

Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos

TESTE PARA DETECÇÃO DE ÁCIDO NUCLÉICO DE HIV (VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA), HCV (VÍRUS DA HEPATITE C) E HBV (VÍRUS DA HEPATITE B)

(Material fornecido para 96 reações)

Uso em diagnóstico in vitro



Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos

Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos

TESTE PARA DETECÇÃO DE ÁCIDO NUCLÉICO DE HIV (VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA), HCV (VÍRUS DA HEPATITE C) E HBV (VÍRUS DA HEPATITE B) (material fornecido para 96 reações)

1 - NOME COMERCIAL

Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos

2 – RAZÃO SOCIAL DO FABRICANTE E SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Registro MS: 801 42170025 Responsável técnico: Edimilson Domingos da Silva, CRBio-2 RJ/ES nº 21433-02

Fabricado por:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio- Manguinhos / FIOCRUZ | CNPJ 33.781.055/0001-35 Av. Brasil, 4365 – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro – RJ

e

Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP) | CNPJ 03.585.986/0001-05 Rua Professor Algacyr Munhoz Mader 3775, CIC, CEP: 81350-010 -Curitiba-Paraná

Distribuído por:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos/ Bio- Manguinhos/ Fiocruz. Orientações técnicas adicionais a respeito deste produto poderão ser obtidas junto a: Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio- Manguinhos/ FIOCRUZ CNPJ 33.781.055/0001-35 Av. Brasil, 4365 – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro – RJ SAC: 08000.210.310 ou nat@bio.fiocruz.br

Para versão impressa deste manual, entre em contato com SAC.

3 – FINALIDADE E MODO DE 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.

Material fornecido para 96 reações.

"Uso em diagnóstico in vitro".

4 – INDICAÇÃO DAS CONDIÇÕES ADEQUADAS DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DO PRODUTO

4.1 - Armazenamento do Produto

- Módulo de Controles: armazenar de -80 °C a -60 °C;
- Módulo de Extração: armazenar de 15 °C a 25 °C;
- Módulos de Amplificação: armazenar de -30 °C a -15 °C.

4.2 - Transporte do Produto

- Os módulos de Controle e de Amplificação serão transportados em gelo seco (-80 °C a -20 °C),
- Módulo de Extração será transportado sem condições especiais de temperatura (15 °C a 44 °C)

5 – PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO TESTE

A metodologia NAT nacional, multiplex para HIV, HCV e HBV, tem como base a plataforma de PCR em tempo real.

Os testes NAT foram desenvolvidos para detecção de ácido nucléico viral no período que precede a produção sistêmica de anticorpos: a fase inicial da infecção chamada de janela imunológica. Com teste NAT HIV/HCV/HBV de Bio-Manguinhos, a janela imunológica será reduzida para 10 a 12 dias para HIV, HCV, HBV aumentando, assim, a segurança transfusional.

A reação de amplificação é baseada em alvos RNA e DNA. Para amplificação dos vírus com genoma RNA é necessária uma etapa prévia de transcrição reversa (RT).

O fluxo metodológico segue abaixo:

- (a) Preparo amostras em mini pool de seis ou individual;
- (b) extração de ácido nucléico da amostra biológica (plasma);
- (c) amplificação do ácido nucléico;
- (d) detecção do mesmo por PCR em tempo real.

ESQUEMA DO TESTE



• Etapa de Preparo de Pool

A etapa de preparo do pool, com 6 amostras utilizando $100 \,\mu$ L de cada uma, é feita através de plataforma automática JANUS[®] (Perkin Elmer[®]) (Item 13) utilizando-se tubos primários, dedicados ao NAT, de flebotomia a vácuo do tipo PPT (K₂ EDTA, com gel de poliéster para separação de plasma e fração celular do sangue total). A transferência é feita para tubos secundários, de poliestireno de 15 mL.

Quando ocorrer resultado detectável para o pool, todas as 6 amostras que o compõem serão obrigatoriamente retestadas individualmente (*single*).

• Adição da Partícula calibradora (PC)

A partícula calibradora tem objetivo de controlar a condição da reação (intra-ensaio) validando o resultado das determinações (*pool e single*). Esta partícula calibradora deverá ser adicionada aos tubos secundários pelo JANUS[®], cada determinação com uma quantidade constante (~10.000 cópias/mL).

• Etapa de Extração

A extração é totalmente automatizada pelo BioRobot MDx (Qiagen) (Item 14) e utiliza tecnologia com alta recuperação de ácido nucléico, baseada nas propriedades de ligação seletiva da membrana de sílica. As amostras são lisadas com tampão de lise e protease sob condições desnaturantes (a temperatura de 56 °C). O etanol permite a a exposição do ácido nucléico e, sua ligação à membrana de sílica, com auxílio do carreador de RNA. O material genético é adsorvido pela membrana através de uma etapa de vácuo. O ácido nucléico ligado à membrana passa por etapas de lavagem sob vácuo. As condições de sal e pH dos tampões de lavagem garantem que as impurezas e os inibidores de PCR não se liguem à membrana. A primeira lavagem é realizada com a adição do Tampão de Lavagem 1 e subsequente vácuo. Em seguida realiza-se a adição do Tampão de Lavagem 2 e vácuo. Posteriormente, ocorre a adição do tampão de eluição, fluido TE e vácuo para fins de eluição. O produto final eluido é livre de albumina sérica, outras proteínas, nucleases, sais inorgânicos e orgânicos e outros possíveis interferentes.

• Etapa de Amplificação

A metodologia de amplificação específica do alvo com sondas marcadas com fluorescência é usada para determinar a presença de: HIV, HCV e PC, em um módulo, e de HBV e PC em outro módulo, de forma discriminatória. O equipamento utilizado na etapa de amplificação e detecção é o 7500 *Real Time PCR System* (Thermo Fisher Scientific).

• Etapa de Detecção

A técnica possibilita a dosagem dos produtos de PCR durante o transcorrer da mesma em tempo real. Isto é conseguido através de uma sonda de DNA sintético que tem duas modificações em suas extremidades. A emissão de luz é diretamente proporcional à massa de produto de PCR que está sendo sintetizado, possibilitando a dosagem em tempo real.

6 – AMOSTRAS

• A coleta das amostras de sangue periférico deve ser feita, preferencialmente, em tubo PPT contendo anticoagulante K₂ 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, após a coleta seguida de centrifugação, as amostras podem ser armazenadas entre 2 °C e 25 °C por até 168h e sem centrifugação por até 144h, sem variação significativa nos resultados.

7 – DESCRIÇÃO DO PRODUTO

7.1 - Relação dos componentes fornecidos com o produto

MÓDULO	COMPONENTES	VOLUME
DLE	Controle AB	2 frascos transparentes com 800 μ L cada
NTRO	Controle CR	2 frascos transparentes com 800 μ L cada
0 C	Partícula calibradora	2 frascos transparentes com 800 μ L cada
	Tampão de Lise	1 frasco branco com 33 mL
	Carreador de RNA	1 frasco transparente liofilizado
	Tampão de Lavagem 1	1 frasco branco com 83 mL
	Tampão de Lavagem 2	1 frasco branco com 68 mL
	Tampão de Eluição	9 frascos transparentes com 2,0 mL cada
	Fluido TE	4 frascos transparentes com 1,4 mL cada
Q	Placa de vácuo	1 unidade de 96 poços
AÇÃ	Placa de eluição	1 unidade de 96 poços
KTR.	Placa de reação	1 unidade de 96 poços
Û	Protease	1 frasco âmbar de 6 mL com protease liofilizada
	Solvente de Protease	1 frasco branco com 6 mL
	Recipientes Descartáveis	2 unidades com capacidade de 33 mL
	Placa Óptica	2 unidades de 96 poços
	Selo Óptico	2 unidades nas dimensões da placa óptica
	Tubo de 5mL	2 unidades com capacidade de 5 mL
	Cartão Bio	1 unidade de papel cartão
Q	Mistura de PCR	2 frascos transparentes com 900 μ L cada
AÇ CV	Enzima RT	2 frascos transparentes com 50 μ L cada
	Água/DEPC ou RNAse Free	2 frascos transparentes com 600 μ L cada
T H H H	Sondas HIV/HCV	2 frascos transparentes com 180 μ L cada
A	Iniciadores HIV/HCV	2 frascos transparentes com 60 μ L cada
Å O	Mistura de PCR	2 frascos transparentes com 900 μ L cada
ĄÇ	Enzima RT	2 frascos transparentes com 50 μ L cada
IFIC HBV	Água/DEPC ou RNAse Free	2 frascos transparentes com 600 μ L cada
MPL	Sondas HBV	2 frascos transparentes com 180 μ L cada
A	Iniciadores HBV	2 frascos transparentes com 60 μ L cada

7.2 - Relação dos materiais de reposição

- Etanol P.A. 96 %;
- Tubo PPT EDTA K2 com gel (600 tubos/rotina);
- Desinfetante amônia quaternária 50 % (solução de uso diluída 1:600. Ex.: 5 mL de desinfetante para 3 L de água);
- Frasco plástico de 500 mL para etanol dedicado a utilização no MDx;
- Ponteiras de 1100 μ L MDX -caixas com 96 unidades cada;
- Ponteiras de 175 μ L JANUS[®] caixas com 96 unidades cada;
- Tubo Secundário embalagens com 25 unidades cada.

7.3 - Relação dos materiais necessários não fornecidos

- Água destilada (usada nos equipamentos);
- Luva descartável sem talco;
- Etiquetas com código de barras para tubo secundário;
- Proveta de 500 mL calibrada;
- Sacos de descarte de lixo biológico;
- Duas pipetas automáticas 1000 μL (calibradas);
- Ponteiras com filtro 1000 μ L.

7.4 - Versão do Software:

Todas as versões do *software* **NAT** de Bio-Manguinhos **a partir da versão 4.0** interpretam o teste feito com o produto NAT que possui as características especificadas neste documento.

8 – ESTABILIDADE EM USO DO PRODUTO E CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO.

O Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos deve ser utilizado dentro do prazo de validade determinado pelo fabricante. Todos os módulos deverão ser armazenados nas temperaturas indicadas nos rótulos externos desde o ato do recebimento até a utilização do produto.

Os insumos armazenados fora da temperatura especificada não são de responsabilidade do fabricante

Nota: Todas as sobras de reagentes deverão ser descartadas após a utilização do kit de acordo com os procedimentos de cada Laboratório.

O Manual de Instrução deve ser seguido, caso contrário, o fabricante não se responsabiliza pelos resultados obtidos.

O Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos somente pode ser processado na plataforma NAT de equipamentos por técnicos treinados e habilitados por Bio-Manguinhos.

9 – MANUSEIO PRÉVIO DO PRODUTO

• Em situações excepcionais no âmbito de ações num plano de contingência poderão ser usados tubos alternativos, desde que validados previamente, ao recomendado (PPT K2 EDTA), sem alterar o desempenho do teste;

NOTA:

Até o momento, Bio-Manguinhos validou os tubos: soro (BD) e EDTA.K3 (BD) - sem barreira de gel.

• A temperatura do espaço físico destinado ao teste deve ser monitorada e mantida entre 15°C e 25°C;

10 – RECOMENDAÇÕES PARA PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

Verificar os resultados da partícula calibradora e dos controles AB e CR do Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos, estes resultados serão analisados e processados para geração do laudo da rotina pelo *software* NAT.

11 – PROCEDIMENTOS DE ENSAIO

11.1 - Preparo de Pool – Equipamento JANUS®

ATENÇÃO: Para o funcionamento correto da mini-rede, o computador do equipamento JANUS® deve ser sempre o primeiro a ser ligado!

1. Ligar o computador do equipamento JANUS®.

2. Ligar o equipamento JANUS[®] e selecionar o ícone do *sistema WinPREP for JANUS*[®] (figura ao lado).



3. Seguir as instruções para a realização das etapas de inicialização do robô (este procedimento poderá levar alguns minutos):

Para a realização da etapa de inicialização do robô, clicar no ícone *Initialize* (seta vermelha), na barra de ferramentas do *sistema* WinPrep conforme figura abaixo:



Obs.: Esse procedimento poderá levar alguns minutos.

4. Selecionar o ícone do sistema JANUS® Application Assistant (Figura ao lado)..



5. Remoção de bolhas e lavagem do sistema (Flush and wash Tips).

Selecionar a opção Select > FlushSysLiq > *Run* > *Start*, conforme figuras abaixo:



ATENÇÃO: Repetir o procedimento 5 até que não se observem mais bolhas de ar nas mangueiras do equipamento.

Tubos primários (doadores)

Os tubos primários devem ser carregados somente nas estantes que foram destinadas para este uso. Recomendamos que as estantes sejam separadas em 4 grupos de 10 estantes cada. Identificar os grupos por letras: A, B, C, D e numerar as estantes de 1 a 10. As estantes de 1 a 9 serão carregadas com tubos que sofrerão o *pooling*, enquanto as estantes com o número 10 serão carregadas somente em rotinas que terão abertura de *pooling*.

Verificar se os tubos primários (EDTA com gel centrifugado) contêm volume suficiente (mínimo de 1 mL) para a análise e apresentam coágulos. Recomenda-se que a amostra não seja processada se a mesma apresentar vestígio de coágulo ou volume insuficiente.

Retirar as tampas e colocar todos os tubos primários que serão processados (já etiquetados) nas estantes do equipamento, de forma a deixar as etiquetas de códigos de barras voltadas para a janela de leitura.



Tubos primários (doadores), encaixados corretamente na estante do equipamento Janus®

ATENÇÃO: Os tubos primários e secundários devem estar bem encaixados nas respectivas estantes, para evitar colisões com o braço robótico.

Tubos secundários

Os tubos secundários devem ser carregados somente nas estantes que estiverem identificadas com as letras "TS". Assim como nas estantes destinadas aos tubos primários, as estantes para tubos secundários também estão numeradas (TS1 e TS2, com as letras A, B, C e D).

O serviço de Hemoterapia deve gerar etiquetas com códigos de barras suficientes para os tubos secundários (*pool* de seis amostras) e etiquetá-los na vertical, imediatamente acima da marcação de 2 mL do tubo (foto abaixo).





6. No sistema JANUS[®] Application Assistant, clique sobre a **Select** > *Pooling* de Amostras > *Run* > *Start*, conforme figuras abaixo:

erkinElmer	PROTOCOL: Pooling de	Amostras			
and 1. Select	2. Gather	3. Place	🜔 4. Run	🎻 5. Cleanup	🌂 Maintain
elect Protocol	Description	_	_	Last Rur	n Date
oling de Amostras	Compton			25/5/201	11 07:36:13
acao de PCR				25/5/201	11 10:42:35
nsolidacao de Dados				24/5/201	11 18:39:37
ıshSysLiq				25/5/201	11 07:23:59
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					
nswer Questions					

- 7. Colocar as caixas de ponteiras no local indicado pelo sistema.
- 8. Clicar com o mouse em *Disposable Tips1*, de modo que fique selecionado.

JANUS® Application Assistant	
PROTOCOL: Pooling de Amostras	0
🚈 1. Select 🧊 2. Gather 🚆 3. Place 📀 4. Run 🧹 5. Cleanup	🌂 Maintain
Pause Abort Started 3:43 PM	Estimated Completion 4:48 PM
Status Progress Reset Tip Boxes Verify Labware Location Name Labware Deck Position Disposable Tips1 175ul Conductive Filter Left Deck [A1] Disposable Tips2 175ul Conductive Filter Left Deck [C1] Ok Abort Go To (with Variconant)	
JANUS Deck	
Previou	s Step Next Step

9. Clicar em *Fill*.

- 10. Repetir os procedimentos 8 e 9 para as *Disposables Tips 2* a 7.
- 11. Clicar em OK.
- 12. A janela abaixo abrirá automaticamente.

Modo di	Canaga	nento	Nóree	no de ane	ofter po	niveir pr	mitvan (D	48) Núros	eo de ar	vochas pr	inárias (D	552
Teche c	oen novras	ank 💌	0				~	0				
										-		
											apa de Aa	1004786
	Lane	Lone	Lane	Lane	Lore	Lane	Lane	Lane	Lane	Lane	Lane	Lane
• 1		-								10		14
2												
3												
.4												
5												
6												
- T.												
B												
9												
10												
11												
12												
11												
14												
TE I		_									_	
* 10											_	
econd												
	Tubo d	e areccha	de pacie	nhe oticin.	a prigin	w o Poole	10		_			asensa
	Tubo d	e anosta	de pacie	the possi	vel positiv	o que nã	percu Pi	poling				
	Tubo S	ecundário)								4	6000
	Amoda	ou tubo	secundár	io em falta								
	Anoth	e dra ou	huba peci	undiirio	-							
	0 códe	o de bav	aéunad	tuplicata r	esta ou r	ia interac	5o ariterio	1				
	Porição	da tack	tuporte p	are tubor	con cód	go de ba	néc sém u	10				

13. Escolher o Modo de Carregamento, de acordo com a rotina: "Teste com novas amostras" para rotinas com *pooling* de amostras ou "Ensaio de Amostras Simples" para rotinas completas com 92 amostras em *single*.

14. Inserir no campo Número de Amostras Primárias o número de tubos primários que sofrerão o *pooling* (máximo de 552 e mínimo de 312 amostras).

15. Caso tenha amostras para abertura de *pooling*, inserir a quantidade de tubos no campo Número de Amostras Possíveis Positivas (nenhuma ou máximo de 48 amostras). Para a opção de "Ensaio de Amostras Simples" inserir 92 amostras.

16. Clicar no botão Mapa de Amostra.

Mapa de Amostras 👘

0

17. O mapa da mesa de trabalho será preenchido de acordo com o quantitativo de tubos inseridos nos passos 13 a 15.

18. Clicar em **Próximo**.

19. Colocar os tubos secundários nas estantes identificadas com TS, de forma a deixar as etiquetas de códigos de barras voltadas para a janela de leitura.

ATENÇÃO: Com os quatro conjuntos de estantes primárias e secundárias (A, B, C e D) o operador pode carregar 552 tubos primários (4 x 138) e 92 tubos secundários (4 x 23).



Número de amostras primárias (0-552)	
0	
	-
Número de amostras possíveis positivas (0-4	8)

20. Colocar as estantes com os tubos primários no equipamento com a etiqueta da estante voltada para o operador.

21. Retirar a Partícula calibradora do Módulo de Controle do freezer -70 °C, esperar que descongele completamente.

22. Homogeneizar a Partícula Calibradora utilizando uma pipeta automática de 1000 uL (não fornecida), de forma a evitar a formação de bolhas, e colocar no respectivo suporte do equipamento JANUS® (foto abaixo).

Tubos da partícula calibradora, colocados corretamente na estante do equipamento Janus[®].

ATENÇÃO: É importante que após a homogeneização da Partícula Calibradora, o operador certifique-se de que não há bolhas dentro do tubo.



23. Carregar o equipamento com os tubos primários e secundários previamente carregados nas estantes.

24. Após o término da primeira etapa de preparo de pools de seis amostras, retirar as estantes contendo os tubos primários (A) e carregar o equipamento com as estantes (B). Retirar as estantes contendo os tubos secundários TS1A e TS2A e carregar o equipamento com as estantes TS1B e TS2B. Clicar em **Próximo**.

25. Após o término desta atividade, substituir as estantes conforme descrito acima seguindo o sequencial C e posteriormente as racks com a letra D.

26. Ao término do programa, aparecerá uma mensagem com o ID da rotina conforme exemplo abaixo:

tualização de Execução de banco de o	dados 🗮
Registro no banco de dados gerado o '163_07072014PKI'.	com sucesso para o dataset
	ОК

27. Recomenda-se anotar à parte o número da ID gerada no *pooling*. O número de ID está na janela mencionada no item 26 e refere-se à numeração que antecede a data da rotina.

QIAsoftMD>

28. Ao fim do procedimento pressionar **OK**.

11.2 - Procedimento de Extração de RNA – Equipamento MDx

- 1. Ligar o computador do equipamento de extração MDx.
- 2. Ligar o equipamento de extração MDx.
- 3. Clicar no ícone do software QIAsoftMDx

4. Inserir o nome do usuário e a senha.

5. Clicar na opção *Tools* da barra de ferramentas. Selecionar *Reinitialize Robot*.



6. Preencher os galões de System Liquid com água destilada (galão abaixo do equipamento e garrafa no carrossel de reagentes). Ao término deste procedimento, selecione *Flush System*.

Select Probe to flush:		ОК
or specify Probe:	All Probes	Cancel
Select Pump Type:	Wash Pump 💌	
Amount of Liquid [ml]:	30	
Airgap after Flush (µl)	0	Help
	Version E Daves	

7. Clicar em OK;

8. Ao término deste, selecionar *Flush Dispenser* (figura acima).

LUSH DISPENSER: Parameters	Note
Flush Volume: 🛐 [ml]	ОК
The recommended minimal volume is: 30 ml	Cancel
Note: The Flush Volume is the exact amount of liquid used. It does not depend on the number of channels of the dispense head.	Help

9. Clicar em OK;

- 10. Seguir as instruções para a realização das etapas de manutenção diária;
- 11. Clicar em *Run*;



12. Preparar o equipamento MDx, seguindo as instruções do *software* QIAsoft MDX, protocolo QIAmp One for all BioM MDx cV98 para preparo dos reagentes e da mesa de trabalho;

Preparo de reagentes:

REAGENTE	PROCEDIMENTO
Tampão de Lavagem 1	Adicionar 110 mL de etanol (96 %) a uma garrafa contendo 83 mL de tampão de Lavagem 1. Sinalizar na garrafa que o etanol foi adicionado. Descartar após o uso.
Tampão de Lavagem 2	Adicionar 160 mL de etanol (96 %) a uma garrafa contendo 68 mL de Tampão de Lavagem 2. Sinalizar na garrafa que o etanol foi adicionado. Descartar após o uso.
Etanol	Adicionar 350 mL de etanol (96 %) ao respectivo frasco e acrescentar 1:1000 de tampão de lavagem 2, já reconstituído (ex.: para 350 mL de etanol, acrescentar 350 μ L de tampão de lavagem 2). O etanol deverá ser substituído totalmente a cada rotina.
Protease	Adicionar 6 mL de solvente de protease ao frasco contendo a protease liofilizada. Misturar por inversão, até dissolver, evitando a formação de bolhas.
Carreador de RNA	Reconstituir o carreador de RNA com 450 μ L de tampão de eluição.
Tampão de Lise	Retirar 230 μ L do carreador (reconstituído) e adicioná-lo ao frasco de Tampão de Lise. Misturar suavemente

13. Pouco antes de terminar etapa de pool (±15 minutos) retirar os Controles AB e CR do freezer, e esperar que descongelem completamente à temperatura ambiente.

11.3 - Preparo dos Controles e Amostras

1. Retirar as tampas de quatro tubos secundários novos (de 15 mL), etiqueta-los e coloca-los nas posições 1 a 4 da estante 1 do equipamento MDx (figura abaixo).



2. Utilizando uma pipeta automática de 1000 μ L (calibrada), homogeneizar e adicionar 600 μ L do controle AB nos tubos das posições 1 e 2 e 600 μ L do controle **CR** nos tubos das posições 3 e 4.

OBS.: Caso o controle AB apresente fibrina, centrifugar o tubo em micro centrífuga a 5000 rpm por 1 minuto a 4 °C;

3. Retirar os tubos secundários gerados pelo equipamento JANUS[®] e colocá-los a partir da posição 5 da estante 1, no suporte de tubos do equipamento MDx. Colocar os demais tubos nas estantes subsequentes do MDx até completarem os 92 tubos secundários. No final, as 12 estantes estarão completas

4. Aproximadamente 1h e 30 minutos após o início da extração, o equipamento MDx solicitará a intervenção do usuário para verificação visual da presença de coágulo nos poços:

• Retirar a placa de vácuo do equipamento e verificar se há algum poço com coágulo: Se houver clicar em **SIM** (na tela aberta no computador), e logo em seguida identificar o(s) poço(s), para que os *pools* correspondentes sejam reprocessados. Se não houver, clicar em **NÃO**;

• Recolocar a placa de vácuo na posição e continue o procedimento.

• Após o término da extração, retirar a placa de eluição (RNA/DNA) do equipamento e colocá-la no freezer de -80 °C a -60 °C.

OBS.: O tempo de congelamento da placa de eluição é de 20 minutos a 48 horas.

• Proceda com a limpeza do equipamento MDx conforme indicação do software QIAsoft.

ATENÇÃO: Qualquer problema que ocorra no MDx, que interrompa o protocolo antes da conclusão da extração, a rotina deverá ser reiniciada do *pooling*.

11.4 - Procedimento de Amplificação - Equipamentos JANUS[®] e ABI 7500 RealTime PCR System Preparar o JANUS[®] para a realização da reação de PCR.

1. Ligar o Inheco (bloco refrigerado) do equipamento JANUS[®] e aguardar que chegue até a temperatura de trabalho (6 °C \pm 2 °C).

2. Retirar do freezer o módulo de amplificação HIV/HCV ou HBV e descongelar todos os insumos no Inheco.

A. 02 frascos de iniciadores HIV/HCV ou HBV

- B. 02 frascos de Sondas HIV/HCV ou HBV
- C. 02 frascos de enzima RT
- D. 02 frascos de Mistura de PCR
- E. 02 frascos Água DEPC ou RNAse Free

OBS: Após o descongelamento dos insumos, centrifugar os tubos em micro centrífuga a 5000 rpm por 12 \pm 3 segundos a 4 °C.

3. Após os 20 minutos da etapa de congelamento, retirar a placa de eluição do freezer -80 °C a -60 °C e colocá-la para descongelar no JANUS[®] (local indicado pelo sistema).

ATENÇÃO: ao colocar a placa óptica e a placa de eluição no equipamento JANUS[®]! Ambas têm que estar com o poço A1 posicionado no canto superior esquerdo.

OBS.: O tempo de descongelamento da placa de eluição é de aproximadamente 25 minutos à temperatura ambiente (entre 15 °C e 25 °C). Deve-se observar o descongelamento total da placa.

4. Carregar o equipamento com os reagentes necessários, citados no item 2, para a realização da reação de PCR (este quantitativo é suficiente para a realização da reação de PCR para 96 testes: 92 *pools* + 02 controles AB + 2 controles CR).



Esquema da distribuição dos reagentes da Mistura de PCR no Inheco.

5. Colocar o tubo vazio de 5 mL para a reação de Mistura de PCR no equipamento JANUS[®].

6. No *sistema* JANUS[®] Application Assistant, clique sobre a **Select** > **Reação de PCR_HIV_HCV ou Reação de PCR_HBV** > *Run* > *Start*, **conforme figuras abaixo:**

JANUS® Application Assistant						×
PerkinElmer	PROTOCOL:					0
and 1. Select	2. Gather	3. Place	🜔 4. Run	🎻 5. Cleanup	🔍 Maintain	
Select Protocol						
Protocol Name	Description			Last Run	Date	
Pooling de Amostras						
Reacao de PCR_HIV_HCV						
Reacao de PCR_HBV						
Consolidacao dos dados						
l						J
						Next Step

7. Ler o código de barras contido na etiqueta do módulo de amplificação do HIV/HCV ou HBV, de acordo com o protocolo selecionado.

1 JAN

PerkinElmer /						
1. Select	🦲 2. Gather	进 3. Place	🜔 4. Run	🧹 5. Cleanup	A Maintain	
ielect Protocol						
rotocol Name	Description			Last Run I	Date	
boling de Amostras						
eacao de PCR_MBV						
onsolidacao dos dados						
Answer Questions (1 group)						
Verificação do codigo de barras do	KIT (group 1 of 1)					
Codigo de Barras do Kit de Amplific	SICAG HIV_HOV					
						Next Ste
						IVEXT STO
NUS® Application Assistant						
NUS® Application Assistant	DTOCOL: Reacao de	PCR_HBV				
NUS® Application Assistant	DTOCOL: Reacao de Ĵ 2. Gather	PCR_HBV	💽 4. Run	🎻 5. Cleanup	کر Maintain	
NUSS Application Avidant VerkinEliner 1. Select	DTOCOL: Reacao de Ĵ 2. Gather	PCR_HBV	() 4. Run	🎸 5. Cleanup	ع Maintain	
NSSE Application Assistant PRC	DTOCOL: Reacao de 	PCR_HBV	b 4. Run	5. Cleanup	A Maintain	
NXSE Agginetion Assistent Presidentime 1. Select Select Protocol Protocol Hanse Peeling de Amostras	DTOCOL: Reacao de . Gather Description	PCR_HBV	4. Run	5. Cleanup	A Maintain	
NZ/Z Application Assistent PRO PRO PRO PRO PRO PRO PRO PRO	DTOCOL: Reacao de 	PCR_HBV	5 4. Run	5. Cleanup Lat Ron 3/13/2014	A Maintain Dute	
NASE Application Assistent PRO PRO PRO PRO PRO PRO PRO PRO	DTOCOL: Reacao de 	PCR HBV	🧕 4. Run	5. Cleanup Last Run 3/13/2014	Maintain Dete	
NUSE Application Avoided Partocol Partocol Partocol Partocol Partocol Researd de PCR.HIV.HCV Researd de PCR.HIV Consolidacea des dados	DTOCOL: Reacao de 	PCR HBV	🧿 4. Run	5. Cleanup Lat Run 3/13/2014	Maintain Dute	
NUT Application Assistent Verbrachener 1. Select Verbrachener Select Protocol Verbrach Rame Verbrach Rame	DTOCOL: Reacao de 	PCR HBV	🕑 4. Run	5. Cleanup Last Ran 3/19/2014	Maintain Date	
NUCS Application Assistent PRO Protocol Particultures Particul	DTOCOL: Reacao de 2. Gather Desciption	PCR HBV	5 4. Run	5. Cleanup Lat Ron 3/19/204	A Maintain Date	
NUC & Application Assisted when there PRC 1. Select Particle Hans Restore Hans Restore Hans Restore A PCR, HIV, HCV Restore de PCR, HIV, HCV Restore de PCR, HIV Consolidates des dades Restorer Oraștilors — Semeti	DTOCOL: Reacao de	PCR HBV	5 4. Run	5. Cleanup Lat Ron 3/19/2014	A Maintain Date	
NASS Application Assisted PRO Protocol Protocol Protocol Protocol Hames Protocol Hames Protocol Hames Protocol Hames Protocol	DTOCOL: Reacao de	PCR HBV	🧕 4. Run	5. Cleanup Lat Ron 3/19/2014	Cote	
NADE Application Assistent PRO Protocol Tames Protocol Tames Protocol Tames Protocol Tames Protocol Tames Protocol Assistent Pr	DTOCOL: Reacao de	PCR_HBV	5 4. Run	5. Cleanup Lat Run 3/13/2014	Core 123510 PM	
NDS Application Assistent PRO Particul Time	DTOCOL: Reacao de	PCR.HBV	() 4. Run	Zat Run Jata/2014	Maintain Oute	
NERS Application Animited Perind Inner 1. Select Protocol Prot	DTOCOL: Reacto de 2. Gather Desclution Desclution Desclution Desclution Desclution	PCR HBV	5 4. Run	5. Cleanup Last Ron 2/19/2014	A Maintain Date	
Application Assisted Particularian 1. Select Particularian P	DTOCOL: Reacao de	PCR HBV	5 4. Run	S. Cleanup Lat Ron 3/19/2014	Cote	
NDS Aggication Assisted PROFILE Protocol Pr	DTOCOL: Reacao de	PCR_HBV	5 4. Run	5. Cleanup Lat Run 3/13/2014	Cate 123518 PM	
NDS Application Assisted PRO Protocol P	DTOCOL: Reacao de	PCR_HBV	6 4. Run	5. Cleanup	Maintain Dete 1223536 PM	
NEDE Agglocelon Anistent Period 1. Select Periodol Hame Pacific de Amostras Resca de PCR, HIV, HCV Periodol RAMOSTRA Resca de PCR, HEV Consolidaces des dades Answer Questions (C.gma) Codigo de Barras do XX de Amplific	DTOCOL: Reacto de 2. Gather Desciption Desciption Desciption Desciption	PCR HBV	6 4. Run	5. Cleanup Last Ron 3/19/2014	A Maintain	

8. Aparecerá a tela abaixo na qual deve ser inserido o código de barras da placa óptica com o leitor manual do equipamento JANUS[®]. Selecionar **OK**.



9. Colocar a placa óptica no local indicado no JANUS® (foto abaixo)



10. Na próxima tela, deve ser inserido o código de barras da placa de eluição com o leitor manual do JANUS[®]. Selecionar **OK**.



11. Na próxima tela, confirmar a temperatura do Inheco (bloco refrigerado) clicar em **OK**.



12. Posicionar o tubo de 5 mL no suporte para tubos, canto inferior direito e clicar em **OK**:



13. Colocar a caixa de ponteiras na posição indicada pelo *Sistema*



- 14. Clicar com o mouse em Disposable Tips 8, de modo que fique selecionado.
- 15. Clicar em *Fill*.
- 16. Repetir os procedimentos 14 e 15 para a *Disposable Tips 9*.
- 17. Clicar em OK.

18. Após a mistura de PCR ser transferida para a Placa Óptica, o *sistema* do JANUS[®] solicitará a Placa de Eluição.

19. Retirar a tampa a Placa de Eluição localizada no equipamento JANUS[®]. Verificar se o material eluído está completamente descongelado. Clicar em **OK**.

ATENÇÃO: ao colocar a placa óptica e a placa de eluição no equipamento JANUS[®]! Ambas têm que estar com o poço A1 posicionado no canto superior esquerdo.

20. Caso seja a primeira PCR setup, retirar os insumos do módulo complementar (HIV/HCV ou HBV).

21. Após o JANUS[®] transferir os ácidos nucleicos da placa de eluição para a placa ótica, vedar esta placa com o selo adesivo óptico, com o auxílio da espátula (ABI).

Ao término da transferência dos ácidos nucleicos, armazenar a placa de eluição de 2 °C a 8 °C (\pm 2 °C), até a pipetagem do ácido nucleico com o outro módulo.

ATENÇÃO: É obrigatória a realização da etapa de PCR setup para os dois módulos (HIV/ HCV e HBV).

11.5 - Amplificação e Detecção

- 1. Ligar o computador do equipamento de PCR em tempo real ABI 7500.
- 2. Ligar o equipamento ABI 7500.
- 3. Clicar no ícone 7500 System Software (abaixo).



4. Entrar com o Login NAT. Clicar em OK.

5. Após a inicialização do *software*, clicar no ícone *Template* (abaixo). Na janela que abrirá, selecionar o arquivo NAT HIV_HCV ou NAT HBV (dependendo do módulo utilizado).



6. Abrirá a janela abaixo. No campo *Experiment Name*, substituir a palavra *Untitled* pelo código de barras da placa óptica (utilizando o leitor manual de código de barras do equipamento ABI 7500).

7. Clicar no ícone *Save*.

8. Selecionar *Desktop* (círculo vermelho).

7500 Software v2.0.6 File Edit Instrument Analysis	Tools Help								
🔤 New Experiment 🔹 🎯 Open	🛃 Save 🔹 🚞 Close 🛷 Export 🔹 📇 Print	Report							
Experiment Menu ≪	Experiment: Untitled	Type: Standard Curve	Reagents: TaqMan@	Reagents START RUN 🍺					
Setup	Experiment Properties								
Experiment Properties	Novermes Q Enter an experiment name, select the instrument type, select the type of experiment to set up, then select materials and methods for the PCR reactions and instrument run.								
Plate Setup	How do you want to identify this experime	ent?							
Run Method	* Experiment Name: Untitled Barcode (Optional):								
Reaction Setup	User Name (Optional):								
Materials List	Comments (Optional):								
Run	•Which instrument are you using to run th	ne experiment?							
Analysis	√ 7500 (96 Wells)	7500 Fa	st (96 Wells)						
2	Set up, run, and analyze an experiment using a 4- or	r 5-color, 96-well system.							
	•What type of experiment do you want to	set up?							
	√ Quantitation - Standard Curve	Quantitation - Re	lative Standard Curve	Quantitation - Comparative C⊤ (△△C⊤)					
	Melt Curve	Ger	notyping	Presence/Absence					
	Use standards to determine the absolute quantity of	f target nucleic acid sequence in samples.							



🧧 Save				×
Save in	: 🞯 Desktop			
My Recent Document Desktop My Documents	Hy Docum My Compu My Networ NAT	ients iter ik Places		
My Computer				
My Network	File name:	Untitled.eds		Save
Places	Files of type:	Experiment Document Single files (*.eds)	~	Cancel

9. Selecionar a pasta NAT HIV_HCV ou pasta HBV (dependendo do módulo utilizado).

Save					
Save in:	🛅 NAT		~		
My Recent Documents Desktop My Documents					
My Computer	<		-		>
	File name:	Untitled.eds			Save
My Network Places	Files of type:	Experiment Document Single files (*.eds)		✓	Cancel

10. Clicar em Save.

11. Colocar a placa óptica no equipamento de detecção ABI 7500 *Real Time PCR System*. Evitar tocar no fundo da placa. Certificar-se que a posição A1 da placa está posicionada no canto superior esquerdo.

12. Clicar no ícone Start Run.

OTE		-	C NN
SIA	КΙ		
			- W

Logo após clicar no start run, repetir todo o procedimento a partir do item 11.4 (acima) com o módulo complementar. Colocar esta placa em outro equipamento de PCR em tempo real e realizar as etapas de análise, ao fim de cada corrida

13. Após o fim da corrida, clicar no ícone *Analyse* e depois em *Save*.

14. Clicar no ícone *Export*.

🗐 7500 Software v2.0.3			
File Edit Instrument Analysis	Tools Help		
🔝 New Experiment 👻 🎯 Open	🛃 Save 🕶 🚞 Close	🌆 Export 🗕 📇 Pri	nt Report
		Export	
Experiment Menu «	Experiment: Untit	Send To PowerPoint	. IV

15. Abrirá a janela abaixo. Selecionar somente a opção *Results* (círculo vermelho) e alterar a opção: *File type* para *.txt (círculo verde).

16. No item *Export File Name*, retirar data do final do código da placa, de maneira que fique somente o código de barras da placa óptica.

port Data		
elect the type of data t mmat and to select fiel	o export, select whether to export one file or separate files, then enter export file properties. (Optional) Click "Customize Export" to change the export ds to export. Click "Start Export" to export your data.	2
Export Propert	Customize Export Sample Setup Results Ray Data Municomponent Data	_
 Select data to expo 	rt ☐ Amplification Data	
 Select one file or s Enter export file pro 	eparate files: One File 🛛 Select to export all data in one file or in separate files for each data type. porties:	
Export File Name:	A903SASL File Typ 🗊 (" bij 💌	
Export File Location:	C:Applied Biosystems/7500/experiments Browse	1
] Open file(s) when	export is complete	
ave current settings as	the default Start Export	and



- 18. Clicar em *Close Export Tool*.
- 19. Fechar o software.

11.6 - Procedimento do Processamento de dados e Resultados

Este procedimento é realizado no computador do equipamento **JANUS**[®], utilizando o sistema **JANUS**[®] Application Assistant.

1. No *sistema* JANUS[®] Application Assistant, clicar sobre a **Select** > **Consolidação de Dados** > *Run* > *Start*, conforme figuras abaixo:

JANUS® Application Assistant					6
Protocol: Consolidacao d	le Dados				0
🔁 1. Select 🗍 🔤 2. Gather	🚆 3. Place 🛛 🜔	4. Run	🎻 5. Cleanup	d	Maintain
Select Protocol				_	
Protocol Name Description			Lest Run I	Date	
Poeling de Amostras			14/2/2012	14:43:16	
Reacao de PCR			14/2/2012	18:36:43	
Consolidação de Dados			10/2/2012	19:16:41	
FlushSysLiq			14/2/2012	14:17:21	
Answer Questions					
					Next Step

2. Abrirá a janela abaixo onde se deve clicar em OK.

JANUS# Application Assistant	cao de Dados	☑
🚝 1. Select 🛛 🚺 2. Gather	🚆 3. Place 🕒 6. Run 🧹 5. Cleanu	p 🍳 Maintain
Pause Abort Starte	1738 AM	Ettimated Completion 7:40 AM
Status	Progress	
Reset Tip Boxes Verify Labware Location Name Labware Deck Position	Procedure Name Initial User Query (L of 3)	
	1. Write Sample Tracking Report	
	Go To north Variassis	
	1 2 3 1 2 3 4 5 6 1 2 3 4 5 6 7 6	8 9
	A	· · .
	C	C
JANUS	D	• • D
Deck	E	· · E
	F	· · ·
		G
	2 3 1 2 3 4 5 6 1 2 3 4 5 6 7	8 4
	Pre	evious Step Next Step

3. A tela seguinte aparecerá.

Gerar Relatório	
Relatórios a gerar	
Novos Relatórios	~
208_04012012_13_SV_HIV_HCV	
208_04012012_13_SV_HBV	
Checar Todos Clear Todos	Gerar
0	Fechar

- 4. Selecionar **Novos Relatórios** e clicar na(s) rotina(s) que deseja consolidar os dados: Exemplo: 208 04012012 13 SV HIV HCV e/ou 208 04012012 13 SV HBV
- 5. Clicar em Gerar.
- 6. Quando o software tiver finalizado o processo, clicar em Fechar conforme tela abaixo.



O Processo de consolidação dos dados foi finalizado!

11.7- Procedimento para gerar o laudo de resultados no software NAT

1. Clicar no ícone localizado no desktop do computador do JANUS®.



Tela 01: Acesso ao software

🔿 Login de acesso	×
Nucleic Acid NA NA	Senha OK Cancelar
Minimitir o de Salos FICORLIZ Fenderale Oranalde Cruz	Anguinhos SANGUE E HEMODERIVADOS

- 2. Digitar o login e a senha do usuário.
- 3. Clicar em OK.

4. Os procedimentos e as diretrizes para a geração dos laudos das rotinas NAT estão estabelecidos no DI de "**UTILIZAÇÃO DO SISTEMA NAT**" no tópico "**Geração de laudo**".

11.8 - Interpretação dos Resultados

DETECÇÃO	PROCEDIMENTO
Amostra Não Detectável e partícula Calibradora OK	Liberar o resultado da (s) amostra (s).
Amostra Não Detectável e partícula calibradora não ok	Repetir amostra (s) em pool ou single na próxima rotina. Se confirmar o resultado, acionar a assistência técnica de BM relatando o fato.
Amostra Detectável e partícula calibradora OK	Se em pool, repetir amostras em single na próxima rotina. Se em single, liberar o(s) resultado(s).
Amostra Detectável e partícula calibradora não ok	Se em pool, repetir amostras em single na próxima rotina. Se em single, liberar o (s) resultado (s).
Controle AB com resultado Positivo para pelo menos um dos alvos nas duas replicatas	Possível contaminação. Desconsiderar o resultado e repetir toda a rotina.
Controle CR com resultado não OK para pelo menos um dos alvos nas duas replicatas	Perda de amostra Desconsiderar o resultado e repetir toda a rotina.

Importante

Ao término de cada rotina realizar a limpeza conforme descrito abaixo:

EQUIPAMENTO	LIMPEZA	
MDx	Limpar a mesa de trabalho com etanol 70 %. As peças deverão ser lavadas com detergente amônia quaternária 50 % (1:600), conforme instrução do software.	
JANUS®	Limpar a mesa de trabalho com etanol 70 %.	
ABI 7500 Real Time PCR System	Descartar a placa de reação.	

12 – INTERFERENTES

Não foram observadas interferências no resultado do teste na presença de EDTA, bilirrubina, lipídeos e hemoglobina nas amostras.

Foram feitas análises de amostras positivas para doença de Chagas, Sífilis, HTLV, Zika vírus, Chikungunya e Dengue e não houve reação cruzada para estes vírus.

Não utilizar amostras coletadas em heparina devido a inibição da reação de PCR.

13 – CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

13.1 - A sensibilidade clínica ou analítica

e que os limites de sensibilidade do produto, considerando a testagem de painéis internacionais de referência NIBSC, seriam de 85 cópias/mL* (142 UI/mL) para HIV e de 60 UI/mL para HCV, sendo detectadas 8 replicatas das referidas diluições. Para o HBV, foi utilizado o painel internacional PHM 936, onde a alíquota 7 (carga viral de 8,70E+03) foi diluída até 2,5 UI/mL, sendo detectadas 8 replicatas até 10 UI/mL.

A análise Probit (SPSS Statistics 20.0), considerando taxa de 95% de positividade e intervalo de confiança de 95% (IC 95%), apresentou sensibilidade estimada em 72,5 cópias/mL* (121 UI/mL) para HIV, e 81,3 UI/mL para HCV e 6,2 UI/mL para HBV.

O teste é capaz de detectar amostras com concentração de 100 cópias/mL de HIV, 100 UI/mL de HCV e 50 UI/mL de HBV, em cada testagem.

O kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos é capaz de detectar amostra, com a taxa de 95% de positividade e IC 95%, cerca de 600 cópias/mL de HIV, 600 UI/mL de HCV e 300 UI/mL de HBV, quando processadas em pool de 6 amostras.

*Uma cópia de RNA do HIV-1 é equivalente a 1,67 UI, com base no 1.º padrão internacional da OMS para o RNA do HIV-1 para técnicas baseadas no ácido nucleico (nat) (NIBSC 97/656).

14 – RISCOS

A Partícula Calibradora e os Controles AB e CR não possuem capacidade replicativa *in vivo* e, portanto, são biosseguros (não infecciosos).

Este kit contém produtos químicos, podendo representar uma fonte de risco. Ao manusear qualquer um dos reagentes observe as precauções necessárias. A qualidade dos resultados obtidos depende do cumprimento às boas práticas de laboratório tais como:

• O teste deve ser usado somente para monitoramento in vitro e USO PROFISSIONAL, de acordo com as instruções fornecidas no kit;

• Os reagentes contêm agentes irritantes e devem ser manipuladas com cuidado.

Observar as recomendações em relação às medidas de segurança dos reagentes;

• Tampão de Lise e Tampão de Lavagem 1 contêm cloridrato de guanidina, que pode formar compostos reativos quando combinado com hipoclorito de sódio, é perigoso e irritante se ingerido ou em contato com olhos e pele;

• Protease contém subtilisina: sensibilizante, irritante se inalado (prejudicial para o sistema respiratório e para a pele), também acarretará risco quando em contato com os olhos;

• Utilizar equipamento de proteção individual (EPI) tais como luvas descartáveis (sem talco) e jaleco em todas as etapas do teste;

• Após o uso, desprezar ponteiras, tubos, placas, reagentes, insumos/produtos bem como os itens consumíveis (tubos de coleta e secundários, entre outros) no descarte de risco biológico;

• Os tubos com as amostras deverão ser descartados de acordo com os procedimentos de cada Hemocentro e encaminhados para um local apropriado para descarte de resíduos biológicos;

• Desprezar a placa óptica após a amplificação e detecção em descarte 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.

15 – REQUISITOS DE INSTALAÇÕES / QUALIFICAÇÕES DO USUÁRIO DO PRODUTO

• É importante que somente a equipe técnica capacitada para processar o Kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos e outros colaboradores autorizados pela chefia do laboratório tenham acesso à sala de testes, evitando, assim, possíveis riscos de contaminação de amostra/rotina e a manipulação equivocada dos equipamentos;

• É imprescindível que a sala onde o teste é realizado esteja completamente livre de caixas, sacos plásticos e qualquer outro material que possa acumular poeira e sujeira;

• Recomendamos que não sejam colados papéis nas paredes e bancadas. Neste sentido, deve-se manter o menor volume possível de papéis no interior do laboratório;

• Os materiais como insumos ou acessórios devem ser guardados no interior de armários, quando possível, ou estocados fora do laboratório;

• A limpeza de superfícies, bancadas e equipamentos deve ser realizada antes e depois de cada rotina de processamento de amostras;

• O lixo deve ser recolhido diariamente.

16 – DESCARTE DO PRODUTO

Os resíduos gerados pelos equipamentos devem ser descartados de acordo com as normas de biossegurança de cada serviço de hemoterapia integrante da rede NAT.

17 – DATA DA EMISSÃO DA ÚLTIMA INSTRUÇÃO DE USO

05/08/2019