interessadas. A Comissão Técnica de Acreditação de Laboratórios Clínicos (CTaLC) tem como objetivo a discussão, harmonização e otimização de políticas, metodologias e critérios de acreditação de laboratórios clínicos. O IPAC publicou em 2017 o documento OGC004 - “Guia para a aplicação da NP EN ISO 15189”. O objetivo deste guia é orientar sobre a implementação dos requisitos da norma NP EN ISO 15189:2014, a qual estabelece diretrizes a seguir pelos avaliadores desta agência, laboratórios acreditados e candidatos à acreditação. À semelhança dos guias ISO, os requisitos estão associados à forma verbal “deve” ou “devem”. Por outro lado, “interpreta-se” e “considera-se” refere-se a notas interpretativas, “pode” e “por exemplo” a exemplos de cumprimento de requisitos e “recomenda-se”, “convém” e “deverá” a recomendações de carácter não vinculativo. Assim, podemos entender os requisitos do documento OGC004 como obrigatórios para a acreditação bem-sucedida de laboratórios clínicos pela ISO 15189 em Portugal ou noutros países que requeiram acreditação pelo IPAC, como no caso dos Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa (PALOP).

A ISO 15189 contempla uma abordagem por processos, isto é, conjuntos “de atividades inter-relacionadas ou interatuantes que utiliza entradas para disponibilizar um resultado pretendido” (2). Esta abordagem é similar à da ISO 9001, pelo que um laboratório clínico em fase de acreditação pela ISO 15189, mas certificado pela ISO 9001, não necessitará de ter a sua abordagem de processos auditada para efeitos desta acreditação. A Figura 2.4 representa um exemplo duma abordagem por

processos conforme, quer com a ISO 9001 quer com a ISO 15189, a qual requer três fases (pré-exame, exame e pós-exame) inter-relacionadas ou interagentes. Para uma visão mais detalhada dos requisitos de gestão ISO 15189, consultar p. 11 de (3).

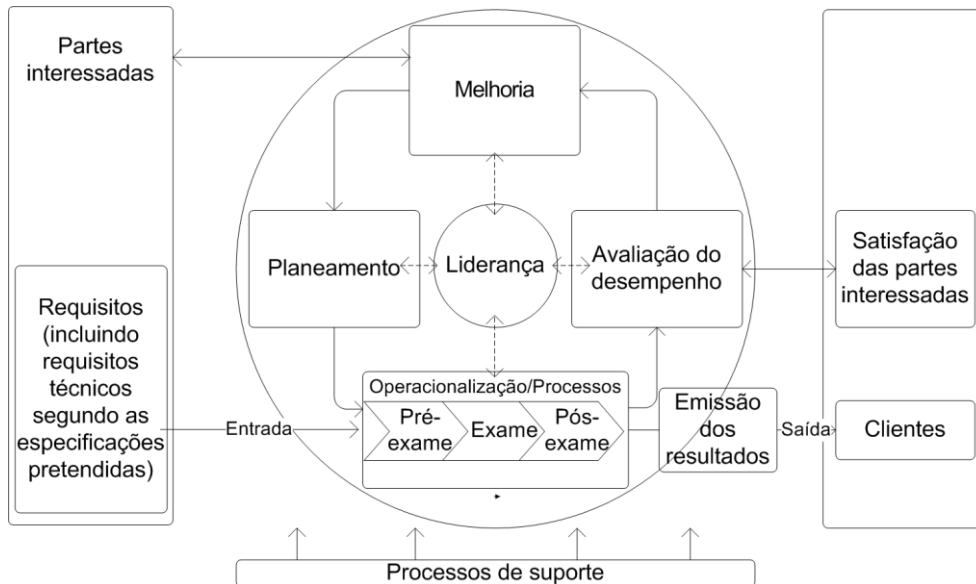


Figura 2.4 Abordagem por processos ISO15189 (adaptado de (15)).

A ISO 15189 possui requisitos específicos que auxiliam na gestão da competência nos laboratórios, assim como, em termos de segurança, disponibilidade e proteção de dados, refletindo-se numa melhoria dos processos laboratoriais, visando a satisfação das partes interessadas, tal como os pacientes. Pretende-se que os laboratórios ao implementarem a Norma ISO 15189 sejam capazes de controlarem robustamente os seus processos, pré-exame/pré-analíticos, exame/analíticos e pós-exame/pós-analíticos (3), assim como, identificar precocemente potenciais causas de falhas, identificando oportunidades de melhoria através do envolvimento e capacitando a sua equipa de técnicos.

As especificações técnicas do laboratório clínico estão presentes numa série de subsecções que se associam diretamente ao contexto deste estudo. As especificações presentes na subsecção 5.5 incluem os requisitos para seleção, verificação e validação dos procedimentos de exame, o qual contempla a incerteza de medição dos valores quantitativos medidos e os intervalos de referência biológicos ou valores de decisão clínica. Por outro lado, refere na subsecção 5.6, ainda, a garantia da qualidade dos resultados dos exames. Esta subsecção integra as especificações relativas aos materiais de controlo da qualidade, dados do controlo da qualidade, comparações interlaboratoriais, bem como a comparabilidade dos resultados dos exames. Estes subcapítulos são aqueles que se associam diretamente no contexto

deste estudo, pelo que serão citados ao longo do texto. A Figura 2.5 sumariza estes requisitos, contemplando o seu contributo para a qualidade laboratorial (“Q”). O desempenho dos dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* pode ser limitado, não só, por variáveis do processo de exame, como por outras variáveis externas a este processo. Como são os casos das relacionadas com pessoal, instalações, equipamento e processo de pré-exame e mesmo de gestão. Por exemplo, limitadas por mau desempenho (matriz de competências desadequada), instalações com condições inadequadas (temperatura, humidade, rede elétrica), equipamento sem plano de manutenção, conservação de reagentes inadequada, amostras fora de controlo assim como orçamento insuficiente (16).

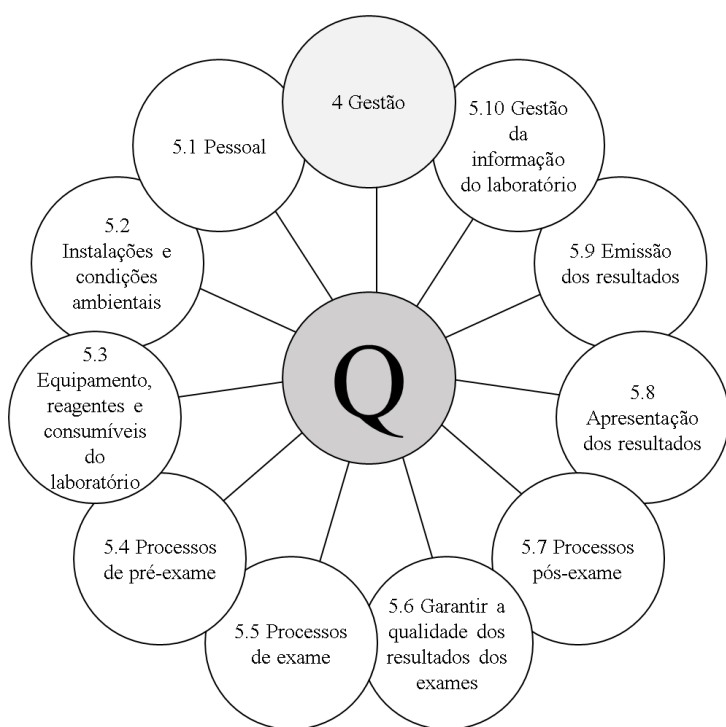


Figura 2.5 Requisitos para a qualidade e competência em laboratórios clínicos (adaptado de (16)).

2.3 Avaliação do desempenho de dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* com expressão qualitativa

2.3.1 Boas práticas laboratoriais

Os testes em laboratórios clínicos que reportam resultados que expressam uma propriedade de um fenómeno, corpo ou substância, onde a propriedade não tem tamanhos são reconhecidos como “qualitativos” (17). Por exemplo, resultados binários (positivo/negativo, presente/ausente), grupo sanguíneo ABO e cariótipo. As expressões

“qualitativas” podem ser propriedades nominais, com valores que não têm tamanho, ou quantidades ordinais, incluindo quantidades ordinárias binárias, como as que têm “não/sim” ou “0/1” valores que podem ser ordenados pelo tamanho. Exemplo duma propriedade nominal é o grupo A obtido por aglutinação numa lâmina (aglutina/não aglutina). Exemplo duma quantidade ordinal é o resultado positivo de anticorpos anti-Virus Hepatite C (VHC). Neste exemplo, o resultado binário é classificado em função da ordem do sinal numa escala em função do ponto de decisão clínica (*cutoff*). Este sinal pode ser, por exemplo, absorvância, número de fotões e s/co (rácio do sinal da amostra em relação ao sinal do *cutoff*). Se o resultado do sinal for \geq *cutoff*, classifica-se como positivo, se for $<$ *cutoff*, como negativo (15).

Assim, o resultado qualitativo reportado pelo laboratório clínico, tais como verdadeiro/falso, positivo/negativo, tem como propósito serem utilizados em decisões clínicas, uma vez que o diagnóstico assentará na veracidade destes resultados. As metodologias para avaliação do desempenho de métodos que expressem resultados qualitativos visam assegurar que o risco de serem falsos é controlado (18). Estas metodologias, para avaliação de métodos no laboratório clínico, compreendem a seleção, verificação ou validação, controlo de qualidade interno e externo, assim como cálculo de incerteza (19). Os princípios destas avaliações assentam, fundamentalmente, em probabilidades Bayesianas, sensibilidade e especificidade clínicas, na incerteza associada a estas proporções e na concordância de resultados (11,20,24).

A avaliação do desempenho de testes qualitativos, é assim, um dos requisitos pilar da garantia de qualidade dos resultados reportados pelo laboratório clínico. Esta avaliação visa medir a probabilidade de serem reportados resultados qualitativos verdadeiros, isto é, verdadeiros positivos e verdadeiros negativos (20). A capacidade do método para classificar verdadeiros resultados é avaliada, não só em função da fase analítica (p. 37 de (19)), mas também se são adequados à utilização pretendida para esse exame. Por exemplo, segurança na decisão clínica ou segurança pós-transfusional (18).

De facto, a avaliação do desempenho pode ser traduzida pela avaliação da probabilidade de reportarmos resultados verdadeiros (veracidade) (18). A identificação pelo laboratório, agência reguladora ou fabricante dos valores mínimos de sensibilidade e especificidade clínicas podem ser interpretadas como a probabilidade/risco de reportar falsos resultados (p. 1 de (15)).

Os testes normalizados, isto é, disponíveis no mercado após triados/autorizados pelo organismo de notificação/regulação, devem ser executados de acordo com a literatura regulada (“bulas” do fabricante) segundo boas práticas laboratoriais (14).

A veracidade dos resultados qualitativos pode ser afetada por diversos fatores (18), nem todos controláveis pelo laboratório clínico. Por exemplo, equipamentos e dispositivos associados, reagentes, matrizes das amostras de controlo, representatividade epidemiológica de painéis para avaliação do desempenho, perícia dos técnicos, condições ambientais, erros e incertezas de dispositivos de monitorização e medição e condições do transporte das amostras (p. 23 de (15)). O laboratório deve fazer a gestão da avaliação do desempenho consoante o tempo e recursos disponíveis, dependendo destes a robustez clínica e estatística da sua avaliação (11,24).

Assim, podemos facilmente reconhecer a importância da harmonização das boas práticas laboratoriais na avaliação do desempenho de dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* que expressam uma propriedade qualitativa, ou mesmo que expressem resultados quantitativos (p. 35 de (15)).

2.3.2 Terminologia harmonizada para propriedades qualitativas

O Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), publicou a tradução da 3.º edição em português traduzido pelo IPQ e InMEtro (Brasil) do vocabulário harmonizado pelo *Bureau International des Poids et Mesures* (BIPM) (21). Na metrologia “medição” associa-se a grandezas (medição da grandeza) e o “exame” a propriedades qualitativas (exame duma propriedade qualitativa) (17).

O VIM define propriedade qualitativa como a “propriedade dum fenómeno, corpo ou substância, a qual não pode ser expressa quantitativamente.” (p. 16 de (22)). Por exemplo, o sexo dum ser humano. O valor duma propriedade qualitativa não deve ser confundido com o valor nominal duma grandeza, o qual é definido como “valor arredondado ou aproximado duma grandeza característica dum instrumento de medição ou dum sistema de medição, o qual serve de guia para sua utilização apropriada” (4.6 de (22)), por exemplo, valor -20 °C de temperatura Celsius máxima para armazenamento. O VIM define, fundamentalmente, termos quantitativos, sendo a terminologia limitada a “propriedade qualitativa” (22).

A *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) e a *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) publicaram o “Vocabulário em propriedades qualitativas, examinação e conceitos relacionados com ciências clínico-laboratoriais” (“Vocabulary on nominal property, examination, and related concepts for clinical laboratory sciences”) (17) (Recomendações IFCC-IUPAC 2017). Este guia pretende harmonizar a terminologia relativa a propriedades qualitativas no laboratório clínico. Contudo, este vocabulário trata, somente, de propriedades qualitativas, ou seja, a qual não pode ser expressa quantitativamente.

Não se aplica a grandezas ordinais, as quais são definidas no VIM como “grandezas, definida por um procedimento de medição adotado por convenção, que pode ser ordenada com outras grandezas de mesma natureza, de acordo com a ordem crescente ou decrescente das suas expressões quantitativas, mas para a qual não há qualquer relação algébrica entre estas grandezas” (p. 14 de (22)). As grandezas ordinais somente podem aparecer em relações empíricas e não têm unidades de medida nem dimensões. As grandezas ordinais são organizadas de acordo com as escalas ordinais, isto é, uma “escala de valores para grandezas ordinais” (p. 14 de (22)), podendo ser estabelecida por medições, conforme um procedimento de medição. O termo “escala de valores” é definido como o “conjunto ordenado de valores de grandezas duma determinada natureza, utilizado para classificar grandezas desta natureza de acordo com as suas expressões quantitativas” (p. 14 de (22)). Assim, as grandezas ordinais binárias, tais como “sim/não”, “positivo/negativo”, “0/1”, nos quais os valores de grandezas são ordenados de acordo com a ordem crescente ou decrescente das suas expressões quantitativas, não são focadas nesta Recomendação IUPAC (17).

2.3.3 Rastreabilidade da examinação

Nos testes qualitativos os resultados devem ser rastreáveis a uma determinada condição. Neste tipo de exame, as amostras não são, na quase totalidade, metrologicamente rastreáveis (10). Contudo, devem ser clinicamente rastreáveis. Por exemplo, as amostras de indivíduos infetados e saudáveis devem ser rastreáveis ao seu diagnóstico (infetado/saudável) (p. 43-44 de (20)). Se não o forem, não será possível determinar o desempenho clínico dos resultados através da sensibilidade e especificidade clínicas. Neste caso, só será possível determinar a concordância entre resultados do novo teste (ou teste em reavaliação) e dum teste comparativo (p. 48 de (20)).

2.3.4 Sensibilidade clínica e especificidade clínicas

A pandemia COVID-19 expôs que os primeiros testes comercializados, muitos por novos fabricantes, tinham um desempenho pobre, como baixa probabilidade de serem reportados verdadeiros resultados, principalmente verdadeiros positivos (baixa sensibilidade clínica ou diagnóstica) (13). Estes testes eram maioritariamente imunoensaios, os quais, além de problemas críticos de conceção, têm um período de seroconversão de cerca de duas semanas (p. 102 de (15)). Os testes de amplificação de ácidos nucleicos (TAN), principalmente testes de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR), montados em laboratórios sem prática deste tipo de testes

“qualitativos”, trouxe diversas falhas na fase pré-analítica (preparação da amostra) relativas a contaminação, apesar do “curto” “período de incubação” (aproximadamente, cinco dias) o que levou a serem reportados um grande número de falsos positivos, principalmente, por contaminação das amostras negativas por pelo menos uma amostra positiva, por más práticas de pipetagem ou higiene. Neste período surgiu a necessidade de abordagens adequadas num início epidémico e testes com desempenhos adequados para rastreio e vigilância epidemiológica (13).

O desempenho é avaliado através de probabilidades Bayesianas (23). Sumariamente, a exatidão diagnóstica permite conhecer a probabilidade de resultados verdadeiros, numa dada amostra de indivíduos com uma determinada condição e indivíduos sem essa condição. Por outro lado, a sensibilidade clínica mede a proporção de resultados verdadeiros positivos numa amostragem de indivíduos com uma determinada condição, tal como infetados. A sensibilidade é limitada pelo número de falsos resultados negativos. Por seu lado, a especificidade clínica mede a proporção de resultados de verdadeiros negativos numa amostragem de indivíduos sem a condição, por exemplo, saudáveis. A especificidade é limitada pelo número de falsos resultados positivos (p. 44 de (20)).

Quando se define um novo teste qualitativo, como por exemplo para rastreio do SARS-CoV-2 por RT-PCR, devemos selecionar que teste ou método e desempenho pretendemos. O desempenho num teste ideal deveria ser igual a 100% para ambas as proporções, contudo, este valor é limitado pelo *tradeoff* entre a sensibilidade e especificidade clínicas. Isto é, a subida numa implica a diminuição da outra proporção. Assim, o laboratório clínico deverá selecionar o “100%” (melhor proporção) em função da utilização pretendida para esse exame (24). Por exemplo, num serviço de sangue favorecer-se-á a sensibilidade clínica em detrimento da especificidade clínica, dado ser mais importante garantir um baixo risco de infeção pós-transfusional, mesmo que isso implique excluir algumas dádivas de doadores por falsos resultados positivos saudáveis (11)

As proporções de resultados verdadeiros, como no caso da sensibilidade e especificidade clínicas, são transversais a todas as avaliações do desempenho de testes qualitativos, independentemente do seu tipo de método. Contudo, para determinados testes existem parâmetros específicos (25). Por exemplo, parâmetros complementares para a determinação do “melhor” *cutoff* em imunoensaios ou na identificação do limite de deteção (LoD) (p. 10 de (26)) em RT-PCR (27).

Os resultados verdadeiros e falsos permitem também calcular valores preditivos para as amostras, os valores preditivos positivos e negativos são influenciados pelo número de verdadeiros positivos e falsos positivos, e verdadeiros negativos e falsos negativos,

respetivamente, assim como pela prevalência da doença na população que está a ser testada (p. 44 de (20)). Enquanto a avaliação da sensibilidade e especificidade clínicas são críticas para avaliarmos o desempenho dos exames no contexto laboratorial, os valores preditivos são críticos na decisão clínica, pelo que não serão considerados neste estudo.

2.3.5 Concordância de resultados

Sempre que não seja possível termos amostras com diagnóstico conhecido, tal como no caso de patologias raras ou patologias com baixa prevalência, alternativamente, poderemos calcular a concordância de resultados binários. Neste caso, os resultados do exame em avaliação serão comparados com um exame comparativo.

Por sua vez, em alternativa à sensibilidade clínica iremos determinar a concordância de resultados positivos e alternativamente à especificidade clínica iremos determinar a concordância de resultados negativos. O termo “falso” é, assim substituído por discordante ou não concordante. Contudo, caso o exame comparativo tenha um desempenho clínico inferior ao novo teste, as concordâncias poderão classificar o desempenho do novo teste erroneamente. Isto requer que o exame comparativo tenha um desempenho clínico suficientemente robusto para que possamos ter estimativas igualmente robustas. A estimativa das concordâncias de resultados, assentarão em modelos matemáticos similares aos da sensibilidade e especificidade clínicas.

Assim, sempre que não seja possível determinar a sensibilidade e especificidade clínicas, isto é, sempre que tenhamos amostras em que saibamos, unicamente, o resultado dum exame comparativo; poderemos usar, alternativamente, a concordância de resultados.

Sempre que o exame comparativo seja um *gold-standard*, isto é, um exame para o qual os resultados permitam diagnóstico direto, deveremos considerar os seus resultados como diagnóstico, determinando a sensibilidade e especificidade clínicas (p. 41 de (20)).

2.3.6 Incerteza das proporções

A Norma ISO 15189 exige na secção 5.5.1.4 que os laboratórios médicos determinem a incerteza dos resultados e definam os requisitos de desempenho para incerteza de medição efetuando uma revisão periódica das suas estimativas de incerteza de medição (19). Este tipo de incerteza, como referido na subsecção [2.2.2](#), envolve somente testes que reportem resultados quantitativos.

Contudo, poder-se-á utilizar a incerteza de medição em quantidades ordinais, incluindo quantidades ordinárias binárias, para a determinação da zona equívoca ou de

indeterminados, também reconhecida como “zona cinzenta” (28). Poder-se-á interpretar esta zona como o intervalo de resposta contínua em torno do *cutoff* e dentro do qual o resultado final não pode ser relatado como positivo ou negativo, mas sim como, “indeterminado” (classificação ternária) (p. 5 de (20)).

O guia CITAC/Eurachem para avaliação do desempenho de testes qualitativos introduziu a “incerteza das proporções” (p. 18 de (7)), o qual assentou em estudos prévios (28), nos quais foi referida como “incerteza da condição”. A incerteza das proporções é representada pelo intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para a sensibilidade e especificidade clínicas (p. 90 de (15)). Assim, e tomando como exemplo a sensibilidade clínica, a extensão do intervalo relaciona-se com o número de amostras e de falsos resultados negativos. A incerteza das proporções permite avaliar a robusteza das proporções estimada assim como o risco de estas reportarem falsos resultados, mesmo quando sejam de 100% (29).

2.3.7 Curva da característica de operação do recetor, *cutoff* em imunoensaios e limite de deteção em RT-PCR

A curva da característica de operação do recetor (curva ROC) permite avaliar o desempenho clínico através da ilustração do desempenho dum teste com classificações binárias (30). A curva ROC resulta da representação da proporção de verdadeiros positivos em relação ao número de indivíduos com determinada condição, tal como infetados versus a proporção de falsos positivos em relação ao número de indivíduos sem a condição, tal como indivíduos saudáveis, para diversos pontos candidatos a *cutoff* (24). A área sob a curva ROC (AUC) permite estimar o risco de classificação incorreta das amostras (31). A Figura 2.6 representa um exemplo de uma curva ROC. A classificação sugerida por Hosmer Jr *et al.* (32) contempla cinco níveis:

- $0,5 < AUC < 0,7$ → discriminação fraca, “igual ao lançarmos uma moeda”;
- $0,7 \leq AUC < 0,8$ → “discriminação aceitável”;
- $0,8 \leq AUC < 0,9$ → “discriminação excelente” e;
- $0,9 \leq AUC \leq 1,0$ → “discriminação excecional”.

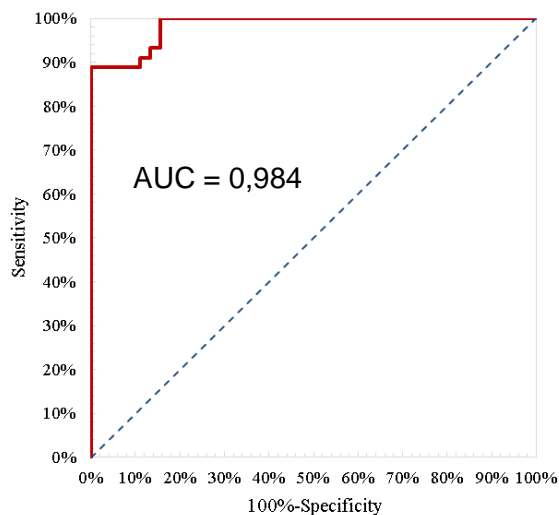


Figura 2.6 Curva ROC para um hipotético exame com área próxima de 1.0 (Microsoft® Excel® LTSC MSO (Version 2111 Build 16.0.14701.20206) (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA) (2021)).

Legenda: — curva ROC; - - - - AUC = 0,5

Assim, para cada possível ponto de *cutoff* é conhecido o *tradeoff* entre a sensibilidade e especificidade clínicas. Isto permite ao laboratório selecionar o “melhor” *cutoff* em função da utilização pretendida para esse exame (24). Por exemplo, num serviço de sangue, os possíveis pontos de *cutoff* deveriam ter uma sensibilidade clínica de 100%, pelo que o *tradeoff* favorecerá esta proporção (p. 127 de (15)).

O limite de deteção (LoD) permite identificar em RT-PCR, o ponto a partir do qual se prevê ter 95% de verdadeiros positivos, C_{95} (sensibilidade clínica, reconhecida neste tipo de método como “hit rate”), através dum modelo “Probit”. Este é um modelo estatístico utilizado na análise de regressão para modelar e prever variáveis binárias (p. 22 de (26)). O ponto C_{95} é similar ao *cutoff* em imunoensaios, sendo o ponto de classificação clínica do mensurando, por exemplo UI RNA por mL de plasma (p. 28 de (20)).

2.3.8 Valor Delta em imunoensaios

A verificação do valor Delta foi proposta pela primeira vez durante a década de 70 por Crofts (33), sendo uma ferramenta estatística para controlo do risco de classificação errada (falsos resultados) devido a sinais (numa escala ordinal) próximos do *cutoff* em imunoensaios. Assim, no contexto da avaliação do desempenho, medem-se o Delta negativo (δ_{neg}) e o Delta positivo (δ_{pos}), respetivamente para sinais de amostras de indivíduos saudáveis (risco de falsos positivos) e amostras de indivíduos com uma determinada condição (risco de falsos negativos).

2.3.9 Período de seroconversão

O período de seroconversão é o intervalo de tempo entre a infeção por um determinado agente patogénico, como um vírus, e a deteção de anticorpos específicos para esse agente (p. 102 de (15)). Durante esse período, o sistema imunológico responde à infeção e produz anticorpos para combater o agente invasor; contudo, o título (nível) de anticorpos é classificado como (falso) negativo (34).

O período de seroconversão varia dependendo do agente infeccioso, do indivíduo infetado e da sensibilidade analítica do exame, isto é, a capacidade de detetar concentrações muito baixas de uma determinada substância numa amostra biológica, sendo frequentemente referida também como LoD (p. 47 de (35)). Em alguns casos, pode ocorrer rapidamente, em questão de dias ou semanas, enquanto em outros casos pode levar meses (36).

Após a seroconversão, os testes de deteção de anticorpos, geralmente, reportam resultados positivos, indicando a presença dos anticorpos específicos para o agente infeccioso. Além disso, em alguns casos, os anticorpos podem permanecer detetáveis por um longo período de tempo, mesmo pós-infeção (p. 102 de (15)).

É fundamental entender que o período de seroconversão pode ter implicações importantes na interpretação dos resultados dos testes, assim como no diagnóstico de infeções “recentes” (18). Caso tenha havido um alto risco de exposição ao agente, é recomendado repetir os testes posteriormente para confirmar o resultado e garantir uma avaliação adequada do indivíduo (37). No caso de candidatos a dadores de sangue, a possível exposição aos agentes impossibilitará a dádiva para componentes benévolo (42,43). Neste contexto foi proposta uma definição alternativa a “seroconversão” aquando de resultados com classificação ternária, isto é, positivo/indeterminado/negativo, neste caso, o período de seroconversão é definido como o intervalo de tempo entre a infeção por um determinado agente patogénico e um resultado indeterminado para anticorpos específicos para esse agente (38).

2.4 A prática dos testes qualitativos de laboratórios clínicos em serviços de sangue e de medicina transfusional

Para discutir a importância dos testes qualitativos em saúde, tomemos o exemplo da sua aplicação no rastreio de agentes transmissíveis em serviços de sangue e de medicina transfusional. A regulação destes serviços, além dos de transfusão, compete ao Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P. (IPST) (39).

O uso de sangue humano como terapêutica implica cumprir com certas exigências para garantir a qualidade e segurança de modo a evitar a transmissão destes agentes

(37). O Parlamento Europeu e o Conselho Europeu aprovaram a Diretiva n.º 2002/98/CE, de 27 de janeiro de 2003 (40), a qual estabeleceu as normas de qualidade e segurança da colheita e análise de sangue humano e seus componentes. Esta Diretiva define “serviço de sangue” como sendo “uma estrutura ou organismo responsável pelos aspetos da colheita e análise de sangue humano ou de componentes sanguíneos, qualquer que seja a sua finalidade, bem como pelo seu processamento, armazenamento e distribuição quando se destinam à transfusão. Nesta definição não se incluem os serviços de transfusão” (Capítulo I, Artigo 3.º, e) de (40)). A mesma entende “serviço de medicina transfusional” como “serviço de transfusão” definido como “uma unidade hospitalar que armazena, disponibiliza e pode efetuar testes de compatibilidade com o sangue e componentes sanguíneos, para utilização exclusiva do hospital, incluindo outras atividades de transfusão com suporte hospitalar” (Capítulo I, Artigo 3.º, f) de (40)).

No caso do serviço de sangue, a instituição deve assegurar que todas as dádivas de sangue e componentes são analisadas para garantir um baixo risco de transmissão de determinados agentes transmissíveis. Se o laboratório obtiver resultados positivos nestes testes de rastreio, as amostras reativas não poderão ser utilizadas para fins terapêuticos, realizando-se de seguida testes confirmatórios adequados (37).

Existem situações em que certos testes laboratoriais não detetam uma infeção por ser muito recente, pois o nível de agente infeccioso ou da resposta imunitária é baixo, pelo que não é detetável, ou seja, o teste não é sensível (36). Assim, o teste de rastreio pode não ser 100% sensível devido ao denominado “período de janela”, durante o qual a dádiva de sangue é infecciosa, mas não detetável pelos testes (p. 102 de (15)). Esta sensibilidade é referida como sensibilidade clínica ou diagnóstica ou rácio de verdadeiros positivos (p. 41 de (20)). O aumento da sensibilidade dos testes reduzirá este “período de janela”. Sendo requerido para tal, que os testes laboratoriais para testar dádivas de sangue humano sejam verificados ou validados antes de os seus resultados serem utilizados na avaliação da conformidade dos componentes sanguíneos (41) (42).

Similarmente aos serviços de sangue e de medicina transfusional, está estabelecido nos serviços de transplantação o regime jurídico da qualidade e segurança relativa à dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana, na qual é igualmente requerida a verificação ou validação dos testes laboratoriais exigidas a doadores, recetores, assim como para avaliação da compatibilidade (47,48,41).

2.5 Rastreio de agentes transmissíveis em serviços de sangue: vírus da hepatite C

A hepatite C é uma infeção transmitida pelo sangue e com prevalência em grupos de risco, podendo também ocorrer a transmissão da infeção através de exposição de mãe para filho (43). Após ocorrer a infeção, é registada uma elevada percentagem (50-85%) de indivíduos que contraem hepatite C e a subsequente doença hepática crónica (44). O vírus da hepatite C (VHC) é um vírus ácido ribonucleico (ARN) pertencente à família *Flaviviridae* (43). Em 2021, foram notificados 14 560 casos de hepatite C em 29 Estados-Membros da União Europeia/Espaço Económico Europeu (46). Excluindo os países que comunicaram apenas casos agudos, o número de casos (14 550 casos) corresponde a uma taxa bruta de 4,1 casos por 100 000 habitantes. Em Portugal, em 2021, o número de casos (145 casos) corresponde a uma taxa bruta de 1,4 casos por 100 000 habitantes. Contudo a prevalência é superior em alguns países mediterrâneos, América do Sul, África e Oriente Médio em (2,5% a 10%) e alta (>10%) no Egito, Burundi, Gabão, Camarões, Ruanda, Guiné, Bolívia, Mongólia (45). Esta prevalência poderá limitar a triagem de dadores de sangue em Portugal, através dum aumento de dadores rejeitados, atendendo ao risco de infeção pós-transfusional de indivíduos em período de seroconversão ou com carga viral inferior ao LoD (46).

Com base em quatro estudos realizados entre 1998 e 2014 (53-58), a maioria das infeções por VHC em Portugal são causadas pelo genótipo GT1 seguido de GT3, GT4 e GT2 (47).

A exposição ao VHC pode ser detetada por anticorpos anti-VHC, enquanto a infeção ativa pode ser detetada pela presença de ARN do VHC através da reação em cadeia da polimerase (PCR) por transcriptase reversa (RT-PCR), sendo estes testes também referidos como TAN (48).

O primeiro EIA para a deteção de anticorpos anti-VHC (G1) foi desenvolvido há cerca de 33 anos (49). Este método usava um peptídeo recombinante VHC C100-3. Quando comparada com as gerações posteriores do método, esta primeira geração tinha uma sensibilidade e especificidade clínicas relativamente baixas (50) (51). A seroconversão em pacientes com infeção aguda por VHC, geralmente não é detetada até 3 meses ou mais, após a infeção (52). A 2.^a geração do método (G2) foi introduzida em 1991. Incorporou antígenos recombinantes de regiões não estruturais (NS3 e NS4) juntamente com um antígeno da região central do VHC (50) (53). Esta 2.^a geração tinha sensibilidade e especificidade clínicas superiores à anterior, pelo que o seu desempenho clínico contribuiu, significativamente, para a forte redução de incidência de hepatite C pós-transfusional (54). A 3.^a geração (G3) adicionou um epítopo NS5 à G2,

o que permitiu um aumento da sensibilidade clínica do método, pelo que permitiu diminuir o período de seroconversão (55) (56). O método de 4.^a geração, comparativamente com o da geração prévia, deteta não só anticorpos, mas também o antígeno do core viral (57). A deteção do antígeno do core permite que o vírus seja rastreado entre 12 a 15 dias após a infeção. Assim, os resultados de 4.^a geração tendem a ser positivos muito próximo do tempo de deteção do PCR do VHC, reduzindo assim, o período de seroconversão em 5-7 semanas para infeção aguda por VHC em comparação com VHC de 3.^a geração (58).

A confirmação de resultados de EIA pode ser feita por testes complementares, baseados em ensaios de neutralização ou imunotransferência recombinante (RIBA). Estes testes possuem alta especificidade clínica, sendo úteis na identificação de falsos resultados positivos (59).

O TAN é o *gold-standard* para confirmação da infeção pelo VHC, dado permitir a deteção de replicação ativa de VHC (60). Contudo, devido às limitações desta técnica, por exemplo, no caso de mutações do ARN viral (61), os testes de VHC de 4.^a geração são complementares na deteção de infeções recentes pelo VHC.

Página intencionalmente deixada em branco

3. Metodologia

3.1 Caracterização e contextualização do estudo

Na presente dissertação aplicou-se um estudo quantitativo experimental, através da avaliação do desempenho pela sensibilidade e especificidade clínicas (taxas), concordância de resultados (taxas), incerteza das proporções (intervalo de confiança), curva ROC (AUC) e valores Delta (δ^- e δ^+).

Os resultados binários foram obtidos através de um EIA para a detecção de anticorpos anti-VHC. Para os testes estatísticos de concordância utilizou-se como comparativo um RT-PCR para detecção de ARN do VHC.

Para a determinação dos valores Delta utilizaram-se os resultados dum segundo EIA para a detecção de anticorpos anti-VHC.

3.2 População alvo e estratégia de amostragem

3.2.1 População

Para a avaliação dos modelos de avaliação do desempenho num teste qualitativo, considerámos o caso do rastreio de agentes microbiológicos utilizando resultados de amostras de indivíduos infetados pelo vírus da hepatite C (VHC) e indivíduos saudáveis (os princípios são replicáveis para qualquer outro teste qualitativo) (20).

3.2.2 Método de amostragem

Amostragem por conveniência (técnica de amostragem não probabilística e não aleatória). Analisaram-se os resultados de amostras de soro ou plasma de indivíduos com variantes do VHC com prevalência epidemiológica na população portuguesa ($n = 100$) (ver [Anexo I](#)) e resultados de amostras de indivíduos doadores de sangue aprovados em mais do que uma dádiva ($n = 100$) (ver [Anexo II](#)). Os resultados têm origem na base de dados do IPST (62).

3.2.3 Critérios de inclusão

Indivíduos infetados com variantes de VHC com prevalência epidemiológica na população portuguesa (VHC positivos) e doadores de sangue aprovados em mais do que uma dádiva (negativos para agentes transmissíveis) (24) (20). Atendendo à prevalência dos genótipos do VHC não ser significativa para a avaliação do desempenho de exames de rastreio, não serão feitas outras considerações relativas a este tópico.

3.2.4 Critérios de exclusão

Indivíduos sem diagnóstico.

3.3 Instrumentos de recolha de dados

Os sinais de imunoensaios para rastreio do VHC de indivíduos infetados pelo VHC e indivíduos saudáveis tiveram origem em amostras de plasma humano da base de dados da aplicação ASIS (Aplicação de um Sistema de Informação a Serviços de sangue) do IPST. Esta aplicação, permite gerir todas as atividades relacionadas com a promoção e colheita de sangue (planeamento de sessões de colheita, registo de dádivas e de dados clínicos de dadores), processamento (separação de componentes sanguíneos, realização de análises laboratoriais, qualificação das dádivas), integração de resultados analíticos processados a partir de amostras, validação de componentes e finalmente a sua distribuição pelos hospitais do país. O acesso esta base é controlado através de vários níveis em função da habilitação dos profissionais (63).

Segundo as instruções do IPST, os dados foram enviados ao Orientador Interno desta dissertação de mestrado, contendo a seguinte informação: código da dádiva irrastreável aos dados do dador, data dos testes laboratoriais, designação dos testes de rastreio (imunoensaio e ácidos nucleicos para o vírus da hepatite C) e seus resultados em 100 dadores com resultados positivos e 100 dadores com resultados negativos de 2012 a 2022.

3.4 Variáveis

Os estudos experimentais envolvem, geralmente, variáveis independentes e dependentes. Variável independente é a causa ou o fator que se acredita ter influência sobre outra variável, classificada como “dependente” (p. 3 de (64)). Assim, as variáveis independentes são aquelas que são manipuladas enquanto as variáveis dependentes são apenas medidas ou registadas. Assim, as variáveis independentes nesta dissertação são o número de indivíduos infetados pelo VHC e número de indivíduos saudáveis e o número de resultados positivos e número de resultados negativos para VHC.

Por outro lado, considerou-se as seguintes variáveis dependentes:

- Proporção de resultados positivos e negativos para VHC (sensibilidade e especificidade analíticas);
- Concordância entre os resultados analíticos e a condição da amostra com resultado conhecido (concordante/não concordante);
- Incerteza das proporções;

- Curva ROC e AUC;
- Valores Delta e;
- Período de seroconversão.

3.5 Tratamento e análise estatística dos dados

A análise estatística realizada, por forma a responder aos objetivos delineados, envolve um conjunto de equações para a medição das variáveis dependentes discutidas nas secções [2.3.4](#) a [2.3.9](#). Assim, nesta secção introduzimos estes modelos estatísticos, os quais foram calculados no *software* MedCalc v.22.006 (MedCalc Software, Ostend, Belgium) (65), com a exceção dos gráficos de bolhas e valores Delta, os quais foram calculados em folhas de cálculo em Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA) verificadas com casos de estudo em publicações revistas por pares (33) (66).

3.5.1 Sensibilidade (Se) e especificidade clínicas (Sp)

Será utilizada uma tabela 2x2 para análise da sensibilidade e especificidade clínicas, exatidão diagnóstica e valores preditivos. Os cálculos são determinados de acordo com os modelos estatísticos apresentados, incluindo-se, também, a exatidão diagnóstica (ACC).

$$Se[\%] = \frac{VP}{VP + FN} * 100 \quad (\text{eq. 1})$$

$$Sp[\%] = \frac{VN}{FP + VN} * 100 \quad (\text{eq. 2})$$

$$ACC[\%] = \frac{VP + VN}{VP + FP + FN + VN} * 100 \quad (\text{eq. 3})$$

Onde VP são os verdadeiros positivos, FN os falsos negativos, FP os falsos positivos e VN os verdadeiros negativos

3.5.2 Concordância de resultados

Os cálculos baseiam-se na concordância de resultados positivos (PA), concordância de resultados negativos (NA) e concordância total (OA).

$$PA[\%] = \frac{A}{A + C} * 100 \quad (\text{eq. 4})$$

$$NA[\%] = \frac{D}{B + D} * 100 \quad (\text{eq. 5})$$

$$OA[\%] = \frac{A + D}{A + B + C + D} * 100 \quad (\text{eq. 6})$$

Onde A são os positivos concordantes, C os positivos desconcordantes, B os negativos concordantes e D os negativos desconcordantes.

3.5.3 Incerteza das proporções

a) Sensibilidade clínica: Limites inferior (LISe) e superior (LSSe)

A determinação do IC 95% para a incerteza das proporções, baseia-se no modelo “score confidence interval” de acordo com Wilson (29), recomendado por Newcombe (67) e harmonizado no laboratório clínico e em fabricante de dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* (20).

$$LI_{Se}[\%] = \frac{(A1 - A2)}{A3} * 100 \quad (\text{eq. 7})$$

$$LS_{Se}[\%] = \frac{(A1 + A2)}{A3} * 100 \quad (\text{eq. 8})$$

em que $A1 = 2 * VP + 1.96^2$; $A2 = 1.96 * (1.96^2 + 4 * VP * FN / (VP + FN))^{1/2}$ e $A3 = 2 * (VP + FN + 1.96^2)$

b) Especificidade clínica: Limites inferior (LIES) e superior (LSes)

Os limites para o IC 95% da especificidade clínica serão calculados através das seguintes equações:

$$LI_{Es}[\%] = \frac{(B1 - B2)}{B3} * 100 \quad (\text{eq. 9})$$

$$LS_{Es}[\%] = \frac{(B1 + B2)}{B3} * 100 \quad (\text{eq. 10})$$

em que $B1 = 2 * VN + 1.96^2$; $B2 = 1.96 * (1.96^2 + 4 * FP * VN / (FP + VN))^{1/2}$ e $B3 = 2 * (FP + VN + 1.96^2)$

c) Concordância de resultados positivos: Limites inferior (LICP) e superior (LSCP)

Os limites para o IC 95% da concordância de resultados positivos serão calculados através das seguintes equações:

$$LI_{CP}[\%] = \frac{(A1 - A2)}{A3} * 100 \quad (\text{eq. 11})$$

$$LS_{CP}[\%] = \frac{(A1 + A2)}{A3} * 100 \quad (\text{eq. 12})$$

em que $A1 = 2 * A + 1.96^2$; $A2 = 1.96 * (1.96^2 + 4 * A * C / (A + C))^{1/2}$ e $A3 = 2 * (A + C + 1.96^2)$

d) Concordância de resultados negativos: Limites inferior (LICN) e superior (LSCN)

Os limites para o IC 95% da concordância de resultados negativos serão calculados através das seguintes equações:

$$LI_{CN}[\%] = \frac{(B1 - B2)}{B3} * 100 \quad (\text{eq. 13})$$

$$LS_{CN}[\%] = \frac{(B1 + B2)}{B3} * 100 \quad (\text{eq. 14})$$

em que $B1 = 2 * D + 1.96^2$; $B2 = 1.96 * (1.96^2 + 4 * B * VN / (B + D))^{1/2}$ e $B3 = 2 * (B + D + 1.96^2)$

3.5.4 Curva da característica de operação do recetor

A função exponencial lógica subjacente à curva ROC é estimada na suposição de que os dados das duas amostras são normalmente distribuídos (suposição binomial) (68). A regra trapezoidal (69) é provavelmente o método reconhecido como o mais preciso e acessível para o cálculo da AUC para cada ponto *cutoff* hipotético. A regra trapezoidal é uma técnica de integração numérica usada para aproximar a integral ou AUC. A incorporação de $[a, b]^3$ de uma forma funcional dividida em n seções iguais, referidas como “trapézio”. A regra trapezoidal é o método para aproximar a integral definida $\int_a^b f(x)dx$, segundo o modelo estatístico:

$$\int_a^b f(x)dx \approx \frac{\Delta x}{2(f(x_0) + 2f(x_1) + 2f(x_2) + 2f(x_3) + \dots + 2f(x_{n-1}) + f(x_n))} \quad (\text{eq. 15})$$

em que $\Delta x = \frac{b-a}{n}$ e $x_i = a + i\Delta x$

³ a, sensibilidade clínica (taxa de verdadeiros positivos); b, taxa de falsos positivos

3.5.5 Valor Delta

Os Delta positivo e Delta negativo serão calculados através das seguintes equações:

a) Delta positivo

$$\delta_{\text{pos}} = \frac{\bar{x}_{C_1} \left(\frac{\log_{10} S}{CO} \right)}{DP_{C_1} \left(\frac{\log_{10} S}{CO} \right)} \quad (\text{eq. 16})$$

em que \bar{x}_{C_1} é a média do $\log_{10} S/CO$ das amostras com a condição e s_{C_1} é o desvio padrão do $\log_{10} S/CO$ das amostras com a condição

b) Delta negativo

$$\delta_{\text{neg}} = \frac{\bar{x}_{C_0} \left(\frac{\log_{10} S}{CO} \right)}{DP_{C_0} \left(\frac{\log_{10} S}{CO} \right)} \quad (\text{eq. 16})$$

em que \bar{x}_{C_0} é a média do $\log_{10} S/CO$ das amostras sem a condição e s_{C_0} é o desvio padrão do $\log_{10} S/CO$ das amostras sem a condição

3.5.6 Período de seroconversão

O modelo de cálculo do número de dias de seroconversão (Ser_{dias}), aplicado a resultados binários ou ternários dum imunoenensaio, consiste na diferença (n.º de dias) entre o dia zero ou dia da primeira colheita (tipicamente com resultado negativo) e o dia da colheita com o último resultado negativo:

$$Ser_{\text{dias}} = d_k - d_0 \quad (\text{eq. 17})$$

em que d_k é o dia e o mês da colheita com o último sinal negativo e d_0 é o dia e o mês da primeira primeira colheita.

3.7 Considerações éticas e legais

Este estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos nacionais e internacionais, nomeadamente a “Declaração de Genebra” (70), a “Declaração de Helsínquia” (71) e a “Convenção de Oviedo” (72) e protocolos adicionais (73). Relativamente à privacidade e confidencialidade dos dados facultados pelo IPST, estes não são rastreáveis à base de dados de dádivas benévolas de sangue humano. A cedência destes dados foi aprovada pelo Encarregado da Proteção de Dados da

Comissão Técnica de Proteção de Dados e com aprovação do Conselho Diretivo do IPST em 14 de fevereiro de 2023 (ver [Anexo III](#)). O estudo obteve parecer favorável pelo Conselho de Ética da ESTeSL ([Anexo IV](#)). Os dados só poderão ser utilizados nesta dissertação e acedidos pela mestranda Vilma Cordeiro e seus orientadores durante o tempo da dissertação (74). Para considerações ético-jurídicas relativas a este estudo.

Página intencionalmente deixada em branco

4. Resultados

Procurou-se organizar, apresentar e interpretar os dados de forma clara e concisa. Para tal, utilizaram-se a apresentação dos dados de forma tabular e representações visuais dos dados por meio de elementos gráficos.

4.1 Sensibilidade clínica e especificidade clínicas e incerteza

As variáveis independentes estão agrupadas nas tabelas de contingências. Considerou-se as percentagens da sensibilidade e especificidade clínicas em conjunto com as suas incertezas na Tabela 4.2.

Tabela 4.1 Tabela de contingência 2x2 para a estimativa do desempenho clínico.

| Resultados | Diagnóstico | | Total |
|------------|-------------|-------------|-------|
| | Doentes | Não doentes | |
| Positivos | 100 (VP) | 0 (FP) | 100 |
| Negativos | 0 (FN) | 100 (VN) | 100 |
| Total | 100 | 100 | 200 |

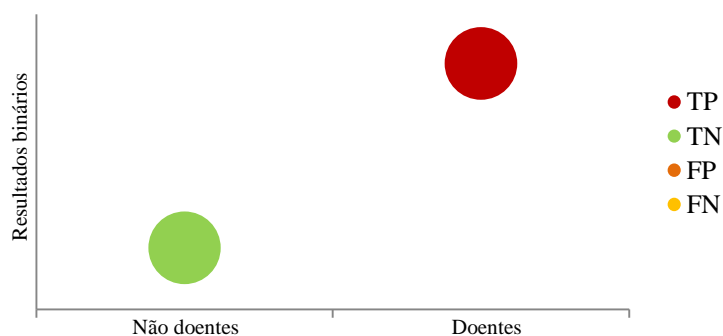


Figura 4.1 Gráfico de bolhas para o número de resultados verdadeiros e falsos (Microsoft® Excel® LTSC MSO (Version 2111 Build 16.0.14701.20206) (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA) (2021)).

Legenda: TP, verdadeiros positivos; TN, verdadeiros negativos; FP, falsos positivos; FN, falsos negativos

Tabela 4.2 Desempenho clínico (exatidão clínica de 100%, IC [95%], 98 a 100%).

| | | Incerteza (IC 95 [%]) |
|------------------------------|-----|-----------------------|
| Sensibilidade clínica [%]= | 100 | 96 a 100 |
| Especificidade clínica [%] = | 100 | 96 a 100 |

4.2 Concordância de resultados e incerteza

As variáveis independentes estão agrupadas nas tabelas de contingências. Considerou-se as percentagens de positivos concordantes e negativos concordantes em conjunto com as suas incertezas na Tabela 4.4.

Tabela 4.3 Tabela de contingência 2x2 para a estimativa da concordância de resultados binários entre dois testes de rastreio do VHC.

| Resultados | RT-PCR (ARN VHC) | | Total |
|------------|------------------|-----------|-------|
| | Positivos | Negativos | |
| Positivos | 100 (PA) | 0 (DN) | 100 |
| Negativos | 0 (DP) | 100 (PN) | 100 |
| Total | 100 | 100 | 200 |

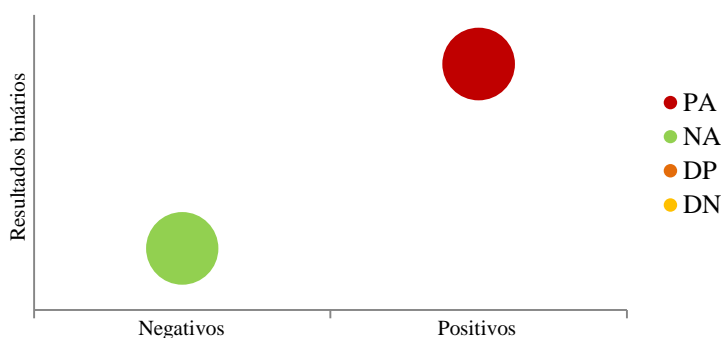


Figura 4.2 Gráfico de bolhas para o número de resultados concordante e não concordantes (Microsoft® Excel® LTSC MSO (Version 2111 Build 16.0.14701.20206) (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA) (2021)).

Legenda: PA, positivos concordantes; PN, negativos concordantes; DP, positivos discordantes; DN, negativos discordantes

Tabela 4.4 Desempenho clínico (concordância total de 100%, IC [95%], 98 a 100%).

| | | Incerteza (IC 95 [%]) |
|----------|-----|-----------------------|
| PA [%]= | 100 | 96 a 100 |
| PN [%] = | 100 | 96 a 100 |

4.3 Curva da característica de operação do recetor

Representação gráfica da curva ROC. No eixo da abcissa (**x**) são apresentados o número de falsos positivos e no eixo da ordenada (**y**) o valor da sensibilidade clínica.

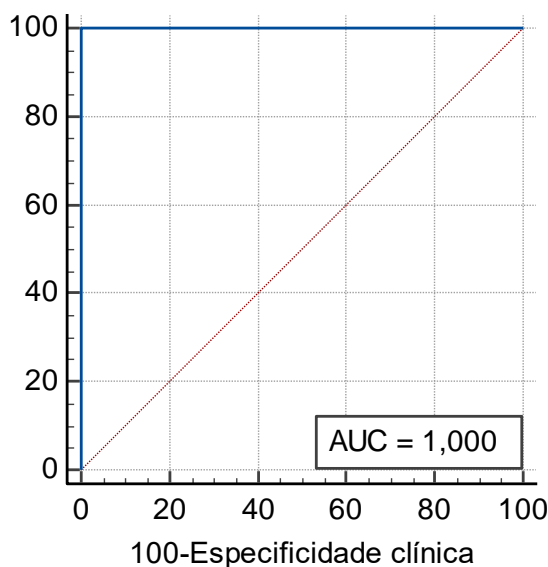


Figura 4.3 Curva ROC e AUC (MedCalc v.22.006 (MedCalc Software, Ostend, Belgium) (2023)).

Legenda: — curva ROC; - - - - AUC = 0,5

4.4 Valor Delta

Os valores Delta, calculados tanto para os resultados positivos como para os resultados negativos, estão agrupados na tabela abaixo.

Tabela 4.5 Valor Delta, médias e intervalos de confiança para sinais negativos e positivos em dois testes de rastreio do VHC.

| | \bar{x}_{neg} | $LI_{\bar{x}_{neg}}$ | $LS_{\bar{x}_{neg}}$ | δ_{neg} | \bar{x}_{pos} | $LI_{\bar{x}_{pos}}$ | $LS_{\bar{x}_{pos}}$ | δ_{pos} |
|-------------------------|-----------------|----------------------|----------------------|----------------|-----------------|----------------------|----------------------|----------------|
| Anti-VHC (EIA) 1 (s/co) | 0,345 | 0,284 | 0,419 | -1,073 | 3,621 | 3,254 | 4,030 | 2,357 |
| Anti-VHC (EIA) 2 (s/co) | 0,374 | 0,304 | 0,459 | -0,936 | 3,508 | 3,180 | 3,870 | 2,508 |

Legenda: \bar{x}_{neg} , média dos sinais negativos; $LI_{\bar{x}_{neg}}$, limite inferior da média dos sinais negativos; $LS_{\bar{x}_{neg}}$, limite superior da média dos sinais negativos; \bar{x}_{pos} , média dos sinais positivos; $LI_{\bar{x}_{pos}}$, limite inferior da média dos sinais positivos; $LS_{\bar{x}_{pos}}$, limite superior da média dos sinais positivos

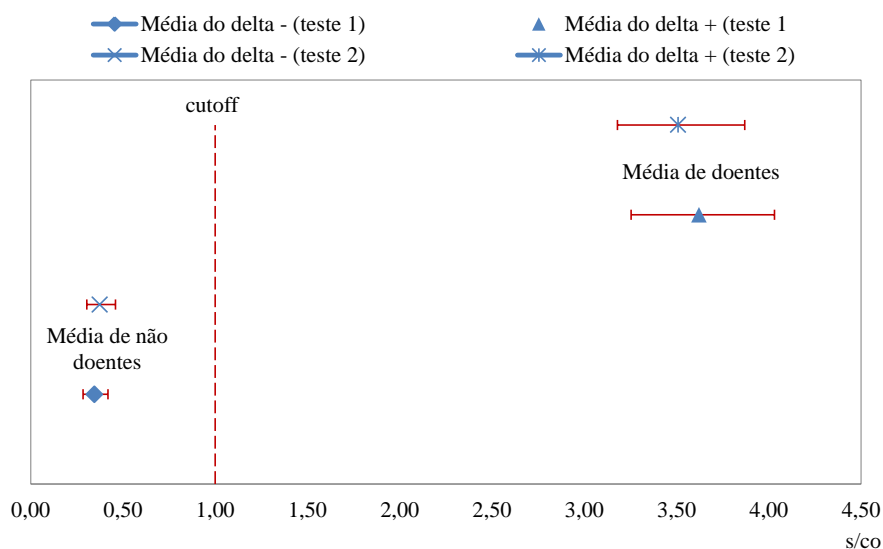


Figura 4.4 Ilustração do valor Delta, médias e intervalos de confiança para sinais negativos e positivos em dois testes de rastreio do VHC (Microsoft® Excel® LTSC MSO (Version 2111 Build 16.0.14701.20206) (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA) (2021)).

4.5 Período de seroconversão

Período de seroconversão calculado a partir de uma amostra de um painel de um indivíduo infectado pelo VHC em seroconversão.

Tabela 4.6 Número de dias de seroconversão para o EIA de rastreio anti-VHC (painel Seracare® (Milford, MA, EUA) PHV919) (36).

| Amostra id. | Data de colheita | N.º dias desde 1.ª colheita | s/co | Resultado | N.º dias seroconversão |
|-------------|------------------|-----------------------------|------|-----------|------------------------|
| PHV919-01 | 31-dez-1999 | 0 | 0,50 | Negativo | 0 |
| PHV919-02 | 07-jan-2000 | 7 | 0,60 | Negativo | 7 |
| PHV919-03 | 12-jan-2000 | 12 | 0,60 | Negativo | 12 |
| PHV919-04 | 25-jan-2000 | 25 | 2,20 | Positivo | |
| PHV919-05 | 28-jan-2000 | 28 | 3,40 | Positivo | |
| PHV919-06 | 01-fev-2000 | 32 | 6,60 | Positivo | |
| PHV919-07 | 04-fev-2000 | 35 | 6,40 | Positivo | |

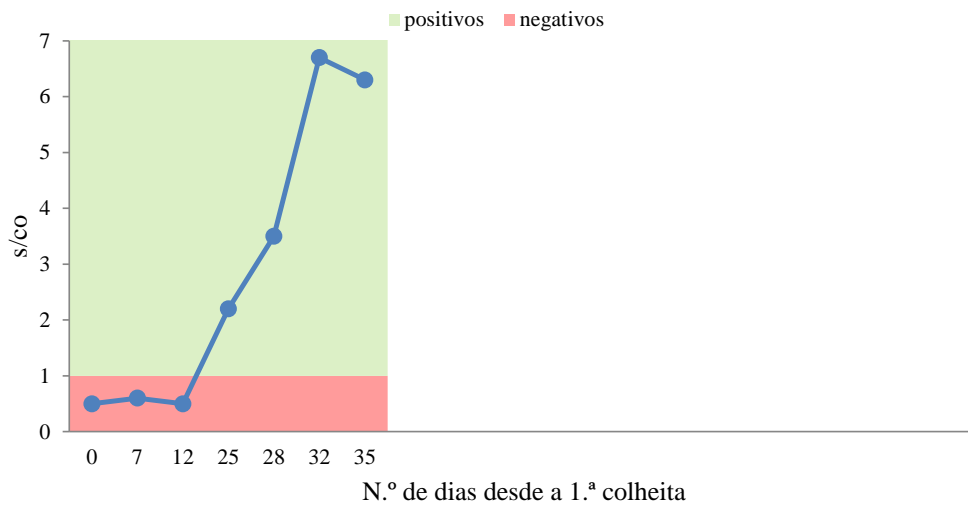


Figura 4.5 Curva de seroconversão para o EIA de rastreio anti-VHC (painel Seracare® PHV919) (Microsoft® Excel® LTSC MSO (Version 2111 Build 16.0.14701.20206) (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA) (2021)).

Página intencionalmente deixada em branco

5 Discussão

A avaliação do desempenho de métodos qualitativos no laboratório clínico foi realizada através da análise das especificações requeridas para a avaliação no contexto legislativo e ISO 15189. Para tal, considerámos o caso de um EIA para deteção de anti-VHC num serviço de sangue num método de 4.^a geração. Neste caso, quer a legislação, quer a ISO 15189 não estabelecem alvos para a avaliação do desempenho, seja, para sensibilidade e especificidade clínicas, sejam para qualquer outra estimativa (ver [Capítulo 4](#)). Assim, poder-se-á referenciar a sua introdução como uma hipotética oportunidade de melhoria. Por exemplo, através da referência a determinadas agências regulatórias de dispositivos de diagnóstico médico *in vitro* (3). Contudo, a ISO 15189 requer que os requisitos específicos (especificações de desempenho) sejam adequados à utilização pretendida para esse exame. Para tal, considerámos os critérios (mínimos) definidos para os fabricantes de dispositivos de diagnóstico médico *in vitro* definidos no Regulamento de Execução (UE) 2022/1107 da Comissão Europeia (25) que estabelece especificações comuns para determinados dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* da classe D, em conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 (11). O EIA avaliado cabe no grupo referido neste Regulamento (EU) como “testes de primeira linha: anti-VHC, VHC Ag/Ac”. Contudo, considerámos as especificações, parcialmente, dado alguns dos critérios não serem adequados em serviços de sangue, tal como o número de amostras de indivíduos infetados pelo VHC (≥ 400 , incluindo amostras de fases diferentes fases de infeção assim como, pelo menos, 30 painéis de seroconversão) e indivíduos saudáveis. Assim, consideramos utilizar neste estudo 100 amostras de cada um dos estratos de dadores e candidatos a dadores de sangue.

A avaliação do desempenho assentou em dois casos hipotéticos:

- Quando temos amostras diagnosticadas, através da sensibilidade e especificidade clínicas e,
- Quando não temos amostras diagnosticadas, através da concordância de resultados positivos e negativos dum exame comparativo.

O Regulamento de Execução (UE) 2022/2017 requer uma sensibilidade clínica de 100% e uma especificidade clínica de 99,5%. Este Regulamento (EU) não considera a avaliação da concordância. Para exemplificarmos este modelo utilizámos os mesmos critérios do que para o desempenho clínico.

O Regulamento (UE) 2022/1107 não integra critérios para avaliarmos a incerteza destas percentagens. Assim, definimos os critérios com base no número de amostras

($n = 100$) e da sensibilidade e especificidade clínicas requeridas aproximadas. Assim, o limite inferior do IC 95% para a sensibilidade deve ser $\geq 96\%$. No caso da sensibilidade, não foram admitidos falsos negativos, com base no Regulamento (UE) 2022/1107, dado ser um exame para rastrear doadores de sangue, pelo que se considerou o risco de infecção pós-transfusional. Por seu lado, o limite inferior do IC 95% para a especificidade clínica deve ser $\geq 95\%$, com base no mesmo Regulamento. No caso da especificidade, admitimos até um resultado falso positivo, atendendo a não representar risco de infecção pós-transfusional. Assim, constatou-se um risco admissível de falsos resultados, complementar com a constatação anterior. Neste caso através de percentagens [%] $\in [96; 100]$ (ver Tabela 4.2).

A sensibilidade e especificidade clínicas, quando seguidas de boas práticas clínicas e estatísticas, é a estimativa mais relevante na avaliação do desempenho de exames (20). Neste caso, estas estimativas, mesmo que não replicáveis para a população, permitem conhecer uma previsão do risco de falsos resultados em indivíduos com as características epidemiológicas das amostras. No caso dum serviço de sangue para o rastreio de agentes virológicos, permite conhecer se o risco de infecção pós-transfusional relativo ao desempenho do exame é ou não crítico. Neste estudo, o risco estimado não é significativo, dado a termos uma sensibilidade de 100%. Contudo, dever-se-ão considerar eventos raros onde o risco de falsos resultados é significativo. Por exemplo, más práticas de colheita e laboratoriais, mutações de agentes, novos tipos ou subtipos, além do período de seroconversão (p. 23 de (15)).

No caso de testes raros, para os quais a obtenção dum painel de amostras diagnosticadas relevante pode ser complexo/inviável de obter podemos determinar a concordância de resultados como alternativa ao desempenho clínico. Mesmo nestes casos, o exame comparativo deve ter um desempenho ao estado da arte, isto, com a “melhor” sensibilidade e especificidade clínicas reconhecidas por pares. Contudo, haverá sempre um risco de discrepâncias, pelo que a discussão deve considerar este risco suplementar na avaliação destas estimativas, por exemplo, através duma discussão clínica de resultados discrepantes.

Quando temos amostras diagnosticadas, determinámos a AUC. Os critérios de AUC não estão definidos no Regulamento (UE) 2022/1107, pelo que foram estimados em função do critério de desempenho clínico. Assim, considerámos o critério de "discriminação excepcional" no qual $AUC \in [0,900; 1.000]$ (32) (ver Figura 4.3). Neste estudo, a estimativa de 1,000 está de acordo com o critério, sendo interpretada como uma “discriminação excepcional” de resultados binários, isto é, nas amostras testadas, o exame demonstrou capacidade de as classificar corretamente (100% de verdadeiros resultados).

A existência de amostras diagnosticadas permitiu, também, a determinação do valor Delta para resultados positivos e negativos. Esta estimativa permitiu comparar-se o risco de classificação de falsos resultados no EIA de anti-VHC e num segundo EIA para o mesmo agente. Assim, esta abordagem requereu, pelo menos dois exames, dado o Delta com maior valor sugerir maior capacidade de classificação verdadeira. Neste estudo, verificou-se que as amostras positivas e negativas têm sinais com amplitude similar, nos quais é maior para os sinais dos resultados positivos (ver Tabela 4.5 e Figura 4.4). Neste caso, quer os δ_{pos} (2,357 vs. 2,508, para o teste 1 vs. teste 2) quer os δ_{neg} (-1,073 vs. -0,936, para o teste 1 vs. teste 2) não se diferenciam significativamente, pelo que o risco para classificarem falsos resultados ou mesmo resultados indeterminados é similar. O limite inferior do IC 95% para a média dos sinais positivos dos dois testes (3,254 vs. 3,180) e o limite superior do IC 95% para a média dos sinais negativos dos dois testes (0,419 vs. 0,459) são congruentes com os Deltas, dado terem uma grande amplitude em relação ao *cutoff*, isto é, sugerirem, fortemente, baixo risco de falsos resultados. Ou seja, no âmbito do serviço de sangue, baixo risco de infeção pós-transfusional.

Para a determinação do período de seroconversão, utilizou-se o painel PHV919, o qual é composto por sete amostras colhidas durante 35 dias. Este painel consiste, então, numa série de colheitas dum dador norte-americano de plasma (não benévolo) durante o desenvolvimento dum infeção por VHC e subsequente resposta imunológica. O período de seroconversão determinado para o exame em avaliação foi de 12 dias (ver Tabela 4.6 e Figura 4.4). A “bula” do painel permitiu a comparação deste período com o período de outros seis EIA de 3.^a geração. Assim, comparativamente com estes exames, este período é igual a um dos testes e inferior em 13 dias em relação a três e inferior em 16 dias comparativamente com outros dois testes. Assim, interpreta-se que este período coloca o teste em avaliação ao estado-da-arte para este painel, o que é crítico para o rastreio de dadores dado envolver menor risco de falso negativos por seroconversão.

5.1 Limitações do estudo

Poder-se-á entender que as mais valias que o este estudo trouxe face ao atual estado da arte foi a demonstração bem sucedida da aplicação de um conjunto de modelos de avaliação do desempenho de testes qualitativos consistentes com a NP EN ISO 15159, bem como com a legislação portuguesa em vigor, quer para os laboratórios clínicos, quer para os serviços de sangue e de medicina transfusional. Contudo, é importante reconhecer que estas ferramentas podem apresentar algumas limitações.

Pelo lado clínico, a avaliação do desempenho clínico através da sensibilidade e especificidade clínicas é dependente, entre outros fatores, da tipologia das amostras, as quais devem representar a prevalência epidemiológica, no caso, do VHC, na população do laboratório clínico. Alteração nesta prevalência pode contribuir para falsos resultados, como seja na introdução de novos tipos de agente ou no caso de mutações. Numa perspectiva estatística, o número de amostras é importante, principalmente para IC 95% com baixa amplitude, o que não é alcançável com números de amostras baixos, como seja o caso de $n = 5$. Assim, estimativas de sensibilidade e especificidade clínicas com amostras não representativas da prevalência epidemiológica e em número baixo, poderão conduzir a proporções pobres, do ponto de vista bioestatístico. Para mitigarmos o risco de fraca robustez destas estimativas, dever-se-ão selecionar as amostras com base nos princípios discutidos neste texto.

Neste estudo podemos constatar que a concordância de resultados depende do desempenho clínico do exame comparativo. A limitação mais crítica seria se o desempenho clínico do exame comparativo fosse inferior à do teste em avaliação, o que pode suceder, por exemplo, com testes de diferentes gerações ou diferentes fabricantes, neste caso, a baixa concordância pode condicionar a avaliação dum novo teste, neste estudo não se verificou esta limitação. Tomando o caso de rastreio do VHC por EIA e para contornar esta hipotética limitação, dever-se-iam esclarecer as expressões não concordantes com base no diagnóstico ou, alternativamente, com base em testes complementares, como sejam testes confirmatórios ou RT-PCR.

Uma limitação constatada na avaliação da AUC, foi de esta ser uma pseudo-redundância da informação já dada pela sensibilidade e especificidade clínicas. Na verdade, ambas classificam a capacidade do EIA para classificar resultados corretamente, num todo (AUC) ou em estratos (doentes e saudáveis). Além desta limitação, o AUC também permite somente reconhecer o risco de classificação de falsos resultados no total dos indivíduos em vez de o reconhecer por estratos de doentes e indivíduos saudáveis. Esta condicionante limita mesmo a relevância da AUC no contexto de avaliação do desempenho dum exame onde o *tradeoff* entre a sensibilidade e especificidade clínicas favoreça uma destas proporções, como é o caso de um exame de rastreio virológico num serviço de sangue. Para contornar esta limitação, poder-se-á negligenciar a AUC na avaliação deste tipo de testes. Contudo em exames destinados, por exemplo, a vigilância epidemiológica, a complementaridade da AUC na avaliação do desempenho é coerente com o propósito destes estudos - igual capacidade de reportar verdadeiros resultados,

independentemente do estrato da população, pelo que AUC é relevante para este tipo de testes.

O valor Delta não permite avaliar o risco de classificação errónea num único teste. Para tal, utilizámos os resultados dum segundo EIA. Assim, o valor Delta tem a limitação de estar dependente da comparação com, pelo menos, os valores Delta de outro teste. Assim, esta ferramenta pode ser crítica mas somente na comparação do risco de serem reportados falsos resultados na avaliação multi-testes, tal como no exemplo do estudo.

Finalmente, a principal limitação na avaliação dum painel de seroconversão é que esta é estritamente ligado a um só indivíduo, pelo que o período de seroconversão não é extrapolável para a população. Tomando o exemplo anterior, poderemos ter outros painéis onde o período seja superior ou inferior, dependendo de várias variáveis, além da dos dias de colheita. Para contornar esta limitação, sugere-se que a avaliação seja clara na associação do período ao painel do estudo.

Os modelos discutidos na abordagem desta dissertação podem ser extrapolados para outros exames, principalmente com grandezas ordinais binárias, dado serem transversais à avaliação do desempenho deste tipo de exames.

Página intencionalmente deixada em branco

6.1 Considerações finais

Constatamos que, quer as percentagens da sensibilidade e especificidade clínicas bem como as percentagens da concordância de resultados positivos e negativos, foram de 100%, o que satisfaz os critérios definidos para um exame de rastreio em medicina transfusional, quando se assumem os requisitos de desempenho publicados pela Agência Europeia do Medicamento para dispositivos de diagnóstico médico *in vitro* de Classe D. Nas amostras diagnosticadas examinadas, não se verificaram falsos resultados. Assim, os resultados obtidos no presente estudo sugerem, fundamentalmente, a consistência dos modelos apresentados para avaliar as especificações de desempenho, adequadas à utilização de testes qualitativos, com os requisitos ISO 15189 e legais. Apesar destes modelos poderem variar com o tipo de exame, são replicáveis na generalidade das avaliações de desempenho. A abordagem que integra estes modelos é de relevante interesse para técnicos superiores na avaliação do desempenho de métodos qualitativos no laboratório clínico, quer através da identificação de metodologias quer através da análise das especificações requeridas para a avaliação no contexto normativo e legal. Estas soluções visam contribuir para a harmonização das práticas laboratoriais na avaliação da conformidade de testes qualitativos, garantindo a fiabilidade dos resultados (veracidade) através de controlo de qualidade assente em boas práticas (competência técnica).

6.2 Sugestões para estudos futuros

Outros estudos análogos poderão ser aplicados a testes quantitativos. Estudos de investigação mais profundos, com enfoque na melhoria, poderão ser desenvolvidos para os modelos aplicados. Outra sugestão, serão estudos ao nível dos fabricantes, visando o desenvolvimento de dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro*, através da melhoria do desempenho.

Página intencionalmente deixada em branco

7. Referências bibliográficas

1. Secretário de Estado Adjunto e da Saúde. Portaria n.º 392/2019 Estabelece os requisitos mínimos relativos ao licenciamento, instalação, organização e funcionamento, recursos humanos e instalações técnicas dos laboratórios de patologia clínica ou análises clínicas. 2019 Nov 5.
2. International Organization for Standardization. NP EN ISO 9000 - Sistemas de gestão da qualidade - Fundamentos e vocabulário (ISO 9001:2015) Caparica: Instituto Português da Qualidade; 2015.
3. International Organization for Standardization. NP EN ISO 15189 - Laboratórios clínicos - Requisitos para a qualidade e competência (ISO 15189:2012). In.: Instituto Português da Qualidade; 2014.
4. International Organization for Standardization. NP EN ISO 15189 - Laboratórios clínicos - Requisitos particulares da qualidade e competência (ISO 15189:2003). In.: IPQ; 2006.
5. International Organization for Standardization. ISO 15189 - Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence. In.: ISO; 2007.
6. International Organization for Standardization. ISO 15189 - Medical laboratories - Requirements for quality and competence. 3rd ed. ISO , editor. Geneva: ISO; 2012.
7. International Organization for Standardization. ISO 15189 - Medical laboratories - Requirements for quality and competence. In.: ISO; 2022.
8. Forsman RW. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? Clin Chem. 1996 May;42(5):813-816.
9. Hallworth MJ. The '70% claim': what is the evidence base? Ann Clin Biochem. 2011 Nov;48(Pt6):487-8.
10. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. Errors in laboratory medicine. Clin Chem. 2002 May;48(5):691-8. PMID: 11978595.
11. Ellison, LR S; Bettencourt da Silva, R. Eurachem/CITAC. Guide: Assessment of performance and uncertainty in qualitative chemical analysis: Eurachem/CITAC; 2021. "R Bettencourt da Silva and S L R Ellison (eds.) Eurachem/CITAC Guide: Assessment of performance and uncertainty in qualitative chemical analysis. First Edition, Eurachem (2021). ISBN 978-0-948926-39-6. Available from www.eurachem.org."
12. International Organization for Standardization. NP EN ISO 9001 - Sistemas de

- Gestão da Qualidade - Requisitos (ISO 9001:2015) Caparica: Instituto Português da Qualidade; 2015.
13. Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS. To Err is Human: Building a Safer Health System Washington (DC): National Academies Press; 2000.
 14. Woold SH. Patient safety is not enough: targeting quality improvements to optimize the health of the population. *Ann Intern Med.* 2004; 140(1):33-36.
 15. Parlamento Europeu. Regulamento (UE) 2017/746 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro e que revoga a Diretiva 98/79/CE e a Decisão 2010/227/UE da Comissão. 2017 Apr 5.
 16. FIND. FIND. [Online].; 2022. Available from: <https://www.finddx.org/covid-19/> .
 17. Pereira P. COVID-19 Pandemic: Issues with laboratory tests when authorized for emergency use. In ; 2020. Westgard QC Webinar on COVID-19 Testing Quality
 18. Guss D, Sherigar J, Rosen P, Mohanty SR. Diagnosis and management of hepatitis C infection in primary care settings. *J Gen Intern Med.* 2018 Apr; 33(4): 551-557.
 19. Secretário de Estado Adjunto e da Saúde. Despacho n.º 10009/2019 Aprova o Manual de Boas Práticas Laboratoriais de Patologia Clínica ou Análises Clínicas [Internet]. Diário da República, 2.a série, N.º 212, 5 de novembro de 2019. 2019 Nov 5.
 20. Pereira P. Quality control of qualitative tests for medical laboratories Lisbon: Author-edition; 2019.
 21. Pereira P. Qualidade em laboratório e segurança do paciente (Jornadas de Ciências Biomédicas Laboratoriais, Conferência Principal - Qualidade em Laboratório e Segurança do Paciente). 2023 Apr 15.
 22. Nordin G, Dybkaer R, Forsum U, Fuentes-Arderiu X, Pontet F. Vocabulary on nominal property, examination, and related concepts for clinical laboratory sciences (IFCC-IUPAC Recommendations 2017). *Pure Appl Chem.* 2018; 90(5): 913-935.
 23. Pereira P, Westgard JO, Encarnação P, Seghatchian J, , , et al. The role of uncertainty regarding the results of screening immunoassays in blood establishments. *Transfus Apher Sci.* 2015; 52(2): 252-255.
 24. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP12-A3 Evaluation of qualitative, binary output examination performance. 3rd ed. Bethesda, Maryland: CLSI; 2023.
 25. Bureau International des Poids et Mesures. International vocabulary of metrology - Basic and general concepts and associated terms (VIM), 2008 version with minor

- corrections: BIPM; 2012.
26. Bureau International des Poids et Mesures. Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM): Instituto Português da Qualidade/InMetro; 2012.
 27. Bayes T. LII. An Essay towards solving a Problem in the Doctrine of Chance. By the late Rev. Mr. Bayes, communicated by Mr. Price, in a letter to John Canton, A. M. F. R. S. Philos Trans R Soc London. 1763;53(0):370–418. A. M. F. R. S. Philos Trans R Soc London. 1763; 53(0): 370-418.
 28. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP24-A2 Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic Curves. Wayne (PA): 2011.
 29. Comissão Europeia. Regulamento de execução (UE) 2022/1107 da Comissão de 4 de julho de 2022 que estabelece especificações comuns para determinados dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* da classe D, em conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 do Parlamento. 2022.
 30. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP17-A2 Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. 2nd ed.: CLSI; 2012.
 31. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP32-R Metrological traceability and its implementation Wayne: CLSI; 2006.
 32. Pereira P, Magnusson B, Theodorsson E, Westgard JO, Encarnação P. Measurement uncertainty as a tool for evaluating the 'grey zone' to reduce the false negatives in immunochemical screening of blood donors for infectious diseases. *Accred Qual Assur*. 2016; 21(1): 25-32.
 33. Wilson EB. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *JASA*. 1923 Jun; 22(158): 209-212.
 34. Lusted LB. Introduction to medical decision making Springfield (IL): Charles C.Thomas; 1968.
 35. Murphy JM, Berwick DM, Weinstein MC, Borus JF, Budman SH, Klerman GL. Performance on screening and diagnostic tests. *Arch Gen Psychiatry*. 1987 Jun; 44(6): 550-555.
 36. Hosmer Jr D, Lemeshow S, Sturdivant RX. Applied logistic regression. 3rd ed. New York (NY): John Wiley & Sons; 2013.
 37. Crofts N, Maskill W, Gust ID. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays: a method of data analysis. *J Virol Methods*. 1988; 22(1): 51-59.
 38. Clinical and Laboratory Standards Institute. I/LA28-A2 Quality assurance for design

- control and implementation of immunohistochemistry assays. 2nd ed. Waune (PA): CLSI; 2011.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute. MM01-A4 Molecular testing for heritable genetics and specimen identification. 4th ed. Bethesda (MA): CLSI; 2023.
 40. Seracare. Hepatitis C AccuVert(TM) seroconversion panel PHV919 (0610-0217). 2014.
 41. Assembleia da República. Lei n.º 99/2017 de 25 de agosto - Procede à segunda alteração à Lei n.º 12/2009, de 26 de março, que estabelece o regime jurídico da qualidade e segurança relativa à dádiva, colheita e análise, processamento, preservação, armazenamento, (...). 2017.
 42. Ministério da Saúde, Governo de Portugal. Decreto-Lei n.º 267/2007, de 24 de julho - Regime jurídico da qualidade e segurança do sangue humano e dos componentes sanguíneos. 2007.
 43. Ministério da Saúde, Governo de Portugal. Decreto-Lei n.º 86/2017, de 27 de julho Altera as normas e especificações do sistema de qualidade dos serviços de sangue, transpondo a Diretiva (UE) n.º 2016/1214. 2017.
 44. Pereira P, Westgard JO, Encarnação P, Seghatchian J. Analytical model for calculating indeterminate results interval of screening tests, the effect on seroconversion window period: A brief evaluation of the impact of uncertain results on the blood establishment budget. *Transfus Apher Sci.* 2014 Oct; 51(2): 126-131.
 45. Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P. IPSTdotorg. [Online]; 2020 [cited 2023 05 03. Available from: <https://ipst.pt/index.php/pt/>
 46. Parlamento Europeu. Diretiva n.º 2002/98/CE do Parlamento Europeu Conselho que estabelece normas de qualidade e segurança em relação à colheita, análise, processamento, armazenamento e distribuição de sangue humano e de componentes sanguíneos. 2003 Jan 27.
 47. Assembleia da República. Lei nº 12/2009, de 26 de março - Estabelece o regime jurídico da qualidade e segurança relativa à dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana, transpondo. 2009.
 48. Assembleia da República. Lei n.º 1/2015 de 8 de janeiro - Procede à primeira alteração à Lei n.º 12/2009, de 26 de março, que estabelece o regime jurídico da qualidade e segurança relativa à dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição. 2009.
 49. Zaltron S, Spinetti A, Biasi L, Baiguera C, Castelli F. Chronic HCV infection:

- epidemiological and clinical relevance. *BMC Infect Dis.* 2012; 12(Suppl 2): S2.
50. Thomson EC, Fleming VM, Main J, Klenerman P, Weber J, Eliahoo J, et al. Predicting spontaneous clearance of acute hepatitis C virus in a large cohort of HIV-1-infected men. *Gut.* 2011 Jun; 60(6): 837-845.
 51. European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C - Annual Epidemiological Report for 2021. Surveillance Report. ECDC, The European Surveillance System (TESSy); 2023.
 52. Hatzakis A, Wait S, Bruix J, Buti M, Carballo M, Cavaleri M, et al. The state of hepatitis B and C in Europe: report from the hepatitis B and C summit conference. *J Viral Hepat.* 2011 Sep; 18(Suppl 1): 1-16.
 53. Rodrigues A, Pinho L, Lobato L, Queirós A, Castro R, Daniel M, et al. Hepatitis C virus genotypes and the influence of the induction of immunosuppression with anti-thymocyte globulin (ATG) on chronic hepatitis in renal graft recipients. *Transpl Int.* 1998 Jun; 11(Suppl 1): S115-S118.
 54. Sarmiento-Castro R, Horta A, Vasconcelos O, Coelho H, Mendez J, Tavares AP, et al. Impact of peginterferon alpha-2b and ribavirin treatment on liver tissue in patients with HCV or HCV-HIV co-infection. *J Infect.* 2007 Jun; 54(3): 609-616.
 55. Ramalho F, Costa A, Pires A, Cabrita P, Serejo F, Correia AP, et al. Correlation of genotypes and route of transmission with histologic activity and disease stage in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.* 2000 Jan; 45(1): 182-187.
 56. Calado RA, Rocha MR, Parreira R, Piedade J, Venenno T, Esteves A. Hepatitis C virus subtypes circulating among intravenous drug users in Lisbon, Portugal. *J Med Virol.* 2011 Apr; 83(4): 608-615.
 57. Pádua E, Avó AP, Almeida C, Doce IA, Martins HC. Assessment of Hepatitis C Virus Diversity in Addition to the Frequency of Genotypes in Samples Analyzed Between 2009 and 2014 at the Reference Laboratory of National Health Institute Dr. Ricardo Jorge. *Acta Med Port.* 2015 Nov-Dec; 28(6): 695-701.
 58. Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2015 Jan; 61(1): 77-87.
 59. Palladino C, Ezeonwumelu IJ, Marcelino R, Briz V, Moranguinho I, Serejo F, et al. Epidemic history of hepatitis C virus genotypes and subtypes in Portugal. *Sci Rep-UK.* 2018 Aug; 8(12266): 1-13.
 60. Mahapatra S, Parida P, Prasad CR, Palai S, Mishra D, Behera S, et al. Adaptation of a Public-Private Partnership Model for the Implementation of Minipool Nucleic

- Acid Testing for Screening Routine Blood Donations and Assay Evaluation. *J Lab Physicians*. 2022 Jun; 14(3): 317-323.
61. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*. 1989 Apr; 244(4902): 362-364.
 62. Alter HJ. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology*. 1992 Feb; 15(2): 350-353.
 63. Bååth L, Widell A, Nordenfelt E. A comparison between one first generation and three second generation anti-HCV ELISAs: an investigation in high- and low-risk subjects in correlation with recombinant immunoblot assay and polymerase chain reaction. *J Virol Methods*. 1992 Dec; 40(3): 287-296.
 64. van der Poel CL, Cuypers HT, Reesink HW. Hepatitis C virus six years on. *Lancet*. 1994 Nov; 344(8935): 1475-1479.
 65. Nakagiri I, Ichihara K, Ohmoto K, Hirokawa M, Matsuda N. Analysis of discordant test results among five second-generation assays for anti-hepatitis C virus antibodies also tested by polymerase chain reaction-RNA assay and other laboratory and clinical tests for hepatitis. *J Clin Microbiol*. 1993 Nov; 31(11): 2974-2980.
 66. Dow BC, Follett EA, Jordan T, McOmish F, Davidson J, Gillon J, et al. Testing of blood donations for hepatitis C virus. *Lancet*. 1994 Feb; 343(8895): 477-478.
 67. Bansal J, Constantine NT, Zhang X, Callahan JD, Marsiglia VC, Hyams KC. Evaluation of five hepatitis C virus screening tests and two supplemental assays: performance when testing sera from sexually transmitted diseases clinic attendees in the USA. *Clin Diagn Virol*. 1993 Jul; 1(2): 113-121.
 68. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C, et al. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat*. 2001 Mar; 8(2): 87-95.
 69. Vernelen K, Claeys H, Volckaerts A, Vermylen C. Significance of NS3 and NS5 antigens in screening for HCV antibody. *Lancet*. 1994 Apr; 343(8901): 853.
 70. van der Poel CL. Hepatitis C virus: into the fourth generation. *Vox Sang*. 1994 Aug; 67(Suppl. 3): 95-98.
 71. Schröter M, Schäfer P, Zöllner B, Polywka S, Laufs R, Feucht HH. Strategies for reliable diagnosis of hepatitis C infection: the need for a serological confirmatory assay. *J Med Virol*. 2001 Jul; 64(3): 320-324.

72. Gupta E, Bajpai M, Choudhary A. Hepatitis C virus: Screening, diagnosis, and interpretation of laboratory assays. *Asian J Transf Sci.* 2014 Jan-Jun; 8(1): 19-25.
73. Müller B, Nübling CM, Kress J, Roth WK, De Zolt S, Pichl L. How safe is safe: new human immunodeficiency virus Type 1 variants missed by nucleic acid testing. *Transfusion.* 2013 Oct; 53(10 Pt2): 2422-2430.
74. Montgomery DC. *Introduction to statistical quality control.* 8th ed. New York (NY): John Wiley and Sons, Inc.; 2020.
75. Agência para a Modernização Administrativa, IP. Base de Dados do Sangue - ASIS. [Online]. [cited 2023 07 16. Available from: <http://www.rcc.gov.pt/Directorio/Temas/IG/Paginas/Base-de-Dados-do-Sangue-.aspx>
76. Hill T, Lewicki P. *Statistics: Methods and Applications* Tulsa (Oklahoma): StatSoft, Inc.; 2005.
77. MedCalc Software Ltd. MedCalc. [Online].; 2023. Available from: <https://medcalc.org/>.
78. Karopoulos A, Silvester C, Dax EM. A Comparison of the performance of nine commercially available anti-HTLV-I screening assays. *J Virol Methods.* 1993 Nov; 45(1): 83-91.
79. Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med.* 1998 Apr; 17(8): 857-872.
80. Metz C. Basic principles of ROC analysis. *Semin Nucl Med.* 1978 Oct; 8(4): 283-298.
81. Goodwin ET. The evaluation of integrals of the form $\int_{-\infty}^{\infty} [f(x) e^{(-x)^2}] dx$. *Math Proc Cambridge.* 1949 Apr; 45(2): 241-245.
82. World Medical Association. WMA Declaration of Geneva (2017 amendment). 1948..
83. World Medical Association. WMA Declaration of Helsinki - Ethical principles for medical research involving human subjects (2013 amendment). 1964.
84. Council of Europe. Convention for the protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine (ETS No. 164). 1997.
85. Council of Europe. Oviedo Convention and its Protocols. [Online].; 2023 [cited 2023 06 28. Available from: <https://www.coe.int/en/web/bioethics/oviedo-convention>
86. Parlamento Europeu. Regulamento (UE) 2016/679 do Parlamento Europeu e do

Conselho de 27 de abril de 2016 relativo à proteção das pessoas singulares no que diz respeito ao tratamento de dados pessoais e à livre circulação desses dados e que revoga a Diretiva 95/46/CE. 2016.

87. Pereira P, Westgard JO, Encarnação P, Seghatchian J. Evaluation of the measurement uncertainty in screening immunoassays in blood establishments: computation of diagnostic accuracy models. *Transfus Apher Sci.* 2015; 52(1): 35-41.
88. International Organization for Standardization/International Electrotechnical Commission. ISO/IEC Directives, Part 1 - Procedures for the technical work - Consolidated ISO Supplement - Procedures specific to ISO. 2023rd ed. Geneva: ISO; 2023.
89. International Organization for Standardization/International Electrotechnical Commission. ISO/IEC Directives, Part 2 - Principles and rules for the structure and drafting of ISO and IEC documents. 9th ed. ISO , editor. Geneva; 2021.

8. Anexos

8.1 Anexo I - Resultados binários das amostras de doentes infetados pelo VHC para teste 1 (EIA) e teste 2 (EIA)

| n | n.º amostra | Data de colheita | Teste 1 | | Teste2 | |
|----|-------------|------------------|---------|---------------|--------|---------------|
| | | | s/co | Classificação | s/co | Classificação |
| 1 | C71196 | 28-abr-19 | 1,78 | Positivo | 1,09 | Positivo |
| 2 | C79505 | 27-mar-22 | 1,68 | Positivo | 4,04 | Positivo |
| 3 | C23662 | 25-mar-19 | 4,66 | Positivo | 2,97 | Positivo |
| 4 | C41594 | 23-ago-20 | 3,68 | Positivo | 5,91 | Positivo |
| 5 | C52780 | 8-jul-19 | 1,24 | Positivo | 1,02 | Positivo |
| 6 | C6547 | 29-set-21 | 2,91 | Positivo | 2,55 | Positivo |
| 7 | C20610 | 5-mai-19 | 3,45 | Positivo | 5,07 | Positivo |
| 8 | C69740 | 20-mar-20 | 4,39 | Positivo | 6,23 | Positivo |
| 9 | C79618 | 11-out-22 | 2,33 | Positivo | 6,83 | Positivo |
| 10 | C33665 | 15-set-19 | 2,4 | Positivo | 6,59 | Positivo |
| 11 | C69149 | 16-out-21 | 6,25 | Positivo | 3,34 | Positivo |
| 12 | C50120 | 26-mar-20 | 3,15 | Positivo | 2,71 | Positivo |
| 13 | C76752 | 2-ago-19 | 5,99 | Positivo | 5,42 | Positivo |
| 14 | C32803 | 5-jan-19 | 6,70 | Positivo | 2,85 | Positivo |
| 15 | C17462 | 28-out-21 | 1,40 | Positivo | 2,66 | Positivo |
| 16 | C49792 | 27-ago-20 | 6,44 | Positivo | 5,48 | Positivo |
| 17 | C7445 | 9-jun-22 | 6,45 | Positivo | 2,41 | Positivo |
| 18 | C37060 | 30-set-18 | 3,16 | Positivo | 2,72 | Positivo |
| 19 | C43371 | 27-nov-22 | 2,77 | Positivo | 5,99 | Positivo |
| 20 | C80073 | 24-mar-20 | 6,75 | Positivo | 6,56 | Positivo |
| 21 | C32200 | 3-mar-20 | 1,96 | Positivo | 5,08 | Positivo |
| 22 | C63076 | 19-out-22 | 3,14 | Positivo | 6,34 | Positivo |
| 23 | C65724 | 23-abr-18 | 4,68 | Positivo | 2,11 | Positivo |
| 24 | C74477 | 6-jul-21 | 4,74 | Positivo | 1,13 | Positivo |
| 25 | C59732 | 9-dez-20 | 6,05 | Positivo | 3,69 | Positivo |
| 26 | C52870 | 17-mar-21 | 6,87 | Positivo | 4,55 | Positivo |
| 27 | C73202 | 29-mar-20 | 1,31 | Positivo | 2,25 | Positivo |
| 28 | C73838 | 16-nov-18 | 1,15 | Positivo | 5,68 | Positivo |
| 29 | C48158 | 24-jun-20 | 1,90 | Positivo | 5,97 | Positivo |
| 30 | C30464 | 3-jun-18 | 4,29 | Positivo | 2,19 | Positivo |
| 31 | C49653 | 31-mar-18 | 2,07 | Positivo | 4,51 | Positivo |
| 32 | C93912 | 13-mar-18 | 6,73 | Positivo | 1,91 | Positivo |
| 33 | C5315 | 28-ago-22 | 5,22 | Positivo | 6,22 | Positivo |
| 34 | C53140 | 8-mar-18 | 1,40 | Positivo | 2,77 | Positivo |
| 35 | C37971 | 25-ago-18 | 6,75 | Positivo | 6,04 | Positivo |
| 36 | C87094 | 15-mai-20 | 2,48 | Positivo | 4,12 | Positivo |
| 37 | C59970 | 15-set-19 | 1,32 | Positivo | 1,85 | Positivo |
| 38 | C8496 | 30-ago-19 | 1,29 | Positivo | 3,98 | Positivo |
| 39 | C91937 | 3-out-21 | 2,13 | Positivo | 4,58 | Positivo |
| 40 | C9999 | 19-fev-19 | 6,62 | Positivo | 4,24 | Positivo |
| 41 | C8784 | 21-ago-21 | 2,64 | Positivo | 3,29 | Positivo |
| 42 | C53926 | 23-nov-21 | 5,86 | Positivo | 6,31 | Positivo |
| 43 | C5346 | 31-ago-22 | 4,35 | Positivo | 4,79 | Positivo |
| 44 | C58242 | 29-nov-21 | 4,85 | Positivo | 2,95 | Positivo |
| 45 | C69887 | 11-jul-19 | 6,01 | Positivo | 1,95 | Positivo |
| 46 | C24868 | 26-set-19 | 3,37 | Positivo | 1,31 | Positivo |

| | | | | | | |
|-----|--------|-----------|------|----------|------|----------|
| 47 | C44501 | 24-dez-18 | 6,18 | Positivo | 3,92 | Positivo |
| 48 | C19314 | 24-jun-22 | 3,66 | Positivo | 5,81 | Positivo |
| 49 | C48652 | 15-abr-21 | 4,98 | Positivo | 2,76 | Positivo |
| 50 | C53372 | 14-mai-18 | 3,55 | Positivo | 3,91 | Positivo |
| 51 | C92919 | 17-mai-20 | 3,06 | Positivo | 1,94 | Positivo |
| 52 | C63521 | 12-dez-22 | 4,66 | Positivo | 2,33 | Positivo |
| 53 | C36993 | 3-dez-20 | 1,82 | Positivo | 5,07 | Positivo |
| 54 | C94319 | 27-out-20 | 6,60 | Positivo | 1,58 | Positivo |
| 55 | C38383 | 23-out-21 | 1,30 | Positivo | 4,12 | Positivo |
| 56 | C21055 | 3-nov-18 | 5,81 | Positivo | 1,26 | Positivo |
| 57 | C44286 | 12-jul-21 | 5,36 | Positivo | 7,00 | Positivo |
| 58 | C14608 | 29-out-19 | 4,86 | Positivo | 4,12 | Positivo |
| 59 | C39781 | 13-jan-23 | 3,40 | Positivo | 2,38 | Positivo |
| 60 | C16276 | 27-fev-20 | 3,59 | Positivo | 5,76 | Positivo |
| 61 | C61382 | 7-dez-20 | 3,84 | Positivo | 6,86 | Positivo |
| 62 | C62783 | 9-dez-18 | 6,25 | Positivo | 1,99 | Positivo |
| 63 | C79549 | 28-fev-22 | 2,11 | Positivo | 6,20 | Positivo |
| 64 | C28840 | 2-mar-19 | 3,17 | Positivo | 5,20 | Positivo |
| 65 | C71770 | 12-fev-22 | 5,26 | Positivo | 1,59 | Positivo |
| 66 | C50966 | 22-fev-22 | 2,97 | Positivo | 2,36 | Positivo |
| 67 | C13080 | 29-jan-22 | 5,17 | Positivo | 5,18 | Positivo |
| 68 | C36031 | 30-ago-21 | 2,97 | Positivo | 5,75 | Positivo |
| 69 | C52616 | 10-jul-18 | 1,14 | Positivo | 3,68 | Positivo |
| 70 | C62824 | 25-jul-20 | 6,08 | Positivo | 5,29 | Positivo |
| 71 | C10544 | 20-jul-21 | 2,07 | Positivo | 1,80 | Positivo |
| 72 | C72831 | 17-set-20 | 4,31 | Positivo | 2,52 | Positivo |
| 73 | C18636 | 22-fev-21 | 4,81 | Positivo | 5,53 | Positivo |
| 74 | C30155 | 17-set-20 | 1,59 | Positivo | 2,39 | Positivo |
| 75 | C2674 | 29-ago-20 | 1,14 | Positivo | 5,66 | Positivo |
| 76 | C15189 | 7-mar-21 | 1,44 | Positivo | 3,19 | Positivo |
| 77 | C3108 | 21-jan-22 | 4,38 | Positivo | 3,17 | Positivo |
| 78 | C75143 | 1-jul-22 | 4,28 | Positivo | 4,13 | Positivo |
| 79 | C46357 | 24-ago-19 | 5,97 | Positivo | 5,51 | Positivo |
| 80 | C29443 | 27-out-20 | 6,36 | Positivo | 4,68 | Positivo |
| 81 | C4729 | 21-jul-22 | 5,10 | Positivo | 6,12 | Positivo |
| 82 | C39425 | 16-mar-18 | 4,44 | Positivo | 3,74 | Positivo |
| 83 | C47351 | 6-out-22 | 6,8 | Positivo | 6,27 | Positivo |
| 84 | C29344 | 16-dez-20 | 6,73 | Positivo | 2,91 | Positivo |
| 85 | C32391 | 17-dez-20 | 6,55 | Positivo | 3,96 | Positivo |
| 86 | C8962 | 15-set-21 | 2,73 | Positivo | 2,22 | Positivo |
| 87 | C57611 | 10-nov-20 | 1,66 | Positivo | 5,10 | Positivo |
| 88 | C59097 | 7-dez-19 | 4,67 | Positivo | 3,71 | Positivo |
| 89 | C66684 | 5-jan-19 | 4,85 | Positivo | 3,95 | Positivo |
| 90 | C65234 | 7-jun-22 | 5,11 | Positivo | 4,65 | Positivo |
| 91 | C16684 | 19-jul-22 | 4,92 | Positivo | 1,81 | Positivo |
| 92 | C12199 | 7-nov-21 | 6,58 | Positivo | 2,83 | Positivo |
| 93 | C14235 | 15-mai-20 | 6,49 | Positivo | 3,74 | Positivo |
| 94 | C93020 | 9-ago-21 | 6,84 | Positivo | 2,58 | Positivo |
| 95 | C35909 | 12-jun-18 | 5,43 | Positivo | 4,20 | Positivo |
| 96 | C74677 | 17-jun-22 | 6,33 | Positivo | 6,25 | Positivo |
| 97 | C79495 | 1-out-18 | 1,80 | Positivo | 1,10 | Positivo |
| 98 | C23057 | 13-abr-21 | 3,57 | Positivo | 1,46 | Positivo |
| 99 | C70725 | 10-abr-21 | 6,38 | Positivo | 2,58 | Positivo |
| 100 | C78945 | 19-abr-18 | 3,82 | Positivo | 5,75 | Positivo |

8.2 Anexo II - Resultados binários das amostras de não doentes para teste 1 (EIA) e teste 2 (EIA)

| n | n.º amostra | Data de colheita | Teste 1 | | Teste2 | |
|----|-------------|------------------|---------|---------------|--------|---------------|
| | | | s/co | Classificação | s/co | Classificação |
| 1 | 10-fev-22 | C114933 | 0,87 | Negativo | 0,68 | Negativo |
| 2 | 20-set-19 | C101239 | 0,31 | Negativo | 0,27 | Negativo |
| 3 | 7-out-20 | C103125 | 0,40 | Negativo | 0,42 | Negativo |
| 4 | 29-jan-23 | C107502 | 0,95 | Negativo | 0,71 | Negativo |
| 5 | 2-fev-20 | C104655 | 0,06 | Negativo | 0,28 | Negativo |
| 6 | 1-jul-18 | C106193 | 0,49 | Negativo | 0,11 | Negativo |
| 7 | 13-fev-18 | C101125 | 0,23 | Negativo | 0,59 | Negativo |
| 8 | 4-mar-19 | C106690 | 0,72 | Negativo | 0,84 | Negativo |
| 9 | 17-ago-22 | C100895 | 0,02 | Negativo | 0,64 | Negativo |
| 10 | 15-nov-21 | C112294 | 0,24 | Negativo | 0,18 | Negativo |
| 11 | 17-nov-21 | C112795 | 0,90 | Negativo | 0,04 | Negativo |
| 12 | 8-set-18 | C103802 | 0,63 | Negativo | 0,31 | Negativo |
| 13 | 30-dez-21 | C110746 | 0,59 | Negativo | 0,70 | Negativo |
| 14 | 19-set-22 | C106418 | 0,81 | Negativo | 0,56 | Negativo |
| 15 | 9-mar-22 | C101190 | 0,43 | Negativo | 0,30 | Negativo |
| 16 | 8-fev-22 | C101404 | 0,62 | Negativo | 0,10 | Negativo |
| 17 | 21-jan-23 | C106884 | 0,53 | Negativo | 0,90 | Negativo |
| 18 | 19-ago-20 | C114948 | 0,13 | Negativo | 0,92 | Negativo |
| 19 | 24-out-22 | C107031 | 0,22 | Negativo | 0,72 | Negativo |
| 20 | 28-nov-19 | C107659 | 0,84 | Negativo | 0,76 | Negativo |
| 21 | 27-abr-18 | C111997 | 0,57 | Negativo | 0,27 | Negativo |
| 22 | 8-abr-20 | C104581 | 0,43 | Negativo | 0,04 | Negativo |
| 23 | 9-abr-21 | C113187 | 0,15 | Negativo | 0,98 | Negativo |
| 24 | 24-ago-22 | C114835 | 0,94 | Negativo | 0,71 | Negativo |
| 25 | 27-mai-22 | C114265 | 0,86 | Negativo | 0,56 | Negativo |
| 26 | 25-mar-22 | C111426 | 0,47 | Negativo | 0,98 | Negativo |
| 27 | 30-dez-20 | C113725 | 0,46 | Negativo | 0,87 | Negativo |
| 28 | 27-abr-22 | C109592 | 0,04 | Negativo | 0,04 | Negativo |
| 29 | 5-ago-22 | C100524 | 0,81 | Negativo | 0,34 | Negativo |
| 30 | 23-nov-19 | C109846 | 0,43 | Negativo | 0,14 | Negativo |
| 31 | 14-set-21 | C103378 | 0,53 | Negativo | 0,65 | Negativo |
| 32 | 28-fev-20 | C102844 | 0,71 | Negativo | 0,59 | Negativo |
| 33 | 26-jun-21 | C111553 | 0,24 | Negativo | 0,71 | Negativo |
| 34 | 26-abr-18 | C106794 | 0,57 | Negativo | 0,86 | Negativo |
| 35 | 26-ago-18 | C101640 | 0,44 | Negativo | 0,02 | Negativo |
| 36 | 8-jun-22 | C113205 | 0,86 | Negativo | 0,08 | Negativo |
| 37 | 27-jan-21 | C110110 | 0,15 | Negativo | 0,05 | Negativo |
| 38 | 30-out-22 | C102283 | 0,55 | Negativo | 0,59 | Negativo |
| 39 | 11-mai-21 | C114470 | 0,93 | Negativo | 0,80 | Negativo |
| 40 | 13-set-20 | C100425 | 0,23 | Negativo | 0,23 | Negativo |
| 41 | 5-set-19 | C108229 | 0,99 | Negativo | 0,17 | Negativo |
| 42 | 27-jun-22 | C109955 | 0,16 | Negativo | 0,43 | Negativo |
| 43 | 1-set-20 | C101910 | 0,40 | Negativo | 0,94 | Negativo |
| 44 | 28-set-21 | C107205 | 0,68 | Negativo | 0,40 | Negativo |
| 45 | 12-fev-20 | C103517 | 0,49 | Negativo | 0,18 | Negativo |
| 46 | 18-out-21 | C103161 | 0,06 | Negativo | 0,72 | Negativo |
| 47 | 19-mar-19 | C114502 | 0,80 | Negativo | 0,14 | Negativo |
| 48 | 26-jun-19 | C113530 | 0,66 | Negativo | 0,15 | Negativo |

| | | | | | | |
|-----|-----------|---------|------|----------|------|----------|
| 49 | 5-dez-21 | C107535 | 0,17 | Negativo | 0,86 | Negativo |
| 50 | 23-ago-21 | C110699 | 0,61 | Negativo | 0,04 | Negativo |
| 51 | 15-nov-22 | C111398 | 0,74 | Negativo | 0,92 | Negativo |
| 52 | 16-jun-20 | C112808 | 0,47 | Negativo | 0,25 | Negativo |
| 53 | 18-jan-19 | C103859 | 0,74 | Negativo | 0,30 | Negativo |
| 54 | 20-mar-20 | C113878 | 0,96 | Negativo | 0,64 | Negativo |
| 55 | 11-ago-18 | C109784 | 0,11 | Negativo | 0,75 | Negativo |
| 56 | 1-set-19 | C101480 | 0,86 | Negativo | 0,65 | Negativo |
| 57 | 8-out-19 | C103914 | 0,02 | Negativo | 0,95 | Negativo |
| 58 | 2-jul-21 | C103280 | 0,27 | Negativo | 0,67 | Negativo |
| 59 | 29-mar-20 | C101234 | 0,14 | Negativo | 0,36 | Negativo |
| 60 | 28-mai-20 | C104871 | 0,38 | Negativo | 0,40 | Negativo |
| 61 | 20-dez-18 | C109655 | 0,38 | Negativo | 0,15 | Negativo |
| 62 | 22-mar-19 | C110255 | 0,62 | Negativo | 0,47 | Negativo |
| 63 | 27-ago-20 | C108327 | 0,15 | Negativo | 0,83 | Negativo |
| 64 | 21-nov-19 | C103527 | 0,43 | Negativo | 0,71 | Negativo |
| 65 | 7-out-20 | C112716 | 0,99 | Negativo | 0,66 | Negativo |
| 66 | 24-jun-19 | C102563 | 0,34 | Negativo | 0,58 | Negativo |
| 67 | 17-ago-18 | C100403 | 0,07 | Negativo | 0,10 | Negativo |
| 68 | 13-dez-21 | C102660 | 0,41 | Negativo | 0,44 | Negativo |
| 69 | 17-abr-19 | C104669 | 0,88 | Negativo | 0,32 | Negativo |
| 70 | 2-nov-22 | C111159 | 0,48 | Negativo | 0,90 | Negativo |
| 71 | 30-jul-20 | C107948 | 0,17 | Negativo | 0,01 | Negativo |
| 72 | 6-dez-18 | C106406 | 0,45 | Negativo | 0,58 | Negativo |
| 73 | 5-fev-22 | C109312 | 0,87 | Negativo | 0,40 | Negativo |
| 74 | 7-nov-20 | C113947 | 0,09 | Negativo | 0,84 | Negativo |
| 75 | 27-fev-18 | C103301 | 0,07 | Negativo | 0,47 | Negativo |
| 76 | 6-mai-18 | C109006 | 0,24 | Negativo | 0,25 | Negativo |
| 77 | 30-jun-22 | C114290 | 0,10 | Negativo | 0,74 | Negativo |
| 78 | 16-out-18 | C114457 | 0,86 | Negativo | 0,99 | Negativo |
| 79 | 6-mar-22 | C102742 | 0,59 | Negativo | 0,98 | Negativo |
| 80 | 22-out-20 | C106602 | 0,02 | Negativo | 0,39 | Negativo |
| 81 | 15-mai-19 | C112774 | 0,65 | Negativo | 0,45 | Negativo |
| 82 | 19-jan-19 | C107192 | 0,03 | Negativo | 0,82 | Negativo |
| 83 | 2-jun-22 | C113060 | 0,49 | Negativo | 0,69 | Negativo |
| 84 | 2-jan-21 | C111705 | 0,82 | Negativo | 0,91 | Negativo |
| 85 | 1-jun-18 | C102532 | 0,06 | Negativo | 0,66 | Negativo |
| 86 | 12-ago-22 | C104128 | 0,56 | Negativo | 0,01 | Negativo |
| 87 | 29-dez-20 | C108866 | 0,53 | Negativo | 0,98 | Negativo |
| 88 | 26-jun-19 | C101329 | 0,69 | Negativo | 0,55 | Negativo |
| 89 | 23-mai-22 | C107466 | 0,83 | Negativo | 0,59 | Negativo |
| 90 | 22-jun-21 | C104808 | 0,15 | Negativo | 0,63 | Negativo |
| 91 | 10-jun-19 | C107867 | 0,12 | Negativo | 0,62 | Negativo |
| 92 | 8-jan-20 | C100596 | 0,43 | Negativo | 0,70 | Negativo |
| 93 | 23-set-22 | C107403 | 0,55 | Negativo | 0,02 | Negativo |
| 94 | 17-nov-19 | C113517 | 0,87 | Negativo | 0,59 | Negativo |
| 95 | 26-jan-19 | C110406 | 0,04 | Negativo | 0,62 | Negativo |
| 96 | 21-dez-21 | C113477 | 0,13 | Negativo | 0,19 | Negativo |
| 97 | 26-out-20 | C100915 | 0,76 | Negativo | 0,62 | Negativo |
| 98 | 7-fev-19 | C110112 | 0,83 | Negativo | 0,88 | Negativo |
| 99 | 21-set-20 | C103608 | 0,29 | Negativo | 0,95 | Negativo |
| 100 | 15-mai-19 | C114950 | 0,97 | Negativo | 0,31 | Negativo |

8.3 Anexo III - Parecer Ético do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P.

From: Paulo Pereira
Sent: 15 de fevereiro de 2023 12:20
To: Vilma Oliveira Cordeiro; 'ana.tavares@estesl.ipl.pt'
Cc: Antonia Escoval; Vitor Marques; Ana Pires Silva; Fernando Gramacho; Filipe Luig; 'Comissão Ética'
Subject: Aprovação do IPST para a cedência de dados

Mestranda Vilma Cordeiro e Professora Doutora Sofia Tavares,

Relativamente ao pedido de dados efetuado em 16 de dezembro de 2022 para utilização na tese “Avaliação do desempenho de métodos qualitativos no laboratório clínico” do Mestrado “Tecnologias Clínico-Laboratoriais” lecionado na Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (Instituto Politécnico de Lisboa), comunico:

O parecer relativo à Proteção de Dados pela Encarregada de Proteção de Dados, com aprovação do Conselho Diretivo do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P., foi favorável à disponibilização dos dados em parecer de 14 de fevereiro de 2023, nos seguintes termos:

- Dados a disponibilizar: hipotético código de dádiva não rastreável ao dador, dia dos testes para o vírus da hepatite C, resultados para teste de anticorpos (positivo ou negativo) e teste de ácidos nucleicos (positivo ou negativo).
- Os dados serão enviados formalmente pelo IPST à Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (Instituto Politécnico de Lisboa), através da Orientadora Interna Professora Doutora Sofia Tavares ana.tavares@estesl.ipl.pt, mencionando-se, na comunicação formal, que os mesmos se destinam à Mestranda Vilma Oliveira Cordeiro.

Com os melhores cumprimentos/Best wishes

Paulo Pereira, Ph.D. | Investigador Auxiliar, Coordenador do Gabinete de Investigação, Inovação e Desenvolvimento | Senior Postdoctoral Researcher, Coordinator of the R&D Department | Telef. N.º/Phone no. (+351) 210063047

8.4 Anexo IV - Parecer do Conselho de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

From: Comissão Ética <conselhodeetica@estesl.ipl.pt>
Sent: 5 de abril de 2023 13:15
To: Vilma Oliveira Cordeiro; Paulo Pereira; Ana Sofia Rodrigues Tavares
Cc: mestrados mestrados; Edna ribeiro
Subject: CE-ESTeSL-Nº.119-2022 – Vilma Cordeiro

CAUTION: [Remetente de origem externa ao sistema de email corporativo do IPST] Não abra links ou anexos de pessoas ou contas desconhecidas. Nunca forneça o seu utilizador e password..

REFERÊNCIA INTERNA DO PROJETO: CE-ESTeSL-Nº.119-2022 – Vilma Cordeiro
TÍTULO DO PROJETO: Avaliação do desempenho de métodos qualitativos no laboratório clínico
Tipo de Projeto/Estudo: Investigação 2º ciclo
INVESTIGADOR/A RESPONSÁVEL: Vilma Márcia de Oliveira Cordeiro
Equipa: Prof. Doutor Paulo Pereira
INSTITUIÇÃO PROMOTORA: Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Politécnico de Lisboa
Instituição(ões) envolvidas: ESTeSL-IPL; Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P., Serviços Centrais

Exmo. Senhor Prof. Doutor Paulo Pereira
Exma. Senhora Prof. Doutora Ana Tavares
Exma. Senhora Dra. Vilma Cordeiro, estudante de mestrado

Após os esclarecimentos de 20 de março, a Comissão de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (CE-ESTeSL) aprovou por unanimidade a emissão de parecer favorável.

O presente parecer tem em consideração a versão submetida do projeto e demais documentação enviada. Eventuais alterações nestes documentos determinam a necessidade de revisão do presente parecer.

Lembramos que todos os estudos que envolvem a autorização dos participantes e a recolha de amostras e dados anonimizados e/ou codificados têm de cumprir com o estabelecido no Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados de 27 de abril de 2016.

Por último, solicita-se que, ao abrigo do artº 19 da Lei 21/2014 de 16 de abril e do disposto no nº 23 da atual versão da Declaração de Helsínquia, seja dado conhecimento à CE-ESTeSL do relatório final, com as conclusões do estudo, bem como de eventuais alterações ao protocolo de investigação e demais informações tidas por relevantes.

Aproveitamos ainda para desejar o maior sucesso no desenvolvimento deste trabalho.

Com os melhores cumprimentos,

Rute Borrego

Rute Borrego | Professora Adjunta
Presidente da Comissão de Ética

Av. D. João II, lote 4.69.01- Parque das Nações
1990-096 Lisboa | Portugal
conselhodeetica@estesl.ipl.pt
+351 218980488 (ext. 647)



9 Apêndices

9.1 Cronograma do estudo

Tabela 9. Cronograma do presente estudo.

| Atividades | Período Cronológico 2022/2023 | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 2022 | | | | | 2023 | | | | | | |
| | Ago | Set | Out | Nov | Dez | Jan | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul |
| Revisão de literatura | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Recolha dos dados | | | | | | | ■ | ■ | | | | |
| Tratamento estatístico dos dados | | | | | | | | ■ | ■ | | | |
| Interpretação dos resultados | | | | | | | | | ■ | ■ | | |
| Definição das considerações finais | | | | | | | | | | ■ | ■ | |
| Conclusão da investigação | | | | | | | | | | | ■ | ■ |
| Escrita do documento | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Revisão do documento | | | | | | | | | | ■ | ■ | ■ |
| Entrega da dissertação | | | | | | | | | | | | ■ |

Página intencionalmente deixada em branco