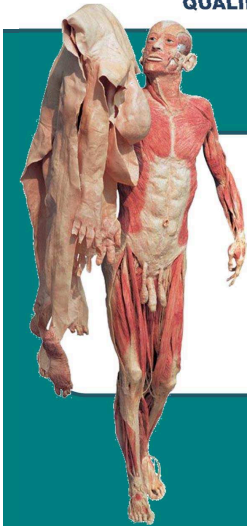


CURSO DE APERFEIÇOAMENTO: TRIAGEM LABORATORIAL E CONTROLE DE QUALIDADE EM SANGUE, TECIDOS, CÉLULAS E ÓRGÃOS



## TRIAGEM DE DOADORES FALECIDOS

Milena Batista de Oliveira  
Farmacêutica Bioquímica



Ministério da Saúde

Governo Federal

### Premissa

- É relatado que tecidos musculoesqueléticos, cardiovasculares e oculares podem ser fontes de contaminação viral para os receptores;
- Necessidade legal - Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009;

### Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

#### CAPÍTULO VI DA SELEÇÃO DE DOADORES FALECIDOS E POTENCIAIS RECEPTORES E DA DISTRIBUIÇÃO DE ÓRGÃOS, TECIDOS OU PARTES DO CORPO HUMANO

Art. 47. Todos os potenciais doadores falecidos de órgãos, tecidos, células ou partes do corpo deverão ser submetidos, antes da alocação dos enxertos, aos seguintes procedimentos, atendendo as normas de segurança para o receptor;

### Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

#### CAPÍTULO VI DA SELEÇÃO DE DOADORES FALECIDOS E POTENCIAIS RECEPTORES E DA DISTRIBUIÇÃO DE ÓRGÃOS, TECIDOS OU PARTES DO CORPO HUMANO

- II - avaliação de fatores de risco por meio de resultados positivos de exames sorológicos de triagem para:
- a) doadores de córneas:** HIV, HbsAg, AntiHBs, Anti-HBc total e Anti-HCV; e
  - b) doadores de órgãos,** outros tecidos, células ou partes do corpo: HIV, HTLV I e II, HbsAg, AntiHBs, Anti-HBc total e AntiHCV, sífilis, e doença de Chagas; III

## Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

### 4.3 Triagem Sorológica do Doador:

4.3.1 É obrigatória a realização de exames laboratoriais em todas as doações, para identificação das seguintes doenças transmissíveis pelo sangue, seguindo os algoritmos para triagem de doadores de sangue:

4.3.2 Devem ser colhidos 20ml de sangue do provável doador para a realização dos seguintes exames:

## Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

4.3.2.1 Hepatite B (HBsAg e anti-HBc total).

4.3.2.2 Hepatite C (anti-HCV).

4.3.2.3 HIV-1 e HIV-2 (anti-HIV 1 e 2).

4.3.2.4. Doença de Chagas (anti-T. cruzi).

4.3.2.5. Sífilis (um teste treponêmico ou não treponêmico).

4.3.2.6 HTLV I e HTLV II (anti-HTLV I e II).

4.3.2.7 Toxoplasmose (anti-Toxoplasma IgG e IgM).

4.3.2.8 Citomegalovírus (Anti-CMV IgG e IgM).

## Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

DOS BANCOS DE TECIDOS MUSCULOESQUELÉTICOS – BTME

DOS BANCOS DE PELE – BP

DOS BANCOS DE TECIDOS CARDIOVASCULARES



## Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

- 4.3.9 No doador cadáver, quando os testes das provas de pesquisa para HIV e HCV tiverem resultados negativos, deve-se realizar teste complementar do tipo molecular (ex: NAT, PCR, etc) para a detecção de RNA do HIV e do HCV.



### Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

- 4.3.3 Os exames devem ser feitos em amostra de sangue colhida entre **72 (setenta e duas) horas antes da parada da circulação sanguínea e até 12 horas após a parada da circulação**, se mantido a temperatura ambiente, ou até 24 (vinte e quatro) horas após a parada da circulação sanguínea se o cadáver for refrigerado à  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

- 4.3.4 Quando o doador tiver sido transfundido com colóides sintéticos ou derivados de sangue dentro das 48 (quarenta e oito) horas precedentes à coleta da amostra, e transfundido com de cristalóides na hora imediatamente antes da coleta da amostra, deve ser utilizado o algoritmo para estabelecer que não houve **diluição do plasma suficiente para alterar os resultados das provas.**

### Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

- 4.3.5 Os exames devem ser realizados empregando-se **conjuntos diagnósticos (kits) registrados na ANVISA e validados para testes em doadores em morte encefálica (circulação sanguínea mantida) ou cadavéricos (em parada cardíaca)**

### Portaria 2.600 do Ministério da Saúde de 2009

- 4.5.8. Resultado positivo para qualquer um dos testes acima excluem a doação, exceto a pesquisa de anti-CMV (IgG) e antitoxoplasmose (IgG), que quando reagentes, devem ser informados ao profissional transplantador que decidirá quanto ao risco de utilização dos tecidos no receptor.

## Deceased tissue donor serology and molecular testing for HIV, hepatitis B and hepatitis C viruses: a lack of cadaveric validated tests

Thaysa Neiva da Fonseca Victor · Cris Stéphany Rodrigues dos Santos · Sônia Nair Bão · Thafiane Lima Sampaio

Received: 28 April 2016 / Accepted: 6 June 2016  
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2016



Original Article · Originalarbeit

Transfus Med Hemother 2012;39:376–380  
DOI: 10.1159/000345319

Received: September 13, 2012  
Accepted: November 7, 2012  
Published online: November 19, 2012

## Virus NAT for HIV, HBV, and HCV in Post-Mortal Blood Specimens over 48 h after Death of Infected Patients – First Results

Thomas Meyer<sup>a</sup> Susanne Polywka<sup>a</sup> Birgit Wulff<sup>b</sup> Carolin Edler<sup>b</sup> Ann Sophie Schröder<sup>b</sup>  
Ina Wilkemeyer<sup>c</sup> Ulrich Kalus<sup>c</sup> Axel Pruss<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Institute of Medical Microbiology, Virology and Hygiene,  
<sup>b</sup>Institute of Forensic Medicine, University Hospital Hamburg-Eppendorf,  
<sup>c</sup>University Tissue Bank, Institute of Transfusion Medicine, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany



Original Article · Originalarbeit

Transfus Med Hemother 2012;39:381–385  
DOI: 10.1159/000345319

Received: September 20, 2012  
Accepted: October 6, 2012  
Published online: November 13, 2012

## Validation of Virus NAT for HIV, HCV, HBV and HAV Using Post-Mortal Blood Samples

Knut Gubbe<sup>a</sup> Yvonne Scharnagl<sup>b</sup> Steffi Grosch<sup>b</sup> Torsten Tonn<sup>b</sup> Michael Schmidt<sup>b</sup>  
Kai M. Hourfar<sup>b</sup> Andreas Karl<sup>b</sup> Erhard Seifried<sup>b</sup> Ina Wilkemeyer<sup>c</sup> Ulrich Kalus<sup>c</sup>

A prática de necrofilia (relações sexuais com cadáveres), implica também risco de infecção com o HIV e/ou outros agentes infecciosos, uma vez que vários estudos comprovaram o isolamento do HIV no plasma dos cadáveres de 6 a 20 horas até 2 semanas após o óbito.

<sup>11</sup> Romero J et al. *Evaluating the risk of HIV<sup>1</sup> transmission through unprotected orogenital sex.* AIDS 16:9:1269–97, 2002.

CURSO BÁSICO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA EM HIV E AIDS - CADERNO DO ESTUDANTE - 2005 - UNIDADE II

### PROCLEIX ULTRIO PLUS ASSAY

#### INTENDED USE

The Procleix Ultrio Plus Assay is a qualitative *in vitro* nucleic acid amplification test for use on the Procleix TIGRIS System to screen for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA, hepatitis C virus (HCV) RNA and hepatitis B virus (HBV) DNA in plasma and serum specimens from individual human donors, including donors of whole blood, blood components, and source plasma, and from other living donors. It is also intended for use in testing plasma and serum specimens to screen organ donors when specimens are obtained while the donor's heart is still beating, and in testing blood specimens from cadaveric (non-heart-beating) donors.

The assay is not intended for use on cord blood specimens.

The assay is intended for use in testing individual samples from living donors of whole blood, blood components, and source plasma, other living donors and heart-beating organ donors, and for testing individual blood specimens from cadaveric (non-heart-beating) donors. It is also intended for use in testing pools of human plasma comprised of equal aliquots of not more than 16 individual donations from donors of whole blood, blood components, and source plasma. It is also intended for use in testing pools of human plasma comprised of equal aliquots of not more than 16 individual specimens from donors of hematopoietic stem/progenitor cells (HPCs) sourced from bone marrow, peripheral blood or cord blood<sup>1</sup>, and from donors of donor lymphocytes for infusion (DLI). This assay is intended to be used in conjunction with licensed tests for detecting antibodies to HIV-1, HCV, and hepatitis B core antigen (anti-HBc), and with licensed tests for hepatitis B surface antigen (HBsAg).

TIGRES  
PROCLEIX® ULTRIO® Assay  
HIV/HCV/HBV - TMA

## Trade News

Basel September 2, 2005

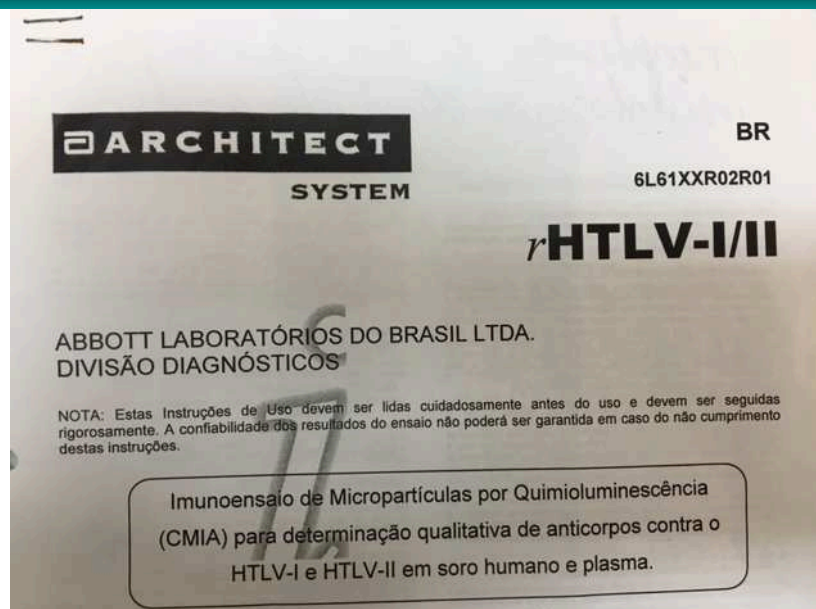
### FDA approves Roche's Cobas AmpliScreen Hepatitis B Test to improve safety of cadaveric organ and tissue donations

Roche Diagnostics is now the only company with cadaveric claims for HCV, HIV-1 and HBV nucleic acid tests

Today, Roche Diagnostics announced that the United States Food and Drug Administration (FDA) approved its Cobas AmpliScreen Hepatitis B Test to screen individual cadaveric organ and tissue donations for Hepatitis B (HBV) infection. This expanded claim adds to existing approvals for testing whole blood, blood components, and source plasma from living donors.

Tissues from cadaveric sources, including skin, bone, and ligaments, are used in approximately 1 million medical procedures per year (1). These tissues can transmit the same viral infections as blood, and the products from a single tissue donation may be





em baixas concentrações para amostras individuais de paciente.

- O Sistema ARCHITECT / não tem capacidade para verificar o tipo de amostra. É responsabilidade do operador verificar se os tipos corretos de amostras são utilizadas no ensaio ARCHITECT / HTLV-I/II.

**Condições das Amostras**

- Não utilize amostras que apresentem as seguintes condições:
  - Inativadas pelo calor
  - Coletivas
  - Grosseiramente hemolisadas (> 500 mg/dL)
  - Com contaminação microbiana óbvia
  - Amostras de cadáveres ou qualquer outro fluido corporal
- Para se obter resultados precisos, amostras de soro e plasma devem estar livres de fibrina, glóbulos vermelhos ou outro material particulado. Amostras de soro de pacientes que recebem terapia com anticoagulantes ou trombolítica podem conter fibrina devido a formação incompleta do coágulo.
- Use de cautela ao manusear amostras de pacientes para prevenir contaminação cruzada. É recomendado o uso de pipetas ou ponteiros de pipeta descartáveis.
- Para otimização dos resultados, inspecione todas as amostras quanto à presença de bolhas. Remova as bolhas com um bastão aplicador antes da análise. Use um novo bastão aplicador para cada amostra para prevenir a contaminação cruzada.
- Não foram observadas diferenças qualitativas no rendimento entre controles experimentais e no mínimo de 10 amostras não reativas e

temperatura de 56 °C), à membrana de sílica. O através de uma etapa de lavagem garantem que as à membrana. O ácido nu de lavagem sob vácuo. A Lavagem 1 e subsequente de Lavagem 2 e vácuo e é livre de albumina sérica orgânicos e outros possív

**Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos**  
(material fornecido para 96 reações)

**1 - NOME COMERCIAL**  
Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos

**2 - APRESENTAÇÃO**  
Material fornecido para 96 reações.

**3 - DESCRIÇÃO DA FINALIDADE OU USO DO PRODUTO**  
Teste para detecção de Ácido Nucléico de HIV (Vírus da Imunodeficiência Adquirida), HCV (Vírus da hepatite C) e HBV (Vírus da hepatite B) em serviços de hemoterapia, visando diminuir o risco transfusional causado por esses agentes.

**4 - Etapa de Amplificação**  
A metodologia de amplificação com fluorescência é usada em um módulo, e de HBV O equipamento utilizado: Time PCR System (Ther

**5 - Etapa de Detecção**  
A técnica possibilita a do da mesma em tempo real sintético que tem duas luz é diretamente propo sintetizado, possibilita

MÓDULO	COMPON
CONTROLE A	CONTROLE A
CONTROLE B	CONTROLE B
PARTÍCULA C	PARTÍCULA C

## Validação do teste

- Validar o teste NAT Bio-Manguinhos para a detecção de HIV, HBV e HCV em amostras sanguíneas coletadas pós-morte;
- Determinar a estabilidade das amostras sanguíneas para a realização de NAT para HIV, HBV e HCV em cadáveres;

## Validação do teste

### Amostras

- Plasma coletado em PPT K<sub>2</sub>EDTA quantas horas pós-morte
  - Hemodiluição
  - Degradação de de ácidos nucleicos
  - Produtos de lise celular
  - Contaminação microbiológica



## Validação do teste

### Amostras

- Plasma coletado em PPT K<sub>2</sub>EDTA quantas horas pós-morte
  - Hemodiluição
  - Degradação de ácidos nucleicos
  - Produtos de lise celular
  - Contaminação microbiológica



## Validação do teste

### Amostras

- Plasma coletado em PPT K<sub>2</sub>EDTA quantas horas pós-morte
  - Hemodiluição
  - Degradação de de ácidos nucleicos
  - Produtos de lise celular
  - Contaminação microbiológica



- Desprezar a placa óptica após o uso, não reciclável;
- Todas as sobras de reagentes deverão ser descartadas após a utilização de cada módulo do kit, de acordo com os procedimentos de cada Hemocentro;
- Não usar reagentes com a validade vencida;
- Nunca misturar componentes de lotes diferentes.

#### 11 - ORIENTAÇÕES SOBRE OS CUIDADOS COM A AMOSTRA BIOLÓGICA OBJETO DO DIAGNÓSTICO

- A coleta das amostras de sangue periférico deve ser feita, preferencialmente, em tubo PPT contendo anticoagulante K<sub>2</sub>EDTA e gel de poliéster para separação de plasma e fração celular do sangue total. Coletar 5 mL de sangue total;
- Homogeneizar a amostra por inversão após a coleta;
- Centrifugar o tubo até oito horas após a coleta à 800 g (em uma centrífuga com 100 mm de raio, corresponde a 2700 rpm) por 10 minutos;
- Não utilizar tubos de coleta reciclados;
- Não congelar o tubo após a coleta, pois o gel pode se desprender e alterar a carga viral do paciente;
- Não utilizar tubos com anticoagulante heparina;

• Recomendamos após a centrifugação conservar as amostras refrigeradas entre 2 °C e 8 °C. Se necessário, as amostras podem ser armazenadas entre 2 °C e 25 °C por até 168 h após a coleta seguida de centrifugação, para a realização do teste, sem variação significativa nos resultados. As amostras podem ser armazenadas, se necessário, entre 2 °C e 25 °C por até 144 h após a coleta, sem variação significativa nos resultados.

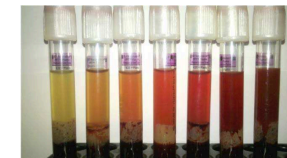
#### 12 - AS INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS, TAIS COMO, ANTICOAGULANTES E TEMPERATURA

## Validação do teste

### Amostras

- Plasma coletado em PPT K<sub>2</sub>EDTA quantas horas pós-morte

- Hemodiluição
- Degradação de de ácidos nucleicos
- Produtos de lise celular
- Contaminação microbiológica



## Validação do teste

### Amostras

- Plasma coletado em PPT K<sub>2</sub>EDTA quantas horas pós-morte

- Hemodiluição
- Degradação de de ácidos nucleicos
- Produtos de lise celular
- Contaminação microbiológica

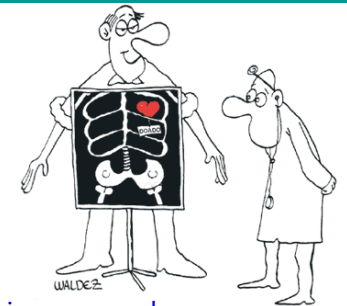
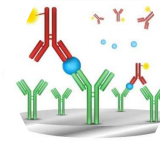
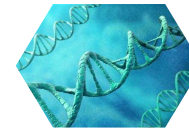


## Situação atual no Brasil



## Perspectivas Futuras

Triagem molecular para doadores de órgãos, pós morte;



Contatos

– [milena.oliveira@hemominas.mg.gov.br](mailto:milena.oliveira@hemominas.mg.gov.br)

– [nat@hemominas.mg.gov.br](mailto:nat@hemominas.mg.gov.br)

– 3768-4695 ou 3768-4697



Ministério da Saúde

Governo Federal