



PARANÁ

GOVERNO
DO ESTADO

SECRETARIA
DA SAÚDE



HEMEPAR

CURSO DE BOAS PRÁTICAS NO CICLO DO SANGUE

Curitiba, 13/08/19

Sangue.
e **DO**
sempre.

Triagem Laboratorial Sorologia & Biologia Molecular

Cleide Lavorato Viviani
DVLAB/HEMEPAR

Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

Portaria de Consolidação nº5 de 28 de setembro de 2017, origem Portaria 158/16.

Seção VI - Dos exames de qualificação no sangue do doador.

Art. 128. O Serviço de Hemoterapia realizará testes para infecções transmissíveis pelo sangue, a fim de reduzir riscos de transmissão de doenças e em prol da qualidade do sangue a ser doado.



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

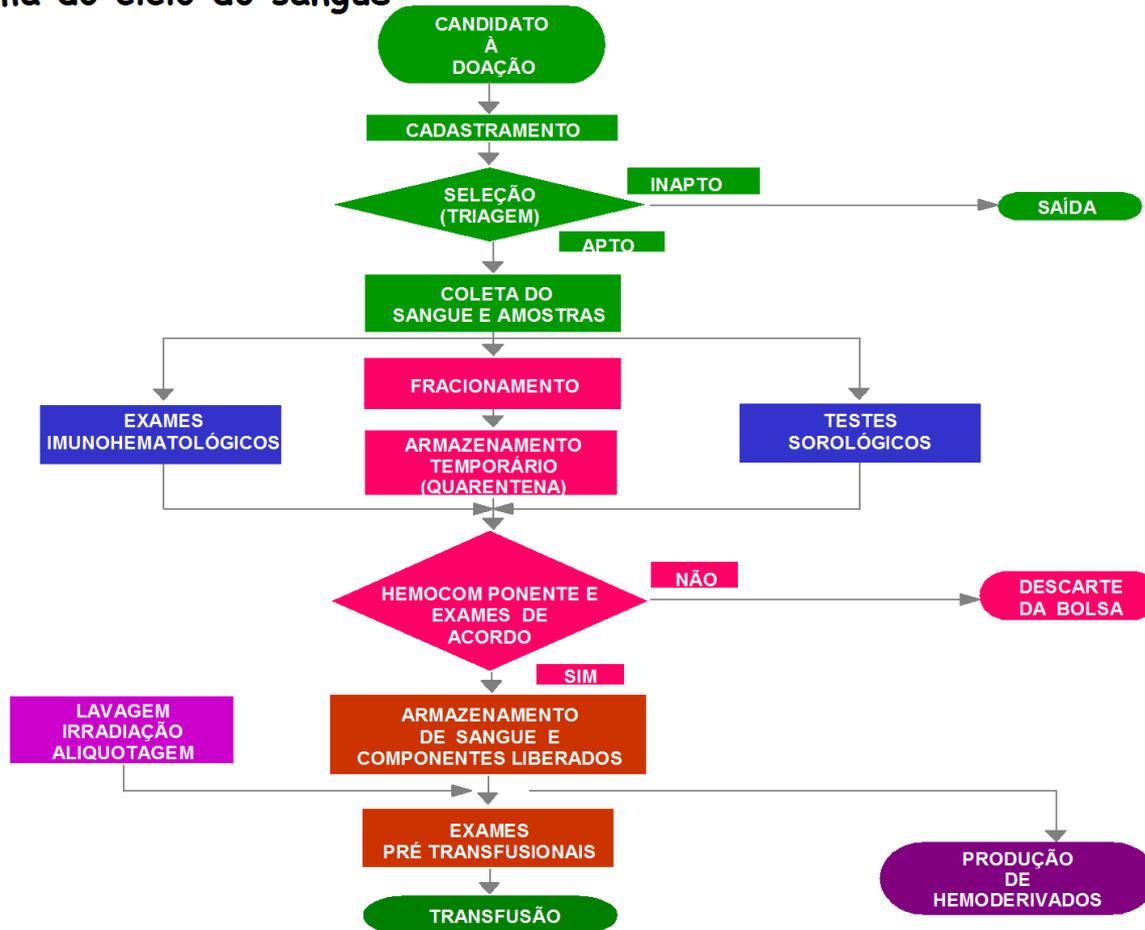
Objetivo: realizar triagem de doenças transmissíveis pelo sangue através de técnicas laboratoriais, em amostras de doadores de sangue. É obrigatório a realização de exames laboratoriais de alta sensibilidade a cada doação.



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

Fluxograma do ciclo do sangue



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

- Testes obrigatórios em legislação para triagem:

HBsAg (Sorologia + NAT)

Anti HBC

HCV (Sorologia + NAT)

Anti HIV (Sorologia + NAT)

Chagas

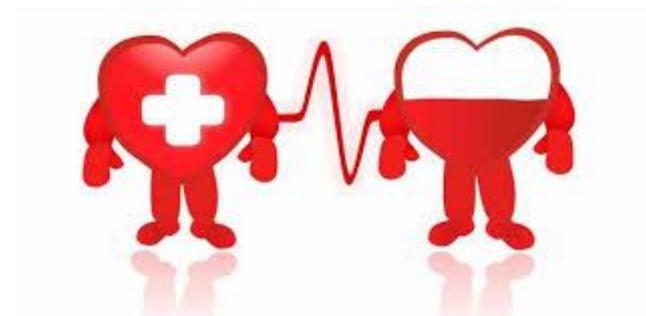
Anti HTLV I/II

Sífilis

+

Malária para regiões endêmicas com transmissão ativa

CMV (Transplantes, RN e transfusões intrauterina)



Triagem Laboratorial

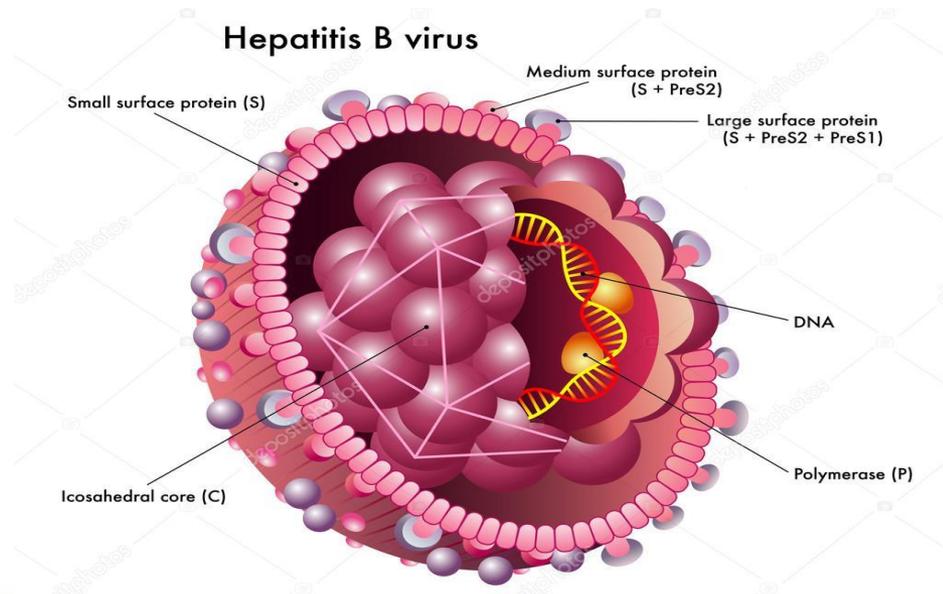
Sorologia & Biologia Molecular

Hepatite B:

I - detecção do Ag de superfície do vírus da Hepatite B- HbsAg, ELISA ou Quimioluminescência

II - detecção de Ac contra o capsídeo do HBV – anti HBc (IgG ou IgG + IgM), ELISA ou Quimioluminescência

III - detecção de ácido nucleico (NAT) do HBV



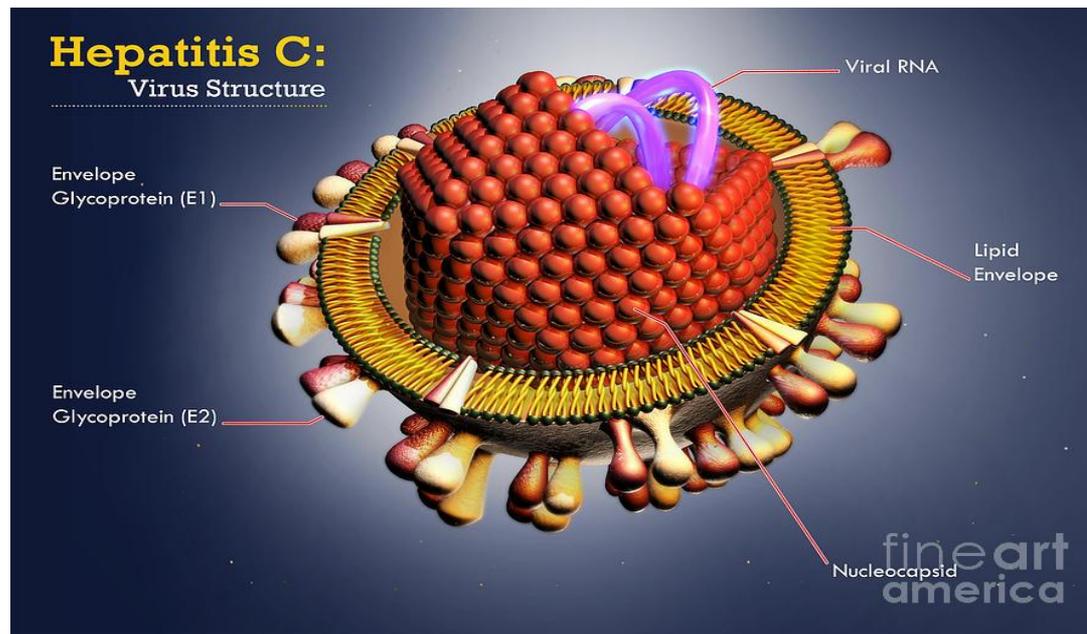
Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

Hepatite C

I - detecção do anticorpo contra o vírus da Hepatite C (HCV) ou detecção combinada de anticorpo + antígeno do HCV, ELISA ou Quimioluminescência

II - detecção de ácido nucleico (NAT) do HCV

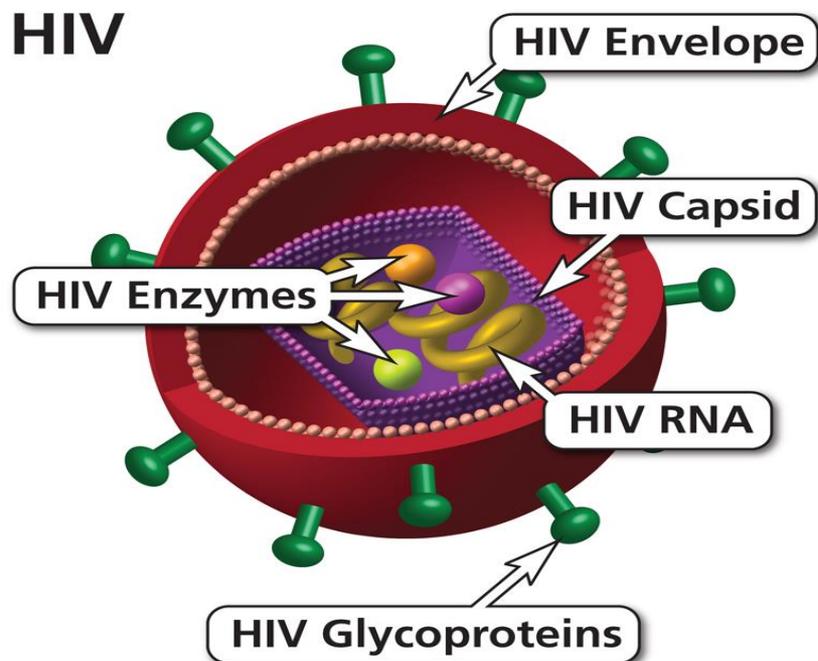


Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

HIV

- I - detecção de anticorpo contra o HIV, pesquisando os subtipos 1, 2 e O, ou detecção combinada do anticorpo contra o HIV + antígeno p24 do HIV, ELISA ou Quimioluminescência
- II - detecção de ácido nucleico (NAT) do HIV

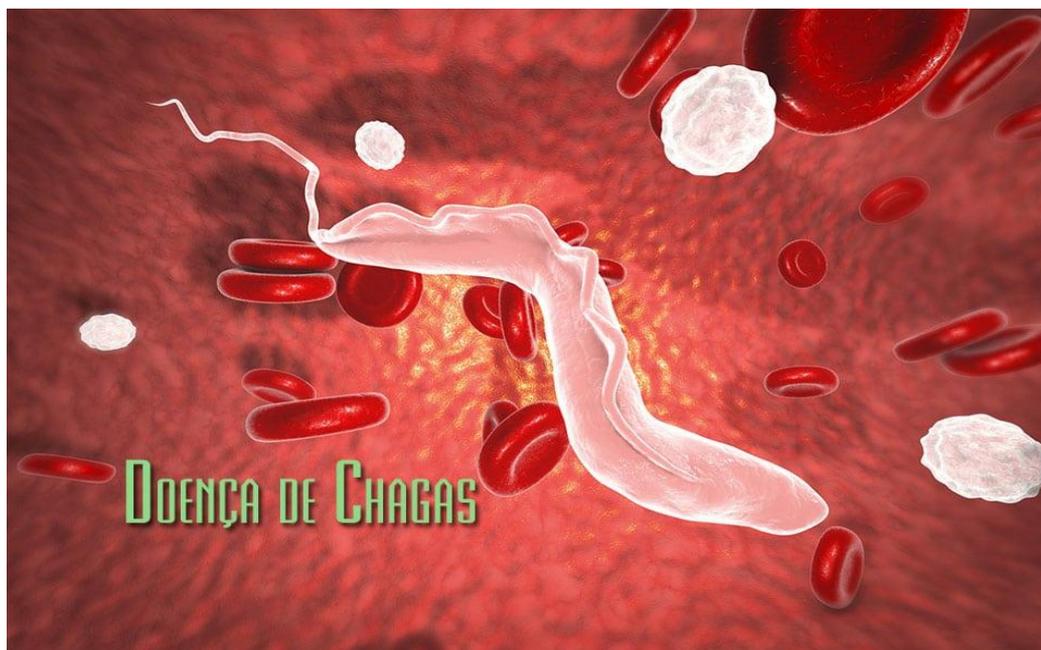


Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

CHAGAS

Detecção de anticorpo anti T cruzi, por ELISA ou Quimioluminescência.

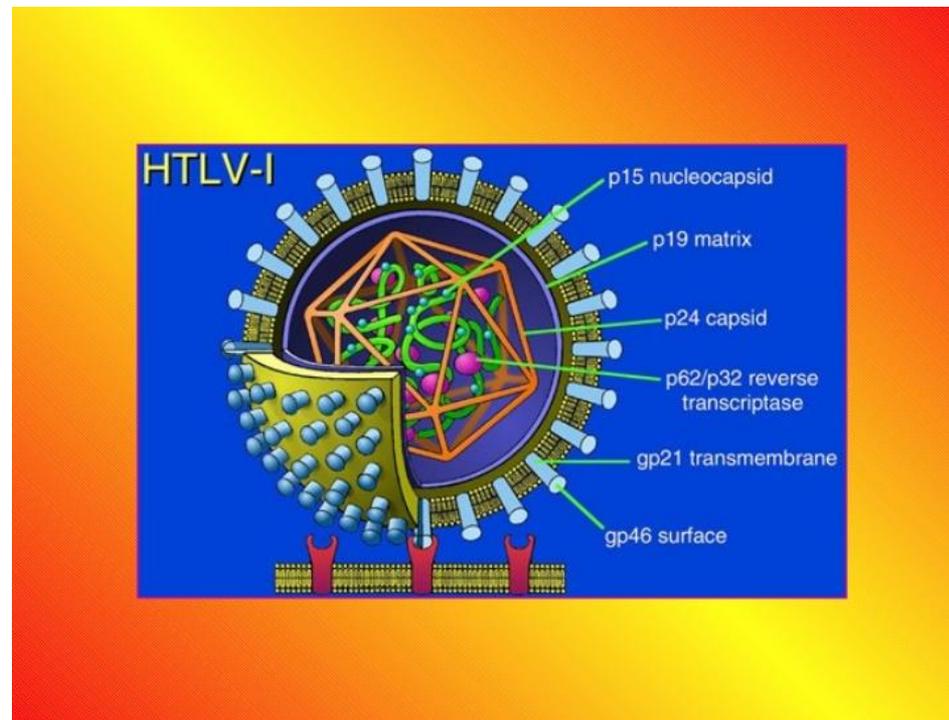


Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

HTLV I/II

Detecção de anticorpo anti HTLV I/II, por ELISA ou Quimioluminescência.



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

SÍFILIS

Detecção de anticorpo anti treponêmico (Teste treponêmico ELISA ou quimioluminescência) ou não treponêmico (RPR ou VDRL).



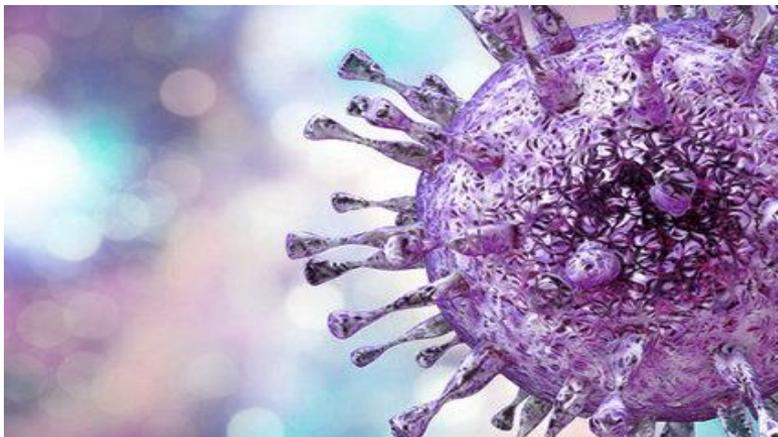
Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

CITOMEGALOVIRUS

A detecção de Citomegalovírus (CMV) :

- I - submetidos a transplantes de células TMO e de órgãos, com sorologia não Reagente para CMV
- II - recém-nascidos de mães CMV negativo que tenham peso ao nascimento inferior a 1.200g
- III - transfusão intrauterina



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

MALÁRIA

Nas regiões endêmicas de malária, com transmissão ativa, independente da incidência parasitária da doença, será realizado teste para detecção do plasmódio ou de antígenos plasmodiais.





HEMEPAR

Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*)

É um dos métodos mais utilizados para o diagnóstico de doenças infecciosas, possibilita a identificação de antígenos (Ag) ou anticorpos (Ac) específicos no sangue. Sistema semi automatizado: utilização em serviços de menor volume.

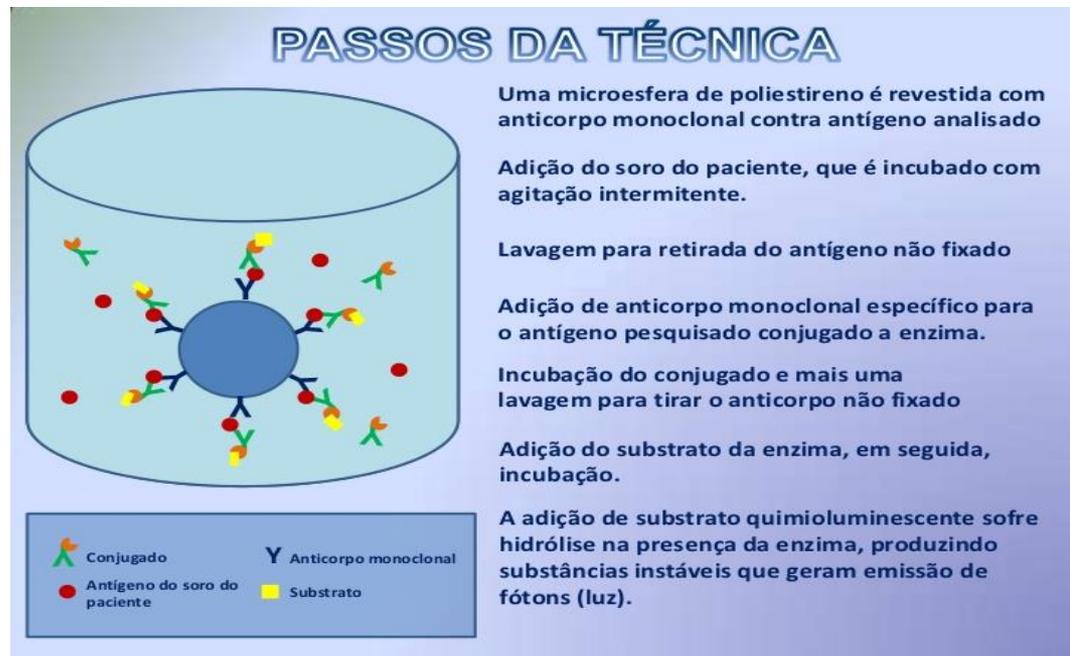


Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

QUIMILUMINESCÊNCIA (CMIA)

É uma reação que emite energia sob a forma de luz. Quando utilizada em combinação com a tecnologia de imunoensaio, a luz produzida pela reação indica a quantidade de antígeno ou anticorpo que está sendo pesquisado na amostra.



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

QUIMIOLUMINESCÊNCIA

Permite automação total em grandes rotinas.



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

SISTEMA DE TRATAMENTO DE ÁGUA

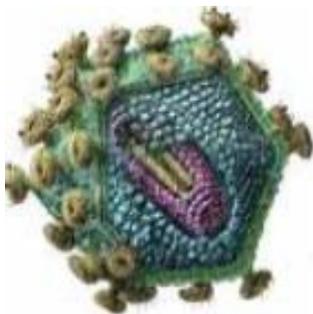


Triagem Laboratorial Biologia Molecular

NAT

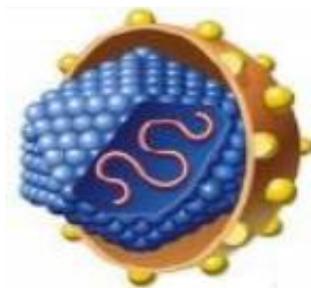
Tecnologia do ácido nucleico que permite detectar, amplificar, identificar e quantificar ácidos nucleicos (DNA e RNA) em amostras biológicas.

Redução da janela imunológica



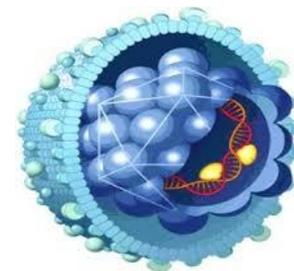
HIV

21 d \Rightarrow 10 d



HCV

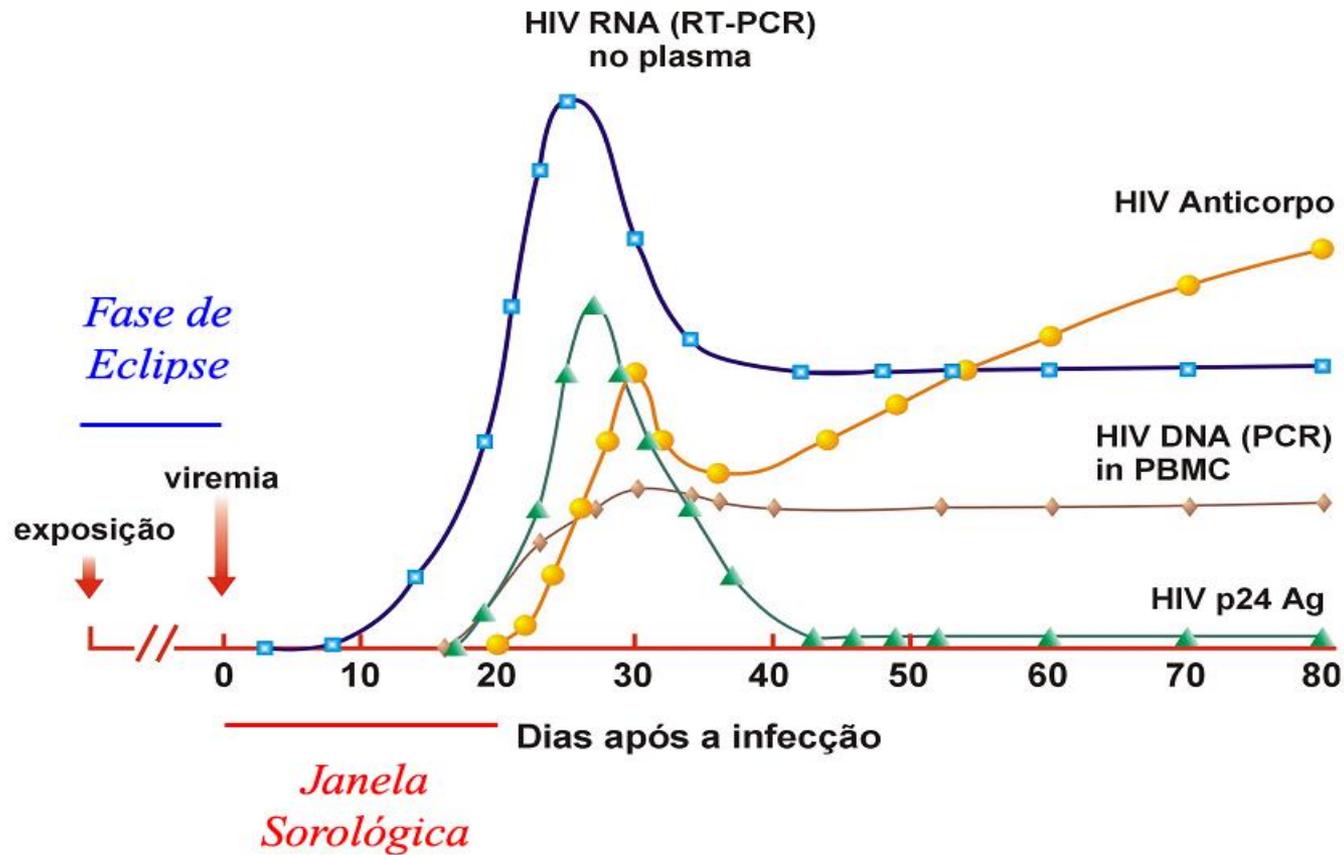
70 d \Rightarrow 14 d



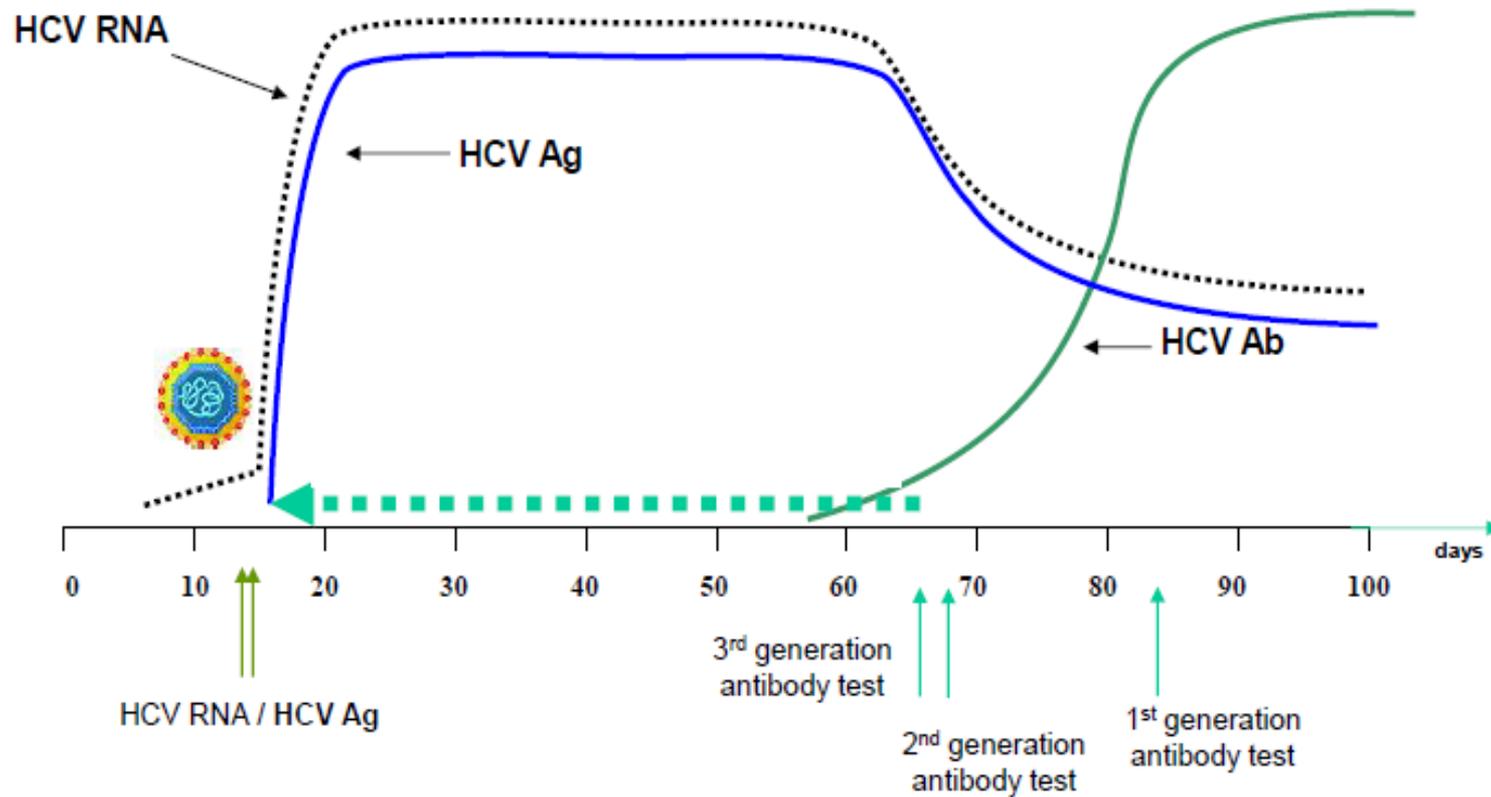
HBV

60 d \Rightarrow 10 d

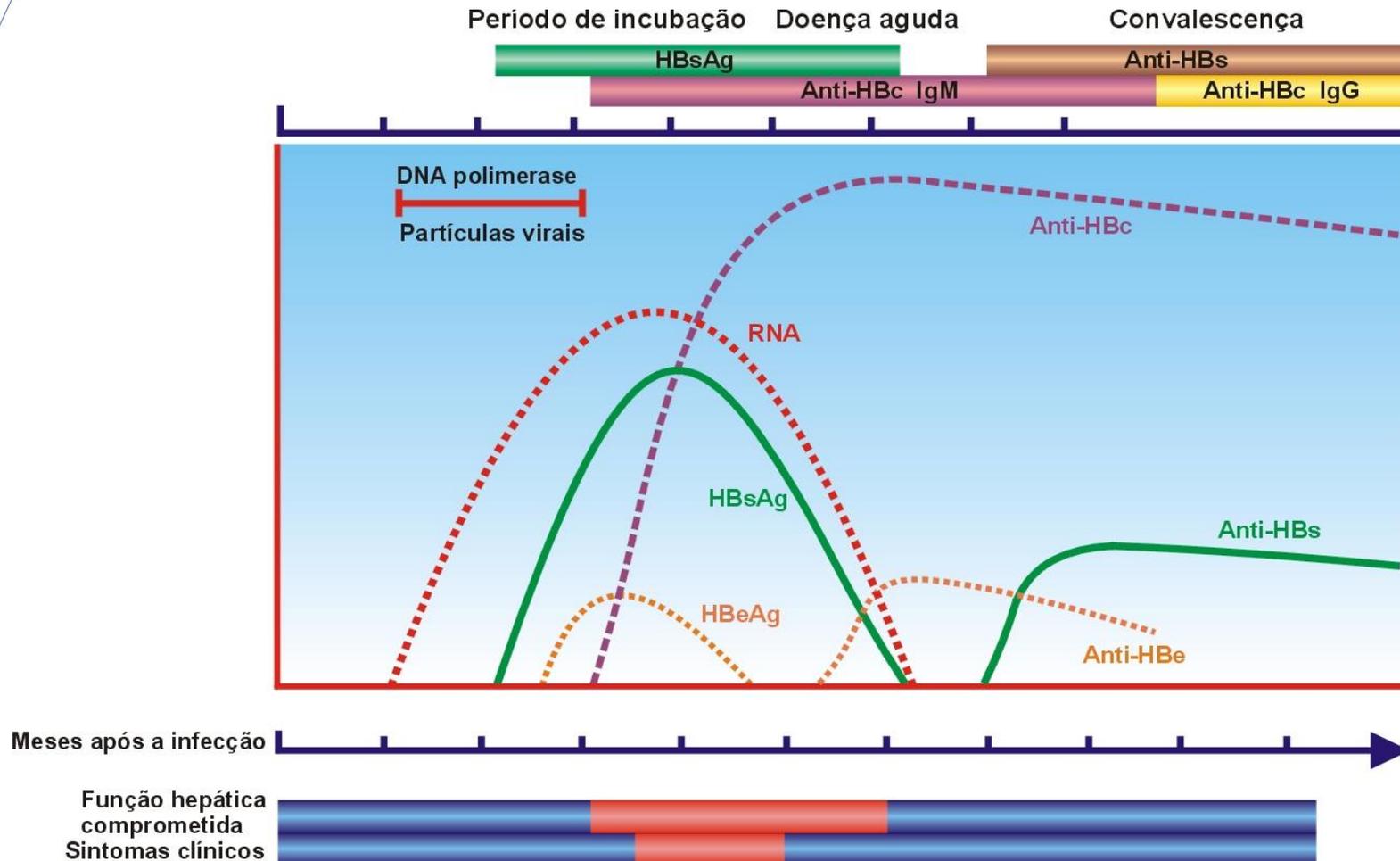
Triagem Laboratorial Biologia Molecular



Triagem Laboratorial Biologia Molecular

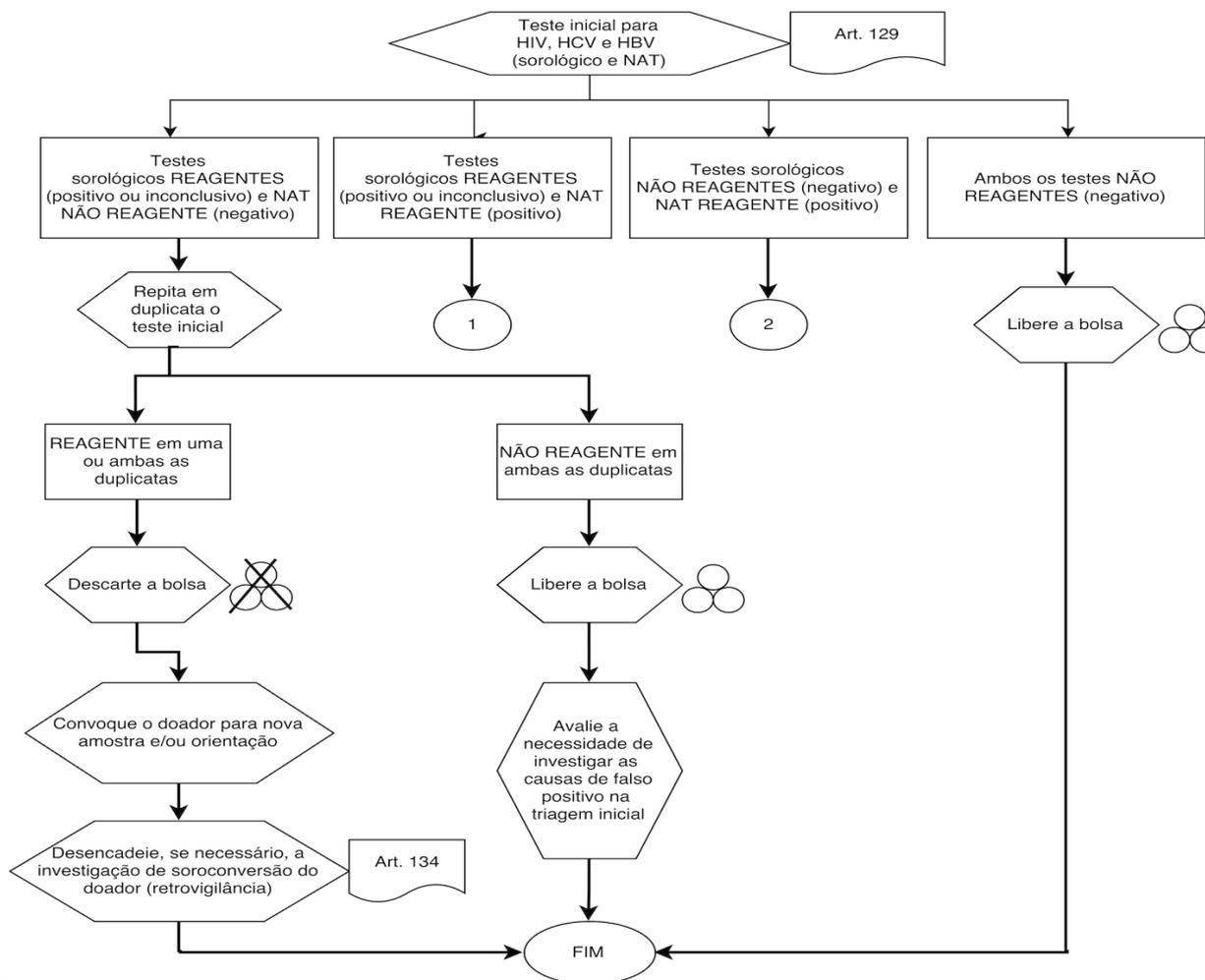


Triagem Laboratorial Biologia Molecular



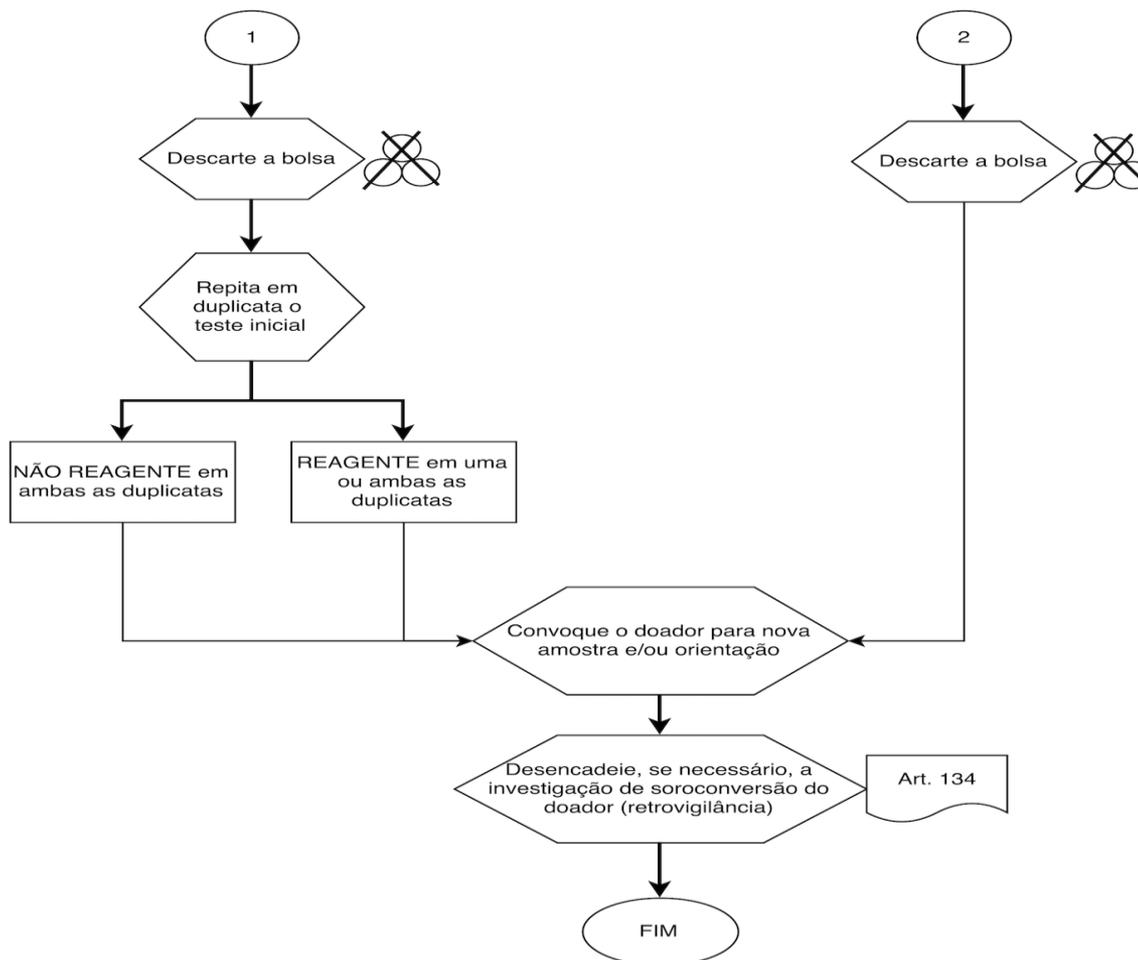
Triagem Laboratorial Sorologia e NAT

B. Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue (HIV, HCV e HBV - testes sorológicos e NAT). (Página 1)



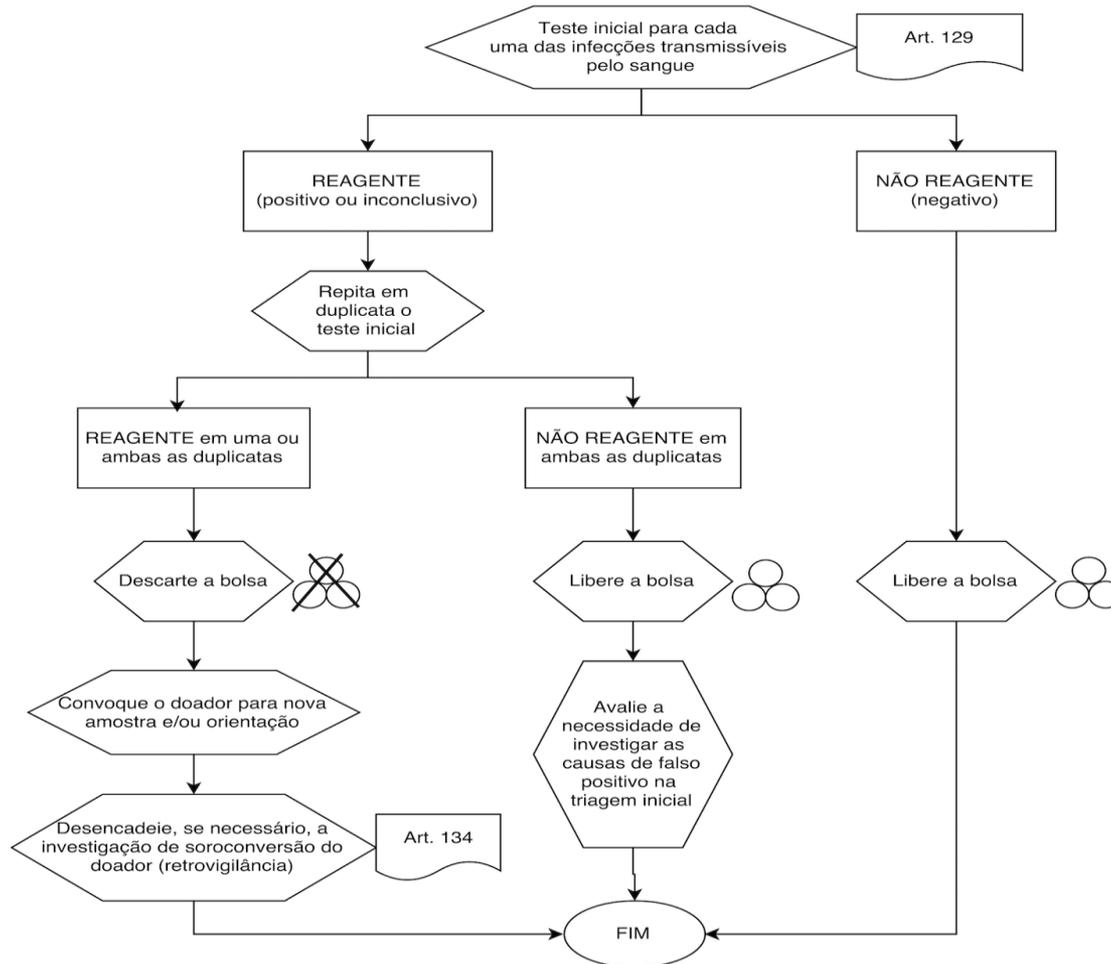
Triagem Laboratorial Sorologia e NAT

B. Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue (HIV, HCV e HBV - testes sorológicos e NAT). (Página 2)



Triagem Laboratorial Sorologia

A. Algoritmo para testagem e liberação de bolsas de sangue (anti-HTLV/II, sífilis e doença de Chagas)



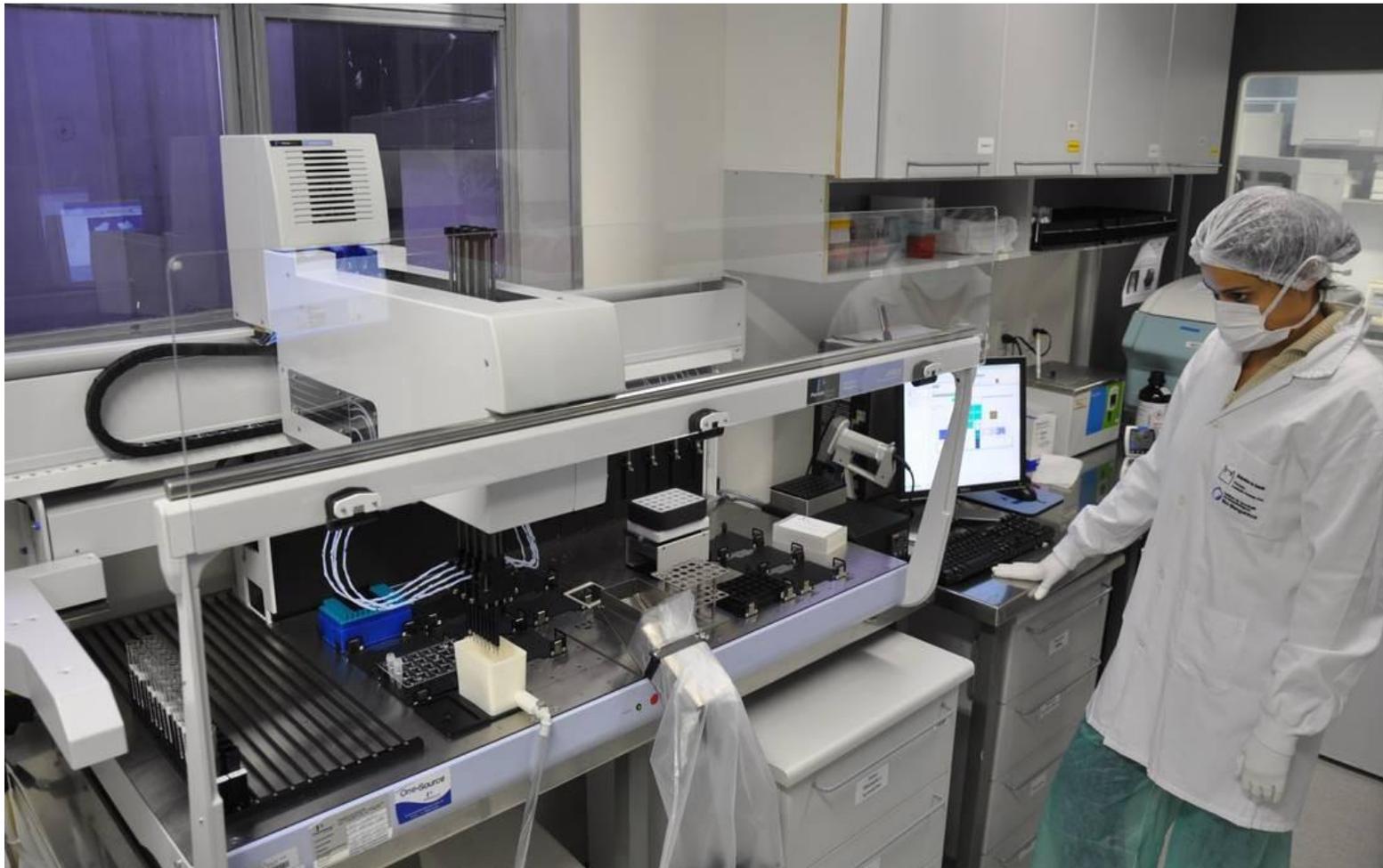
Triagem Laboratorial Biologia Molecular equipamentos manuais



Triagem Laboratorial

Biologia Molecular

Plataformas automatizadas



Triagem Laboratorial

Biologia Molecular

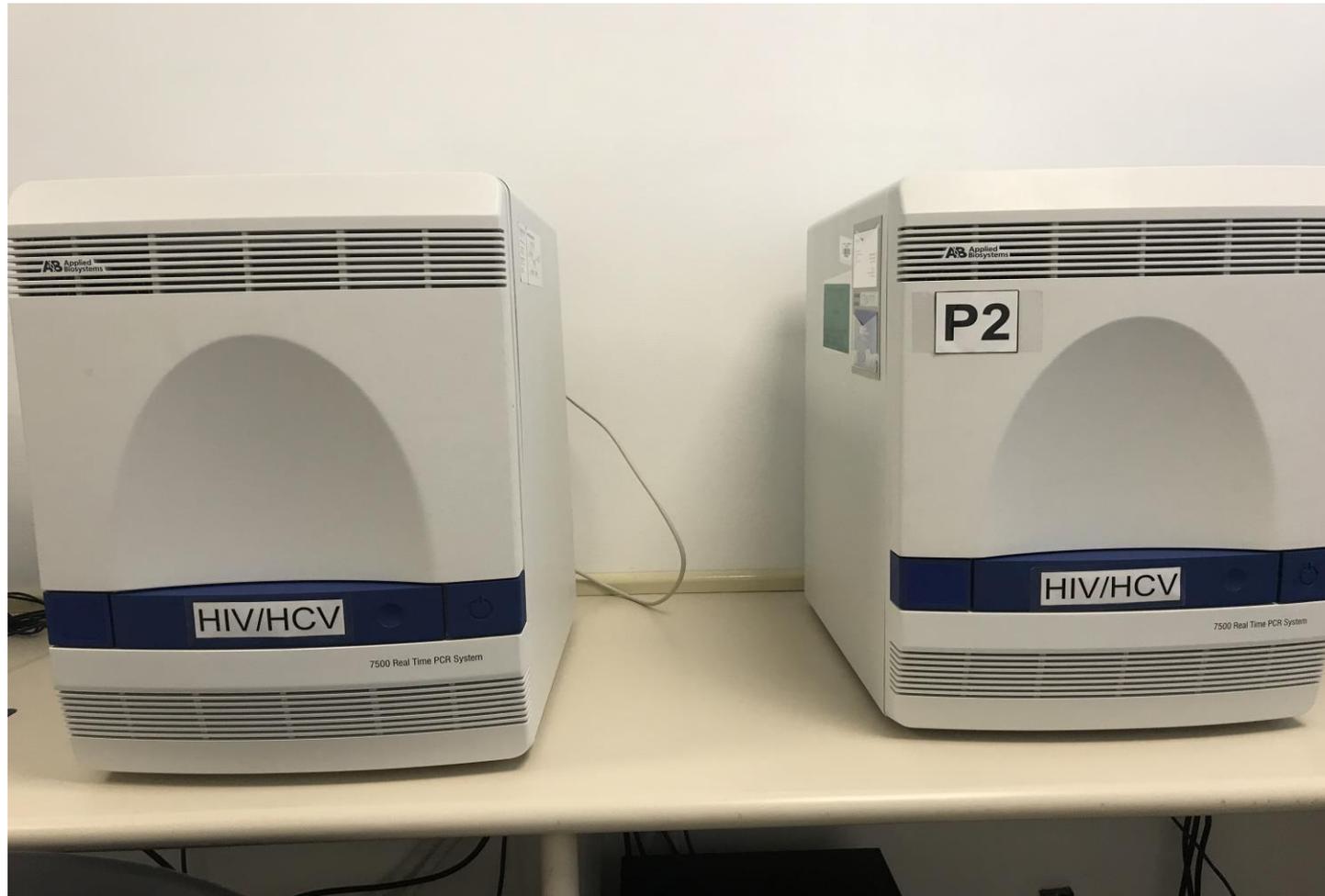
Plataformas automatizadas



Triagem Laboratorial

Biologia Molecular

Plataformas automatizadas



Triagem Laboratorial Biologia Molecular



Módulo de
Controle



Módulo de
Extração

Módulo de
Amplificação



Processamento Kit NAT HIV/HCV/HBV

Rastreabilidade

Plataforma automatizada

Alta capacidade de processamento:

- 552 amostras/rotina

- 1104 amostras/ dia

Rede Centralizada



Pooling 2h



Extração 2h 15min.



“Set up” 30min.



RT-PCR 2h 30min.



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular



CONTROLE DE QUALIDADE :

Técnicas operacionais e atividades empregadas para monitorar e eliminar causas de desempenho insatisfatório em alguma etapa de um processo.

*Avalia a Qualidade final das unidades amostradas.

*Fornece uma segurança estatística de que não se cometeram erros.



Triagem Laboratorial

Conceitos

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO:

- 1) evidencia a perda da sensibilidade dos ensaios
- 2) identifica variações lote a lote/remessa a remessa
- 3) detecta erros aleatórios ou sistemáticos

CONTROLE DE QUALIDADE LOTE A LOTE/REMESSA:

- 1) evidencia a perda da sensibilidade dos ensaios causados por má condições de armazenamento e/ou transporte
- 2) identifica variações lote a lote/remessa a remessa
- 3) valida o kit antes da colocação do mesmo na rotina

CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO/ PROFICIÊNCIA:

- 1) verifica a qualidade e segurança dos testes laboratoriais realizados para a triagem do sangue e seus componentes destinados à transfusão
- 2) garante a confiabilidade dos resultados, inspecionando o conhecimento de todo o processo.

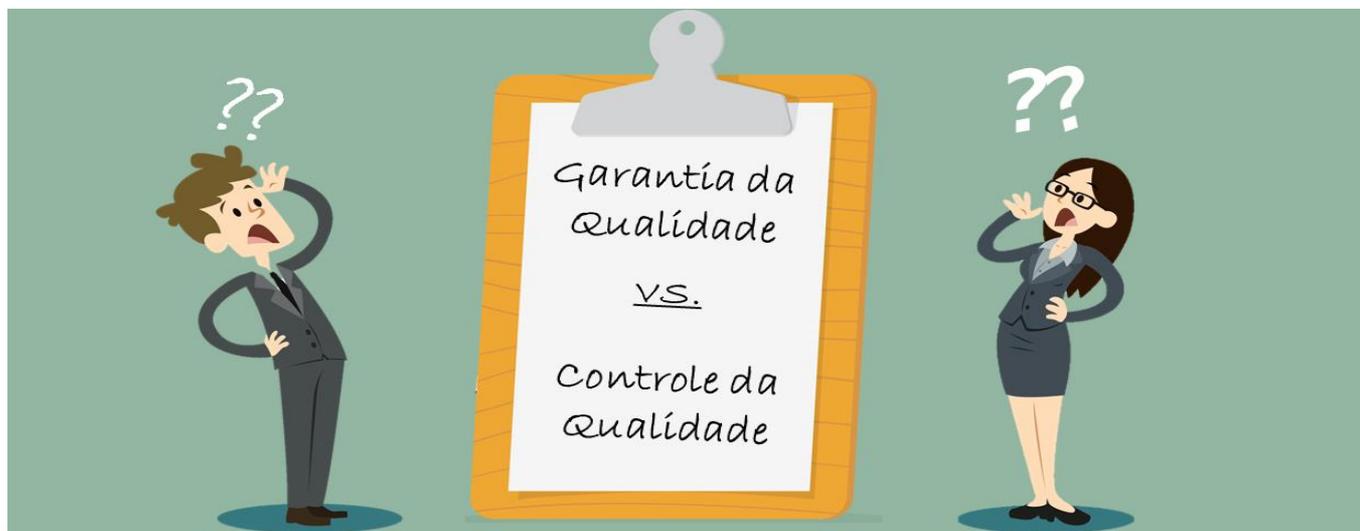
Triagem Laboratorial

Conceitos

GARANTIA DE QUALIDADE :

Atividades envolvendo planejamento, controle, avaliação, registro e melhorias necessárias para garantir que os produtos ou serviços atendam aos padrões ou requisitos da qualidade.

*Previnem erros e asseguram que cada unidade produzida tenha qualidade igual à das experimentadas no laboratório de controle.



GESTÃO DA QUALIDADE :

Estrutura organizacional, processos e procedimentos necessários para garantir que as intenções e direções do programa da qualidade sejam atingidas e que a qualidade do produto ou serviço seja garantida.

**Conjunto de procedimentos adotados com o



gir os



Triagem Laboratorial

Conceitos

RASTREABILIDADE :

É a garantia que todos os produtos utilizados e procedimentos realizados sejam identificados individualmente nas várias etapas de sua realização, evitando-se trocas e possibilitando esclarecimentos posteriores quando necessário. Os documentos emitidos devem sempre constar conferência e assinatura dos responsáveis.



Triagem Laboratorial Conceitos

VALIDAÇÃO de PROCESSO:

É o mecanismo usado pela organização para assegurar que um processo atenda perfeitamente às especificações.

MATERIAL e SERVIÇOS CRÍTICOS:

São aqueles que afetam a qualidade do produto final.

MANUTENÇÃO CORRETIVA E PREVENTIVA:

Deve-se ter registros e cronogramas das manutenções, os equipamentos devem ter identificação inequívoca.

QUALIFICAÇÃO E CALIBRAÇÃO:

Equipamentos devem ser qualificados para verificar se sua operação está de acordo com o preconizado e a calibração é realizada quando algum desvio for identificado ou conforme cronograma previamente estabelecido pela instituição.



Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

Exigências a serem observadas nas auditorias:

- ✓ Inspeção diária dos reagentes através de calibrações, análise dos controles dos kits e Controle de Qualidade Interno (CQI)
- ✓ Inspeção lote/remessa
- ✓ Calibração e manutenção dos equipamentos
- ✓ CQE – Testes de Proficiência - Avaliações práticas e teóricas
- ✓ Validação prévia de todos os processos
- ✓ Controle da água reagente e temperaturas
- ✓ P.O. atualizados, com treinamento e avaliação



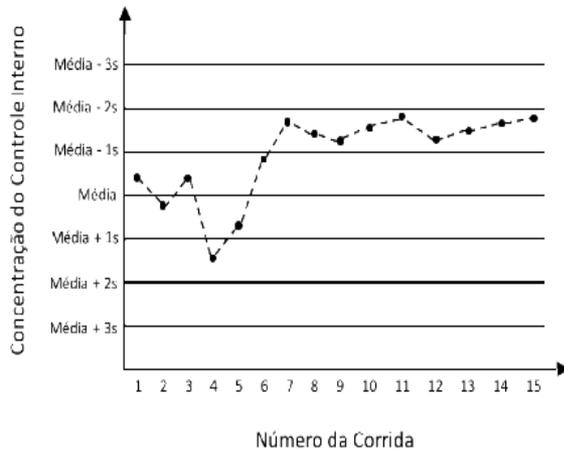
Triagem Laboratorial

Sorologia & Biologia Molecular

- ✓ Realização dos testes em tubos primários, obrigatoriamente
- ✓ Código de barras/ Interfaceamento dos resultados
- ✓ Conclusão da rotina sempre com dupla conferência / assinatura dos responsáveis pela execução e liberação dos resultados
- ✓ RASTREABILIDADE em todas as fases
- ✓ Análise de possível soroconversão diariamente, analisando os resultados reagentes ou inconclusivos dos doadores, com doação anterior não reagentes
- ✓ Auditorias internas
- ✓ Processos bem definidos
- ✓ Registro das não conformidades



CONTROLE DE QUALIDADE NAT, Importância :



- Validação de cada lote antes da sua colocação na rotina
- Validação das baterias dos testes
- Análise periódica dos coeficientes de variação
- Registro de não conformidades
- Participação em programas de proficiência externa

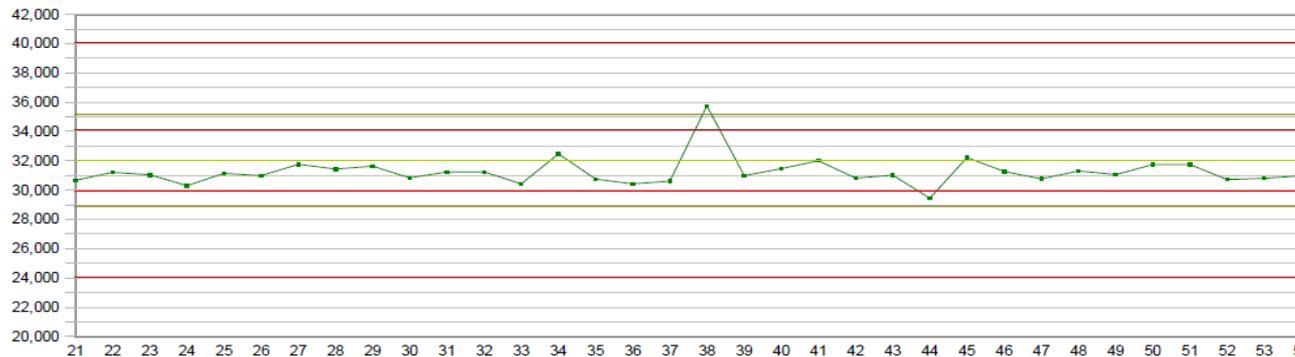
CQI pos: pode ser obtido através de diluições seriadas de plasma com resultados sorológicos e de NAT positivos (*pool* e *single*) para cada um dos marcadores empregados na detecção. Deverá ser estabelecido um valor de corte para o CQI pos, considerando a diluição utilizada. Usar em todas as rotinas e avaliar sua performance para atender aos critérios pré estabelecidos.

KIT NAT BIOMANGUINHOS – VALIDAÇÃO DA ROTINA:

– **Controles do fabricante:** Dois controles negativos – sem amplificação
Dois controles positivos – CT = **28 +/- 2,47**

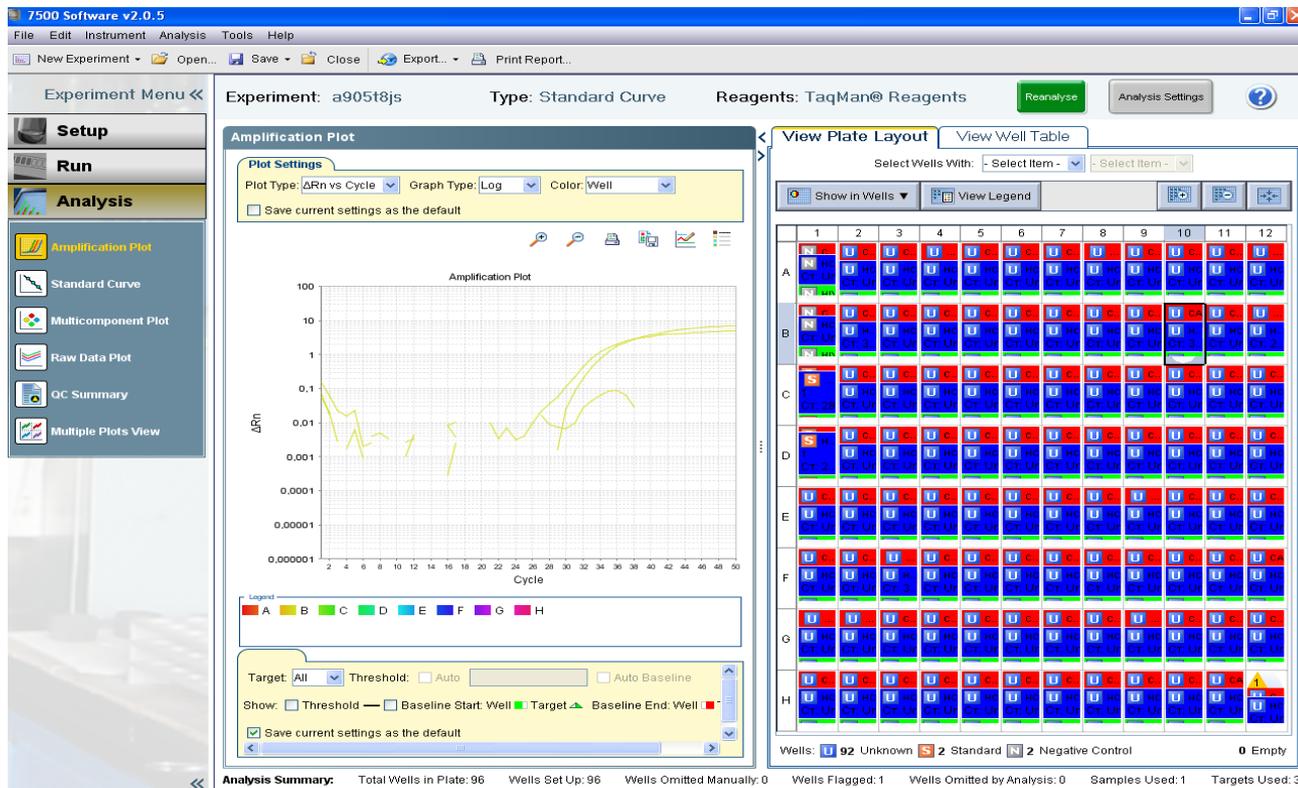
– **Controle interno da reação/partícula calibradora:** individual para cada reação realizada, valida cada reação individualmente - CT = **31 +/- 2,47**

– **Controle interno (CQI):** deverá amplificar conforme testes de reprodutibilidade estabelecidos. Se limites forem ultrapassados, deverão ter ações corretivas devidamente registradas



KIT NAT BIOMANGUINHOS – VALIDAÇÃO LOTE/ REMESSA:

– Usar para validação de lote ou remessa, 05 alíquotas de CQI neg e 05 alíquotas de CQI pos de HIV, HCV e HBV, todos pipetados em single.



KIT NAT BIOMANGUINHOS – CQE/ Proficiência:

No Programa de Proficiência é analisado o desempenho do laboratório na realização da rotina. Este controle é enviado por um grupo de avaliação, e resultados são expressos por meio de comparações interlaboratoriais.

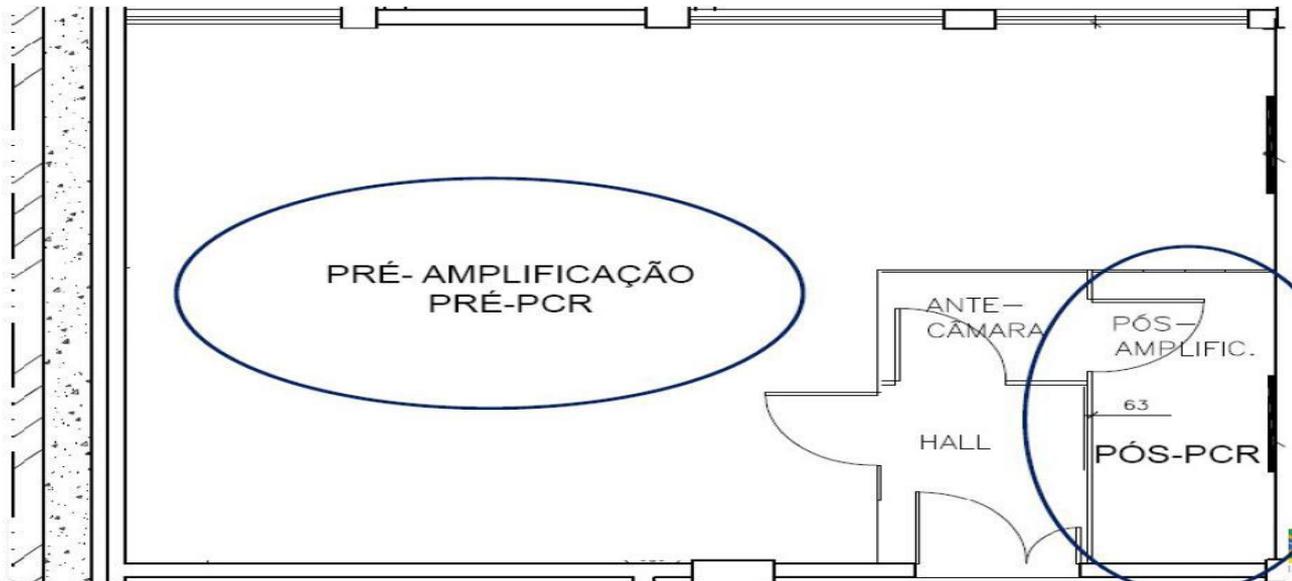
Teórico exigência de → 80% de acerto

Prático exigência de → 100% de acerto



ORGANIZAÇÃO E LIMPEZA DO LABORATÓRIO NAT:

- O laboratório precisa estar SEMPRE limpo e organizado e a descontaminação deverá ser realizada de forma correta, seguindo P.O.
- Temperatura ambiente de 15 a 22°C (armazenamento módulo do kit)
- Portas e janelas fechadas. Bancadas e pisos não porosos
- O lab.NAT deve dispor de áreas delimitadas: Área de Pré-amplificação ou Pré-PCR e Área de Pós-Amplificação ou Pós-PCR



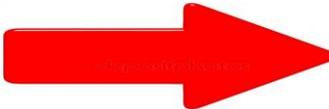
Triagem Laboratorial Nat



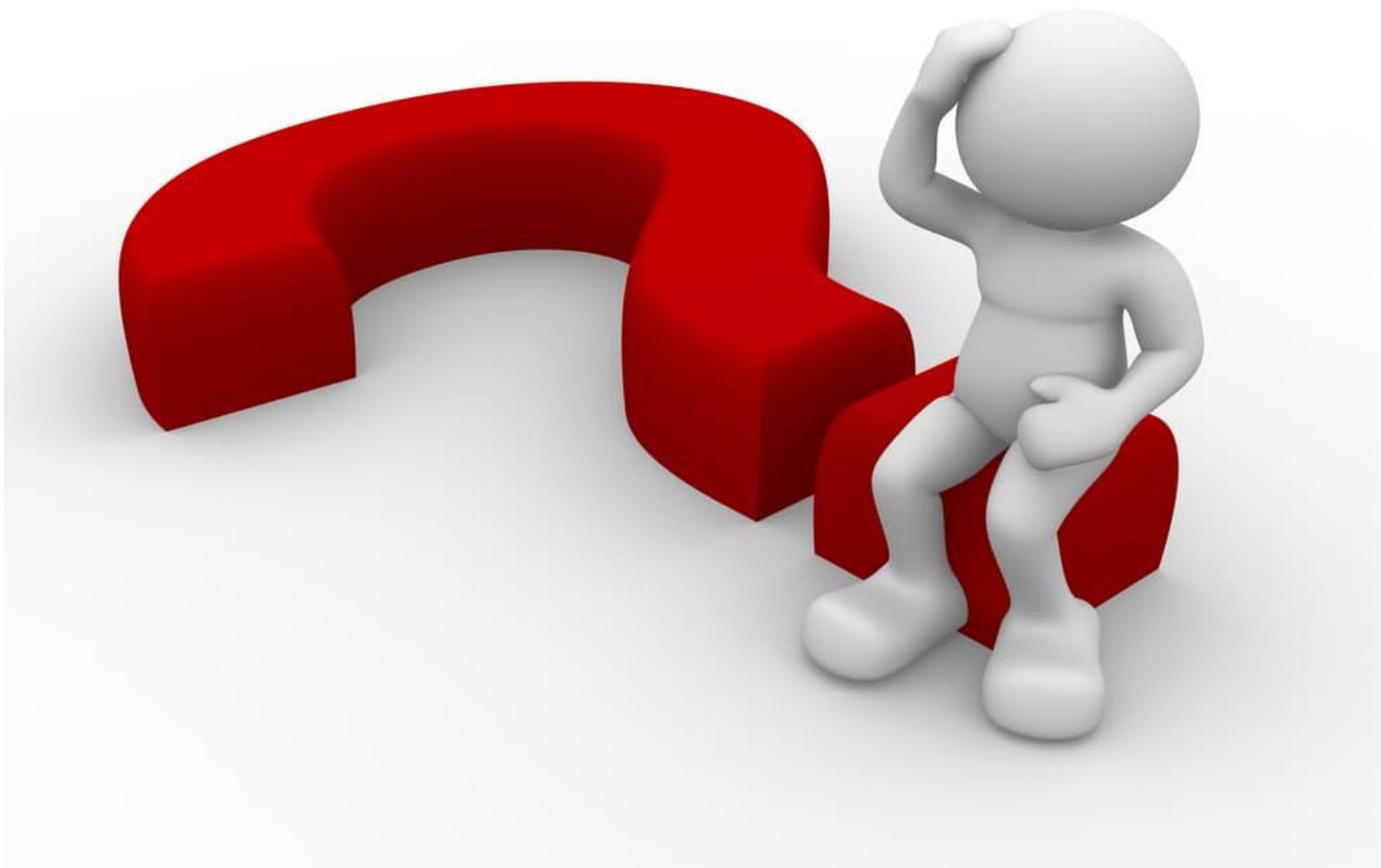
**QUEM SE AMA
USA EPI**

ORGANIZAÇÃO E LIMPEZA DO LABORATÓRIO NAT:

- Os laboratórios precisam estar devidamente sinalizados
- Uso de EPIs obrigatórios e distintos nas 2 salas
- Orientar a limpeza e descontaminação das salas :

PRÉ  **PÓS**

- Limpeza de bancadas e equipamentos com álcool 70°, a cada rotina
- Uso de materiais de limpeza (panos, baldes, luvas) específicos para cada sala do laboratório NAT, não misturar os materiais
- Recolhimento do lixo logo após a rotina, sempre da pós PCR por último
- Usar hipoclorito de sódio a 1% diariamente no piso
- Usar luz Ultravioleta para descontaminação da sala e peças dos equip.
- semanal e mensal, limpeza mais rigorosa com hipoclorito a 1% piso, paredes, lixos, etc





Cleide Lavorato Viviani
cleideviviani@sesa.pr.gov.br

Obrigada!

