

Implementación de Biología Molecular en la Selección de Donantes de sangre en el Hospital de Clínicas



Bioq. Mauro Fernández

HOSPITAL DE CLINICAS – UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Implementación en el ámbito de la UBA

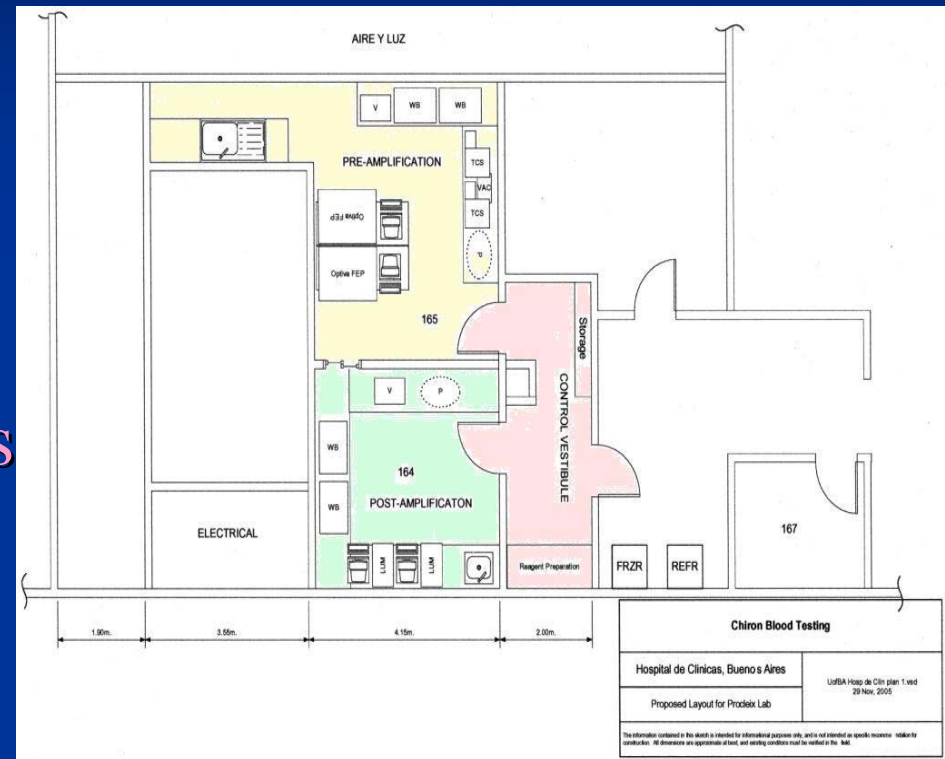
Se realiza mediante un protocolo de investigación aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas y el Consejo Superior de la UBA y presentado ante el ANMAT

Adecuación del Laboratorio

Áreas separadas

- Preparación de Reactivos
- Pre - Amplificación
- Post - Amplificación

Sistema de Aire Acondicionado
con Presiones Diferenciadas



Separación en áreas – Pre Amp



FEP: siembra automática



TCS: sistema lavador

Separación en áreas – Post Amp

Baño Térmico
Vortex



Luminó metro

TAN Chiron

- Diseñada para banco de sangre
- Multiplex (HIV – HCV – HBV)
- Muestra Individual
 - Mayor Sensibilidad (HBV!)
 - Trazabilidad
 - Simplicidad
- Tubo Único
 - Menor Manipulación
 - Menor Contaminación

TAN Chiron

Tres Pasos Principales

Paso 1

Captura del Target

- Hibridización
- Eliminación de componentes plasmáticos (por lavado)

Paso 2

Amplificación

- Transcription Mediated Amplification (TMA)

Paso 3

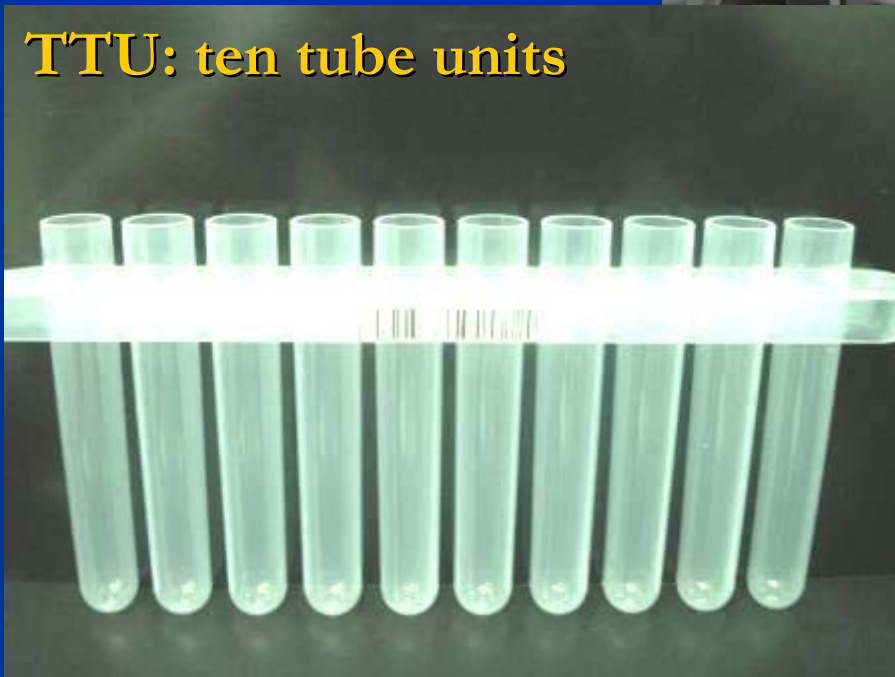
Detección

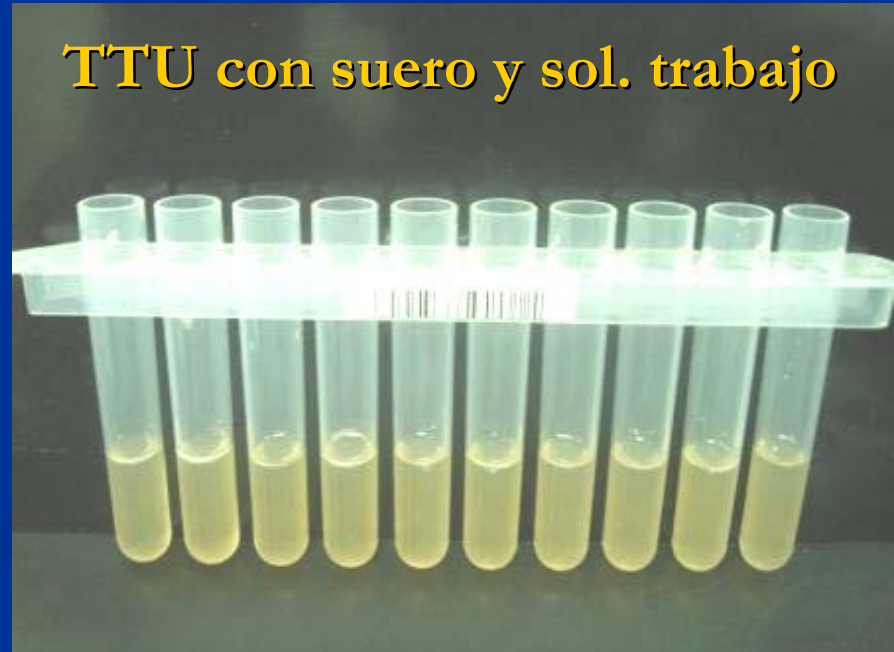
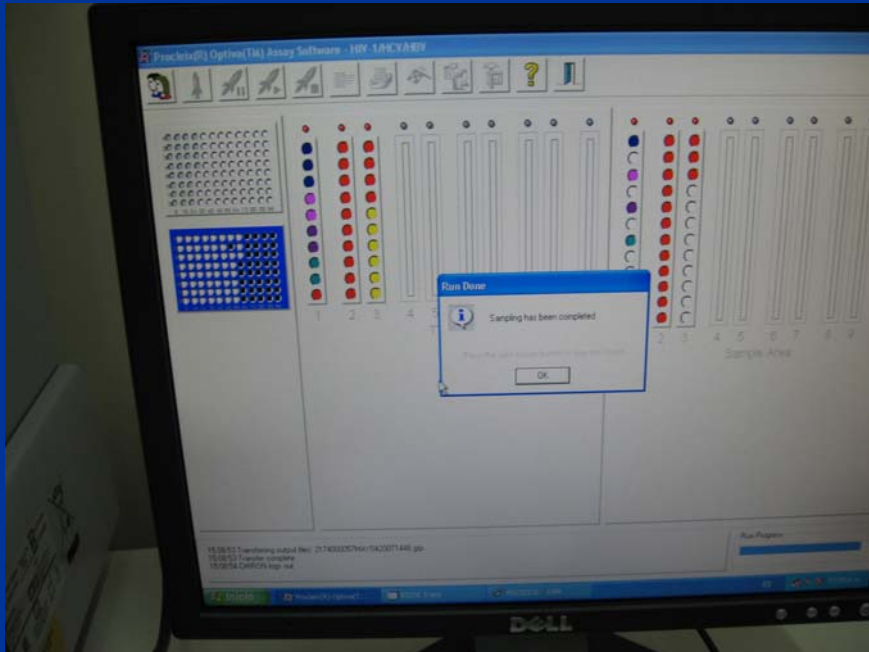
- Hybridization Protection Assay (HPA)
- Dual Kinetic Assay (DKA)

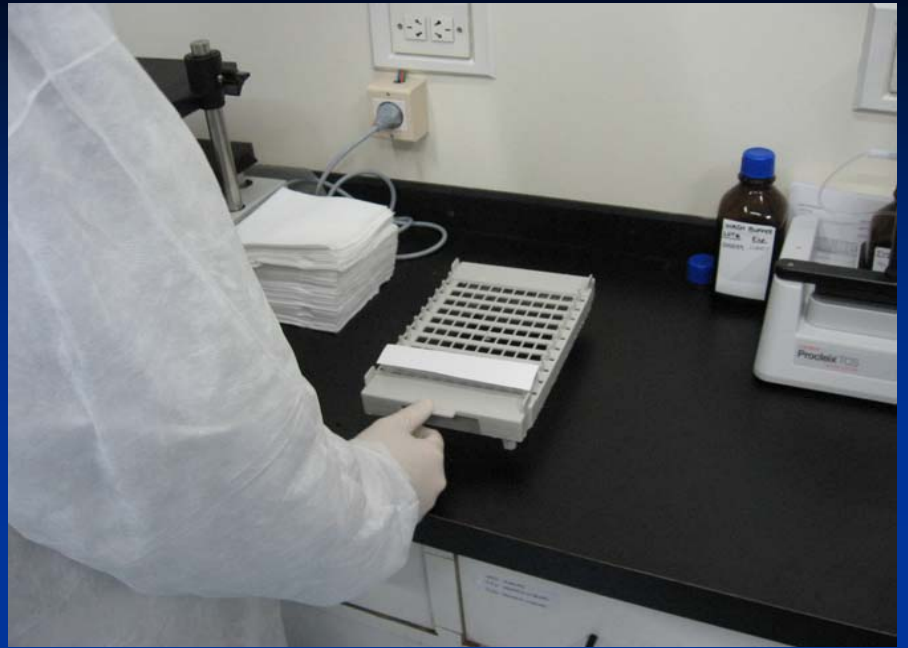
Captura del Target : Siembra



TTU: ten tube units

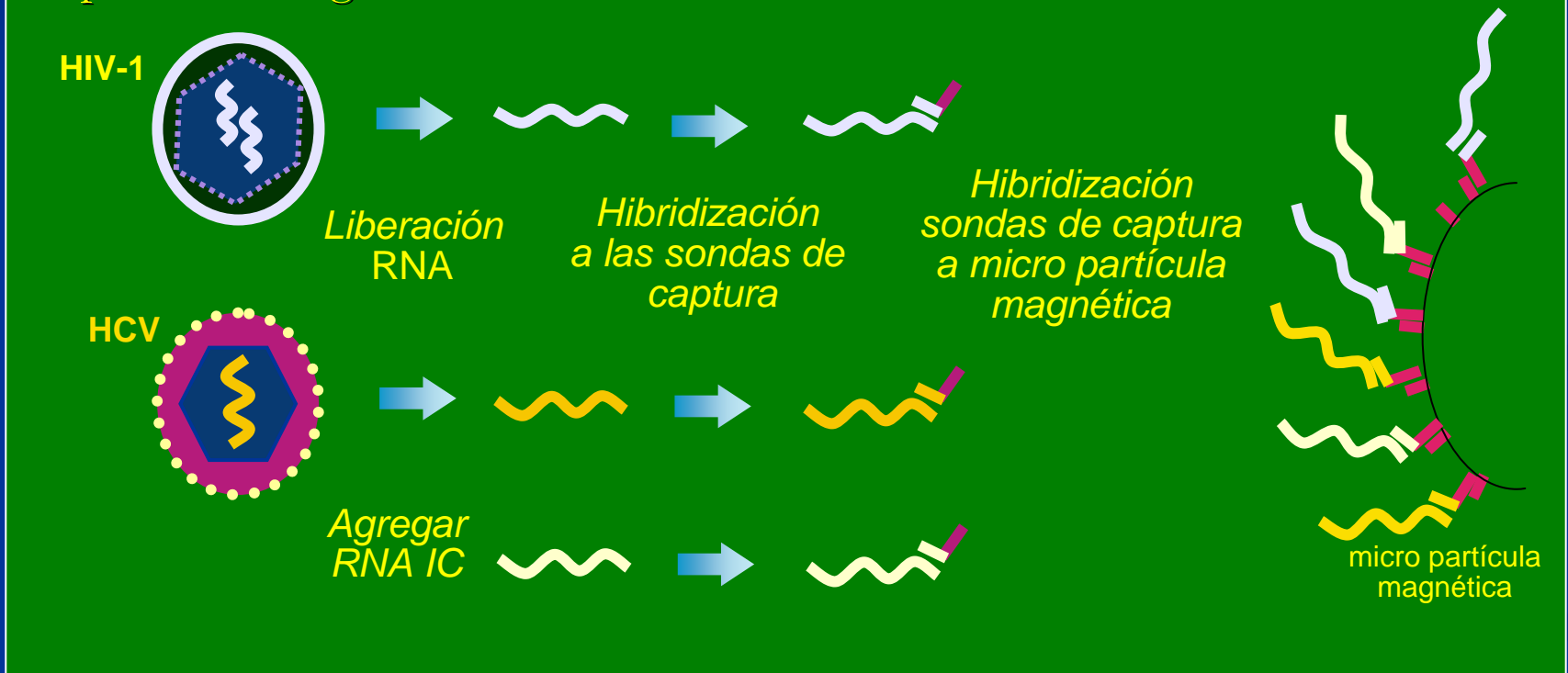






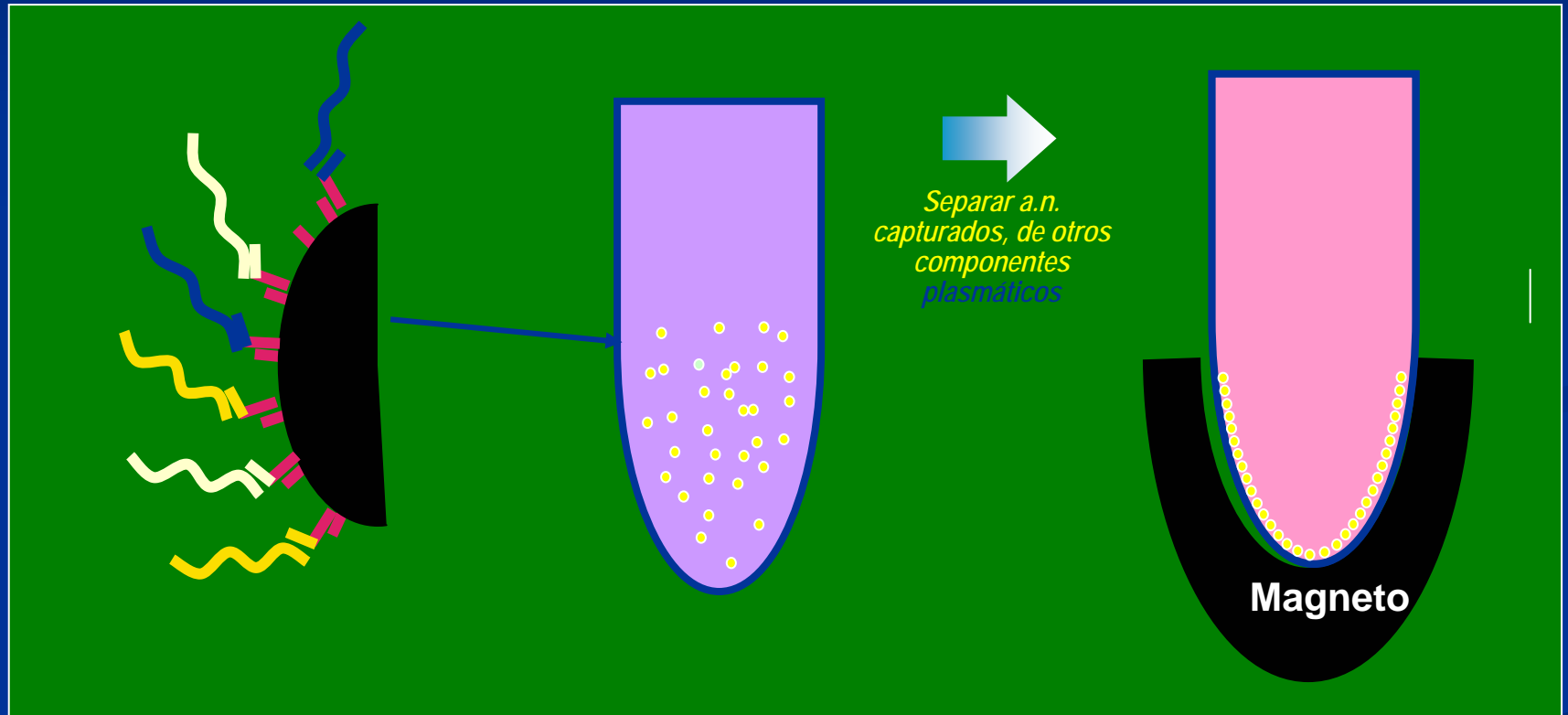
Captura del target : Hibridización

Lisis virión, liberación RNA, e hibridización a las sondas de captura y a las partículas magnéticas



- Sin manipulaciones separadas para la extracción, purificación o concentración
- Sin ultra-centrifugación

Captura del target : Lavado



- Los lavados remueven componentes plasmáticos y DNA/RNA no específicos



TTU - bolitas magnéticas

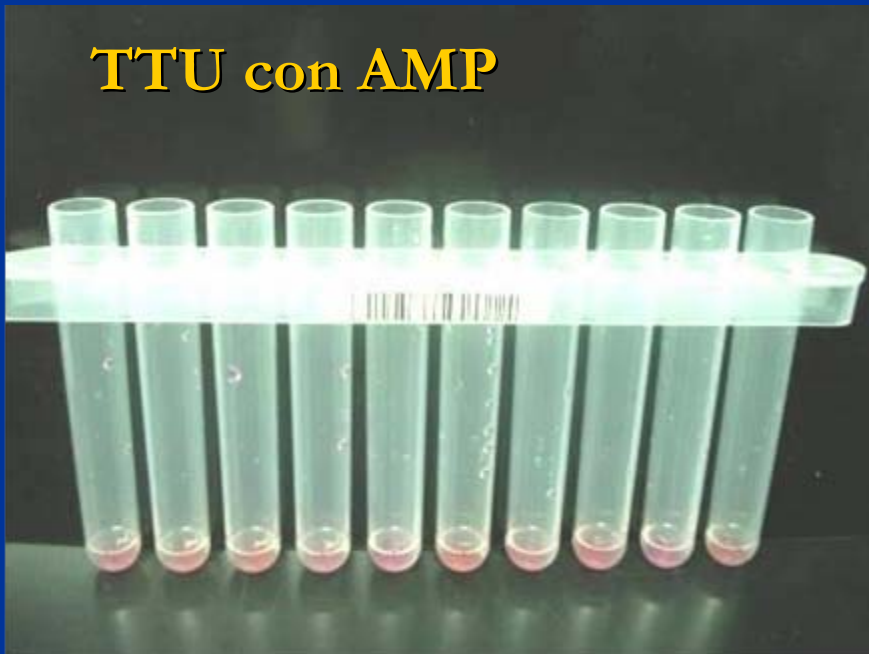


Amplificación

- Proceso isotérmico y continuo de amplificación
- Sin transferir productos de amplificación o muestras
 - Minimiza la potencial contaminación
 - Reduce la complejidad del TAN
- Genera 10^9 copias en una hora
- Ubicación de las regiones a amplificar asegura la detección para todos los subtipos/genotipos



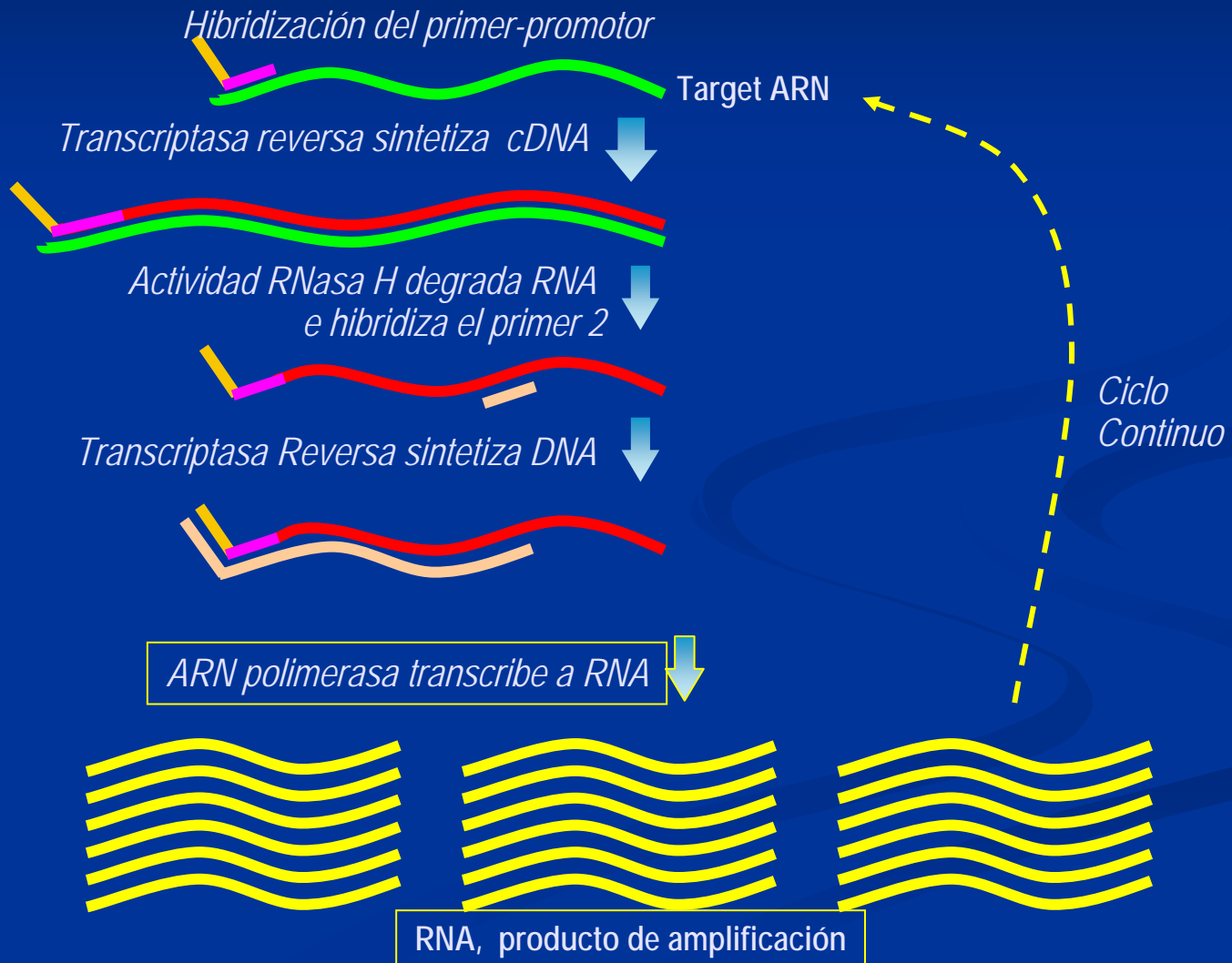
TTU con AMP



TTU con ENZ



Amplificación



Finalizado el proceso de
Amplificación se envían las
muestras al área de Post - Amp



DetECCIÓN

Dos tecnologías

- HPA: Hybridization Protection Assay

Inactivación química de la marca en las sondas no hibridizadas (sin paso de lavado)

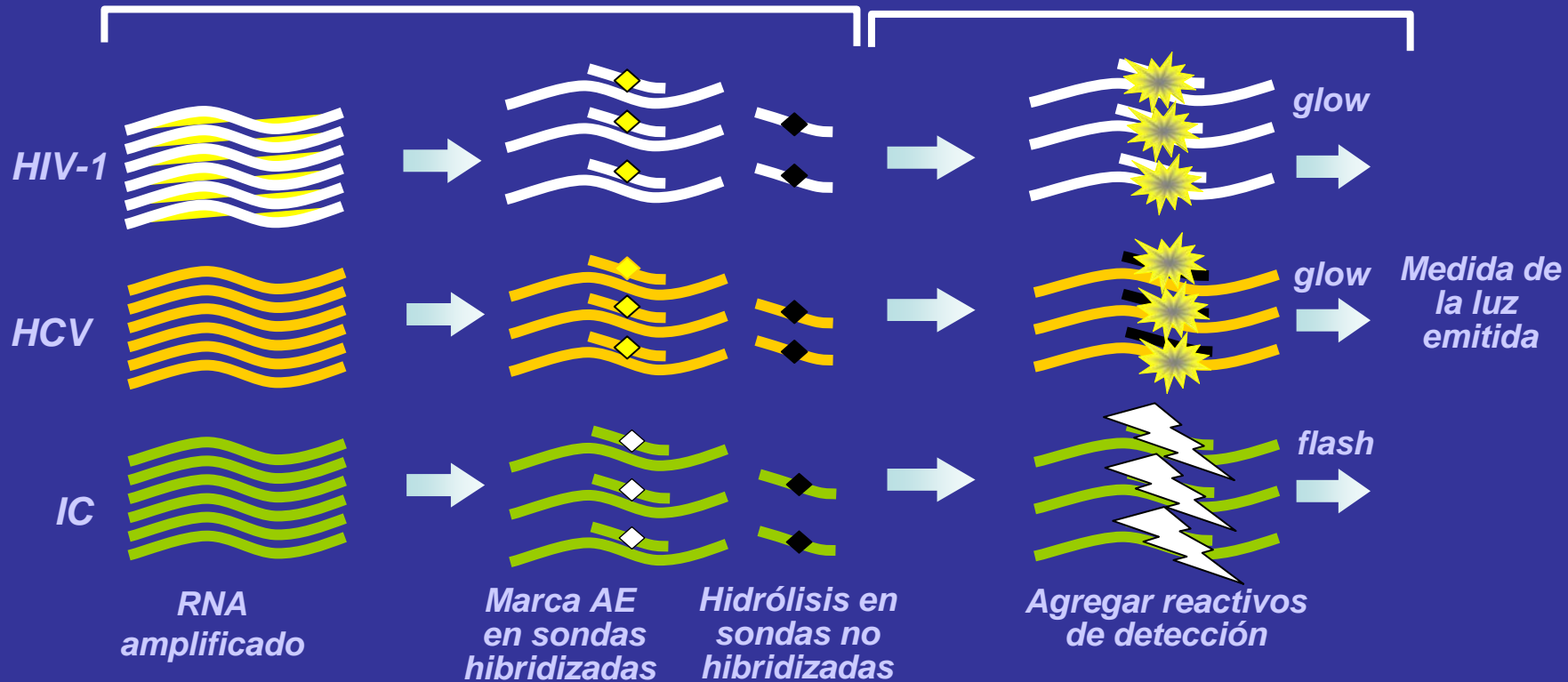
- DKA: Dual Kinetic Assay

detección automatizada en un paso diferenciando la señal del control interno de la señal viral

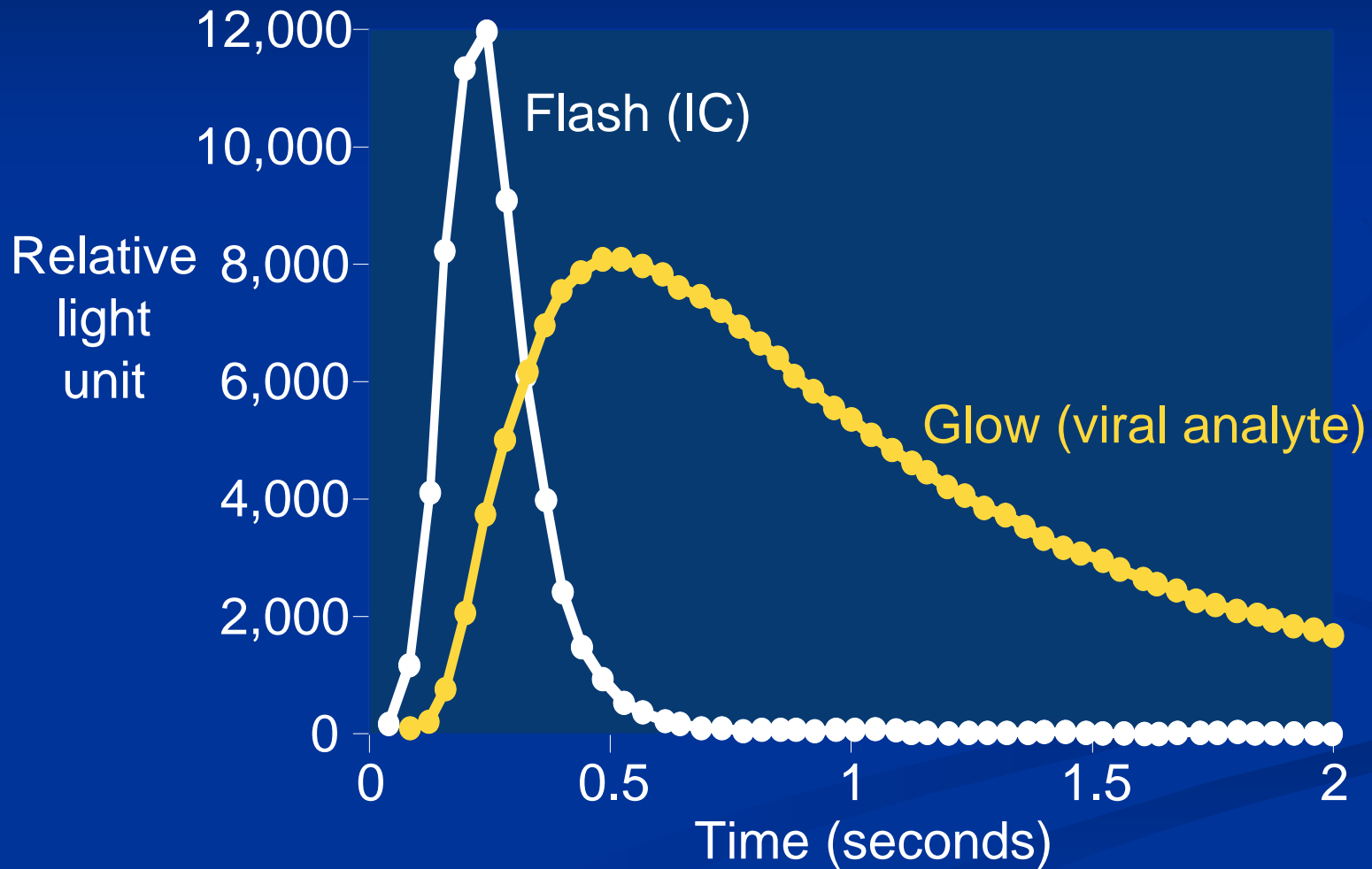
HPA y DKA

Hybridization Protection Assay HPA

Dual Kinetic Assay DKA



Dual Kinetic Assay (DKA)

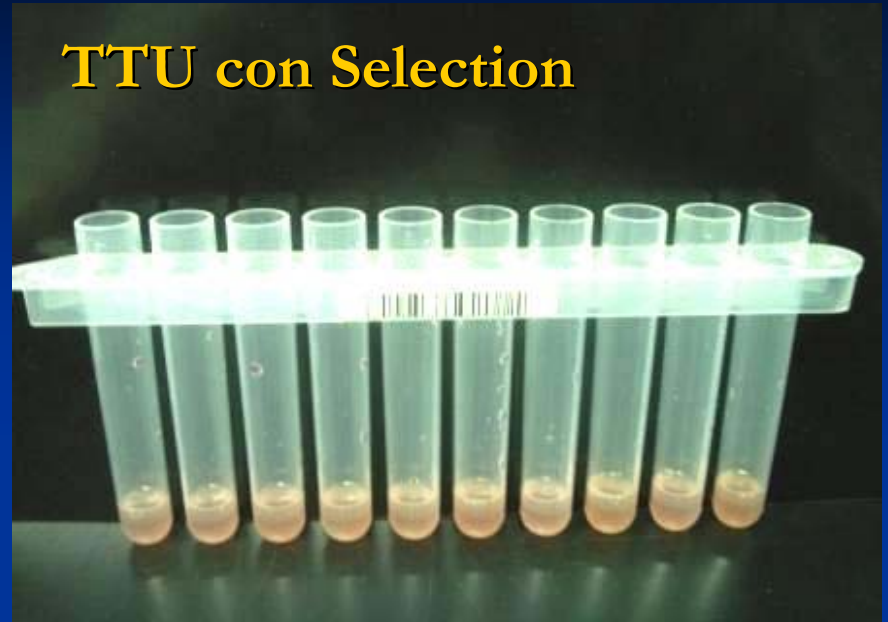


HPA - DKA

TTU con Probe



TTU con Selection



Code/ Number	Specimen ID	Control RLU	Control Result	Analyte RLU	Analyte S/CO	Overall Interpretation	Status
<i>670806 is in position : 2</i>							
	032550618715050721304	243.326	Valid	6.678		Valid	
	032550618715050721304	274.693	Valid	3.088		Valid	
	032550618715050721304	247.918	Valid	3.432		Valid	
	Negative Calibrator Average	255.312		4.399			
	032451251115040700428	311.458	Valid	1.136.433		Valid	
	032451251115040700428	291.159	Valid	1.164.313		Valid	
	Positive 1 Calibrator Average	301.308		1.150.373			
	032350619315050730556	269.341	Valid	706.493		Valid	
	032350619315050730556	242.926	Valid	746.106		Valid	
	Positive 2 Calibrator Average	256.133		726.299			
	032650619115050736520	190.377	Valid	1.413.220		Valid	
	032650619115050736520	229.199	Valid	1.391.142		Valid	
	Positive 3 Calibrator Average	209.788		1.402.181			
	IC Cutoff	127.656					
	Analyte Cutoff			84.502			
	0300062260192100104	295.254	Valid	1.428.839	16.90	Reactive	M
<i>50670804 is in position : 1</i>							
	0300062260292200056	267.983	Valid	2.487	0.02	NonReactive	M
	0300062260392300026	262.665	Valid	3.671.870	43.45	Reactive	M
	0300062260492400038	286.293	Valid	632.090	7.48	Reactive	M
	0300062260592500071	168.122	Valid	2.170.727	25.68	Reactive	M
	0300062260692600111	276.147	Valid	356.124	4.21	Reactive	M
	0300062260792700043	236.931	Valid	1.098.798	13.00	Reactive	M
	0300062260892800010	114.759	Valid	3.021.374	35.75	Reactive	M
	0300062260992000069	278.460	Valid	2.575	0.03	NonReactive	M
	0300062261092900087						

Resultados Obtenidos

3290 donantes HCJSM

1032 donantes IAF

4322 donantes totales

Donantes BM reactiva

5 HCV reactivos (aHCV reactivos)

5 HIV reactivos (aHIV reactivos)

5 HBV reactivos (3 HBsAg reactivos– 5 HBCore reactivos)

Donantes BM no reactiva

54 HBcore

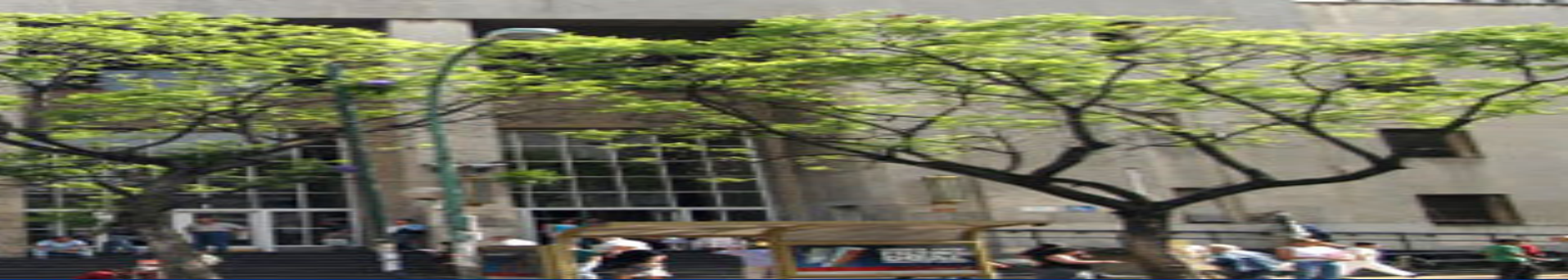
1 HBsAg

8 Combo HIV Ag/Ac

6 a-HCV

7 a-HIV

A excepcion de los HBc
todas las muestras
presentaron valores
cercanos al Cut Off



MUCHAS GRACIAS

