

**ESTUDO MULTICÊNTRICO: AVALIAÇÃO DO
DESEMPENHO DE CONJUNTOS DIAGNÓSTICOS
DE HEMAGLUTINAÇÃO INDIRETA, DISPONÍVEIS
NO BRASIL, PARA O DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO
DA INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi*^(*)**

*Amadeo Sáez-Alquézar,² Alejandro O. Luquetti,³ José Borges-Pereira,⁴
Eliana Furtado Moreira,⁵ Maria de Fátima Sampaio Gadelha,⁶ Marco Túlio
Garcia-Zapata,⁷ e Aderbal Henry Strugo Arruda⁸*

RESUMO

Por iniciativa da Coordenação do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (COLAB), da Fundação Nacional da Saúde, o Ministério da Saúde instituiu um comitê composto por diferentes membros da comunidade científica e de serviços, com a finalidade de avaliar os conjuntos diagnósticos (CDs), comercializados no Brasil, para o diagnóstico sorológico da tripanosomíase americana (doença de Chagas). Cinco laboratórios avaliaram 11 CDs para o teste de hemaglutinação indireta, disponíveis no mercado, seguindo as instruções de cada fabricante. Cada CD foi testado através dos resultados obtidos num painel com 87 soros (52 reagentes e 35 não reagentes), provenientes das sorotecas dos mesmos laboratórios participantes da avaliação. O critério para reatividade adotado nas amostras do painel baseou-se nos resultados obtidos com os testes imunoenzimático (ELISA) e de imunofluorescência indireta (diluição de 1:40), sendo,

* Relatório do Comitê Técnico Assessor para sorologia de doença de Chagas, Coordenação do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (COLAB), do Centro Nacional de Epidemiologia (CENEPI), da Fundação Nacional de Saúde (FNS), do Ministério da Saúde. Relator: Marco Túlio A. Garcia-Zapata. Membros: Amadeo Sáez-Alquézar, Alejandro Luquetti Ostermayer, José Borges-Pereira, Eliana Furtado Moreira, Maria de Fátima Sampaio Gadelha, Lúcio Flavio Castro Nasser.

2 Superintendência de Sorologia da Fundação Pró-Sangue- Hemocentro de São Paulo. Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 1º andar, CEP 05403-000 São Paulo. Fax (011)280.8317.

3 Departamento de Parasitologia, IPTSP, Universidade Federal de Goiás, Caixa Postal 131, CEP 74001-970 Goiânia, GO.

4 Departamento de Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Av. Brasil 4365, CEP 21045-900, Rio de Janeiro, RJ.

5 Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Belo Horizonte, MG.

6 Fundação HEMOPE, Recife, PE.

7 Médico Assessor, PNUD/Banco Mundial, -COLAB/FNS/MS.

8 Médico Epidemiologista, CENEPI/FNS/MS, ex-coordenador da COLAB.

Endereço para correspondência: Revista de Patologia Tropical, Caixa Postal 131, 74001-970 Goiânia, GO. Fax (062) 202.3066 ou 202.1500.

Recebido para publicação em 11/12/97.

assim, realizado um total de 4.524 testes sorológicos para HAI nos 11 CDs. O desempenho de cada CD para cada soro, por cada um dos 5 laboratórios participantes, foi analisado em relação à reprodutibilidade, especificidade e à sensibilidade de cada um. Destacam-se três pontos importantes neste estudo multicêntrico: 1) a avaliação destes diferentes CDs permitiu detectar diferenças significativas entre os mesmos, sendo que o desempenho foi aceitável (ausência de resultados falso-negativos) apenas para quatro dos CDs avaliados (36%); 2) o desempenho esteve geralmente relacionado ao ponto de corte recomendado pelo fabricante, logo, aqueles que atribuíram pontos de corte baixos (8-16 ou 10-20) tiveram melhor desempenho do que os que fixaram este ponto de corte em 1/40, sem detrimento da especificidade; 3) a inclusão de todos os elementos necessários para o processamento dos testes otimiza o desempenho do respectivo CD. Realizaram-se recomendações para os fabricantes, visando melhorar a técnica de cada CD, bem como avaliações periódicas do desempenho.

UNITERMOS: Doença de Chagas. Diagnóstico sorológico. Hemaglutinação indireta. *Trypanosoma cruzi*. Estudo multicêntrico.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é a terceira doença tropical no mundo, logo após a malária e a esquistossomose (Moncayo, 1997) quando se considera a sua carga social, determinada por indicadores como AVAI (Anos de Vida Ajustados para Incapacidade) (Murray, 1996), bem como os gastos com consultas, medicamentos, internações hospitalares, intervenções cirúrgicas e implantes de marcapasso (Fragata et al., 1996). No Brasil, de acordo com dados de inquérito sorológico nacional (1975-1980) (5) e segundo estimativas recentes, 3.570.000 brasileiros foram acometidos por doença de Chagas (1, 23)

O Programa de Controle da Doença de Chagas através da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) e, posteriormente, da Fundação Nacional de Saúde (FNS) do Ministério da Saúde, conseguiu após anos de trabalho interromper, em grande parte do território brasileiro, a transmissão vetorial da infecção. Persistem, contudo, alguns focos residuais de infestação domiciliar e peridomiciliar. Vale ressaltar que outras formas de transmissão têm merecido atenção do ponto de vista clínico-epidemiológico, como as decorrentes da transfusão de hemocomponentes (24), as de transmissão congênita, ou por transplantes e a da reativação em pacientes imunossuprimidos (Ferreira & Borges, 1996). Estima-se atualmente que existam 2 milhões de infectados apenas no Brasil (23).

Tanto em termos individuais quanto em Saúde Pública, os portadores das diversas formas clínicas necessitam de um diagnóstico laboratorial com testes sorológicos controlados e confiáveis (2, 3, 6, 9, 16, 21, 26, 27). Esses testes – realizados pelos Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN), pela rede de laboratórios do Sistema Único de Saúde (SUS) e pelos serviços de Hemoterapia – pressupõem a aquisição de CDs no mercado, exigindo, portanto, que se avalie o desempenho desses kits para que

não se adquiram produtos sem a qualidade necessária. Dentre os testes utilizados no diagnóstico sorológico da infecção pelo *T. cruzi*, destaca-se a HAI.

O teste de HAI apresenta algumas características especiais, entre os existentes no mercado, para o diagnóstico sorológico: é o que tem menos passos e, portanto, menos possibilidades de erros no seu processamento; dispensa centrifugações; apresenta apenas uma fase de incubação, precedendo a leitura; o número de reagentes é mínimo (dilúente, microplaca e antígeno); dispensa equipamento especial (estufa, centrífuga, microscópio) (17, 28). Por poder ser realizado em laboratórios com equipamento mínimo, seria interessante aperfeiçoar este teste, haja vista as observações, feitas nos Programas de Qualidade Externa em Sorologia de Bancos de Sangue no Brasil, em que a HAI apresenta a maior porcentagem de resultados falsos negativos (Sáez-Alquézar et al., Vox Sanguinis, 1998, no prelo).

Em 21 de dezembro de 1995, a Coordenação Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (12) e a Gerência Técnica de Chagas, da FNS, convocaram, em Brasília, especialistas em sorologia e técnicos para discutir a necessidade da criação de um Comitê Assessor, com o objetivo de subsidiar a FNS no tocante ao diagnóstico e controle eficientes da doença de Chagas no País.

Criado por Portaria Ministerial em 22 de julho de 1996^(*), um dos primeiros atos do Comitê foi o de desaconselhar a utilização do Teste de Fixação de Complemento (Reação de Guerreiro e Machado) nos LACENs – resolução publicada em diferentes periódicos da área de doenças tropicais (7, 13, 14). Outra medida foi a de elaborar um protocolo para a avaliação dos conjuntos diagnósticos (CDs) de hemaglutinação indireta (HAI), disponíveis no mercado. O comitê considerou também importante a padronização de instruções (“bulas”) e de componentes dos CDs, bem como a recomendação do emprego de pelo menos duas das três técnicas diagnósticas em uso (HAI, IFI, ELISA), para a confirmação diagnóstica e triagem sorológica de doadores em serviços de hemoterapia, como recomendado pela Organização Mundial da Saúde (4, 29, 30). Outro assunto foi a redação do *Manual sobre diagnóstico laboratorial da doença de Chagas*.

A avaliação dos CDs ressalta a necessidade do diagnóstico laboratorial preciso, tanto no atendimento individual ambulatorial, na identificação de infectados e na exclusão de doadores de sangue, como em estudos populacionais, o que exige reagentes e insumos de desempenho correto (8, 15, 25), para evitar a transmissão através de sangue e

* Portaria publicada no Diário Oficial da União, n.140, de 22 de julho de 1996, p.5292. Comitê de Assesores: Aderbal Henry Strugo Arruda, Lúcio Flavio Castro Nasser, Amadeo Sáez-Alquézar, Alejandro Luquetti Ostermayer, Eliana Furtado Moreira, Maria de Fátima Sampaio Gadelha, José Borges Pereira e Maria Ester de Carvalho.

hemoderivados. O diagnóstico laboratorial da Doença de Chagas é, portanto, de suma importância.

Com o avanço técnico científico têm sido disponibilizados vários testes diagnósticos, porém é necessário estabelecer a sua reprodutibilidade – concordância ou consistência de resultados quando o exame se repete – e a sua validade – o grau em que o exame é capaz de determinar o verdadeiro valor do que está sendo medido (20).

Este informe relata as conclusões do processo de avaliação, iniciado pelo teste de hemaglutinação indireta. Os dados obtidos confirmam a necessidade de estender tal procedimento para outras técnicas diagnósticas, como as de imunofluorescência indireta (IFI) e as de ensaio imunoenzimático (ELISA). Faz-se também mister a manutenção de um contínuo controle de qualidade tanto para testes como para reagentes utilizados no diagnóstico e na triagem de portadores da infecção pelo *T. cruzi*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia para realização do presente estudo foi gerada a partir de Protocolo (#3), feito para a avaliação-resposta dos CDs de HAI, disponíveis no mercado, para diagnóstico sorológico da infecção pelo *T. cruzi*.

De acordo com o referido Protocolo:

- a COLAB faria o levantamento, aquisição (por compra) e distribuição dos conjuntos diagnósticos existentes;
- os participantes contribuiriam para seleção e posterior encaminhamento de soros para o Hemocentro-SP, onde verificar-se-ia a reatividade de cada soro e seria constituído o painel a ser utilizado;
- os cinco centros receberiam os CDs e o painel de soros e procederiam a inventariar os componentes de cada CD e a verificar a reatividade de cada soro, com cada CD, seguindo rigorosamente as instruções encontradas no conjunto diagnóstico correspondente;
- representantes da COLAB e da Gerência Técnica de Chagas, juntamente com os responsáveis de cada centro participante, se reuniram para informar os resultados obtidos e elaborar um informe.

2.1. Conjuntos diagnósticos

Foram levantados os conjuntos diagnósticos existentes no Brasil, à época (Ver Tabela 1).

Tabela 1. Conjuntos diagnósticos existentes no Brasil (1996)

No. NOME DO CONJUNTO DIAGNÓSTICO	FABRICANTE	FORNECEDOR
01. BIOCHAGAS ou BIOKIT ou IMUNOLAB *	BIOSHOP/Laboratório IMUNOLAB, Goiânia, GO	Protec Produtos Científicos, Goiânia - GO ou Testlab Brasília-DF
02. BIOMÉRIEUX **	BIOMÉRIEUX, Jacarépagua-RJ	BIOMÉRIEUX-RJ
03. BIOLAB**	BIOMÉRIEUX, São Paulo-SP	BIOLAB-SP
04. CECON	CECON, São Paulo-SP	CECON-SP
05. EBRAM	EBRAM, São Paulo-SP	EBRAM, Produtos Laboratoriais-SP
06. HEMAGEN	HEMAGEN, Pinheiros-SP	HEMAGEN DIAGNÓSTICOS Ltda. Pinheiros-SP
07. BIOMANGUINHOS FIOCRUZ	Departamento de Produção II, Laboratório de Reativos, Biomanguinhos-RJ	FIOCRUZ-RJ
08. IMUNOSERUM	IMUNOSERUM Biotecnológica São Paulo	IMUNOSERUM, Biotecnológica-SP.
09. SALK	IMMUNOASSAY-SP	IMMUNOASSAY, Produtos Hospitalares-SP
10. TRILAB	TRILAB, São Paulo-SP	TRILAB-SP
11. WAMA	WAMA-SP	WAMA-Produtos Laboratoriais, SP
12. WIENER	WIENER - São Paulo-SP	Wiener Lab.SP

* Nomes dos kits produzidos pela Bioshop-GO. Atualmente se desconhece se ainda continuam circulando no mercado com diferentes nomes. De acordo com a própria empresa, o nome do CD atual é BioChagas.

** Empresa internacional fabricante do CD. Biolab é a filial nacional dessa mesma empresa. Diante desta situação, os fabricantes 2 e 3 foram reduzidos a um só, perfazendo, portanto, onze fabricantes, no total.

2.2. Seleção dos soros e constituição do painel de soros

O painel de soros foi elaborado a partir de amostras de soro mantidas nas sorotecas de dois Hemocentros e de dois laboratórios de ensino e pesquisa de doença de Chagas (Tabela 2):

- Superintendência de Sorologia e Controle de Qualidade da Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo. Responsável: Dr. Amadeo Sáez-Alquézar (Código: FPS / HSP). Total de amostras: 39.

- Divisão de Laboratório de Sorologia de Doadores da Fundação HEMOPE, Recife-PE. Responsável: Dra. Maria de Fátima Sampaio Gadelha (Código: HEMOPE). Total de amostras encaminhadas: 04.
- Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Tropical (DMT), do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro-RJ. Responsável: Dr. José Borges Pereira (Código: FIO). Total de amostras encaminhadas: 16.
- Laboratório de Pesquisa de Doença de Chagas, do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia-GO. Responsável: Dr. Alejandro Luquetti Ostermayer (Código: GOCH). Total de amostras encaminhadas: 31.

Tabela 2. Origem e reatividade das amostras constituintes do painel de soros

Laboratório	Reatividade		Total
	Reagente	Não reagente	
FPS/HSP	17	22	39
HEMOPE	04	00	04
FIO	09	07	16
GOCH	25	06	31
TOTAL	55	35	90

2.3. Constituição do painel

2.3.1. Quanto ao tamanho da amostra

Para se determinar a quantidade de soros positivos e negativos que constituiriam o tamanho da amostra neste tipo de estudo, seria necessário conhecer os valores de sensibilidade e especificidade de cada CD, o que não foi possível por não constarem estes dados nas orientações técnicas (bulas) fornecidas pelos fabricantes (apenas dois CDs (K7 e K11) apresentavam esses dados). Pela experiência prática dos membros do Comitê, estes valores deveriam ser muito diferentes entre os vários CDs disponíveis no mercado, o que determinaria a necessidade de números diferentes de soros positivos e negativos para testar cada um deles, o que traria certas dificuldades técnicas e operacionais difíceis de equacionar. Porém, como estava acertado que participariam do estudo cinco laboratórios e sabendo-se que cada CD teria capacidade para testar até 90 soros, foi este o número escolhido, totalizando então 480 testes para cada CD. A estimativa deveria incluir a maioria de soros positivos. Cada soro positivo, após a triagem, é diluído em média seis vezes, sendo possível então testar 16 soros por microplaca de titulação,

incluindo dois soros controle. Como os CDs para 480 testes incluem em geral cinco microplacas, a primeira seria utilizada para a triagem da maioria dos 90 soros. Nas quatro restantes, haveria espaço para testar 14 soros x 4 microplacas = 56 soros positivos. Como cada soro seria testado cinco vezes, o tamanho da amostra foi considerado suficiente (vide discussão). Diante da relativa frequência de soros com títulos baixos, foi estabelecido incluir um grupo com estas características.

Inicialmente o Comitê pretendeu dividir os soros em três grupos – 30 positivos (com títulos preferencialmente elevados), 30 negativos e 30 indeterminados e/ou com títulos baixos, totalizando um painel de 90 soros –, divididos em dois grupos.

Em um teste diagnóstico é fundamental determinar a sua capacidade de discriminar corretamente doentes (ou infectados) e sadios (ou não infectados) (Pereira, 1995). A validade nestes casos é obtida através da comparação dos resultados obtidos no estudo em avaliação com os resultados dos testes de ELISA e IFI, que reconhecidamente mais se aproximam do teste confirmatório ideal (padrão ouro), por serem os que mais fielmente retratam os fenômenos em questão. Para o presente estudo foram utilizados estes dois testes (ELISA e IFI), como referência para a caracterização do painel.

2.3.2. Elaboração do painel

A constituição final do painel de soros foi elaborada na Superintendência de Sorologia da FPS/HSP. A reatividade de referência de cada amostra (padrão ouro) foi determinada através de dois testes sorológicos de princípios diferentes aos da HAI, para detecção de anticorpos anti-*T. cruzi*: o teste de Imunofluorescência Indireta (IFI), utilizando antígeno e conjugado da marca BIOLAB (Lote 60304/ outubro 1996), e o teste imunoenzimático de ELISA, com o CD EMBRABIO (Lote ECA3F8/dezembro 1996). O ponto de corte utilizado para IFI foi 1/40 de tal forma que todas as amostras positivas na diluição de 1/40 fossem consideradas reagentes. Para o teste imunoenzimático (ELISA) foram consideradas amostras reagentes aquelas com relação densidade óptica/ponto de corte da placa maior que 2.0 (DO/PC >2.0) (vide Anexo 1).

Cinco painéis de constituição idêntica, com 90 soros cada um, contendo entre 250 e 300 µl por amostra, codificados em seqüência numérica, sem conhecimento da sua reatividade de referência, foram encaminhados para cada um dos cinco laboratórios participantes: os quatro já mencionados na elaboração do painel, e mais o Laboratório de Sorologia da Fundação Ezequiel Dias (FUNED), de Belo Horizonte-MG, sob a responsabilidade da Dra. Eliana Furtado Moreira.

2.3.3. Análise de cada CD

Cada laboratório procedeu à verificação da reatividade de cada soro com cada CD, seguindo estritamente as recomendações de cada fabricante, constantes das instruções (“bula”) que acompanharam cada CD. Assim, foram realizados testes de triagem com as diluições recomendadas e os soros que tiveram resultado reagente na diluição de triagem foram repetidos no mesmo CD para o teste quantitativo.

Para simplificação da apresentação, não foram incluídos os títulos obtidos com cada soro reagente em cada CD por cada centro. Apenas foi classificado como positivo aquele soro que forneceu título considerado como reagente, pelas respectivas instruções técnicas.

A análise final dos resultados foi realizada em três etapas, com a participação de todos os responsáveis dos laboratórios participantes, assim como de representantes da COLAB e da Gerência Técnica de Chagas (FNS).

Na primeira etapa, foram verificadas as reatividades de cada soro pelas técnicas de IFI e de ELISA. Nesta fase foram excluídos três soros (n.ºs 41, 47 e 51) de reatividade inconclusiva com a utilização dos testes padrão, o que foi confirmado pelos laboratórios que enviaram as referidas amostras.

Na segunda etapa foram verificados os resultados obtidos por cada laboratório participante e fez-se a identificação dos resultados concordantes e discordantes (falsos positivos, falsos negativos e inconclusivos), obtidos por cada laboratório com cada CD, em relação à caracterização do painel.

Na terceira etapa, baseando-se nos resultados obtidos pelos cinco laboratórios participantes, procurou-se estabelecer um consenso dos resultados (Anexo 2), visando minimizar problemas individuais que pudessem ter ocorrido em cada um dos laboratórios, uma vez que o objetivo do presente trabalho era o de avaliar o comportamento da técnica de Hemaglutinação Indireta (HAI) em suas diferentes procedências e não o de avaliar o desempenho de cada laboratório em particular.

Desta forma, o desempenho final de cada CD foi independente dos resultados isolados obtidos por um centro em particular, minimizando vieses, como, por exemplo, menor destreza no uso de um determinado CD, levando a resultados errôneos sistematicamente, ou a erros técnicos ocasionais que dificilmente seriam repetidos com o mesmo soro e/ou com o mesmo CD nos outros laboratórios participantes. Assim, vigorou o resultado obtido por maioria simples (Tabela 3).

Tabela 3. Critérios adotados para o consenso de resultados

Relação com a maioria dos resultados obtidos para cada soro, nos cinco centros	Consenso
3, 4 ou 5 resultados positivos	Positivo
3, 4 ou 5 resultados negativos	Negativo
2 resultados positivos e 1 resultado negativo	Positivo
2 resultados negativos e 1 resultado positivo	Negativo
2 resultados positivos e 2 resultados negativos	Inconclusivo

Os resultados individuais considerados como “inconclusivos” não foram levados em conta para a elaboração do consenso. Foi definido como inconclusivo aquele resultado que não permitiu concluir sobre a positividade ou a negatividade do mesmo, em função de dificuldades na leitura, bem como na obtenção de imagens maiores em diluições maiores do soro analisado (por exemplo, soro diluído 1/32= imagem negativa; mesmo soro diluído 1/64= imagem positiva). Em alguns casos, um dos soros teve volume insuficiente para ser testado nos 11 CDs, impedindo a realização do teste por um dos cinco laboratórios em um dos CDs. Em outros, o reagente foi insuficiente, seja pela falta de antígeno, seja pelo insuficiente número de placas.

Levando em consideração os resultados obtidos para cada amostra pelo consenso, determinou-se, a seguir, o número de resultados discrepantes (“falsos positivos”, “falsos negativos” e “inconclusivos”) em relação à caracterização das amostras do painel de soros.

2.4. Instrumento utilizado

Visando à padronização dos resultados que permitissem uma análise lógica e a mais realística possível, foi elaborado um roteiro para a avaliação de cada um dos CDs (vide anexo 3), para cada laboratório, incluindo data e condições de chegada do CD, tipo de embalagem, inventário dos respectivos componentes, análise das informações técnicas, análise global dos resultados obtidos e recomendações sugeridas.

2.5. Análise estatística

A reprodutibilidade dos testes de cada CD nos cinco laboratórios participantes foi avaliada através do indicador denominado *Kappa* e a validade, em relação ao padrão ouro, através dos valores de sensibilidade e especificidade (Pereira, 1995). Taxas de concordância (para reprodutibilidade) e valores preditivos positivos e negativos (para validade) foram utilizados de maneira complementar, quando necessário. Para obtenção destes indicadores foi utilizado o *software* Epi-Info 6, *version* 6.04b, January 1997, distribuído pela Organização Mundial de Saúde.

3. RESULTADOS

Cada centro participante realizou a avaliação dos 11 CDs, de acordo com os seguintes itens previamente padronizados:

- avaliar as condições de chegada de cada conjunto diagnóstico (Tabela 4), inventariar os seus componentes e identificar os lotes respectivos do conjunto diagnóstico, dos antígenos, do diluente, das microplacas e de outros reagentes incluídos (tabela 5);
- avaliar o padrão de leitura obtido (Tabela 6);
- anotar, nos respectivos protocolos de trabalho, os títulos obtidos com cada soro constituinte do painel.

Os resultados ficaram resumidos nas tabelas apresentadas.

Tabela 4. Condições de chegada dos CDs aos laboratórios

Nome do CD	FUNED-MG	IPTSP-GO	HEMOPE-PE	FIOCRUZ-RJ	FPS-SP
BIOCHAGAS	Boas	Boas	Boas	Boas	Boas
BIOLAB	Boas	Boas	Boas	Boas	Boas
CECON	Boas	Boas	Boas	Boas	Boas
EBRAM	Regulares	Regulares	Regulares	Regulares	Regulares
FIOCRUZ	Boas	Boas	Boas	Boas	Boas
HEMAGEN	Boas	Regulares	Boas	Boas	Boas
IMUNOSERUM	Boas	Boas	Boas	Boas	Boas
SALCK	Boas	Boas	Boas	Boas	Boas
TRILAB	Boas	Regulares	Boas	Boas	Boas
WAMA	Boas	Boas	Boas	Boas	Boas
WIENER	Regulares	Boas	Boas	Boas	Boas

A embalagem dos CDs foi em caixas de isopor ou de papelão. Dois laboratórios receberam frascos de diluente com vazamento do conteúdo, impossibilitando a realização dos testes. Um deles, após a reclamação, fez a reposição imediata. Um dos laboratórios não recebeu as placas embaladas.

Tabela 5. Características dos componentes dos CDs

CD No.	Lote do CD	Venc.	Dil. Qual	Vol. Soro	Vol. Ag	Tipo Ag	Tempo inc.	Uso 2ME	Outros reag.	Microplacas	Dil. Quant (recíproca)
K1	27096	10/97	1/32	25ul	25ul	sem	1-2 h	não	não	sim "V"	64 a 1.024
K2	H60164	12/96	1/40	50ul	25ul	ave	1 h	sim	não	sim "V"	40 a 1.280
K3	410	07/97	1/40	50ul	25ul	ave	1/2-1 h	não	não	sim "U"	40 a 1.280
K4	594	05/97	1/32	25ul	25ul	não	1 h	sim	não	sim "V"	32 a 1.024
K5	951042	11/96	1/40/80	25ul	25ul	hum	1-2 h	não	não	NÃO...	40 a 1.280
K6	608152	06/98	1/26	50ul	25ul	hum	11/2 h	não	não	Sim "V"	26 a 832
K7	061	10/97	1/8	25ul	25ul	carn	11/2 h	sim	sim	sim "V"	8 a 128
K8	6	06/97	1/16	25ul	25ul	sem	1 h	não	não	sim "V"	16 a 512
K9	4096	05/98	1/40	50ul	25ul	não	1 h	sim	não	sim "V"	40 a 1.280
K10	3411-17	10/96	1/32	25ul	25ul	ave	1-2 h	sim	não	sim "V"	32 a 1.024
K11	603515	11/96	1/40	50ul	25ul	ave	1 h	sim	sim	sim "V"	40 a 1.280

CD: conjunto diagnóstico. Venc.: data de vencimento. Dil. Qual: diluição qualitativa. Vol. Soro: volume de soro ou sua diluição em cada poço. Vol. Ag: volume de antígeno por poço. Tipo Ag: tipo de antígeno: sem: sem especificação; hum: hemácias humanas; ave: hemácias de ave; carn.: hemácias de carneiro. Tempo inc.: tempo recomendado para incubação. Uso 2ME: utilização de 2mercapto-etanol. Outros reag.: necessidade de utilizar albumina bovina no diluente, incluída no K11; Microplacas: inclusão no CD e forma do fundo (em "V" ou em "U"); Dil. Quant. diluições recomendadas de soros que foram positivos na triagem.

Um dos CDs (K8) exige inativação do soro a 56° C, o que requer mais uma etapa na realização do teste.

Tabela 6. Avaliação do padrão de leitura dos diferentes CDs

Nome do kit	FUNED- MG	IPTSP-GO	HEMOPE- PE	FIOCRUZ-RJ	FPS-SP
BIOCHAGAS	Não Evidentes	Evidentes	Evidentes	Evidentes	Não Evidentes
BIOLAB	Evidentes	Evidentes	Evidentes	Evidentes	Evidentes
CECON	Não Evidentes	Não Evidentes	Evidentes	Evidentes	Evidentes
EBRAM	Evidentes	Evidentes	Evidentes	Evidentes	Evidentes
FIOCRUZ	Não Evidentes	Não Evidentes	Evidentes	Não Evidentes	Não Evidentes
HEMAGEN	Não Evidentes	Não Evidentes	Evidentes	Não Evidentes	Evidentes
IMUNOSERUM	Evidentes	Evidentes	Evidentes	Não Evidentes	Não Evidentes
SALCK	Não Evidentes	Não Evidentes	Não Evidentes	Evidentes	Evidentes
TRILAB	Não Evidentes	Evidentes	Não Evidentes	Não Evidentes	Evidentes
WAMA	Não Evidentes	Não Evidentes	Evidentes	Não Evidentes	Evidentes
WIENER	Evidentes	Não Evidentes	Não Evidentes	Evidentes	Evidentes

Na avaliação do padrão de leitura, foi observada a facilidade de interpretação de cada imagem como positiva ou negativa, assim como a existência de diminuição progressiva no tamanho da imagem, ao utilizar diluições maiores. A maioria dos centros identificou seis CDs com imagens nítidas (Tabela 6).

A Tabela 7 apresenta os valores de *Kappa* obtidos para cada laboratório utilizando os resultados positivos, negativos e inconclusivos, de acordo com cada CD testado, em comparação com os resultados do laboratório de São Paulo. Este último foi escolhido como padrão para evitar maiores perdas nos dados, pois foi o que apresentou menor número tanto de exames não realizados quanto de resultados inconclusivos. O total refere-se aos resultados obtidos com todos os CDs, em que os laboratórios de BH, RE e GO apresentaram concordância boa e o laboratório de Rio de Janeiro concordância ótima com relação ao laboratório de São Paulo. Estes resultados

numa primeira avaliação fornecem uma boa consistência quanto à reprodutibilidade dos resultados, mesmo tendo-se utilizado 11 CDs com tão diferentes desempenhos, como veremos na seqüência (para interpretação do *Kappa* ver tabela 8).

Tabela 7. Indicadores *Kappa* entre o laboratório de SP e os demais, por laboratório, de acordo com o conjunto diagnóstico utilizado.

CD	BH	GO	RE	RJ	TODOS
K1	0,48	0,73	0,83	0,92	0,74
K2	0,88	0,93	0,79	0,82	0,86
K3	-0,04	0,65	0,52	0,70	0,82
K4	0,00	0,90	0,47	0,86	0,82
K5	0,17	0,55	0,06	0,44	0,30
K6	0,80	0,78	0,83	0,88	0,82
K7	0,81	0,90	0,83	0,90	0,85
K8	0,90	0,84	0,62	0,93	0,82
K9	0,67	0,75	0,76	0,75	0,73
K10	-0,08	0,64	0,82	0,98	0,69
K11	-----	0,95	0,93	0,83	0,90
TOTAL	0,65	0,78	0,67	0,82	0,72

Tabela 8. Interpretação de *Kappa*

<i>Kappa</i>	Concordância
<0,00	Ruim
0,00-0,20	Fraca
0,21-0,40	Sofrível
0,41-0,60	Regular
0,61-0,80	Boa
0,81-0,99	Ótima
1,00	Perfeita

Fonte: PEREIRA, M.G., *Epidemiologia*, 1995, p.365, adaptado de LANDIS, J.R. & KOCH, G.G., *Biometrics*, 33:159-174, 1977.

A concordância, medida por *Kappa*, de todos os resultados obtidos pelos laboratórios de BH, GO, RE e RJ com relação aos resultados do laboratório de SP foi de 0,72 (concordância boa), com uma taxa de concordância global de 86%. Obviamente, estes números sofrem a influência de todos os CDs utilizados e de algumas intercorrências havidas em cada laboratório.

O laboratório de Belo Horizonte apresenta o menor *Kappa* geral (0,65), com uma concordância global de 82%. No caso de K3 e K4 processou apenas 57 amostras com cada um, com concordâncias globais de 87% e 92%, respectivamente, porém o *Kappa* foi prejudicado por terem sido processados predominantemente soros positivos. No caso de K10 houve o teste de apenas 52 soros, dos quais 20 apresentaram resultado inconclusivo (*Kappa* = - 0,08 e concordância global de 51%). No caso do *Kappa* de K5 (0,17 - concordância fraca), todas as amostras foram processadas, porém a concordância global ficou em apenas 57%. O laboratório não processou as amostras com o K11, em virtude de ter recebido o CD com derramamento da solução diluente, de cor laranja, o que prejudicou o seu conteúdo, além de impedir a diluição das amostras e o processamento das mesmas.

No caso de Goiânia, todas as concordâncias foram boas ou ótimas, exceto para K5, para o qual apresentou concordância regular (*Kappa* = 0,55 e concordância global de 77%).

O laboratório de Recife apresentou concordância fraca para K5 (*Kappa* = 0,06 e concordância global de apenas 49%), igual ao laboratório de Belo Horizonte, mesmo tendo realizado todos os testes e não ter apresentado nenhum resultado inconclusivo. As concordâncias de K3 (*Kappa* = 0,52 e concordância global de 74%) e de K4 (*Kappa* = 0,47 e concordância global de 71%) foram regulares, principalmente pelos muitos resultados negativos, os quais para o laboratório de São Paulo foram positivos.

O laboratório do Rio de Janeiro foi o que obteve melhores concordâncias com o de São Paulo, exceto para K5 (*Kappa* = 0,44 e concordância global de 73%) e também por classificar vários testes como negativos, que o laboratório de São Paulo classificou como positivos.

Destaca-se que nenhum centro obteve índices *Kappa* bons com o CD 5, quando comparado com o desempenho do centro de São Paulo. A explicação deste fato foi dada na reunião com os responsáveis dos centros, quando identificou-se que a divergência se devia à utilização de microplacas especiais, de procedência estrangeira, não incluídas no CD (este foi o único CD que não incluiu microplacas no seu conteúdo, o que levou os vários centros a utilizar microplacas de origens diversas), o que pode ter sido uma das causas da baixa reprodutibilidade de resultados apresentada pelo CD nos outros quatro laboratórios.

Do ponto de vista de cada CD apresentaram concordância ótima os CDs K2, K3, K4, K6, K7, K8 e K11, concordância boa, K1 K9 e K10 e concordância sofrível, K5.

Devem-se avaliar, além dos adjetivos que expressam qualidade (ótima, boa, sofrível), os valores numéricos apresentados por cada CD, pois a reprodutibilidade de um teste (capacidade de gerar os mesmos resultados quando se mede a mesma variável) é fundamental medida de seu desempenho.

A Tabela 9 mostra os resultados obtidos nos 4524 testes realizados com os 11 CDs, classificados de acordo com a sua concordância ou discordância com os resultados estabelecidos com o padrão ouro (IFI e ELISA), descritos em material e métodos. Para a obtenção da sensibilidade e da especificidade com seus respectivos intervalos de confiança de 95%, apresentados por cada CD neste estudo (tabela 10), foram utilizados os valores de verdadeiros positivos, verdadeiros negativos, falsos positivos e falsos negativos. Os resultados inconclusivos estão relacionados mais com a reprodutibilidade (medida por *Kappa*), discutida acima, do que com a validade (medida pela sensibilidade e especificidade). Alguns CDs mostraram uma sensibilidade inferior a 90%, a qual possibilita um maior número de resultados falsos negativos, de maneira alarmante nos CDs K1, K3, K9 e, principalmente, K5. A especificidade de todos os CDs manteve-se acima de 95%, porém, verificando-se os respectivos intervalos de confiança, nota-se que K3, K4, K6 e K11 descem para níveis inferiores a 90%.

Tabela 9. Resultados obtidos em comparação com o padrão ouro, por conjunto diagnóstico

Conjunto diagnóstico	verdadeiros positivos	verdadeiros negativos	falsos positivos	falsos negativos	resultados inconclusivos	total exames realizados
K1	201	157	3	36	13	410
K2	227	175	0	22	1	425
K3	208	135	10	45	6	404
K4	233	131	14	25	1	403
K5	114	169	6	144	2	435
K6	230	165	13	14	4	426
K7	239	172	3	10	0	424
K8	232	169	5	16	5	427
K9	176	171	4	70	1	422
K10	211	139	5	12	33	400
K11	199	128	12	8	1	348
TOTAL	2.270	1.711	75	401	67	4.524

Tabela 10. Valores de sensibilidade e especificidade, com seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%), por conjunto diagnóstico, de acordo com os resultados positivos e negativos obtidos por todos os testes realizados

Conjunto Diagnóstico	Sensibilidade		Especificidade	
	%	IC95%	%	IC95%
K1	84,8	79,5-89,0	98,1	94,2- 88,5
K2	91,2	86,8-94,3	100,0	97,3-100,0
K3	82,2	76,8-86,6	93,1	87,3- 96,5
K4	90,7	86,3-93,8	90,3	84,0- 94,5
K5	44,2	38,1-50,5	96,6	92,3- 98,6
K6	94,3	99,3-96,7	92,7	87,4- 95,9
K7	96,0	92,5-97,9	98,3	94,7- 99,6
K8	93,5	89,5-96,1	97,1	93,1- 88,9
K9	71,5	65,4-77,0	97,7	93,9- 88,3
K10	94,6	90,6-97,1	96,5	91,7- 88,7
K11	96,1	92,3-98,2	91,4	85,2- 85,3

Aplicando-se o conceito do consenso, explicado em material e métodos, observa-se que os valores de sensibilidade e especificidade melhoram em praticamente todos os CDs (tabela 11), porém os intervalos de confiança também aumentam, devido ao pequeno número de elementos na amostra, pois cada soro entra apenas uma vez na contagem.

Tabela 11. Valores de sensibilidade e especificidade, com seus respectivos IC95%, por conjunto diagnóstico, de acordo com os resultados positivos e negativos obtidos por consenso

Conjunto Diagnóstico	Sensibilidade		Especificidade	
	%	IC95%	%	IC95%
K1	86,3	73,1- 93,8	100,0	87,7-100,0
K2	92,0	79,9- 97,4	100,0	90,4-100,0
K3	84,6	71,4- 92,7	97,1	83,4- 99,9
K4	100,0	91,4-100,0	100,0	87,7-100,0
K5	46,7	31,9- 62,0	100,0	87,7-100,0
K6	98,0	88,2- 99,9	97,1	83,4- 99,9
K7	100,0	91,4-100,0	100,0	87,7-100,0
K8	100,0	91,3-100,0	100,0	87,4-100,0
K9	79,2	64,2- 89,0	97,1	83,4- 99,9
K10	100,0	91,1-100,0	100,0	87,7-100,0
K11	96,2	85,7- 99,3	94,3	79,5- 99,3

Os CDs da Tabela 12 foram colocados em ordem decrescente em relação ao melhor desempenho, pelo consenso, tendo em conta a sensibilidade, a especificidade e a ausência de resultados inconclusivos.

De acordo com os resultados constantes na Tabela 12, observou-se que aparentemente existe uma relação diretamente proporcional entre o desempenho de cada conjunto diagnóstico e o ponto de corte (*cut off*) recomendado pelo fabricante. Assim, o menor ponto de corte correspondeu a um melhor desempenho, com exceção dos CDs K4 e K10.

Tabela 12. Conclusão final sobre o desempenho do painel de 52 soros positivos e 35 soros negativos, de acordo com o consenso

CD	Falsos negativos	Falsos positivos	Inconclusivos	Títulos de corte*
K7	0	0	0	1:8
K4	0	0	0	1:32
K10	0	0	2	1:32
K8	0	0	2	1:16
K6	1	1	1	1:26
K11	2	2	0	1:40
K2	4	0	1	1:40
K1	7	0	1	1:32
K3	8	1	0	1:40
K9	10	1	4	1:40
K5	29	0	2	1:40

Códigos dos conjuntos diagnósticos: K1 (Bio-Chagas); K2 (Biolab); K3 (Cecon); K4 (Ebram); K5 (Fiocruz); K6 (Hemagen); K7 (Imunoserum); K8 (Salck); K9 (Trilab); K10 (Wama); K11(Wiener)

4. DISCUSSÃO

Este estudo multicêntrico permitiu analisar o desempenho dos onze conjuntos diagnósticos existentes no mercado brasileiro na época em que foi iniciado o estudo, para diagnóstico sorológico da tripanosomíase americana, pelo teste de hemaglutinação indireta. Esta é a primeira vez que se realiza no Brasil um estudo desta natureza, empregando um painel constituído de soros de diferentes procedências e analisado simultaneamente por diferentes centros.

O estudo permitiu avaliar, de forma independente, o desempenho de cada CD por cinco centros localizados em diferentes regiões geográficas do país, detectando diferenças que possibilitaram definir aqueles de ótimo e de bom desempenho, e outros com resultados abaixo do desempenho mínimo necessário.

Destacam-se algumas características que foram evidentes apenas na fase final de análise. Assim, com exceção do K4, com ponto de corte 1:32, houve relação entre bom desempenho e adoção, por parte do fabricante, de um ponto de corte abaixo de 1:25. Observou-se que, para alguns conjuntos diagnósticos, o desempenho teria sido satisfatório, se um ponto de corte menor tivesse sido recomendado (como no caso do K2). Consideramos que pontos de corte de 1:40 não deveriam ser adotados, pois existem soros nos quais a reatividade é evidente apenas até o título de 1:20.

Deve-se destacar também que a definição da imagem é importante, evitando dúvidas no momento da leitura. Houve consenso de que os CDs Biochagas, Biolab, Cecon, Ebram, Imunoserum e Wiener tiveram leituras mais fáceis que as obtidas com outros conjuntos diagnósticos, o que facilitou a interpretação de resultados, independentemente do desempenho. Apenas dois destes 6 CDs tiveram 1 soro inconclusivo. Em contraposição todos os cinco CDs com padrão de leitura não evidente tiveram resultados inconclusivos pelo consenso.

Observou-se também a diversidade de apresentação dos conjuntos diagnósticos analisados no que se refere às especificações técnicas (desde as detalhadas até as sucintas), ao número de microplacas (em um conjunto para 480 testes, vieram apenas quatro microplacas), à insuficiência de antígeno (que motivou a não-realização de todos os testes em alguns centros), à falta de soros controle, aos soros controle que não forneceram o resultado indicado e a outras irregularidades.

A inclusão do agente redutor 2 mercapto-etanol (2ME) não esteve presente em todos os CDs; alguns apresentaram-no separado, em outros o redutor se encontrava incluído no próprio diluente e em outros não existia especificação a respeito. Desde que o objetivo deste estudo foi o de avaliar o desempenho de cada conjunto diagnóstico, em relação à reatividade de cada soro, com os reagentes incluídos, é possível que com a inclusão sistemática do 2ME, em todos os conjuntos diagnósticos, o desempenho de alguns pudesse ter sido melhor. Este ponto, em particular, poderá ser objeto de avaliação posterior. Em algumas regiões, com grande prevalência de helmintíases, foi observado que a inclusão sistemática de 2ME seria imprescindível, pois de outra forma haveria grande quantidade de reações inespecíficas (Gadelha, comunicações pessoais).

Chama a atenção o fato de que, mesmo entre os centros participantes de longa experiência na execução deste tipo de exame, houve algumas divergências em relação aos diversos itens analisados, tais como condições de chegada dos reagentes, facilidade de leitura e interpretação dos resultados. Infere-se, então, que as divergências em laboratórios não especializados sejam maiores, razão pela qual se impõe a elaboração de um manual sobre o assunto, visando padronizar procedimentos técnicos para obtenção de

resultados mais confiáveis e, ainda, para a adoção de controle de qualidade interlaboratorial.

Algumas discrepâncias encontradas foram equacionadas na reunião final. O K5, por exemplo, não inclui as microplacas, levando os laboratórios participantes do estudo a utilizar microplacas das origens mais diversas. Esse CD foi considerado ruim, exceto para um dos cinco participantes, para quem seu desempenho foi muito melhor. Ao investigar a discrepância dos resultados, descobriu-se que, com a não-inclusão das microplacas neste CD em particular, o referido laboratório tinha utilizado microplacas Nunc, de procedência estrangeira e de excelente qualidade, não disponíveis em outros laboratórios. Assim, um único fator – como, no caso, a qualidade da microplaca – pode interferir e fazer com que um conjunto diagnóstico que teve o pior desempenho fosse considerado bom quando da utilização de placas de outra procedência.

Destaca-se que os fabricantes não tinham conhecimento do motivo da aquisição dos CDs, que foi realizada nos moldes de licitação utilizados habitualmente no serviço público.

Dada a baixa prevalência da doença de Chagas em nosso meio (até 1%), seria de se esperar que os testes laboratoriais utilizados pelos serviços de saúde pública apresentassem uma sensibilidade e uma especificidade próximas de 100%. Para uma sensibilidade de 95% (mais ou menos 5%), aplicando-se a fórmula, (20): $N = Z^2 \cdot P(1-P) / D^2$, onde, P= proporção esperada (sensibilidade esperada); D= semi-amplitude do intervalo de confiança; e Z= 1,96 (para $\alpha=0,05$ e IC95%), seriam necessários 73 soros positivos para serem testados. Para uma especificidade também de 95% (mais ou menos 5%), seriam necessários 73 soros negativos. Logo, o tamanho ideal de amostra para se estabelecer uma sensibilidade entre 90 e 100% e uma especificidade entre 90 e 100% seria de 146 soros, dos quais 73 deveriam ser positivos e 73 deveriam ser negativos. Neste estudo foram testados 52 soros positivos e 35 soros negativos, cinco vezes em cada CD; logo, o número de testes superou com ampla margem o número mínimo estabelecido pela fórmula acima.

Os valores encontrados com relação à sensibilidade e à especificidade dos diferentes CDs, utilizando-se de todos os testes realizados no presente trabalho, constantes da Tabela 10, devem ser vistos também do ponto de vista de sua utilidade quando aplicados na rotina dos serviços, marcadamente nos bancos de sangue, que têm por finalidade precípua garantir a qualidade do sangue e dos hemoderivados utilizados em hemoterapia. A título de ilustração, aplicando-se estes valores para uma prevalência de 1% (2 milhões de chagásicos em uma população de 200 milhões de habitantes) e ao analisar os valores preditivos positivo e negativo para cada CD (Tabela 13), pode-se observar que apenas K2 apresentou um VPP de 100%, enquanto os demais flutuam entre 8,6% e 36,3%. Obviamente,

se nestas condições um paciente apresentar resultado positivo para o teste, ele tem mais chance de ser um falso positivo do que estar realmente infectado pelo *T. cruzi*. Surpreendentemente, os valores preditivos negativos de todos os testes se manteriam acima de 99,4% (menos de 6 falsos negativos para cada 1.000 testes realizados); estes números podem parecer satisfatórios a uma primeira vista, porém o número de falsos negativos (pessoas infectadas que não seriam identificadas como portadoras do *T. cruzi*) deveria aproximar-se o máximo possível de zero, principalmente em bancos de sangue. Pelo exposto pode-se entender melhor a necessidade de implementar ações no sentido de garantir que os testes diagnósticos utilizados pelos serviços tenham um excelente desempenho em termos de sensibilidade e especificidade.

Tabela 13. Sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo para os diferentes CDs de hemaglutinação, para uma prevalência de infecção pelo *T. cruzi* de 1%.

Conjunto Diagnóstico	Sensibilidade	Especificidade	VPP %	VPN %
K1	84,8	98,1	31,1	99,8
K2	91,2	100,0	100,0	99,9
K3	82,2	93,1	10,7	99,8
K4	90,7	90,3	8,6	99,9
K5	44,2	96,6	11,6	99,4
K6	94,3	92,7	11,5	99,9
K7	96,0	98,3	36,3	100,0
K8	93,5	97,1	24,6	99,9
K9	71,5	97,1	23,9	99,7
K10	94,6	96,5	21,4	99,9
K11	96,1	91,4	10,1	100,0

O objetivo deste estudo foi, entre outros, o de auxiliar os fabricantes na detecção de problemas em cada conjunto diagnóstico, visando à melhoria do produto. Apesar de, neste estudo, terem sido estabelecidos valores de sensibilidade e especificidade para cada CD, cabe aos fabricantes o estabelecimento dos valores padrão de sensibilidade e especificidade de seus respectivos CDs, bem como às autoridades de saúde a tarefa de exigir que os estudos para tal sejam conduzidos de forma apropriada.

Outrossim, o desempenho de cada conjunto diagnóstico relatado se refere ao lote testado, para cada procedência, não significando que lotes anteriores ou posteriores das mesmas procedências não possam ter apresentado desempenhos melhores ou piores aos encontrados neste estudo.

5. RECOMENDAÇÕES

- 5.1. Que todos os CDs para o diagnóstico sorológico da infecção pelo *T. cruzi* sejam testados frente a painéis de soros conhecidos (positivos e negativos) antes de sua distribuição no mercado nacional, sendo estas informações contidas nos respectivos textos explicativos ou informes técnicos do conjunto diagnóstico (folhetos ou "bulas").
- 5.2. Que a Secretaria de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde (SVS-MS) fiscalize as empresas que fabricam os CDs.
- 5.3. Que a SVS-MS implante um sistema de normatização dos informes técnicos dos conjuntos diagnósticos, obrigando a que sejam especificados com clareza os diversos componentes (antígenos, soros, placas, outros reagentes etc.), bem como outros dados de importância para a sua execução, como a implantação de um sistema de normatização das embalagens e componentes mínimos necessários aos conjuntos diagnósticos. Que a SVS-MS em conjunto com o Instituto de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) - MS e a COLAB-FNS-MS credenciem Centros de Referência Nacional para a avaliação dos conjuntos diagnósticos na rede SUS e que o laudo de avaliação seja pré-requisito para o registro do produto no MS.
- 5.4. Que representantes tanto da SVS-MS como do INCQS sejam informados das atividades deste Comitê.
- 5.5. Que seja dada continuidade ao trabalho deste Comitê no tocante à análise de outros conjuntos diagnósticos, de princípios diferentes ao da HAI, tais como ELISA, imunofluorescência e de outros que, no futuro, sejam considerados pertinentes. Para tanto, a COLAB/CENEPI/FNS em conjunto com a GT-Chagas/DEOPE/FNS deverão possibilitar a aquisição e fazer a respectiva distribuição para os laboratórios de referência responsáveis pela avaliação.
- 5.6. Que se divulguem os resultados constantes neste relatório, levando em consideração os aspectos éticos pertinentes, em órgãos de ampla divulgação técnico-científica, no âmbito do próprio Ministério da Saúde, assim como em revistas especializadas em Saúde Pública, em doenças infecciosas e parasitárias, visando não apenas informar aos Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACENs) e Hemocentros, mas também a todos os profissionais de saúde e pesquisadores interessados no assunto em questão.
- 5.7. Que os resultados e as recomendações deste documento sejam comunicados a cada um dos fabricantes dos conjuntos diagnósticos avaliados, visando a um aprimoramento na qualidade dos mesmos.
- 5.8. Que as considerações constantes em "Minuta Padrão" sejam referendadas como um instrumento legal que permita a compra de CDs

de boa qualidade e não apenas aqueles que, apesar de apresentarem o menor preço, têm qualidade discutível.

- 5.9. Que este tipo de avaliação seja estendido para outros agravos de importância epidemiológica no Brasil, como infecção pelo HIV, hepatite, sífilis, malária, leishmanioses etc.

SUMMARY

Multicentric study: evaluation of the performance of kits for indirect hemagglutination available in Brazil for the serological diagnosis of the infection by *Trypanosoma cruzi*

By initiative of the Coordination of the National System of Public Health laboratories, the Ministry of Health designated a Committee composed by members of the scientific community and services with the proposal of evaluation of the different kits available in the market for the serological diagnosis of American Trypanosomiasis. Five laboratories evaluated the eleven kits available for indirect hemagglutination test (IHA) following strictly the technical instructions of each. Each kit was tested through results obtained with a panel of 87 sera (52 positive and 35 negative) originated from the serothèques of the same participant laboratories. The reactivity of the samples was based on results obtained with immunoenzymatic (ELISA) and indirect immunofluorescence (1:40 dilution) tests. A total of 4.524 serological tests for IHA were performed with the 11 kits. The performance of each serum for each kit for each laboratory was analyzed in relation with reproducibility, specificity and sensibility. Three main conclusions were drawn: a) significative differences were detected among the 11 kits tested, with four of them acceptable in terms of no false negative results; b) a good performance was related as a whole with the cut off titer recommended by each manufacturer, in such a way that those with lower cut-off (1:8/1:16 or 1:10/1:20) have had a better performance than those which fixed cut off at 1/40, without worse specificity; c) the inclusion of all the necessary reagents optimizes the performance of each kit. Recommendations for the factories were made, in order to obtain a better performance from each kit, and also for the authorities for periodical evaluations.

KEYWORDS: Chagas disease. Serological diagnosis. Indirect Hemagglutination Test. *Trypanosoma cruzi*. Multicentric study.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Maria Carolina Soares Guimarães, do LIS/MTSP/USP-SP, pelas suas importantes contribuições nas reuniões de estruturação do Comitê Assessor.

À Dra. Ana Rosa dos Santos, Coordenadora atual do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (COLAB/CENEPI/FNS), pelo seu apoio para a realização deste estudo.

Aos profissionais da área técnica de cada um dos diferentes laboratórios participantes do estudo: Hemocentro São Paulo: Márcia Mitiko Otani; Laboratório de Chagas, UFG, Goiânia: Rosângela Amaral de Oliveira e Suelene B. N. Tavares; Dep. Medicina Tropical, Fiocruz, Rio de Janeiro: Maria Cecília Galhardo e Patrícia Lago Zauza; HEMOPE, Recife: Márcio Santana; FUNED, Belo Horizonte: Ildiko Delkin de Miranda Pinto e Sônia Conceição Machado Diniz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Akhavan, D. *Análise de custo-efetividade do programa de controle da doença de Chagas no Brasil. Relatório Final FNS, PNUD, 1995.* Mimeo, 244 p.
02. Astorga, L., Berbeli & Weitz, J.C. Enfermedad de Chagas: Evaluación del serodiagnóstico en bancos de sangre de zonas endémicas en Chile. *Rev. Méd. Chile, 118:1119-1120, 1990.*
03. Astorga, L., Berbeli, & Weitz, J.C. Control de calidad de reactivos comerciales para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. *Rev. Méd. Chile, 120:1168-1169, 1992.*
04. Camargo, M.E. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. *Ars Curandi Cardiologia 9: 29-38, 1987.*
05. Camargo, M.E. Silva, G.R., Castilho, W.A & Silveira, A.C. Inquérito sorológico da infecção chagásica no Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 26:192-204, 1984.*
06. Camargo, M.E., Segura, E, Kagan, IG & et al. Normalización del diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas en las Américas: Evaluación de tres años de colaboración. *Bol.Of. San. Pan., 102: 449-463, 1987.*
07. Comitê Técnico Assessor da Fundação Nacional de Saúde. Informe. *Rev.Pat.Trop., 25:169-171, 1996.*
08. Cunha, G.B., da Cunha D.M., Nassar, M. et al. Sorologia positiva em doadores voluntários de sangue em área endêmica de doença de Chagas. *Arq.Bras.Card., 45: 335-338, 1985.*
09. Cura E. & Wendel S. *Manual de procedimientos de control de calidad para los laboratorios de serologia de los Bancos de Sangre.* Washington: Organización Panamericana de la Salud, 1994.
10. Ferreira, M.S. & Borges, A.S. Parasitoses oportunistas. *Rev.Pat. Trop., 25: 187-201, 1996.*
11. Fragata, A.A.Fo, Rassi, A., Valencia, A., Pereira, J.B., Salvatella, R. & Macedo, V. Relatório do Workshop "Custo da doença de Chagas", *Rev. Soc. Bras. Med. Trop, 29 (supl.II): 159-160, 1996*
12. Fundação Nacional de Saúde. Coordenação de Laboratórios de Saúde Pública. *Rev. Pat. Trop., 26: 137-147, 1997.*
13. Fundação Nacional de Saúde. II Reunião do Comitê Assessor para o diagnóstico laboratorial da doença de Chagas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 29: 635-636, 1996.*
14. Fundação Nacional de Saúde. Recomendações e conclusões da II Reunião do Comitê Técnico Assessor para o diagnóstico laboratorial da doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 38: 328, 1996.*
15. Herrera, M.L., Child, R., Garcia, A. et al. Evaluación de reactivos comerciales empleados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en bancos de sangre de Chile: Selección de reactivos. *Rev.Méd.Chile, 120: 420-426, 1992.*
16. Herskovic, P. & Astorga, B. Evaluación de reactivos comerciales para el serodiagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Parasitologia al dia, 8:72-76, 1984.*
17. Luquetti, A.O. & Castro, A.M. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. In: *Clinica e Terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem para o clínico geral.* Ed. J.C.P. Dias & J.R. Coura. Fiocruz, Rio de Janeiro, 1997.
18. Moncayo, A. Progress towards the elimination of transmission of Chagas disease in Latin America. *Wld. hlt. statis. quart., 50: 195-198, 1997.*
19. Murray, C.J.L. Cuantificación de la carga de enfermedad: la base técnica del cálculo de los años de vida ajustados en función de la discapacidad. *Bol. Oficina Sanit. Panam., 118: 221-242, 1995.*
20. Organização Panamericana da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. *Métodos de investigação em doenças transmissíveis: volume I, Brasília, 1997.*
21. Organización Panamericana de la Salud. *Garantía de calidad en el diagnóstico serológico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana.* Manual de Laboratorio. Programa de SIDA y enfermedades de transmisión sexual. Publicación nº 42. Buenos Aires. Argentina. 55. p. 1995.
22. Pereira, M. G. *Epidemiologia. Teoria e prática.* Ed. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 1995.
23. Prata, A., Akhavan, D. & Oliveira, Jr., W. Relatório do Workshop "Custo da doença de Chagas. Estimativa do número de chagásicos existente no Brasil", *Rev. Soc. Bras. Med. Trop, 29 (supl.II): 160-161, 1996*
24. Saéz-Alquézar, A., Salles, N.A., Chamone, D.A.F. - Triagem sorológica em bancos de sangue. In: *Tratado de Infectologia,* Ed. Veronesi R. e Focaccia R. Atheneu, São Paulo, 1996.
25. Salles, N.A., Sabino, E.C., Cliquet, M.G., Eluf-Neto, J., Mayer, A., Almeida-Neto, C., Mendonça, M.C., Dorliach-Llacer, P., Chamone, D.F., Saéz-Alquézar, A. - Risk of exposure to Chagas disease among seroreactive Brazilian blood donors. *Transfusion, 36:969-973, 1996.*
26. Teixeira, A.R., & Pereira, L.M.. Discrepâncias entre resultados de três reações sorológicas empregadas para o diagnóstico da doença de Chagas. *Rev. Bras. Biol., 41: 789-795, 1981.*
27. Tropical Diseases Program (HPT) / Health Technology Development Program (HSA). - *Chagas Disease Serology: Specifications and evaluation methods for immunological reagents. PAHO / WHO / PNSP / 84:08.* 153 p. 1984.
28. Vitor, R.W.A & Chiari, E. Avaliação de antígenos do *Trypanosoma cruzi* para a reação de hemaglutinação indireta: Antígenos de diferentes amostras e formas evolutivas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 29: 183-188, 1987.*
29. World Health Organization / Global Programme on AIDS - *Safe Blood and Blood Products - Module 2: Screening for HIV and other Infectious agents.* WHO/GPA/CNP 93.2 C. Geneva. Switzerland p. 106-110, 1993.
30. World Health Organization. *Control of Chagas disease.* Geneva, 1991.

ANEXOS

Anexo I. Relação das amostras selecionadas pelo Comitê, para constituir o painel de soros empregados na análise dos conjuntos diagnósticos de HAI, para diagnóstico de tripanosomíase americana.

SOROS POSITIVOS

No.	PROCEDÊNCIA	IDENTIFICAÇÃO	IFI=>40	ELISA DO/DO pc
01	FIO2	VL 99/9441	POS	2,561/0,306
02	FIO3	VL 113/9442	POS	2,202/0,306
03	FIO11	VL 2555/9455	POS	2,406/0,306
04	FIO13	VL 2567/9457	POS	2,378/0,306
05	FIO14	VL 548/9457	POS	2,348/0,306
06	FIO20	VL 1340/9475	POS	2,434/0,306
07	GOCH5	270795/5055	POS	2,186/0,306
08	GOCH6	280795/5056	POS	2,157/0,306
09	GOCH9	170895/5071	POS	2,321/0,306
10	GOCH10	280895/5109	POS	2,167/0,306
11	GOCH11	280895/5110	POS	2,044/0,306
12	GOCH16	220995/5135	POS	1,979/0,306
13	GOCH19	181095/5248	POS	2,246/0,306
14	GOCH21	261095/5254	POS	2,208/0,306
15	GOCH22	061195/5263	POS	2,188/0,306
16	GOCH28	231195/5284	POS	2,386/0,306
17	GOCH33	080196/5333	POS	2,087/0,306
18	GOCH34	090196/5334	POS	2,124/0,306
19	GOCH40	010296/5372	POS	2,392/0,306
20	GOCH42	080296/5381	POS	2,205/0,306
21	FPS/HSP	0500136924-0	POS	1,938/0,304
22	FPS/HSP	0500136910-0	POS	1,708/0,304
23	FPS/HSP	0500137244-5	POS	2,089/0,304
24	FPS/HSP	0500136911-8	POS	2,141/0,304
25	FPS/HSP	0500136839-1	POS	1,373/0,304
26	FPS/HSP	0500106469	POS	2,402/0,304
27	HEMOPE 03	M.C.M.	POS	1,832/0,302
28	HEMOPE 18	C.A.P.	POS	2,088/0,307
29	HEMOPE 26	G.A.P.	POS	2,411/0,307
30	HEMOPE 35	L.M.C.	POS	2,030/0,307
31	FIO 7	VL1401/9451	POS	2,310/0,306
32	FIO 12	VL2565/9456	POS	1,994/0,306
33	FIO 16	VL2655/9461	POS	1,953/0,306
38	GOCH 2	030795/5042	POS	2,109/0,306
39	GOCH 8	090895/5065	POS	2,109/0,306
40	GOCH 12	280895/5111	POS	2,161/0,306
42	GOCH 26	201195/5274	POS	1,049/0,306
43	GOCH 29	291195/5292	POS	2,312/0,306
44	GOCH 30	281195/5293	POS	2,237/0,306
45	GOCH 35	110196/5335	POS	1,781/0,306
46	GOCH 41	050296/5374	POS	2,087/0,306
48	GOCH 48	050396/5481	POS	1,564/0,304
49	FPS/HSP	0500246736-9	POS	1,094/0,304
52	FPS/HSP	0500264224-1	POS	0,776/0,304
53	FPS/HSP	0500289356-2	POS	0,667/0,304
54	FPS/HSP	0500289354-6	POS	0,538/0,304
55	FPS/HSP	050009265-7	POS	1,532-0,304
56	FPS/HSP	270106.9.94	POS	1,048/0,304
57	FPS/HSP	500063905	POS	1,189/0,304
58	FPS/HSP	500063914	POS	2,101/0,304
59	FPS/HSP	500063917	POS	0,872/0,304
60	FPS/HSP	500080378	POS	0,718/0,304

SOROS-NEGATIVOS

No.	PROCEDÊNCIA	IDENTIFICAÇÃO	IFI <40	ELISA DO/DOpc
34	FIO 23	VL1110/9448	NEG	0,006/0,306
35	FIO 24	VL2656/9462	NEG	0,006/0,306
36	FIO 26	VL2659/9465	NEG	0,0006/0,306
37	FIO 28	VL2662/9468	NEG	0,005/0,306
50	FPS/HSP	0500246879-9	NEG	0,003/0,304
61	FPS/HSP	0500295979-2	NEG	0,004/0,306
62	FIO 32	VL2667/9474	NEG	0,003/0,306
63	FIO 34	VL2674/9480	NEG	0,004/0,306
64	FIO 35	VL 2675/9481	NEG	0,005/0,306
65	GOCH 01	260695/5035	NEG	0,006/0,306
66	GOCH 07	040895/5058	NEG	0,005/0,306
67	GOCH 17	260995/5139	NEG	0,005/0,306
68	GOCH 18	021095/5142	NEG	0,005/0,306
69	GOCH 23	071195/5265	NEG	0,005/0,306
70	GOCH 24	131195/5269	NEG	0,007/0,306
71	FPS/HSP	0500295888-5	NEG	0,003/0,303
72	FPS/HSP	0500295918-0	NEG	0,002/0,303
73	FPS/HSP	0500295908-3	NEG	0,002/0,304
74	FPS/HSP	0200029670-0	NEG	0,001/0,303
75	FPS/HSP	0500296055-3	NEG	0,001/0,304
76	FPS/HSP	0500295679-3	NEG	0,001/0,302
77	FPS/HSP	0500295706-4	NEG	0,001/0,302
78	FPS/HSP	0500295645-9	NEG	0,001/0,302
79	FPS/HSP	0500295765-0	NEG	0,000/0,302
80	FPS/HSP	0500295647-5	NEG	0,000/0,302
81	FPS/HSP	0500295674-2	NEG	0,001/0,302
82	FPS/HSP	0500295690-4	NEG	0,001/0,302
83	FPS/HSP	0500295897-4	NEG	0,002/0,303
84	FPS/HSP	0200029676-9	NEG	0,003/0,303
85	FPS/HSP	0500295325-5	NEG	0,000/0,302
86	FPS/HSP	0500295702-1	NEG	0,001/0,302
87	FPS/HSP	0500295696-3	NEG	0,002/0,302
88	FPS/HSP	0200029699-8	NEG	0,001/0,303
89	FPS/HSP	0500295827-3	NEG	0,001/0,303
90	FPS/HSP	0700027409-3	NEG	0,001/0,303

Anexo 2. Resultados obtidos por cada centro para cada soro com cada CD

Conjunto Diagnóstico "BIOKIT/BIOCHAGAS/IMUNOLAB" (K 1)

Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso	Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso	Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso
1	P	P	P	P	NF	P	P	31	P	INC	P	P	P	P	P	61	N	N	N	N	N	N	N
2	P	N	N	P	NF	P	INC	32	P	INC	P	P	P	P	P	62	N	N	N	N	N	N	N
3	P	P	P	P	P	P	P	33	P	N	N	P	P	P	P	63	N	N	N	N	N	N	N
4	P	P	P	P	NF	P	P	34	N	N	N	N	N	N	N	64	N	N	N	N	N	N	N
5	P	P	P	P	NF	P	P	35	N	N	N	N	N	N	N	65	N	N	N	N	N	N	N
6	P	P	P	P	NF	P	P	36	N	N	N	N	N	N	N	66	N	N	N	N	N	N	N
7	P	P	P	P	NF	P	P	37	N	N	N	N	N	N	N	67	N	N	N	N	N	N	N
8	P	P	P	P	NF	P	P	38	P	INC	P	P	P	P	P	68	N	N	N	N	N	N	N
9	P	P	P	P	NF	P	P	39	P	INC	P	P	P	P	P	69	N	N	N	N	N	N	N
10	P	P	P	P	NF	P	P	40	P	INC	P	P	P	P	P	70	N	N	N	N	N	N	N
11	P	P	P	P	NF	P	P	41	INC	N	N	N	N	N	N	71	N	N	N	N	N	N	N
12	P	P	P	P	P	P	P	42	P	N	N	N	N	N	N	72	N	N	N	N	N	N	N
13	P	INC	P	P	P	P	P	43	P	P	INC	P	P	P	P	73	N	N	N	N	N	N	N
14	P	P	P	P	P	P	P	44	P	P	P	P	P	P	P	74	N	N	N	N	N	N	N
15	P	P	P	P	P	P	P	45	P	P	P	P	P	P	P	75	N	N	N	N	N	N	N
16	P	P	P	P	P	P	P	46	P	P	P	P	P	P	P	76	N	NF	N	N	N	N	N
17	P	N	P	P	P	P	P	47	INC	N	N	N	N	N	N	77	N	NF	N	N	N	N	N
18	P	P	P	P	P	P	P	48	P	P	P	NF	P	P	P	78	N	NF	N	N	N	N	N
19	P	P	P	P	P	P	P	49	P	P	P	P	P	P	P	79	N	NF	N	N	N	N	N
20	P	INC	P	P	P	P	P	50	N	N	N	N	N	N	N	80	N	NF	N	N	N	N	N
21	P	INC	P	P	P	P	P	51	INC	N	N	N	N	N	N	81	N	NF	N	N	N	N	N
22	P	INC	P	P	P	P	P	52	P	P	P	P	P	P	P	82	N	NF	N	N	N	N	N
23	P	INC	P	P	P	P	P	53	P	P	P	P	P	P	P	83	N	NF	N	N	N	N	N
24	P	INC	P	P	P	P	P	54	P	N	N	N	N	N	N	84	N	NF	N	N	N	N	N
25	P	INC	P	P	P	P	P	55	P	N	N	N	N	N	N	85	N	NF	N	N	N	N	N
26	P	P	P	P	P	P	P	56	P	INC	P	P	P	P	P	86	N	NF	N	N	N	N	N
27	P	P	P	P	P	P	P	57	P	N	N	N	N	N	N	87	N	NF	N	N	N	N	N
28	P	P	P	P	P	P	P	58	P	N	N	N	N	N	N	88	N	NF	N	N	N	N	N
29	P	P	P	P	P	P	P	59	P	N	N	N	N	N	N	89	N	NF	N	N	N	N	N
30	P	NF	N	P	NF	P	P	60	P	N	N	N	N	N	N	90	N	NF	N	N	N	N	N
Tp	30	20	28	30	22	30	29	Tp	22	8	13	17	15	21	15	Tp	0	0	0	0	0	0	0
Tn	0	0	0	0	0	0	0	Tn	5	14	13	10	11	6	12	Tn	30	15	30	30	30	30	30
Tinc	0	7	0	0	0	0	1	Tinc	3	5	1	0	0	0	0	Tinc	0	0	0	0	0	0	0

Observações: Ref. Pánel: resultado obtido por IFI e ELISA (P=positivo/N=negativo/INC=inconclusivo)
 BH:FUNED, Belo Horizonte; GO:Lab.Chagas,UFG, Goiânia; RE:HEMOPE, Pernambuco; RJ: Fiocruz, Rio de Janeiro; SP:Hemocentro, São Paulo. Consenso: maioria simples de resultados. NF=não feito. Tp=total positivos. Tn=total negativos Tinc=total inconclusivos.

Conjunto Diagnóstico "BIOLAB" (K 2)

Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso	Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso	Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso
1	P	P	P	P	NF	P	P	31	P	P	P	P	P	P	P	61	N	N	N	N	N	N	N
2	P	P	P	P	NF	P	P	32	P	P	P	P	P	P	P	62	N	N	N	N	N	N	N
3	P	P	P	P	P	P	P	33	P	P	P	P	P	P	P	63	N	N	N	N	N	N	N
4	P	P	P	P	NF	P	P	34	N	N	N	N	N	N	N	64	N	N	N	N	N	N	N
5	P	P	P	P	NF	P	P	35	N	N	N	N	N	N	N	65	N	N	N	N	N	N	N
6	P	P	P	P	NF	P	P	36	N	N	N	N	N	N	N	66	N	N	N	N	N	N	N
7	P	P	P	P	NF	P	P	37	N	N	N	N	N	N	N	67	N	N	N	N	N	N	N
8	P	P	P	P	NF	P	P	38	P	NF	P	P	P	P	P	68	N	N	N	N	N	N	N
9	P	P	P	P	P	P	P	39	P	NF	P	N	P	P	P	69	N	N	N	N	N	N	N
10	P	P	P	P	P	P	P	40	P	P	P	P	P	P	P	70	N	N	N	N	N	N	N
11	P	P	P	P	P	P	P	41	INC	N	P	N	INC	N	N	71	N	N	N	N	N	N	N
12	P	P	P	P	P	P	P	42	P	N	N	N	N	N	N	72	N	N	N	N	N	N	N
13	P	P	P	P	P	P	P	43	P	P	P	P	P	P	P	73	N	N	N	N	N	N	N
14	P	P	P	P	P	P	P	44	P	P	P	P	P	P	P	74	N	N	N	N	N	N	N
15	P	P	P	P	P	P	P	45	P	P	P	P	P	P	P	75	N	N	N	N	N	N	N
16	P	P	P	P	P	P	P	46	P	P	P	P	P	P	P	76	N	N	N	N	N	N	N
17	P	P	P	P	P	P	P	47	INC	N	N	N	N	N	N	77	N	N	N	N	N	N	N
18	P	P	P	P	P	P	P	48	P	P	P	NF	P	P	P	78	N	N	N	N	N	N	N
19	P	P	P	P	P	P	P	49	P	P	P	N	N	N	N	79	N	N	N	N	N	N	N
20	P	P	P	P	P	P	P	50	N	N	N	N	N	N	N	80	N	N	N	N	N	N	N
21	P	P	P	P	P	P	P	51	INC	N	P	N	P	P	P	81	N	N	N	N	N	N	N
22	P	P	P	P	P	P	P	52	P	P	P	P	P	P	P	82	N	N	N	N	N	N	N
23	P	P	P	P	P	P	P	53	P	P	P	P	P	P	P	83	N	N	N	N	N	N	N
24	P	P	P	P	P	P	P	54	P	N	N	N	N	N	N	84	N	N	N	N	N	N	N
25	P	P	P	P	P	P	P	55	P	P	P	N	N	N	N	85	N	N	N	N	N	N	N
26	P	P	P	P	P	P	P	56	P	P	P	N	N	N	N	86	N	N	N	N	N	N	N
27	P	P	P	P	P	P	P	57	P	P	P	N	N	N	N	87	N	N	N	N	N	N	N
28	P	P	P	P	P	P	P	58	P	P	P	N	N	N	N	88	N	N	N	N	N	N	N
29	P	P	P	P	P	P	P	59	P	N	P	N	N	N	N	89	N	N	N	N	N	N	N
30	P	P	P	P	P	P	P	60	P	P	INC	N	N	P	INC	90	N	N	N	N	N	N	N
Tp	30	30	30	30	23	30	30	Tp	22	16	19	13	14	22	17	Tp	0	0	0	0	0	0	0
Tn	0	0	0	0	0	0	0	Tn	5	9	7	14	12	5	9	Tn	30	30	30	30	30	30	30
Tinc	0	0	0	0	0	0	0	Tinc	3	0	1	0	0	1	1	Tinc	0	0	0	0	0	0	0

Conjunto Diagnóstico "CECON" (K 3)

Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso	Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso	Soro	Ref. Pánel	BH	GO	RE	RJ	SP	Consenso
1	P	P	P	N	P	P	P	31	P	P	P	P	P	P	P	61	N	NF	N	N	N	N	N
2	P	P	P	N	P	P	P	32	P	P	P	P	P	P	P	62	N	NF	N	N	N	N	N
3	P	P	P	N	P	P	P	33	P	P	P	P	P	P	P	63	N	NF	N	N	N	N	N
4	P	P	P	N	P	P	P	34	N	P	P	N	N	N	N	64	N	NF	N	N	N	N	N
5	P	P	N	N	P	P	P	35	N	P	N	N	N	N	N	65	N	NF	N	N	N	N	N
6	P	P	P	N	P	P	P	36	N	P	N	N	N	N	N	66	N	NF	N	N	N	N	N
7	P	P	P	P	P	P	P	37	N	P	N	N	N	N	N	67	N	NF	N	N	N	N	N
8	P	INC	P	P	P	P	P	38	P	P	INC	N	P	P	P	68	N	NF	N	N	N	N	N
9	P	P	P	P	P	P	P	39	P	P	P	N	P	P	P	69	N	NF	N	N	N	N	N
10	P	P	P	N	P	P	P	40	P	P	P	P	INC	P	P	70	N	NF	N	N	N	N	N
11	P	P	P	P	P	P	P	41	INC	P	N	N	N	N	N	71	N	NF	N	N	N	N	N
12	P	INC	N	N	N	N	N	42	P	P	N	P	N	P	P	72	N	NF	N	N	N	N	N
13	P	P	P	P	P	P	P	43	P	P	P	P	P	P	P	73	N	NF	N	N	N	N	N
14	P	P	P	N	P	P	P	44	P	P	P	P	P	P	P	74	N	NF	N	N	N	N	N
15	P	P	P	P	P	P	P	45	P	P	P	N	P	P	P	75	N	NF	N	N	N	N	N
16	P	P	P	N	P	P	P	46	P	P	P	P	INC	P	P	76	N	NF	N	N	N	N	N
17	P	P	P	P	P	P	P	47	INC	P	N	N	N	N	N	77	N	NF	N	N	N	N	N
18	P	P	P	P	P	P	P	48	P	P	P	P	P	P	P	78	N	NF	N	N	N	N	N
19	P	P	P	P	P	P	P	49	P	P	P	N	N	N	N	79	N	NF	N	N	N	N	N
20																							

Anexo 3. Modelo de Roteiro para avaliação de Conjuntos Diagnósticos

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE
CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA (CENEPI)
COORDENAÇÃO DO SISTEMA NACIONAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA (COLAB)

IV. - ROTEIRO PADRONIZADO PARA ELABORAÇÃO DO RELATÓRIO SOBRE O ESTUDO DE AVALIAÇÃO DO TESTE DE HEMAGLUTINAÇÃO PARA O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS.

1. - CONDIÇÕES DE CHEGADA AO LABORATÓRIO DO KIT:

- Data do recebimento: _____ Hora: _____
- Tipo de Embalagem: _____
- Lote n°: _____
- Validade: _____
- Componentes do Kit:
 - * Nº de placas: _____ (lote: _____)
 - * Nº de frascos com diluente: _____ vol./frasco: (lote: _____)
 - * Nº de frascos c/hemácias sensibilizadas: vol./frasco: (lote: _____)
 - * Nº de frascos com 2 mercaptoetanol: vol./frasco: (lote: _____)
 - * Nº de frascos com controle negativo: vol./frasco: (lote: _____)
 - * Nº de frascos com controle positivo: vol./frasco: (lote: _____)
- * Outros componentes:
 - Nº de frascos com _____: vol./frasco: (lote: _____)
 - Nº de frascos com _____: vol./frasco: (lote: _____)
 - Nº de frascos com _____: vol./frasco: (lote: _____)

2. - CARACTERÍSTICAS DOS COMPONENTES DO KIT:

Componentes	Procedência/origem	Observações
Hemácias sensibilizadas		
Antígeno		
Controle Positivo		
Controle Negativo		
Outro:		
Outro:		
Outro:		
Tipo de meio empregado no cultivo do <i>T. cruzi</i> :		

3. - ANÁLISE CRÍTICA DO INFORME TÉCNICO OU "BULA" ANEXO AO KIT:

Apropriado () _____ Inapropriado () _____

4. - RESULTADOS OBTIDOS NA AVALIAÇÃO DO KIT :

5. - RECOMENDAÇÕES E COMENTÁRIOS:

6. - CONCLUSÕES:

Instituição onde foi avaliado o KIT: _____

Data: ____/____/____. _____
(assinatura e carimbo do responsável)