

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

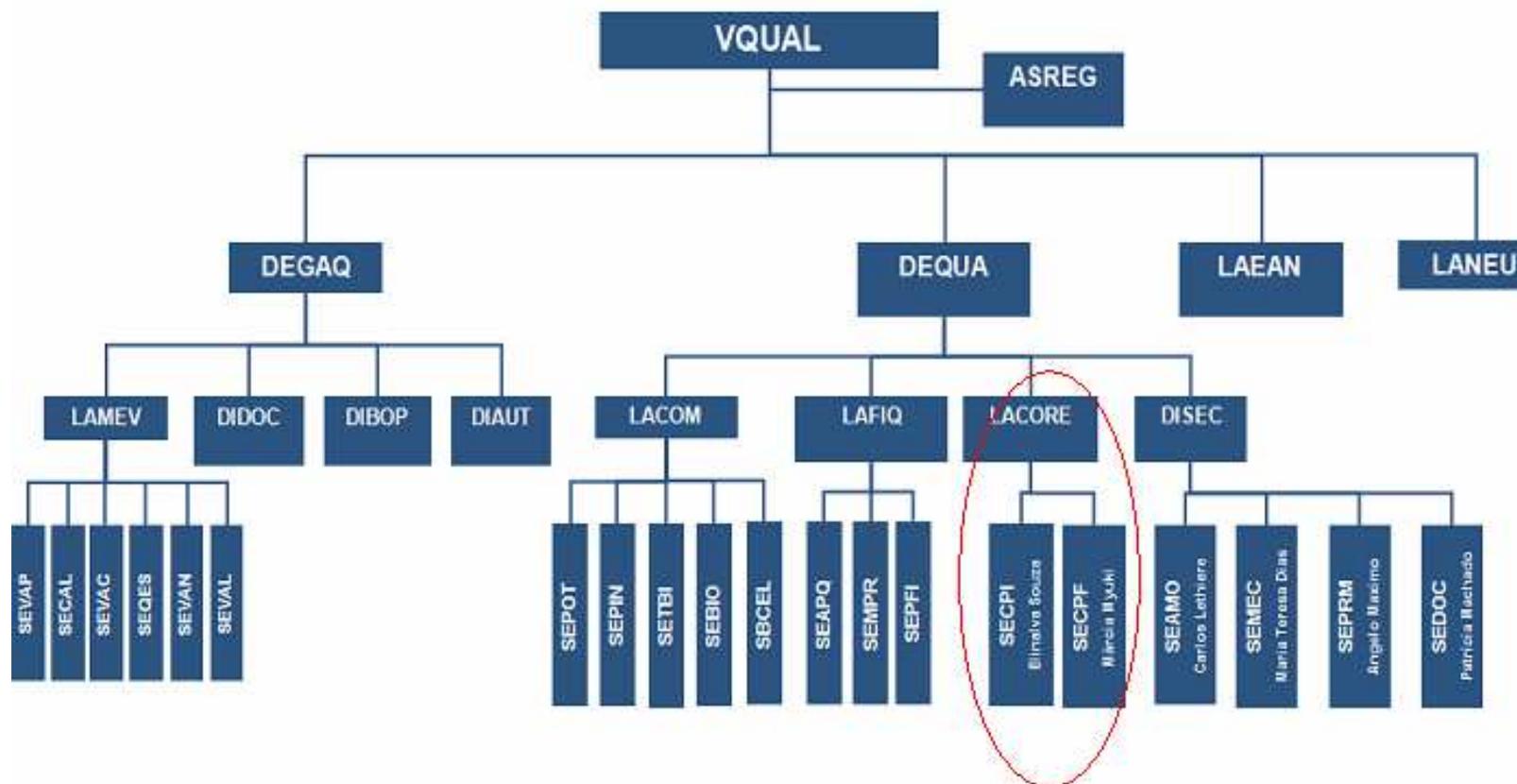


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

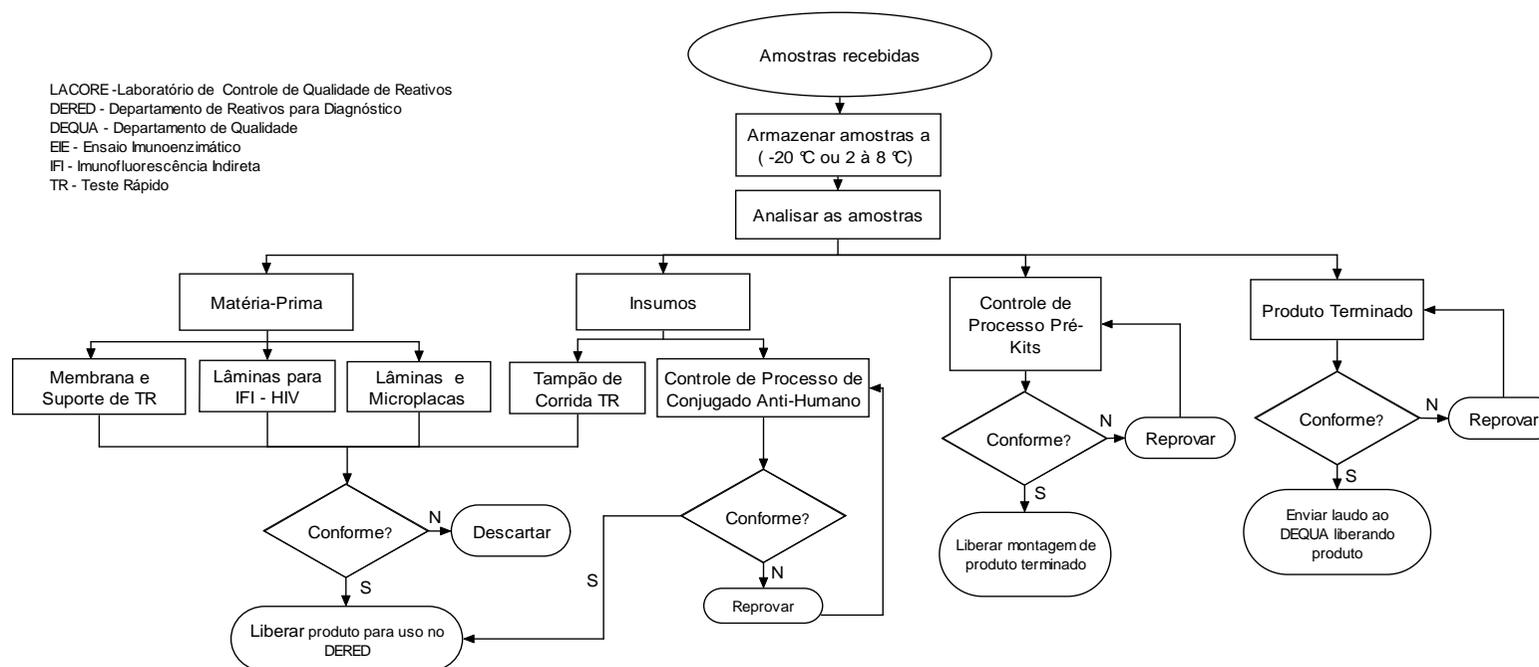


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

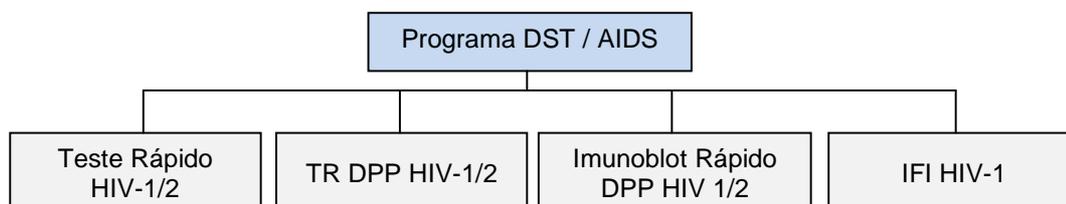


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

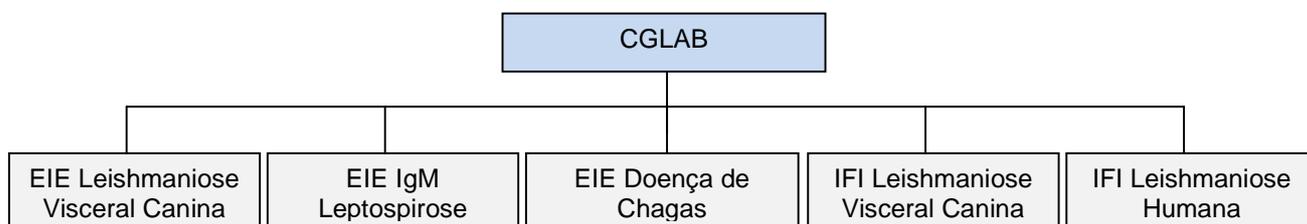


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão. (ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

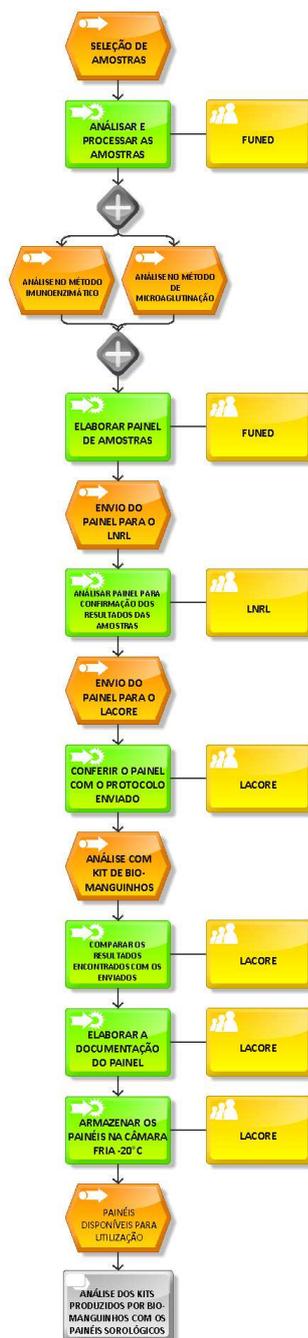


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado “ECM” as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema “ERP”, onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

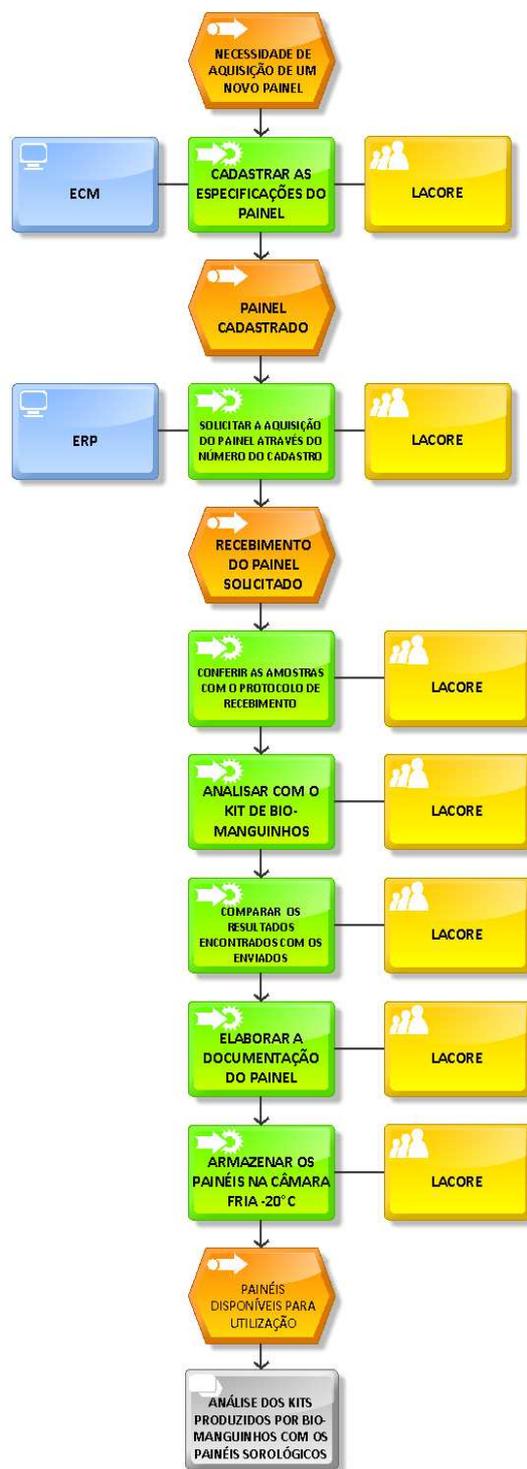


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

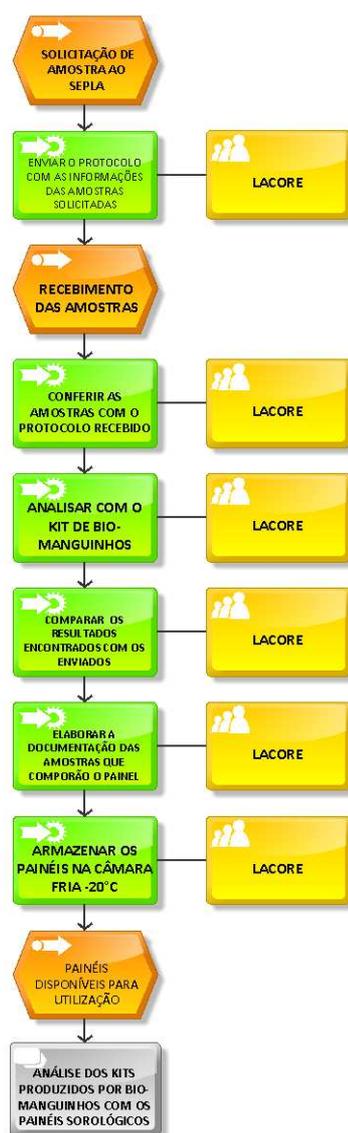


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

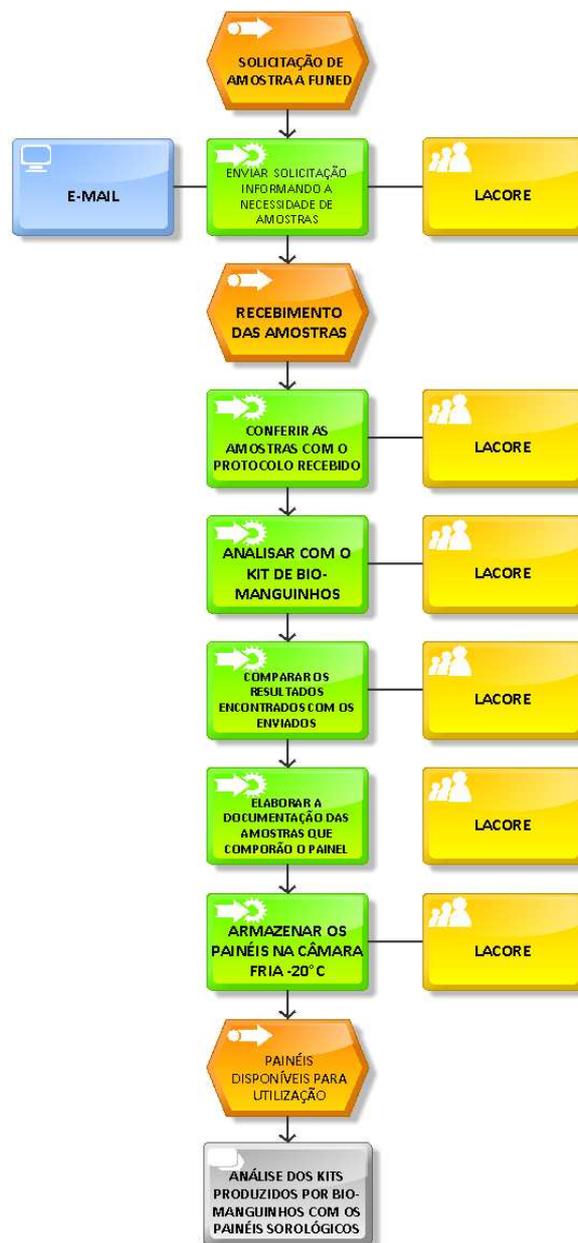


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

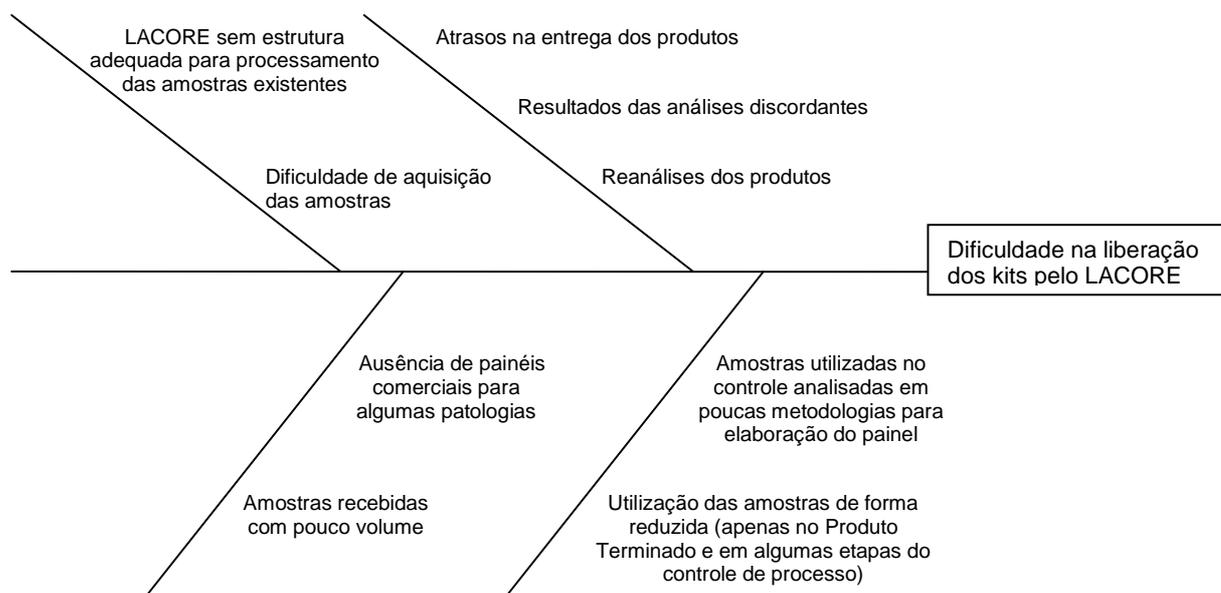


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Painel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

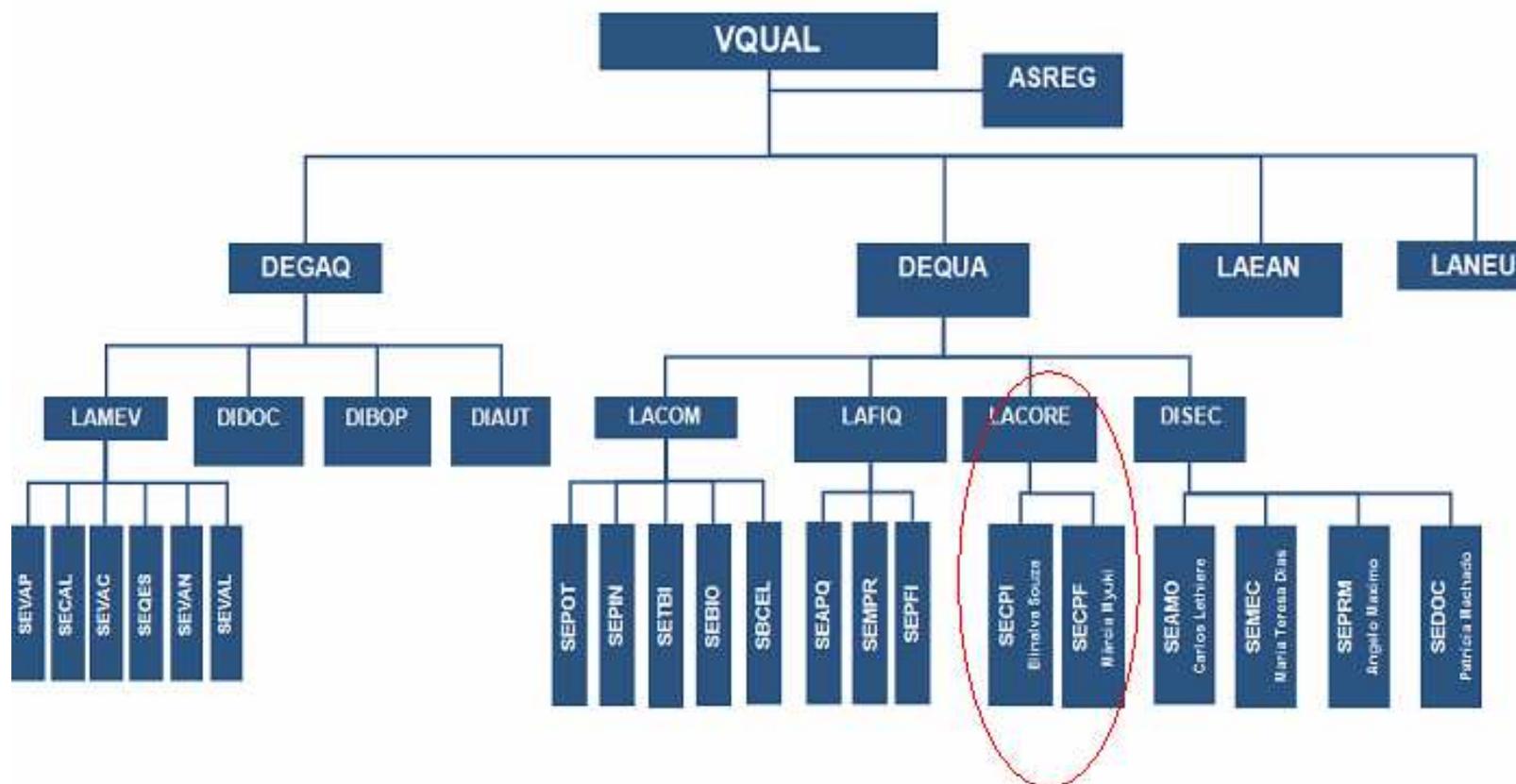


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

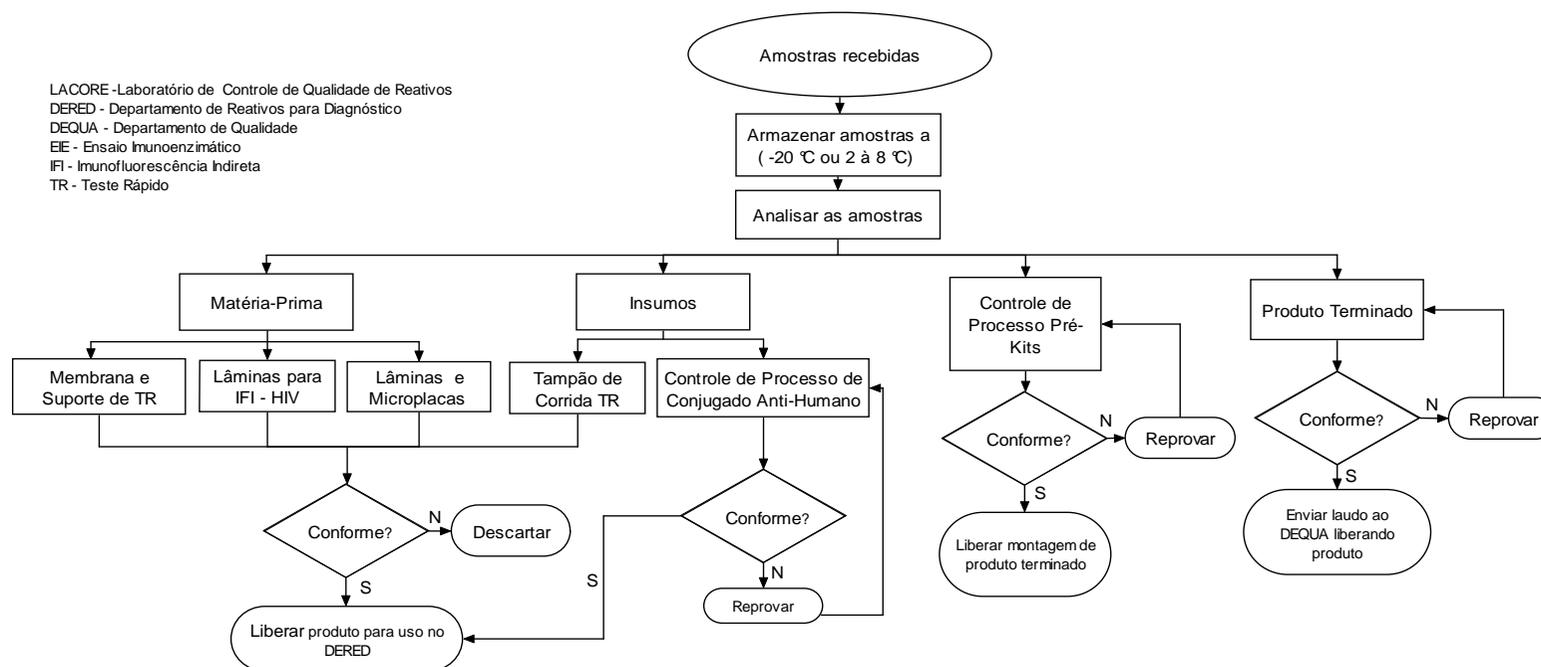


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

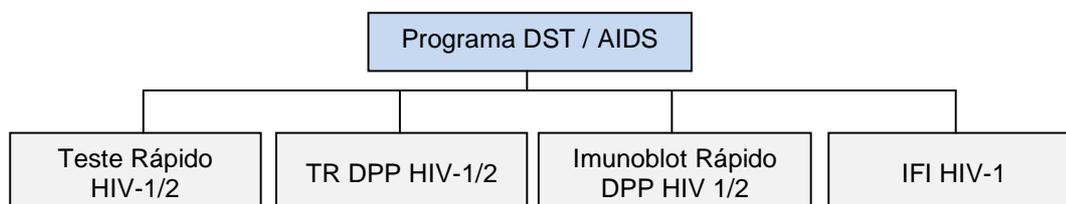


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

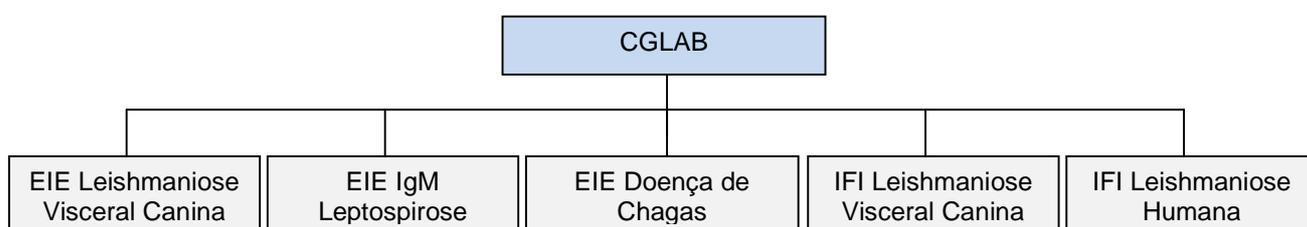


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão.(ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

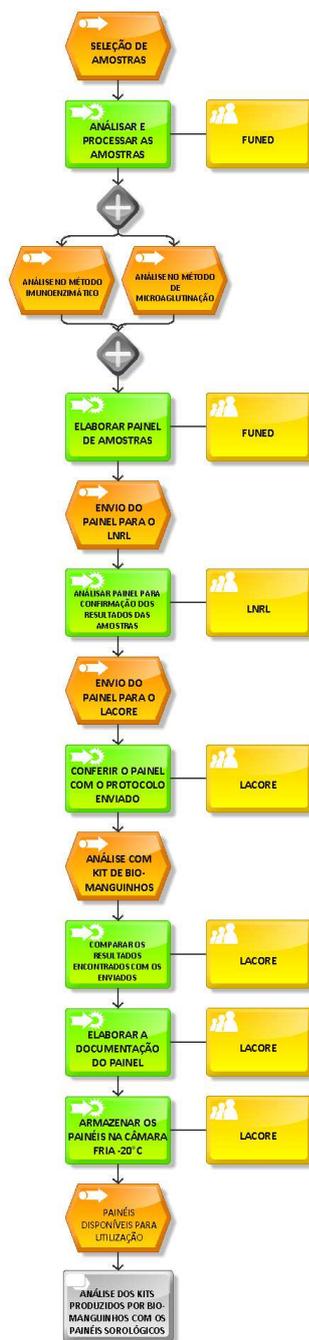


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado “ECM” as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema “ERP”, onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

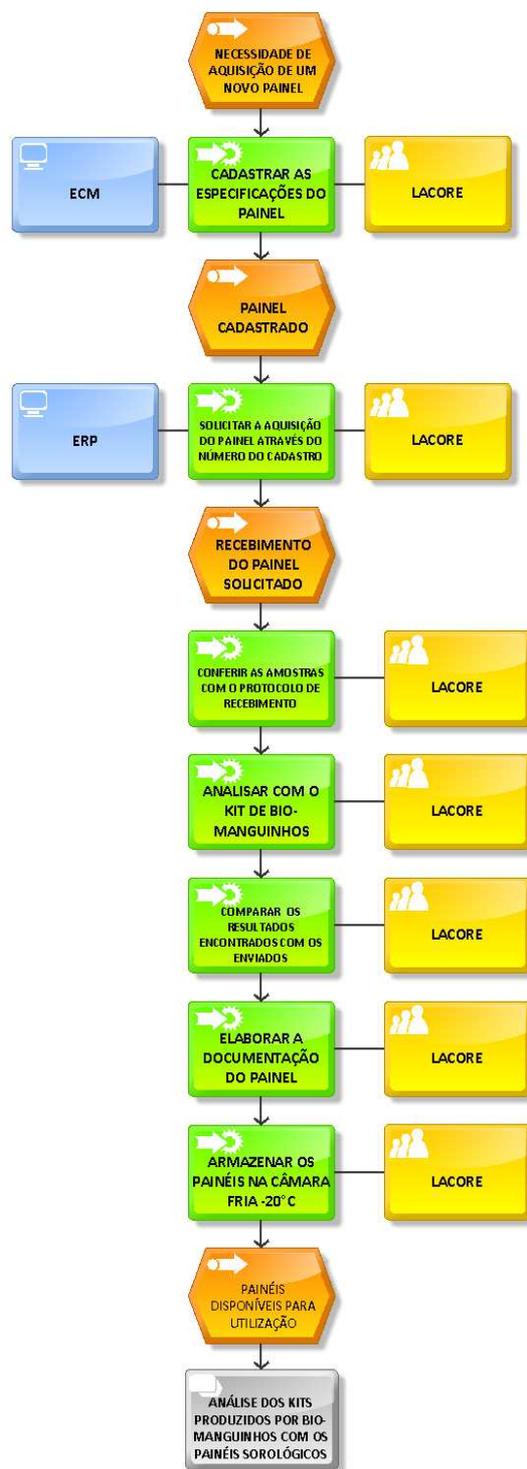


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

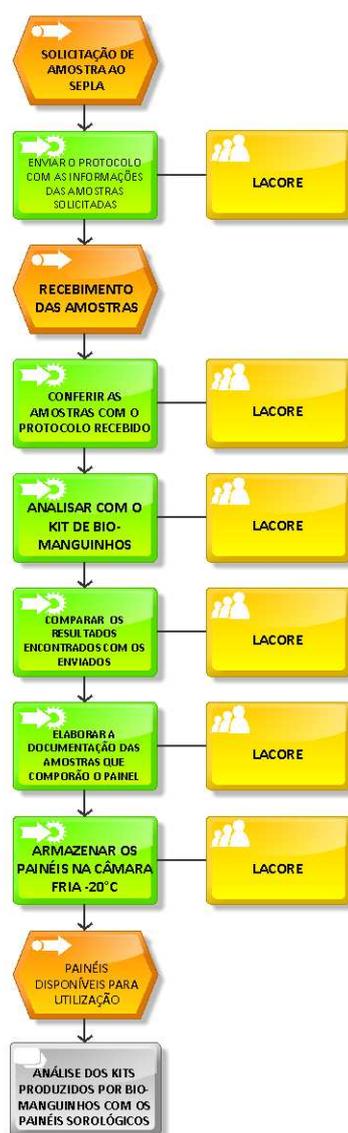


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

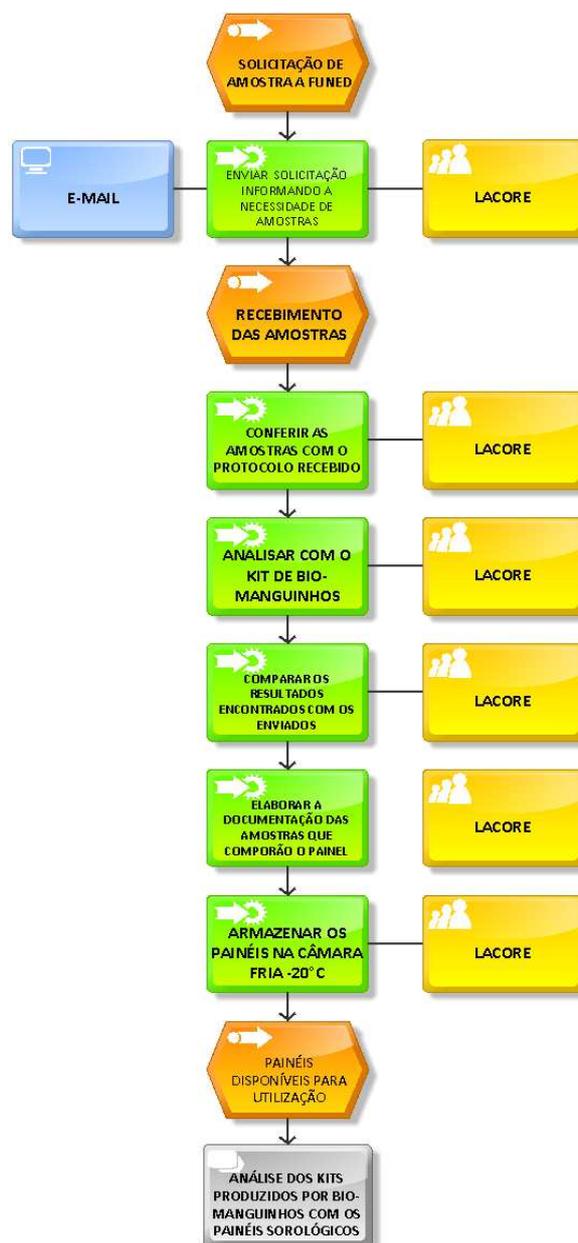


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

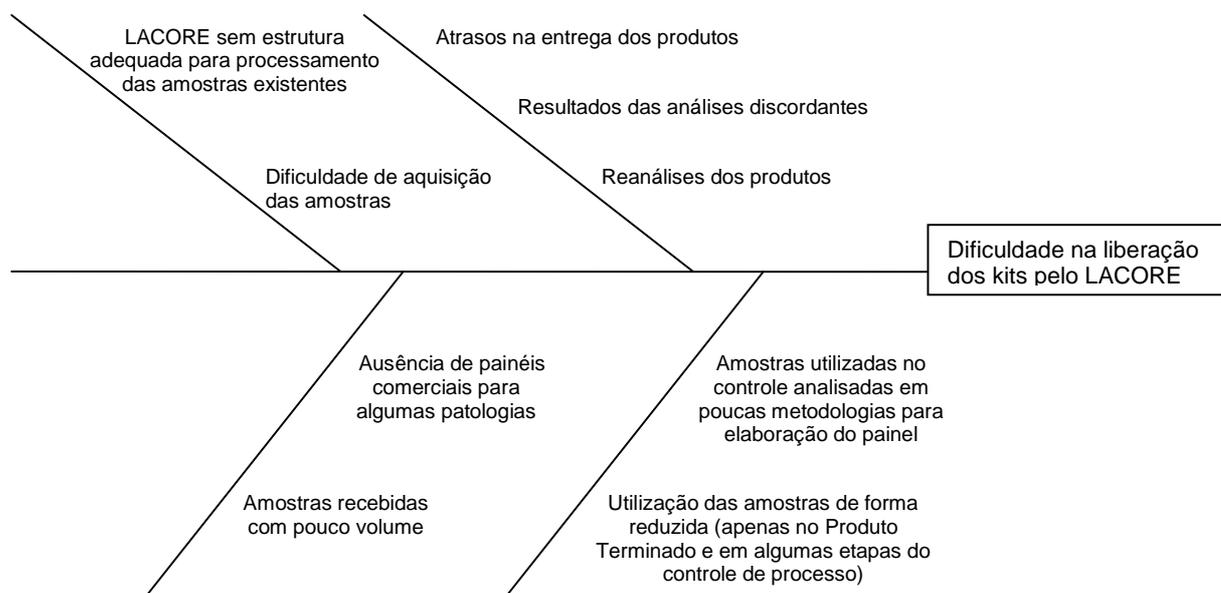


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Painel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

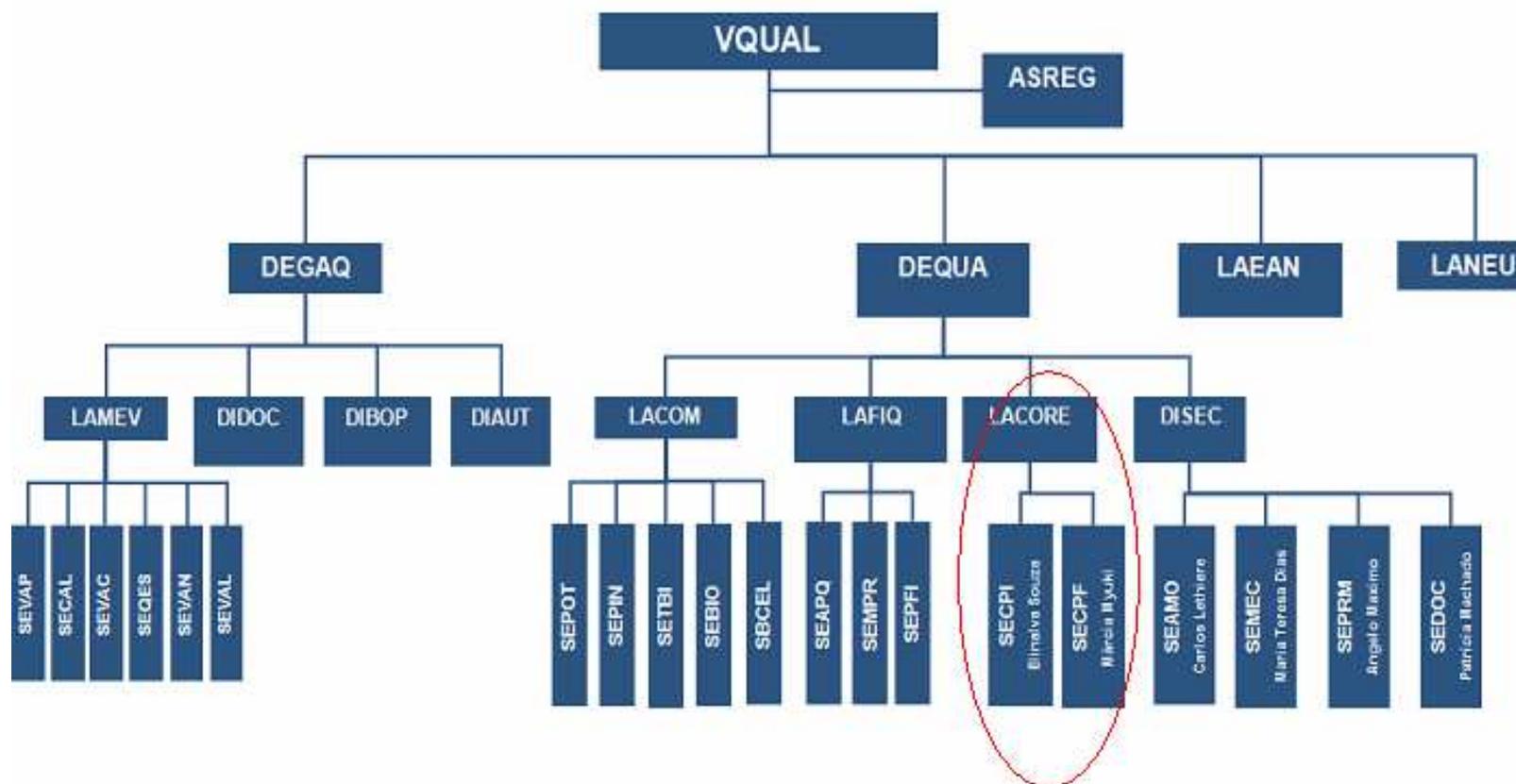


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

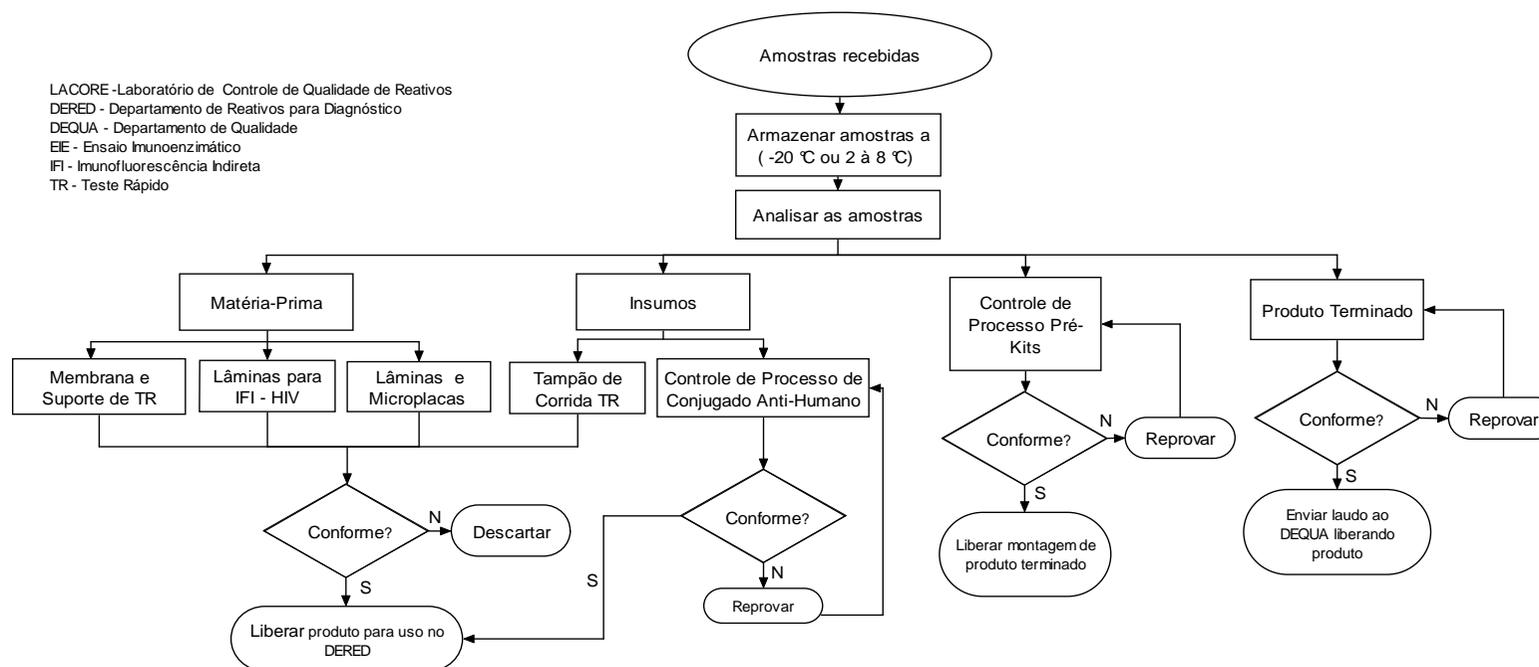


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

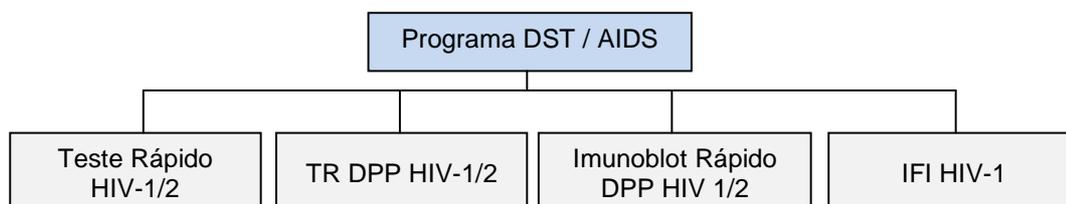


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

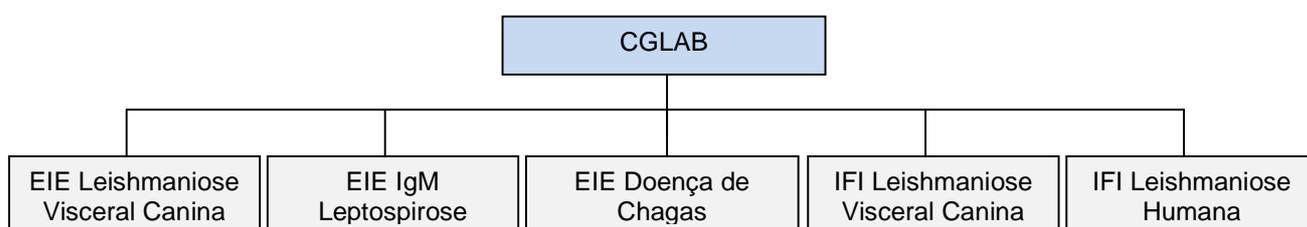


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão.(ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE a responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

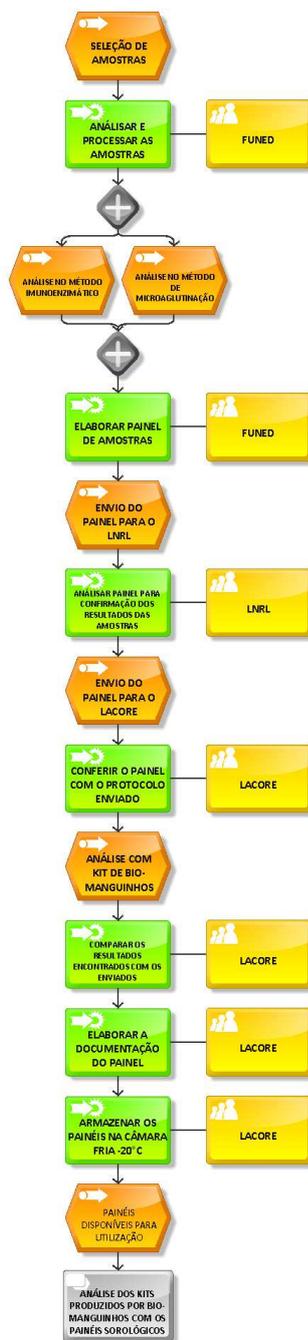


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado "ECM" as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema "ERP", onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

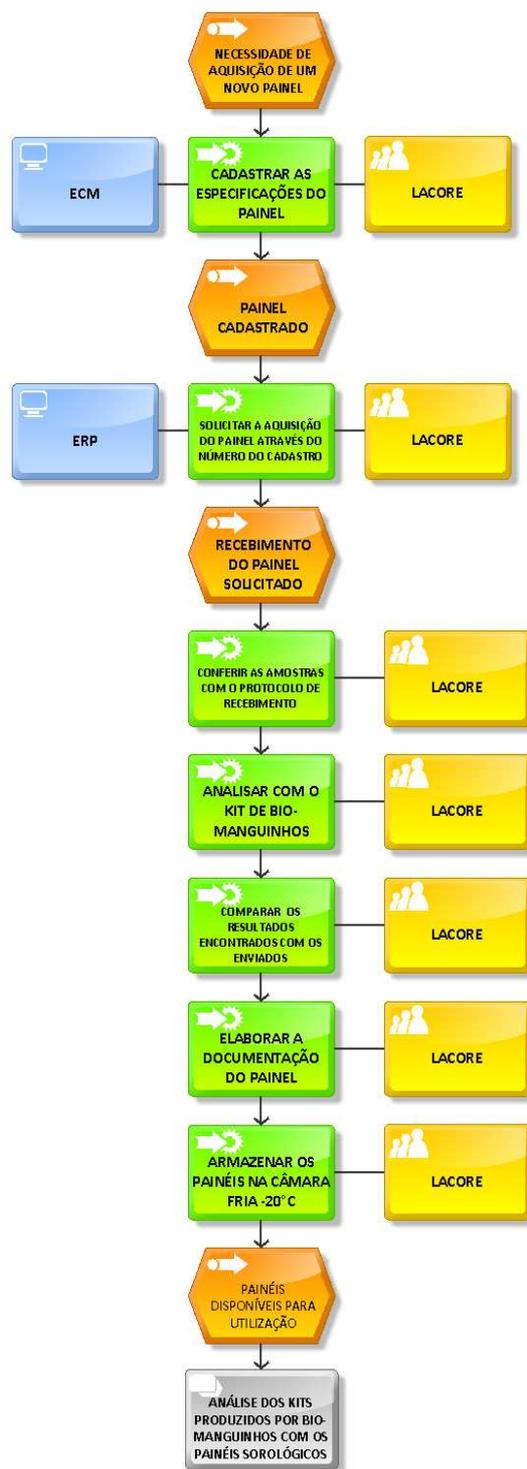


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

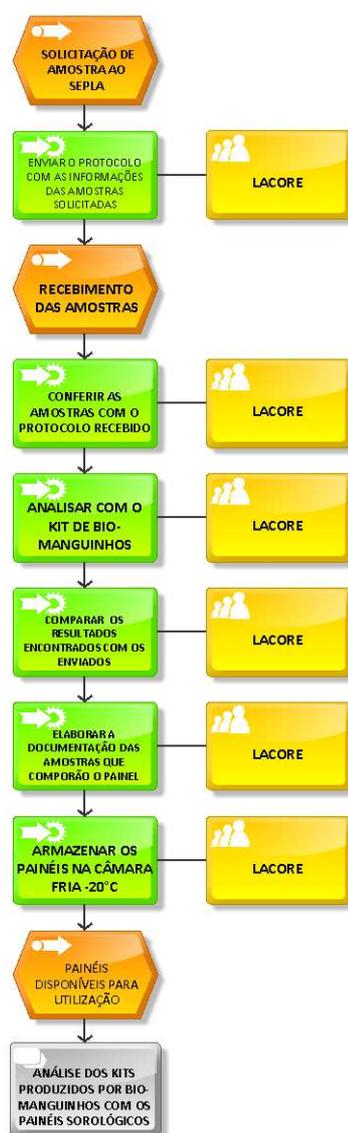


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

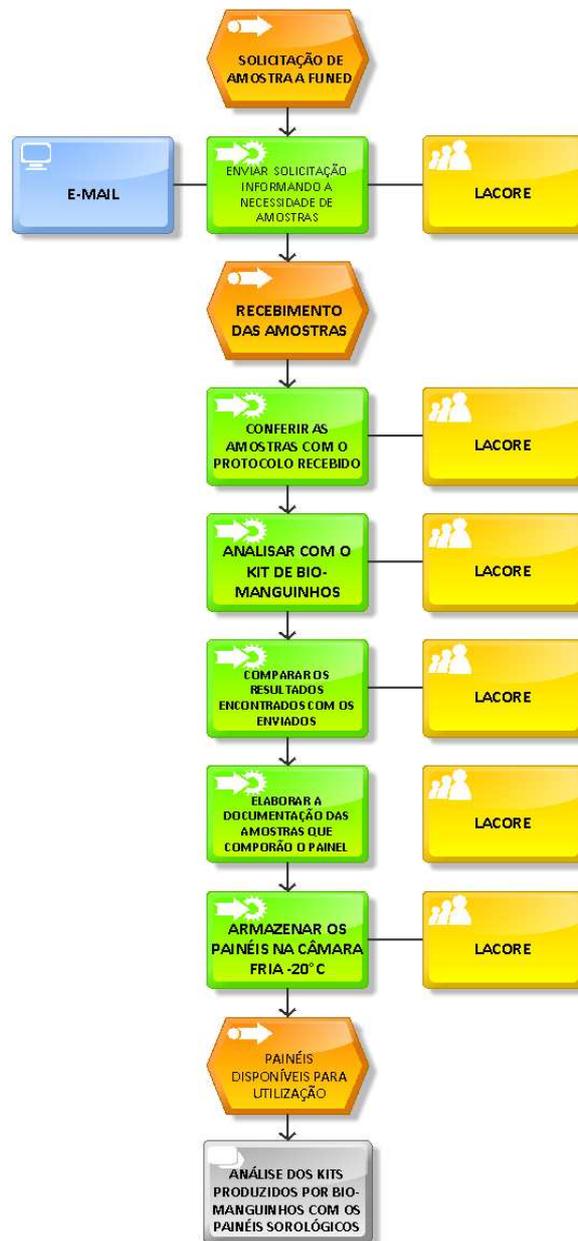


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

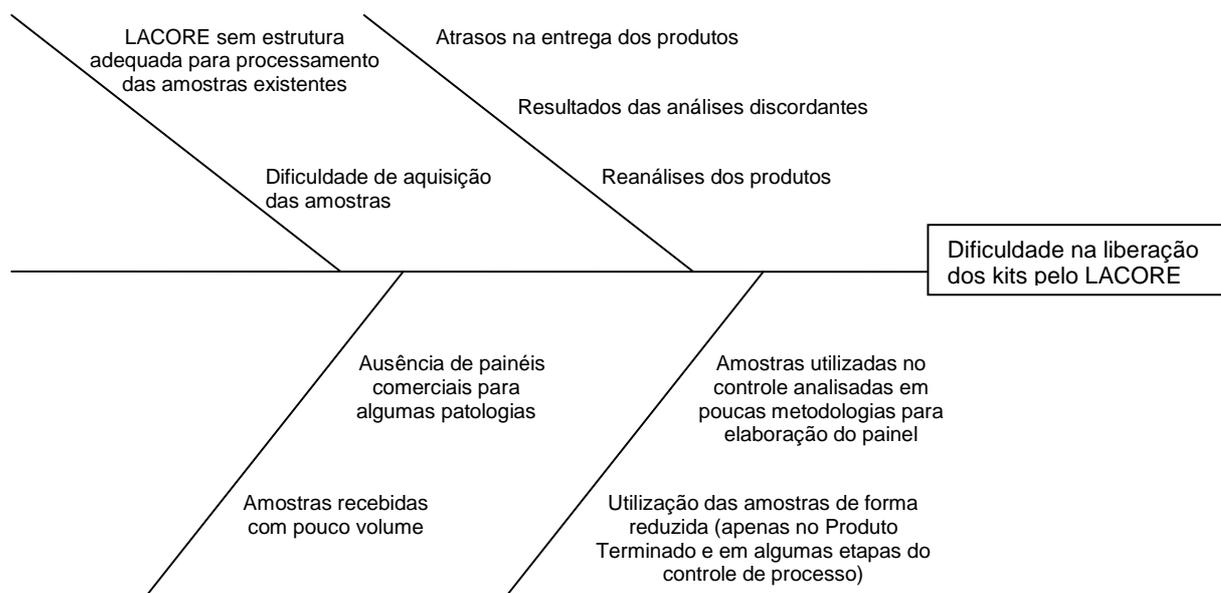


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Painel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competitividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

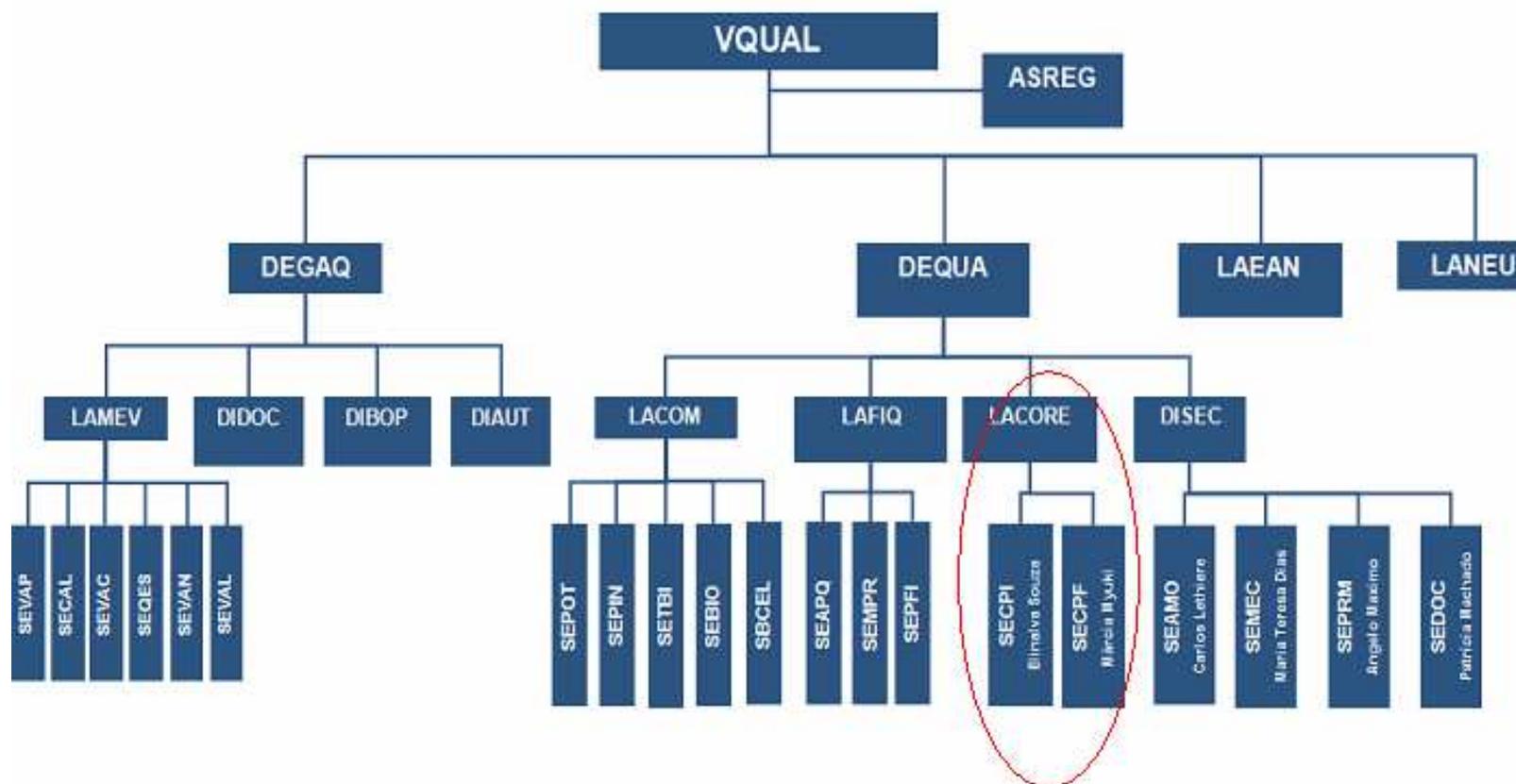


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

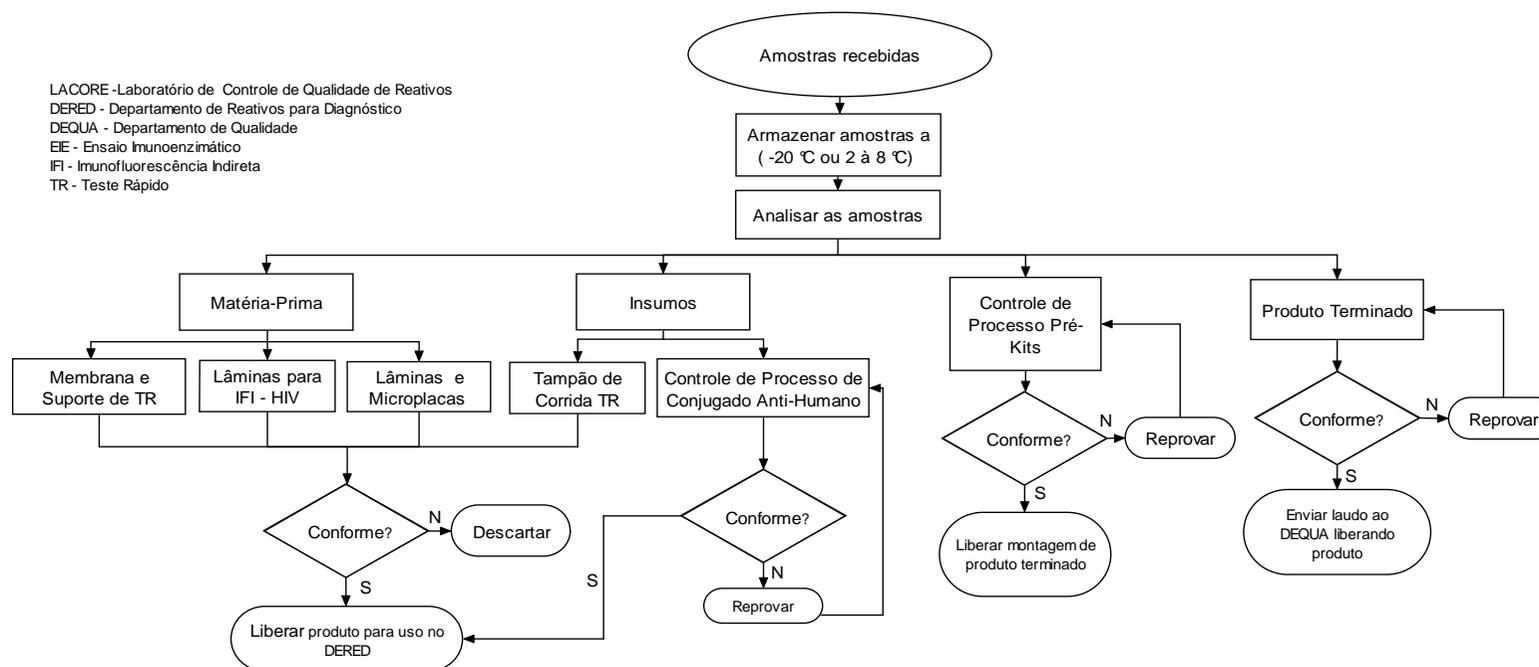


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

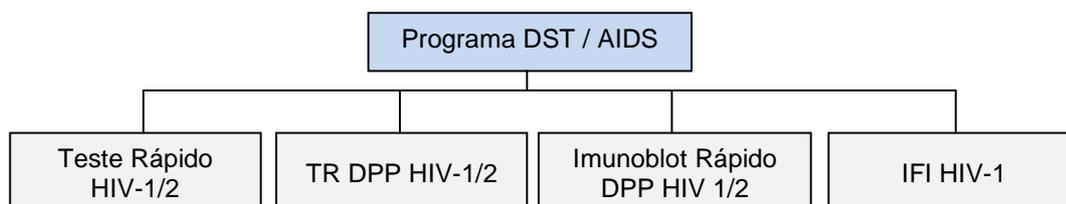


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

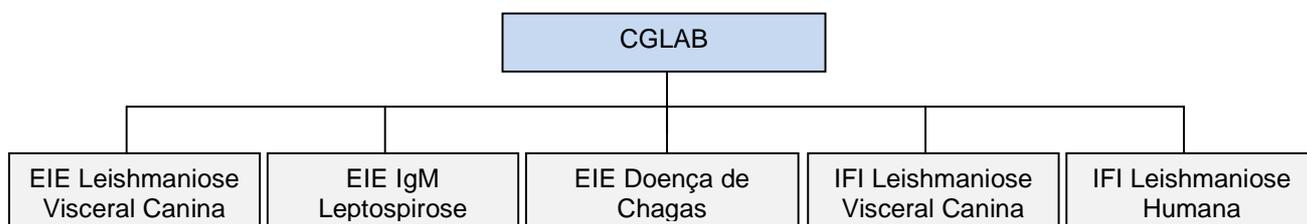


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão. (ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

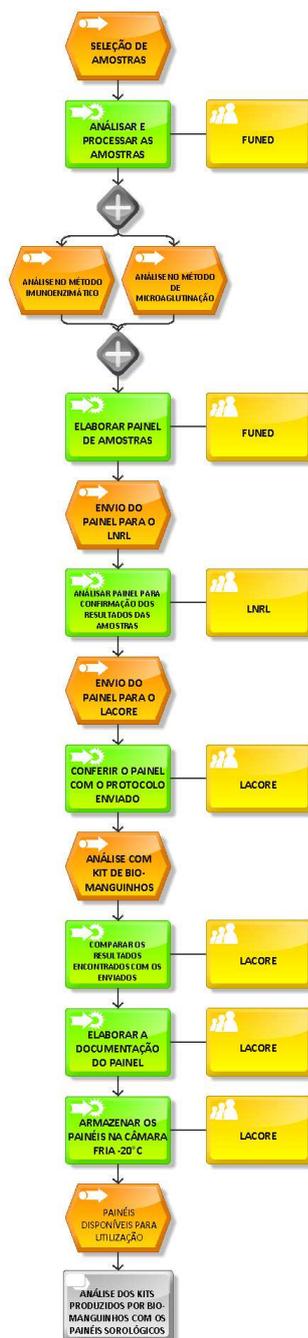


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado "ECM" as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema "ERP", onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

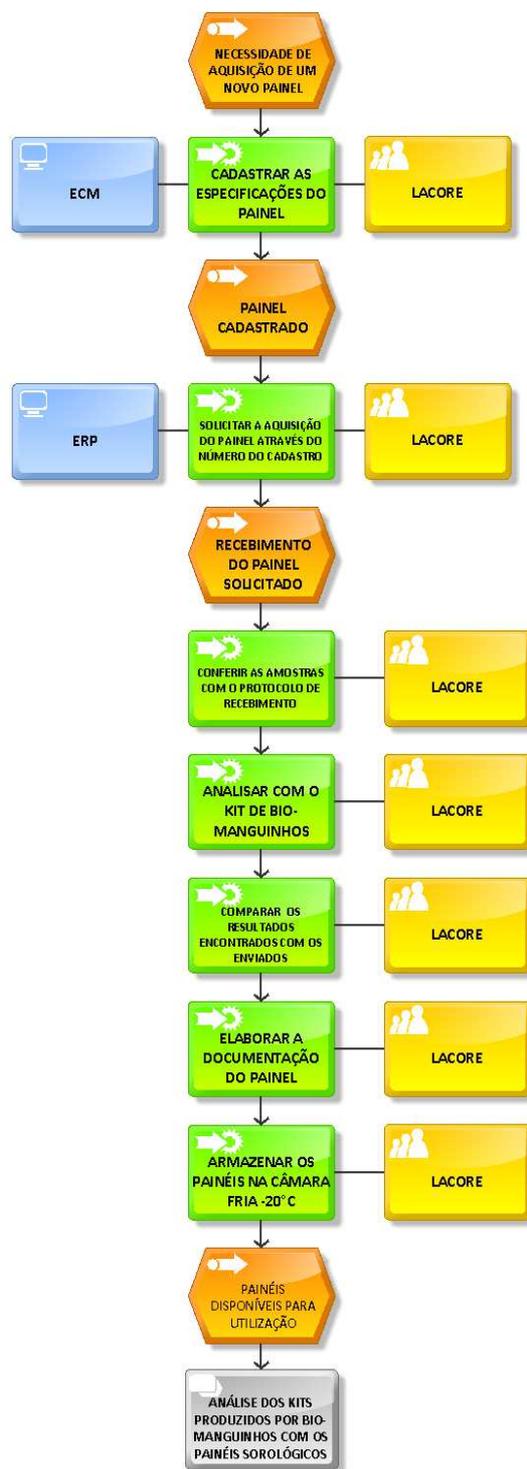


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

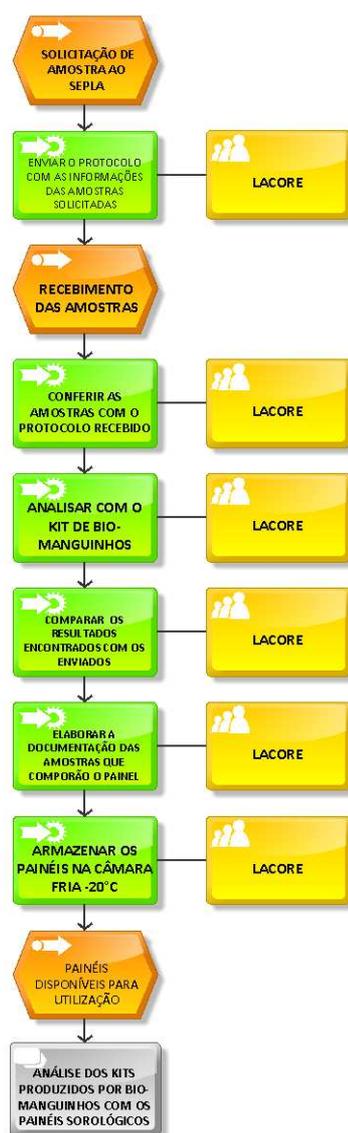


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

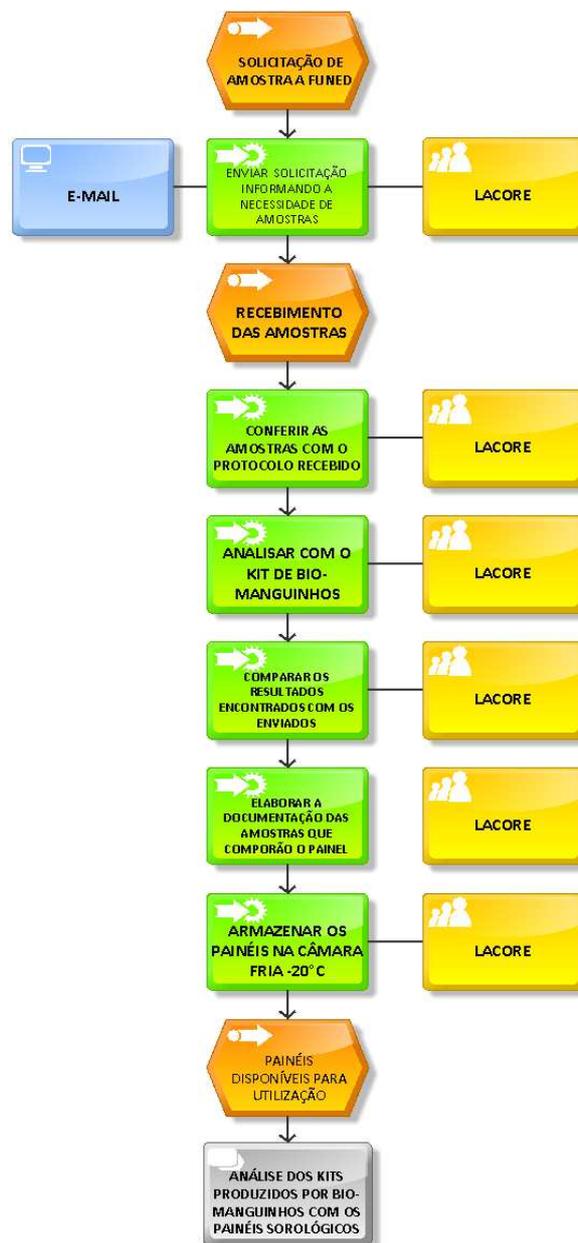


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

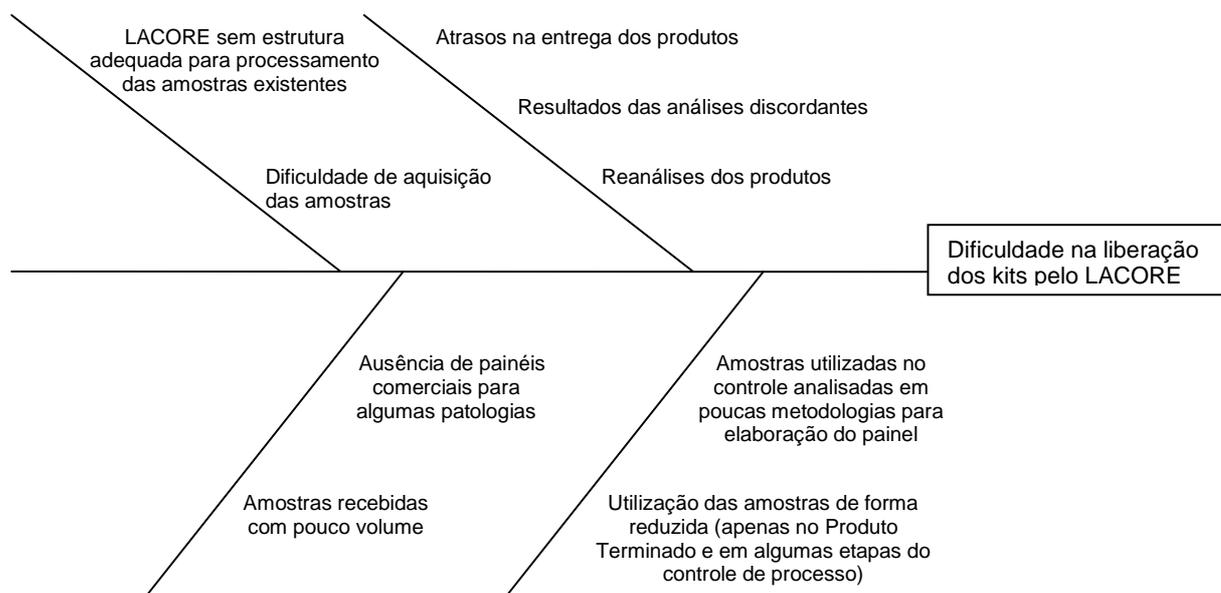


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Painel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

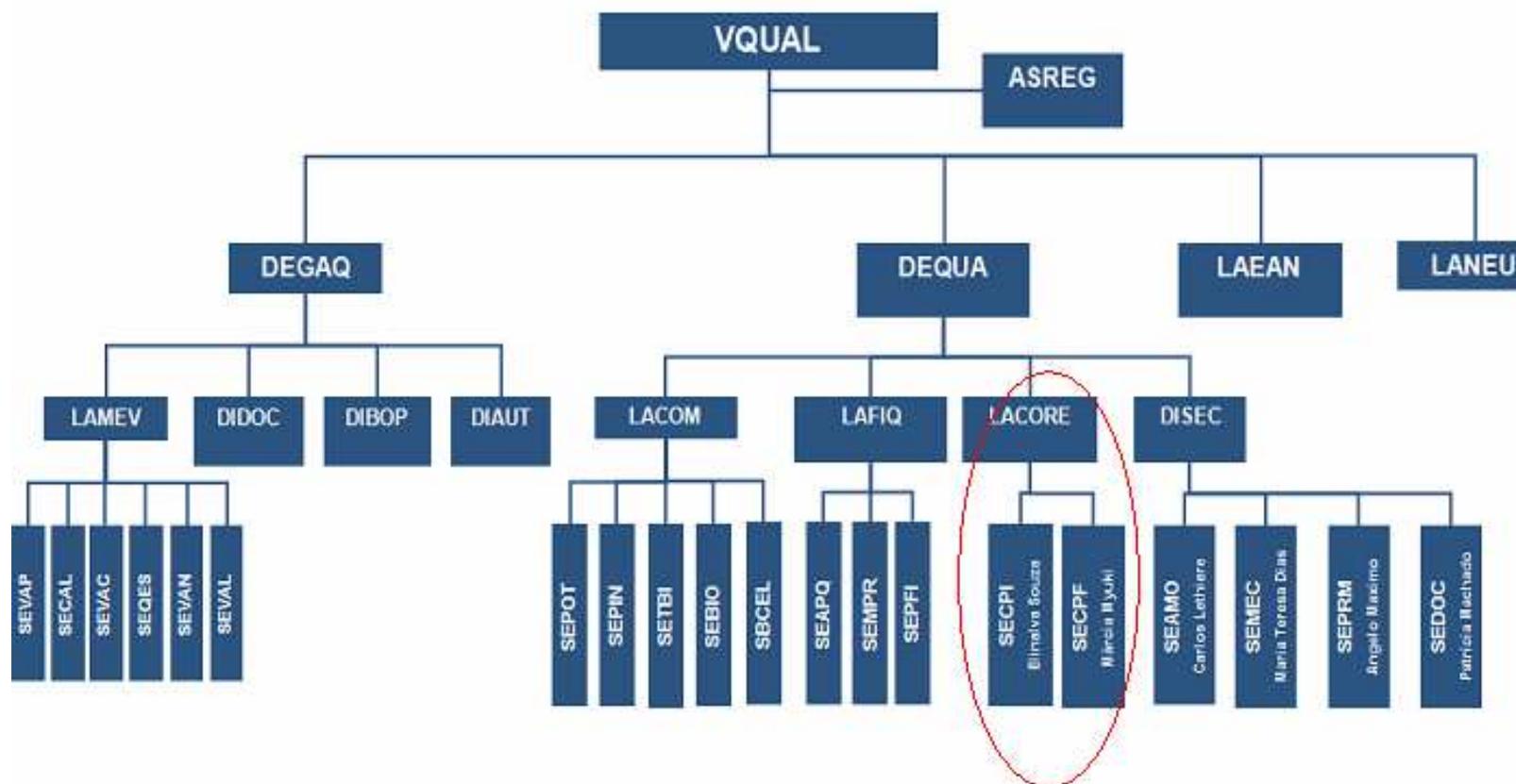


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

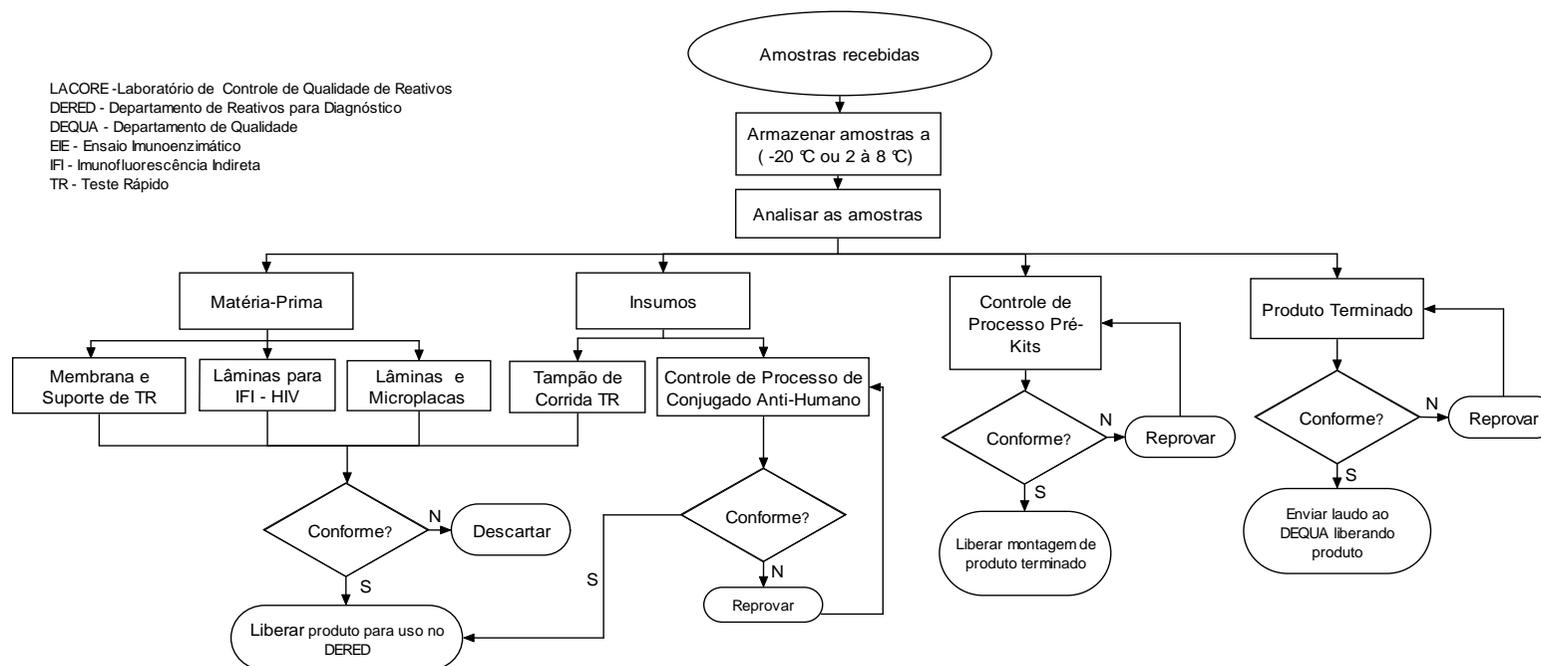


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

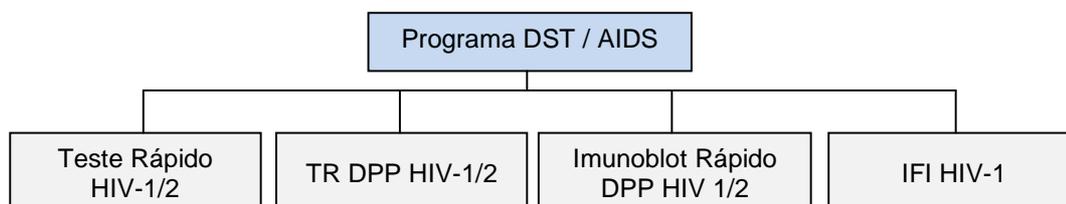


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

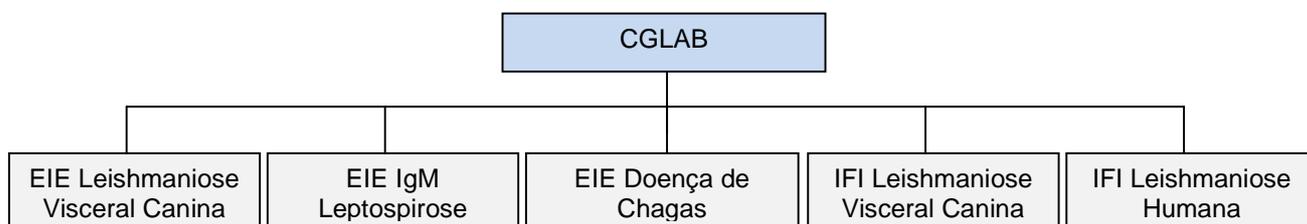


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão.(ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

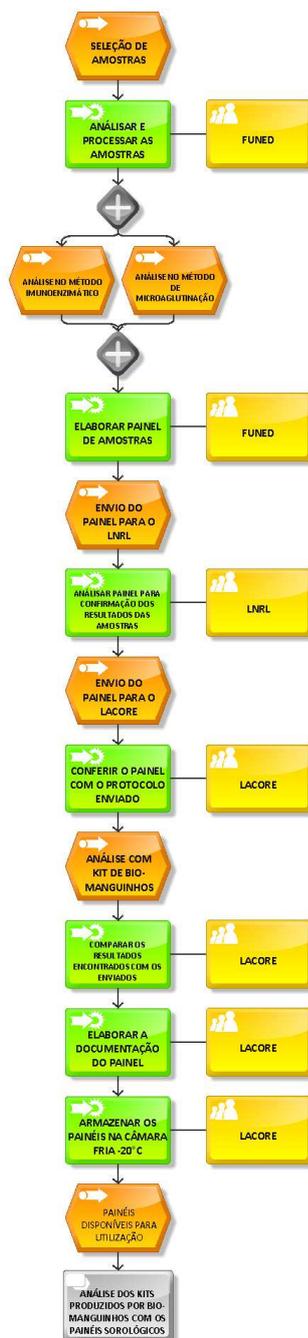


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado “ECM” as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema “ERP”, onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

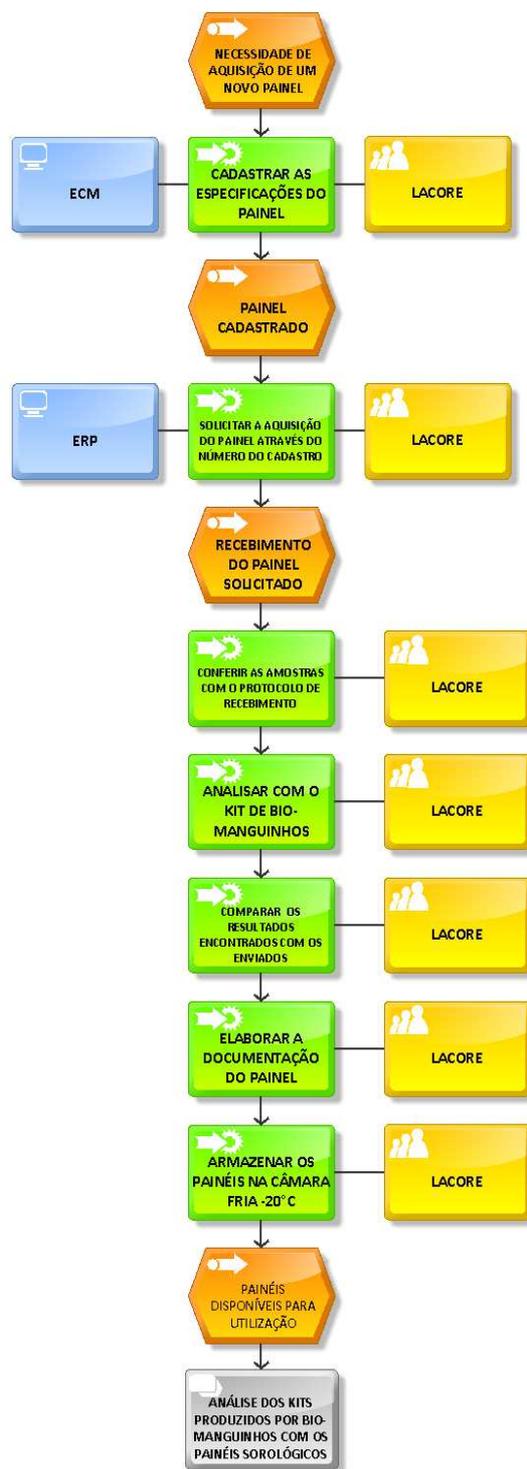


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

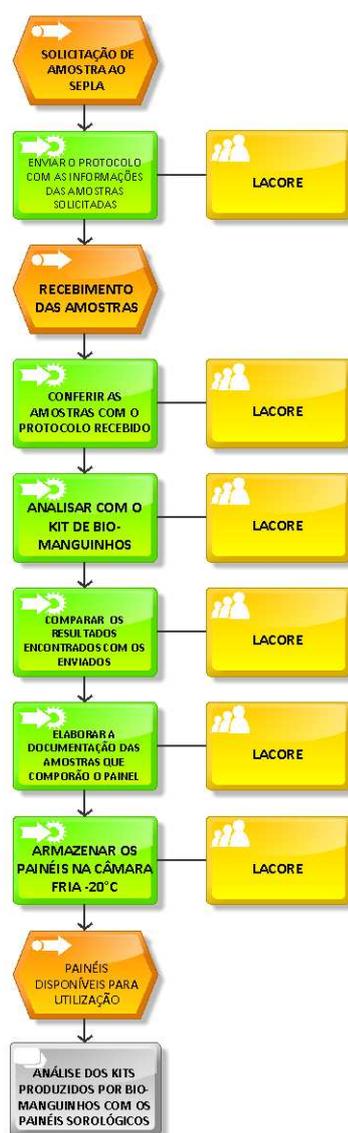


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

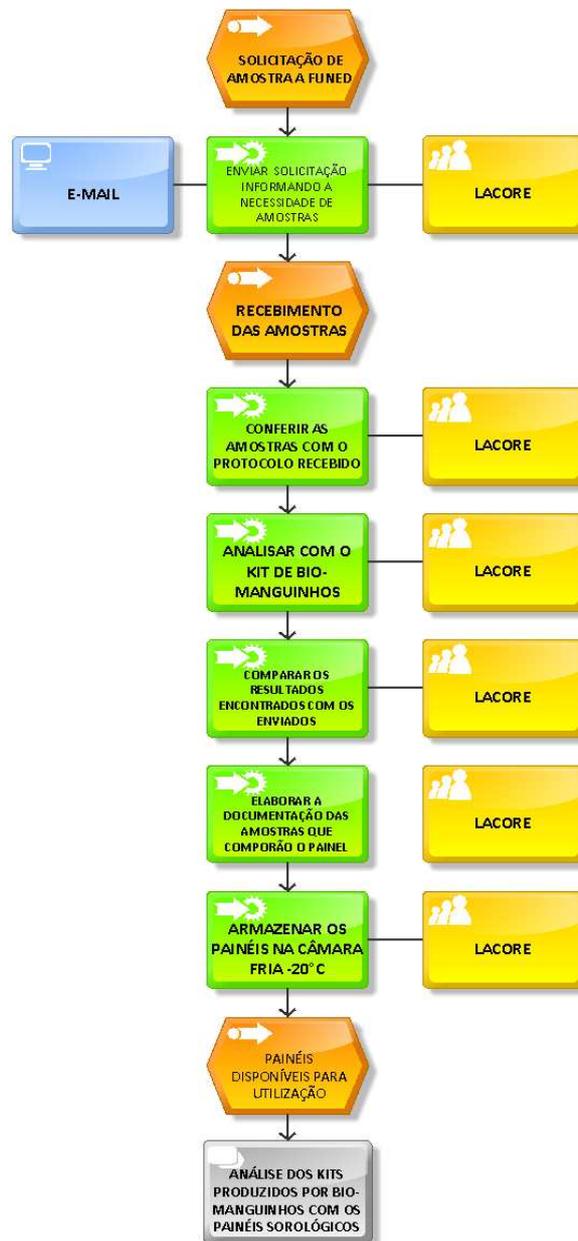


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

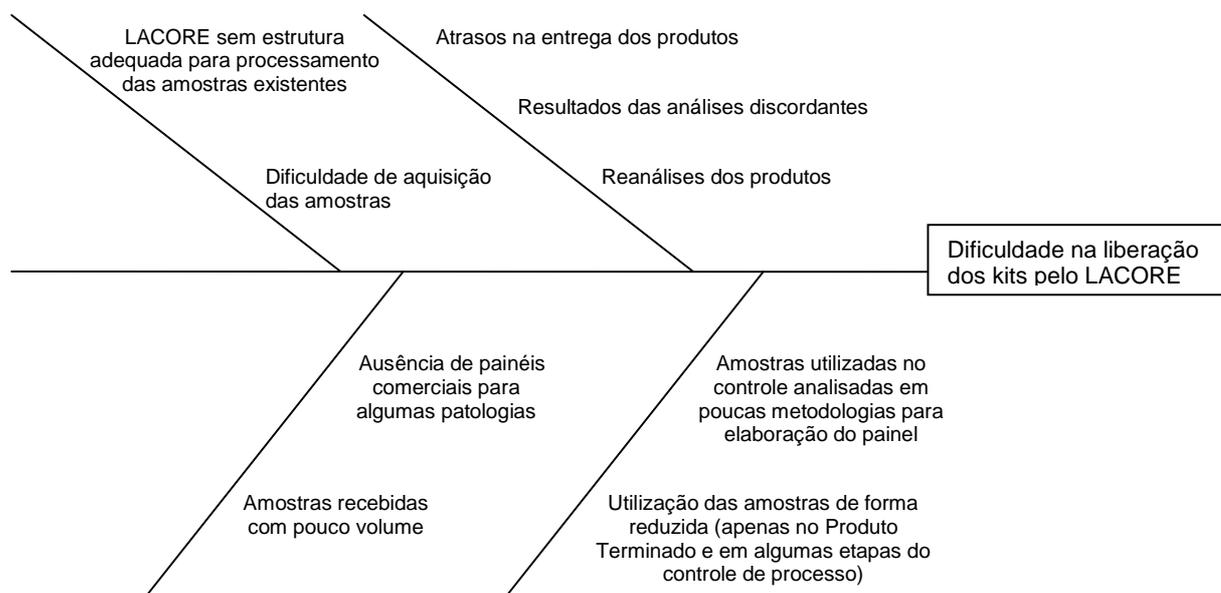


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Pannel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

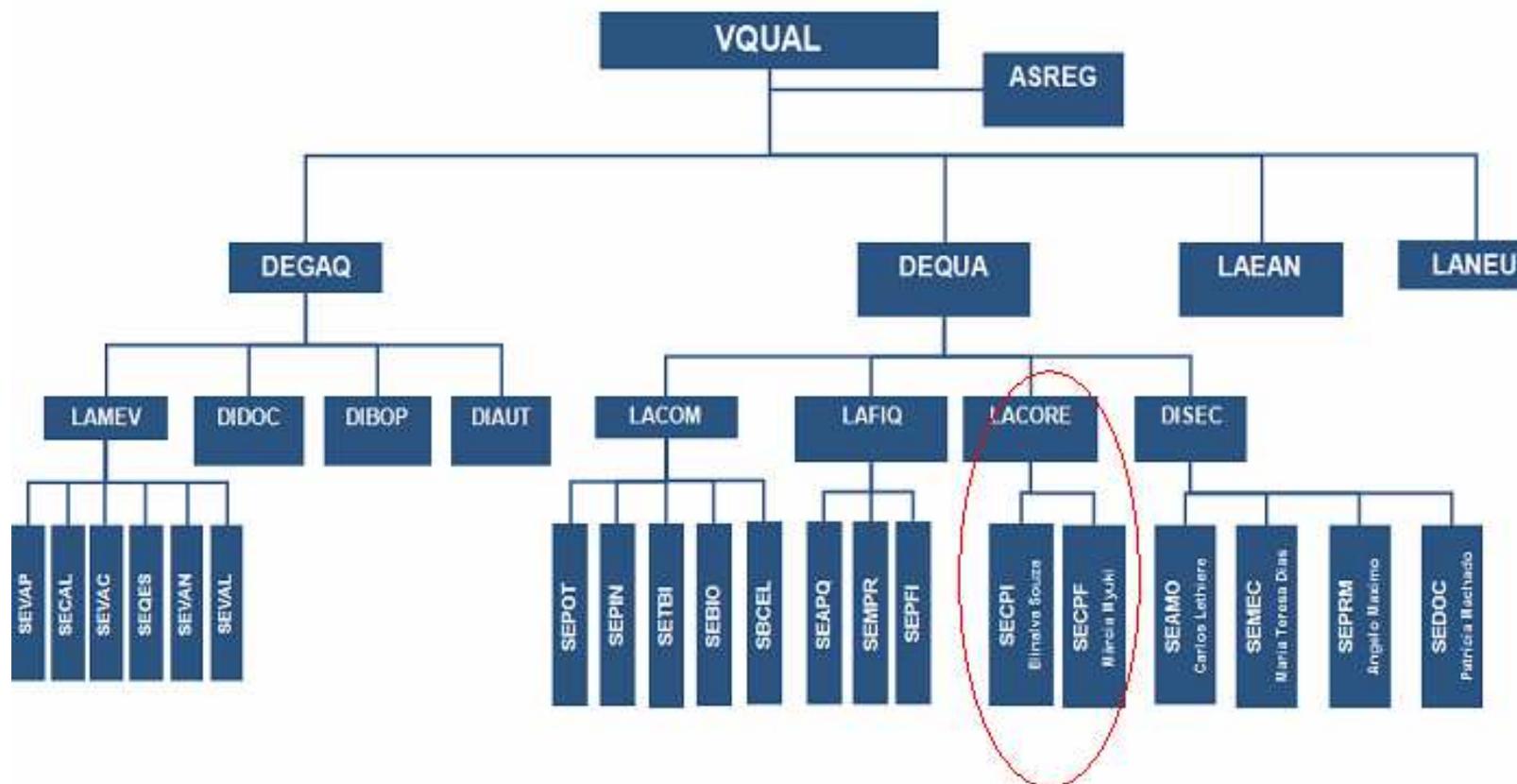


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

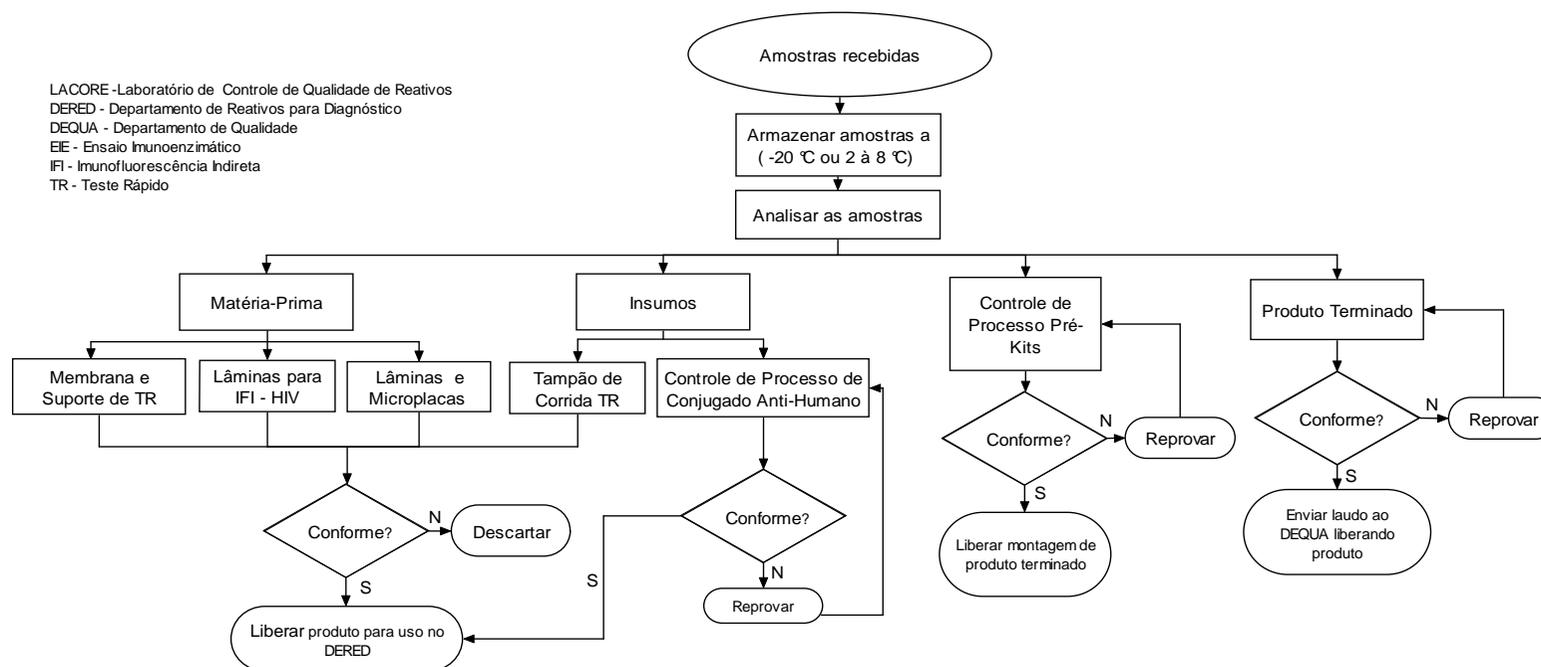


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

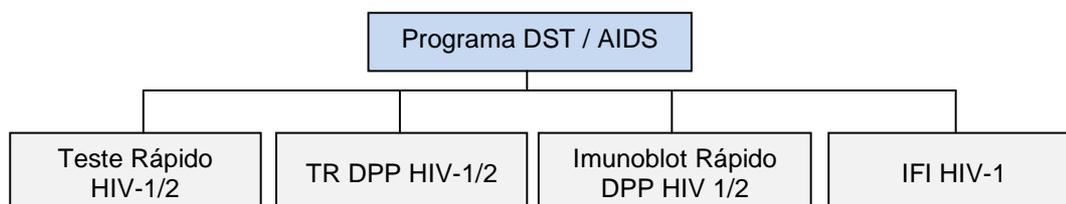


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

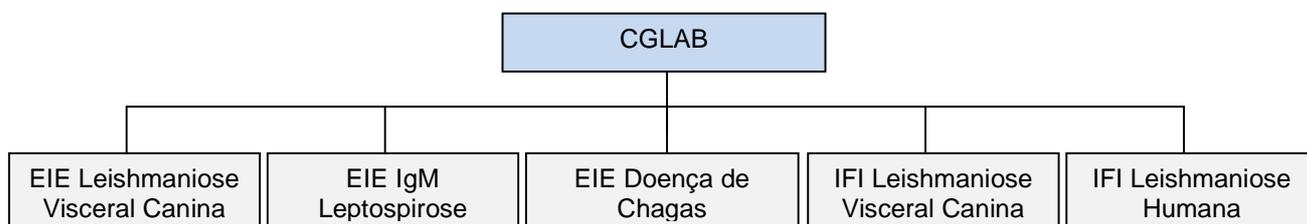


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão.(ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

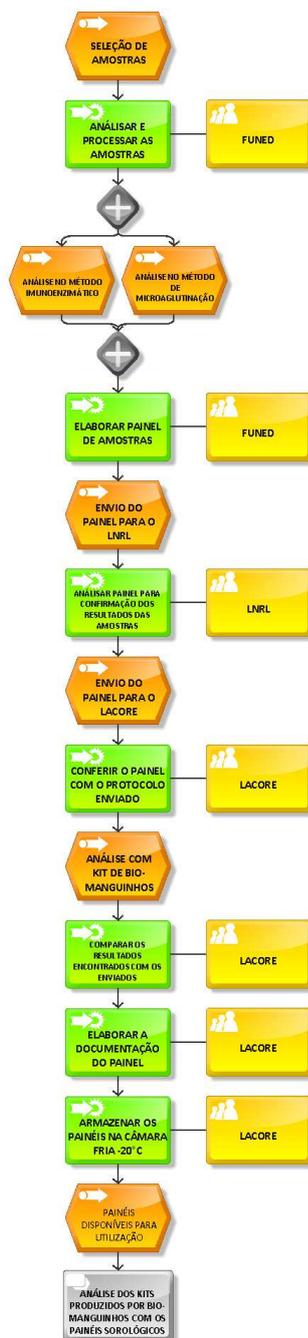


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado “ECM” as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema “ERP”, onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

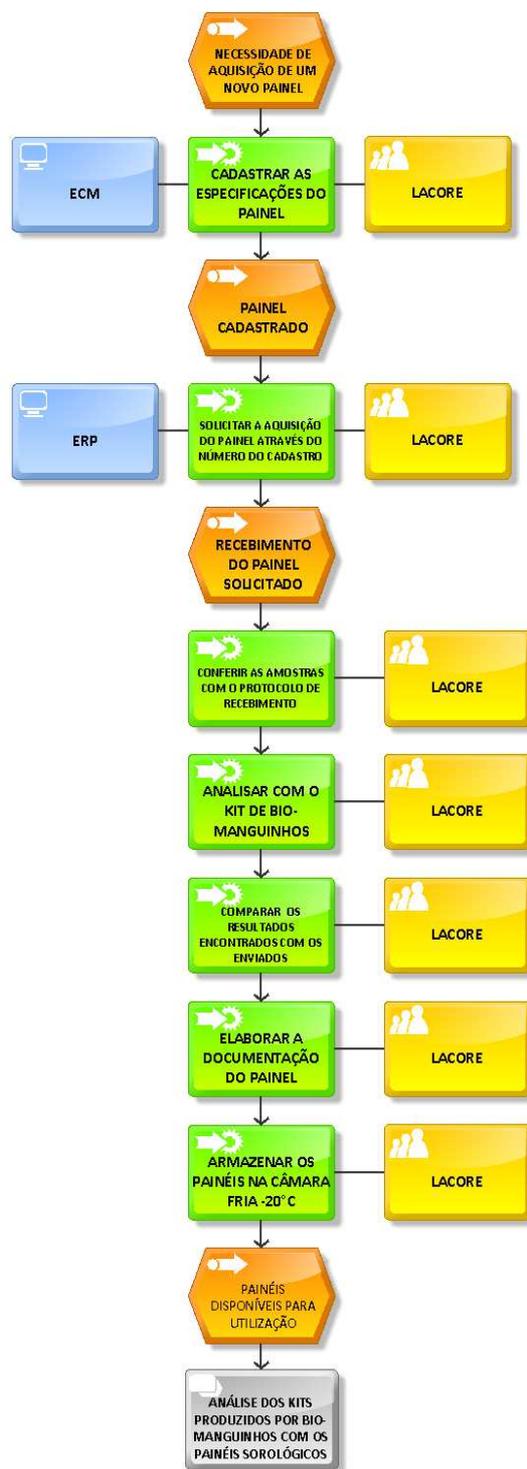


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

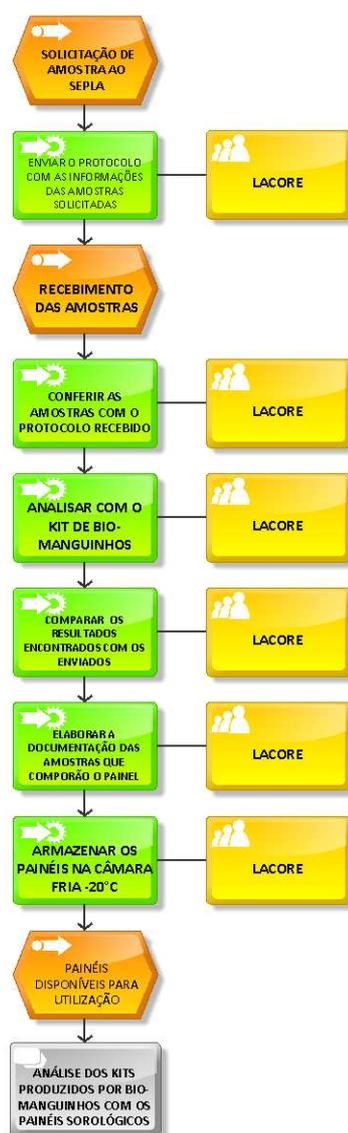


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

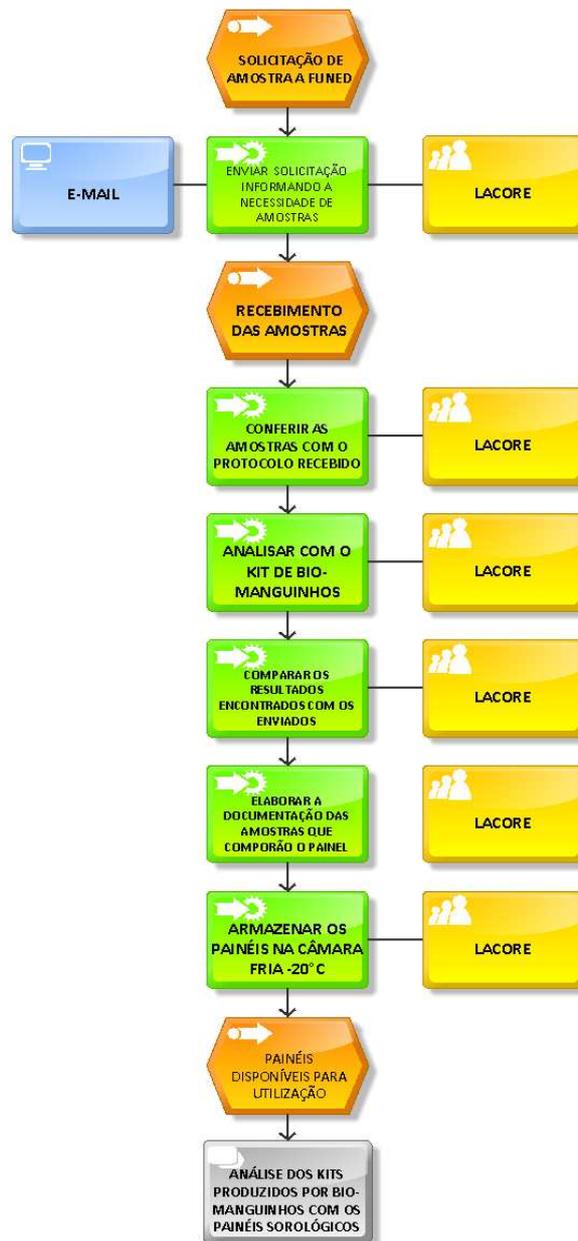


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

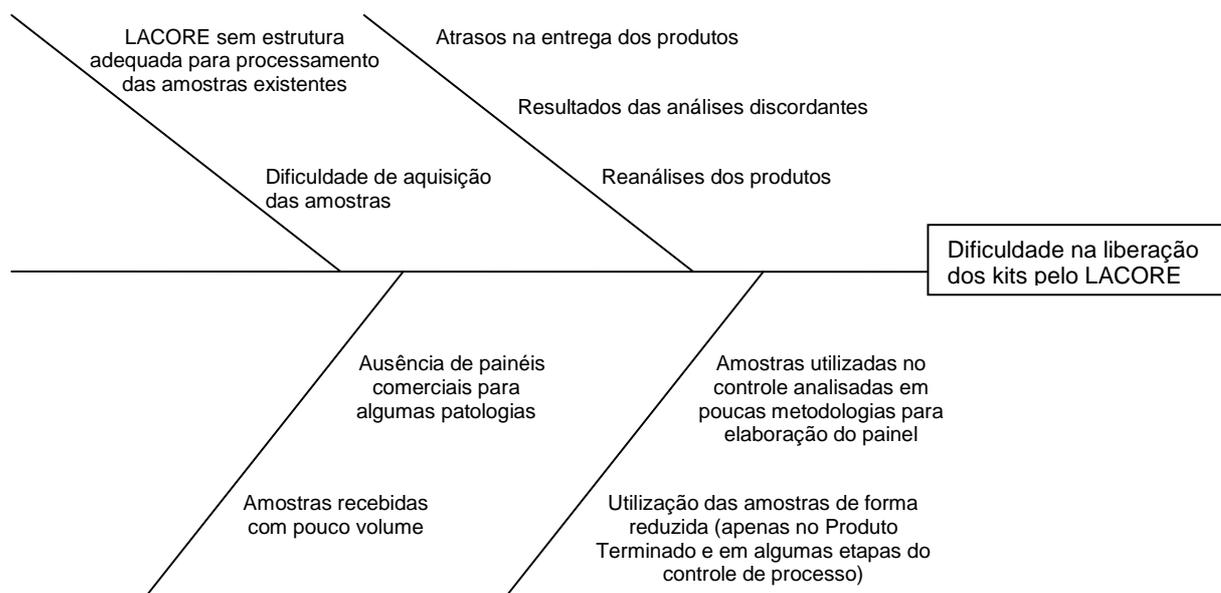


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Painel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

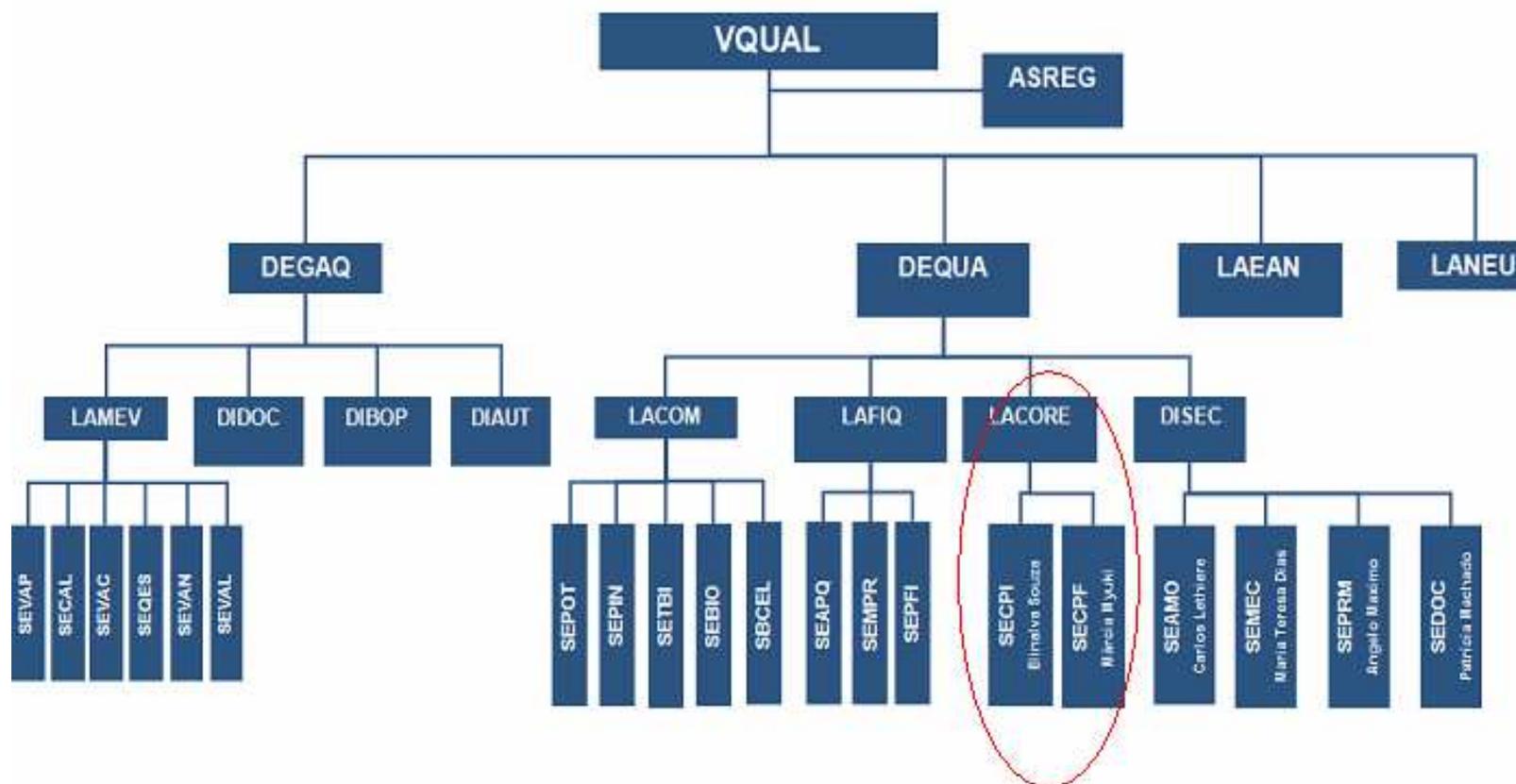


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

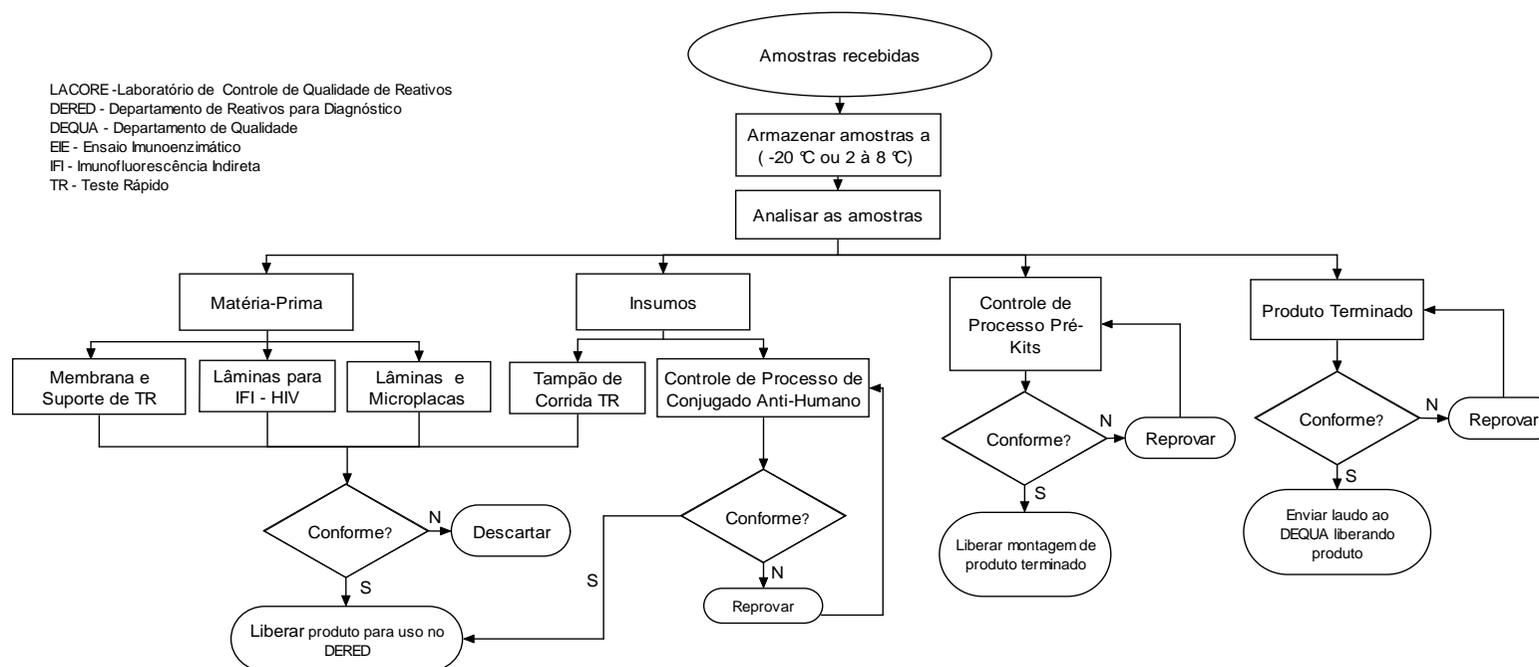


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

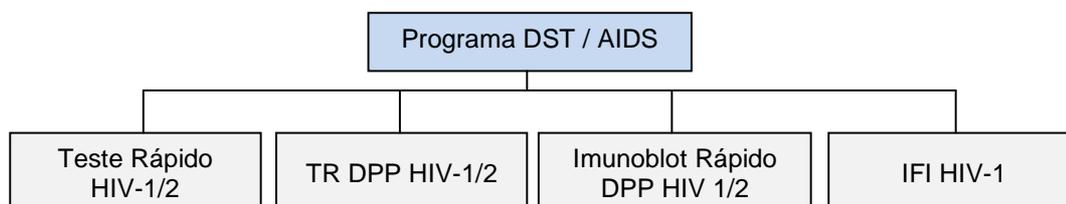


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

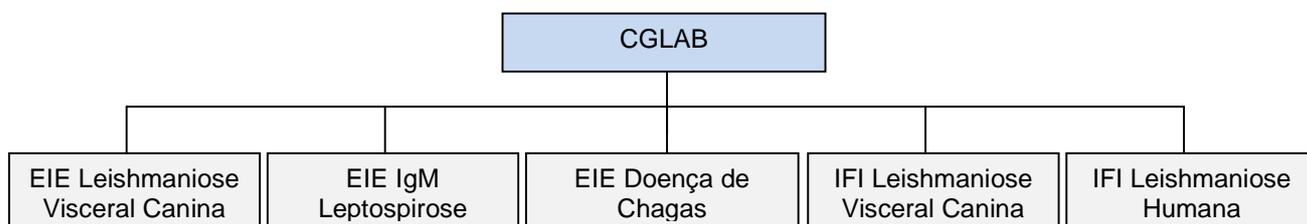


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão.(ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

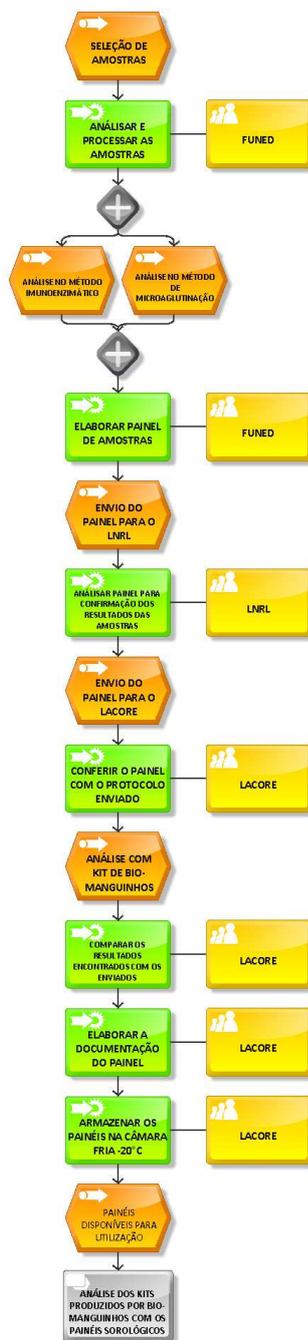


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado “ECM” as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema “ERP”, onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

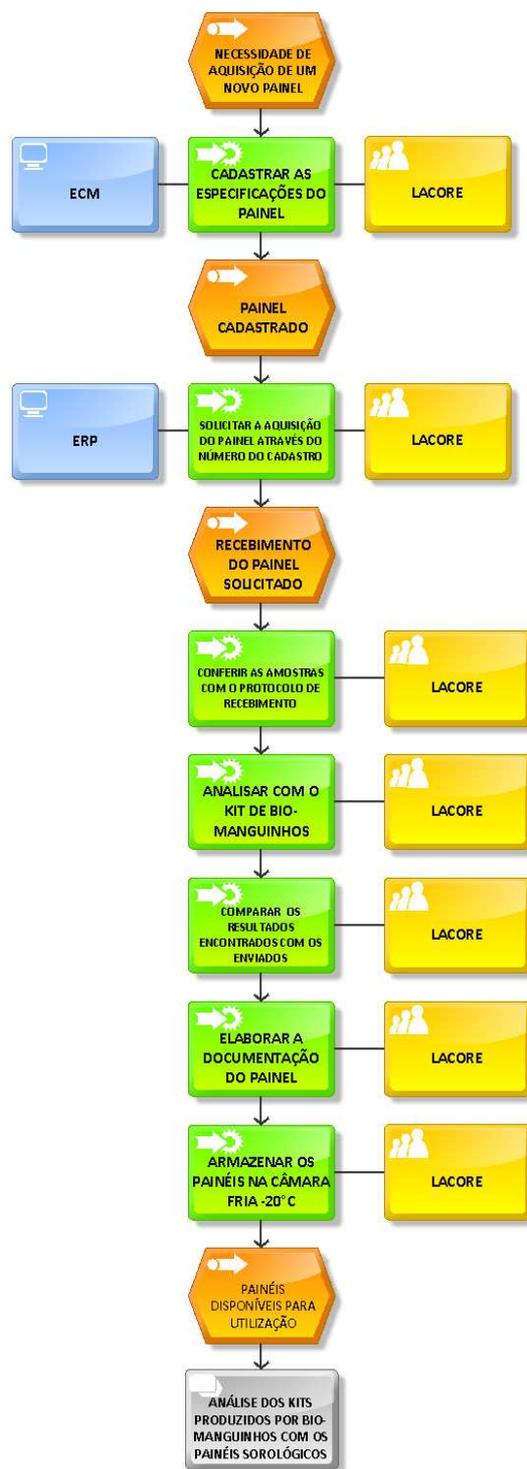


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

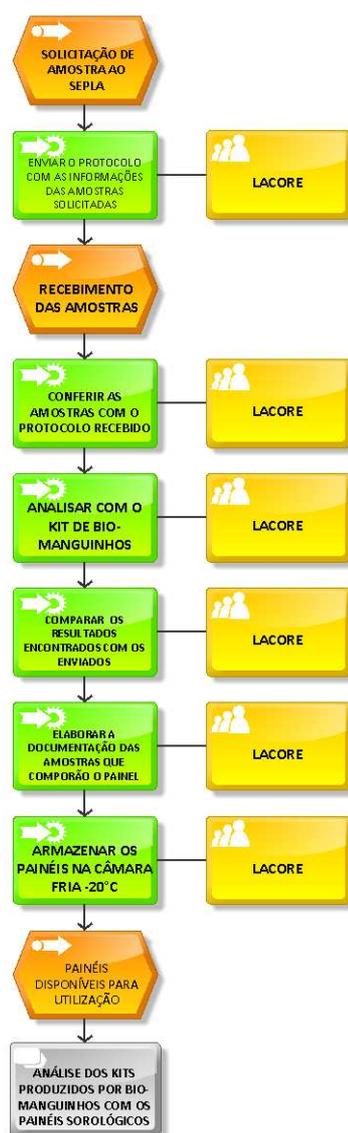


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

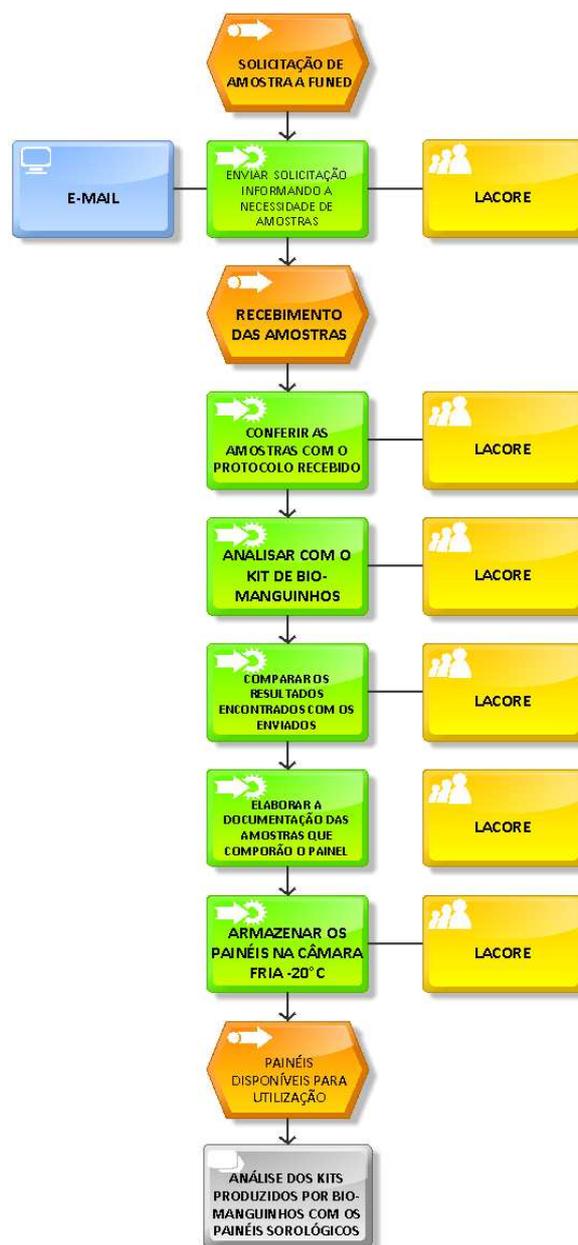


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

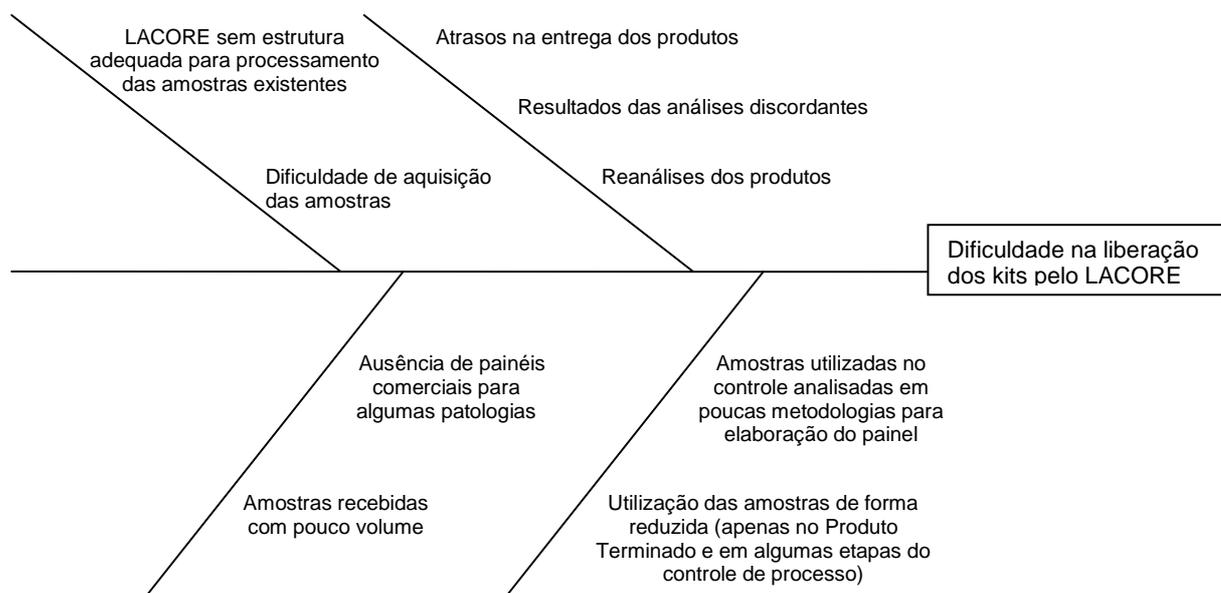


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Painel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola
Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro
como parte dos requisitos necessários para a obtenção
do Grau de Especialista em Gestão Industrial de
Imunobiológicos Foco em Competividade,
Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

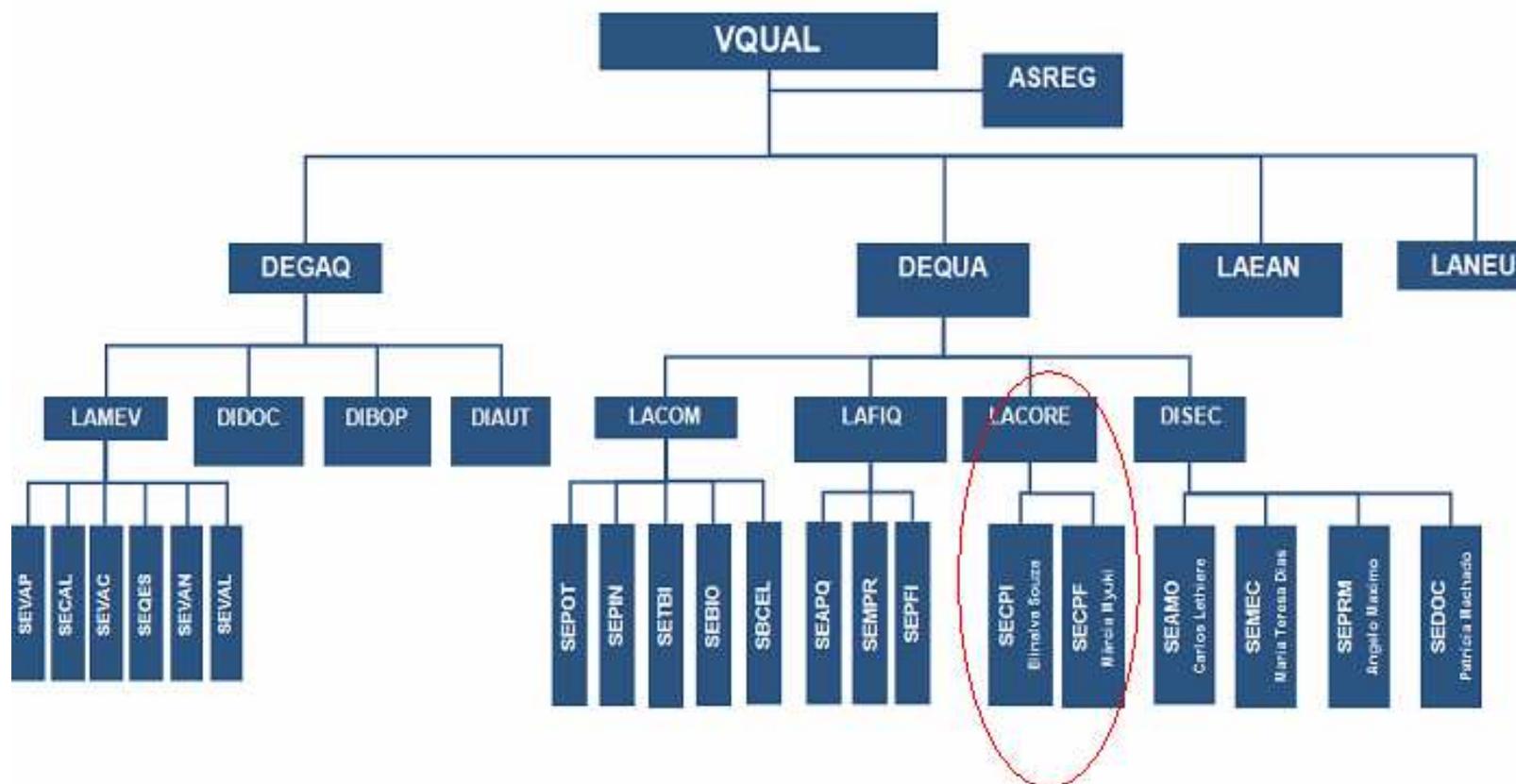


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

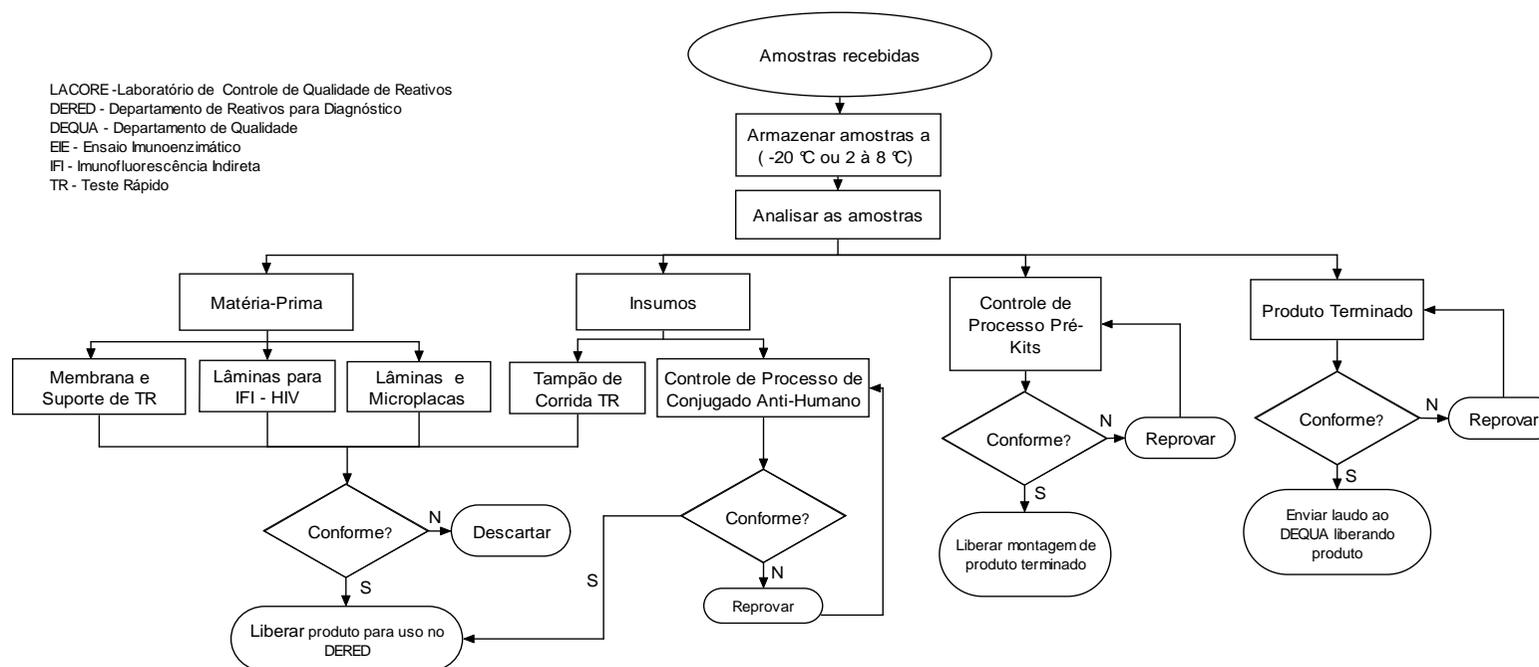


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

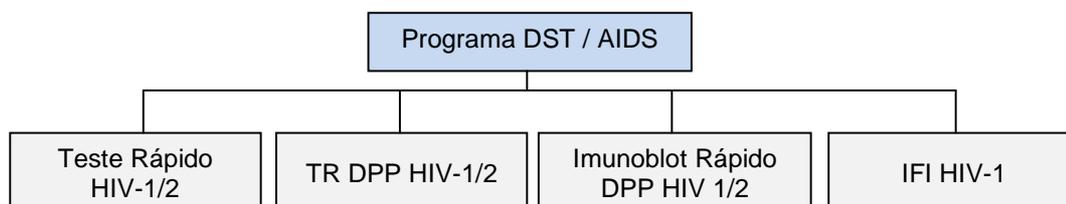


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

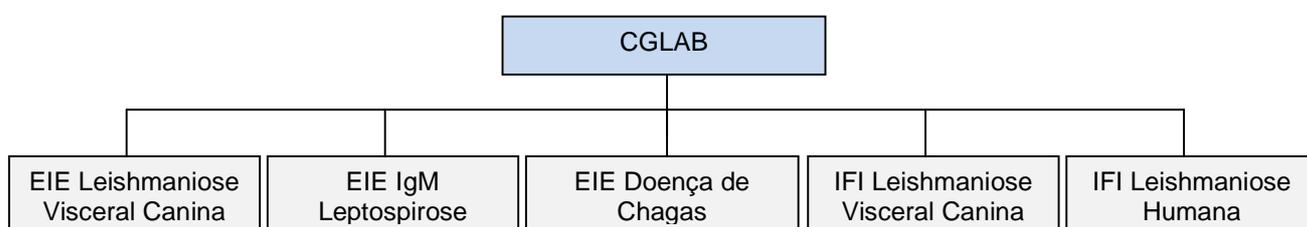


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão.(ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

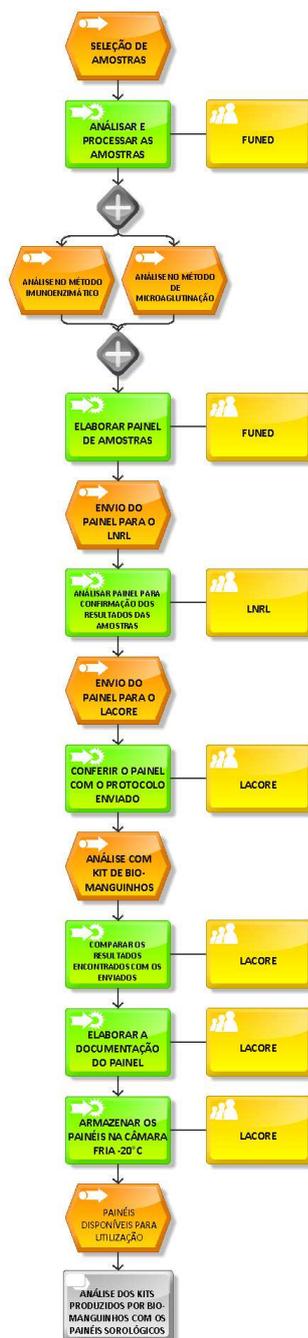


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado "ECM" as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema "ERP", onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

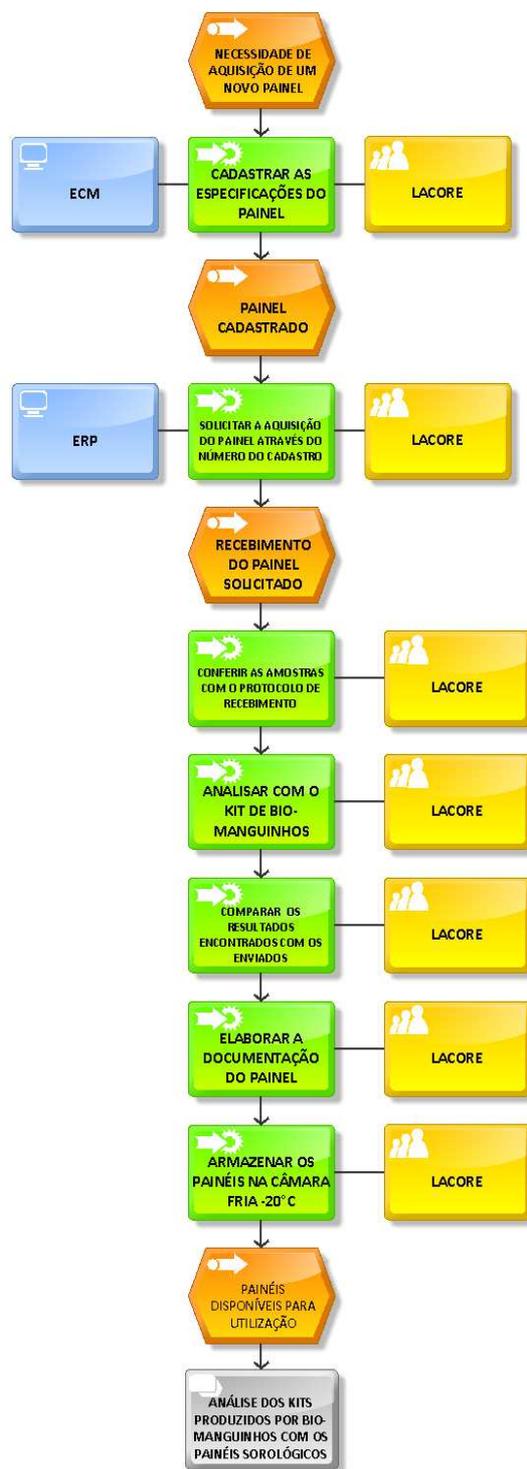


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

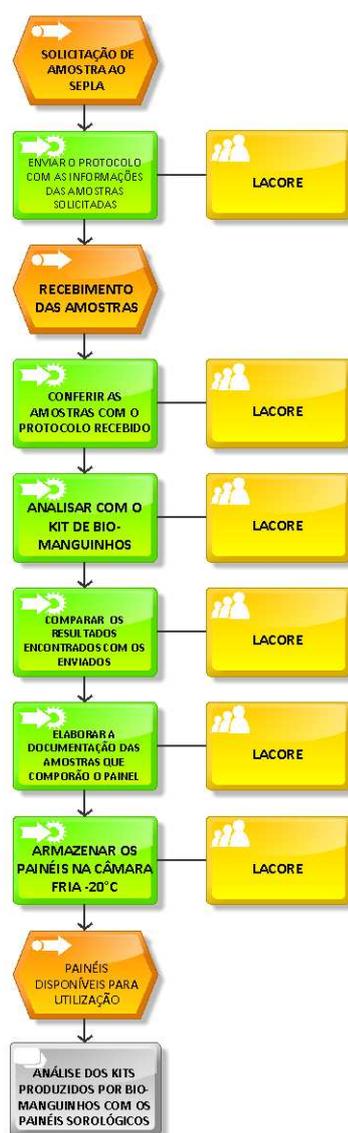


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

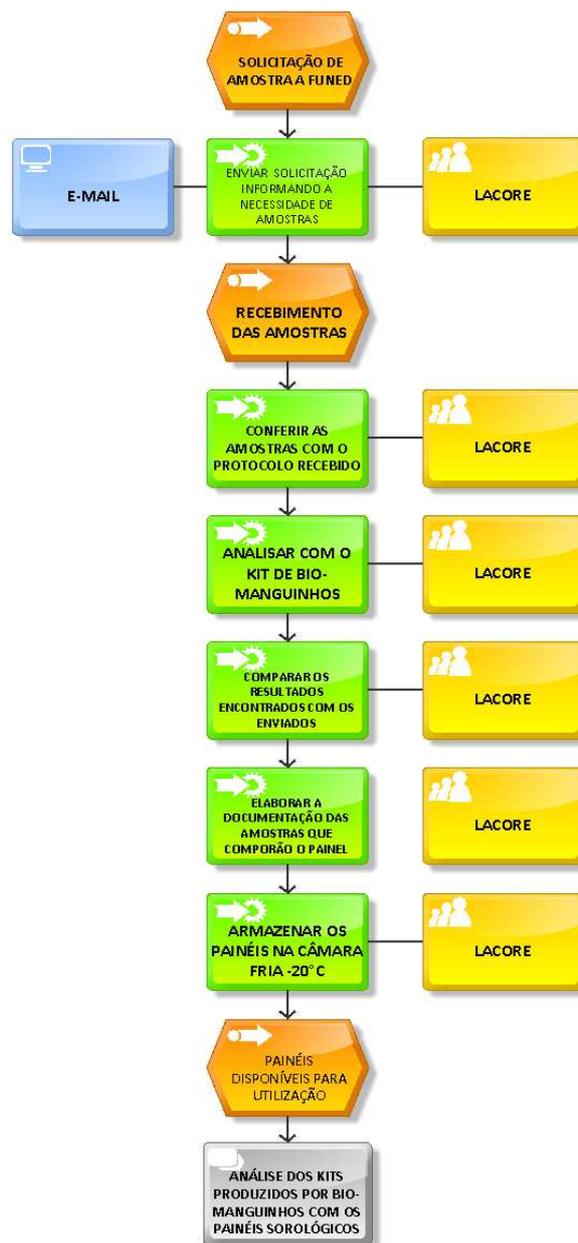


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

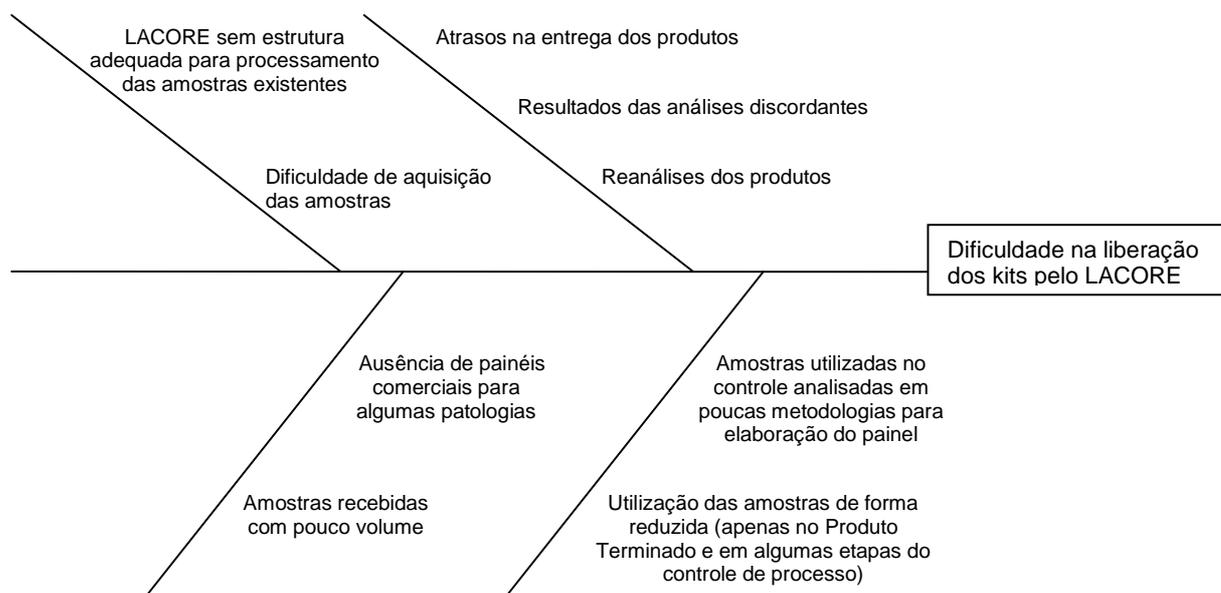


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Pannel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

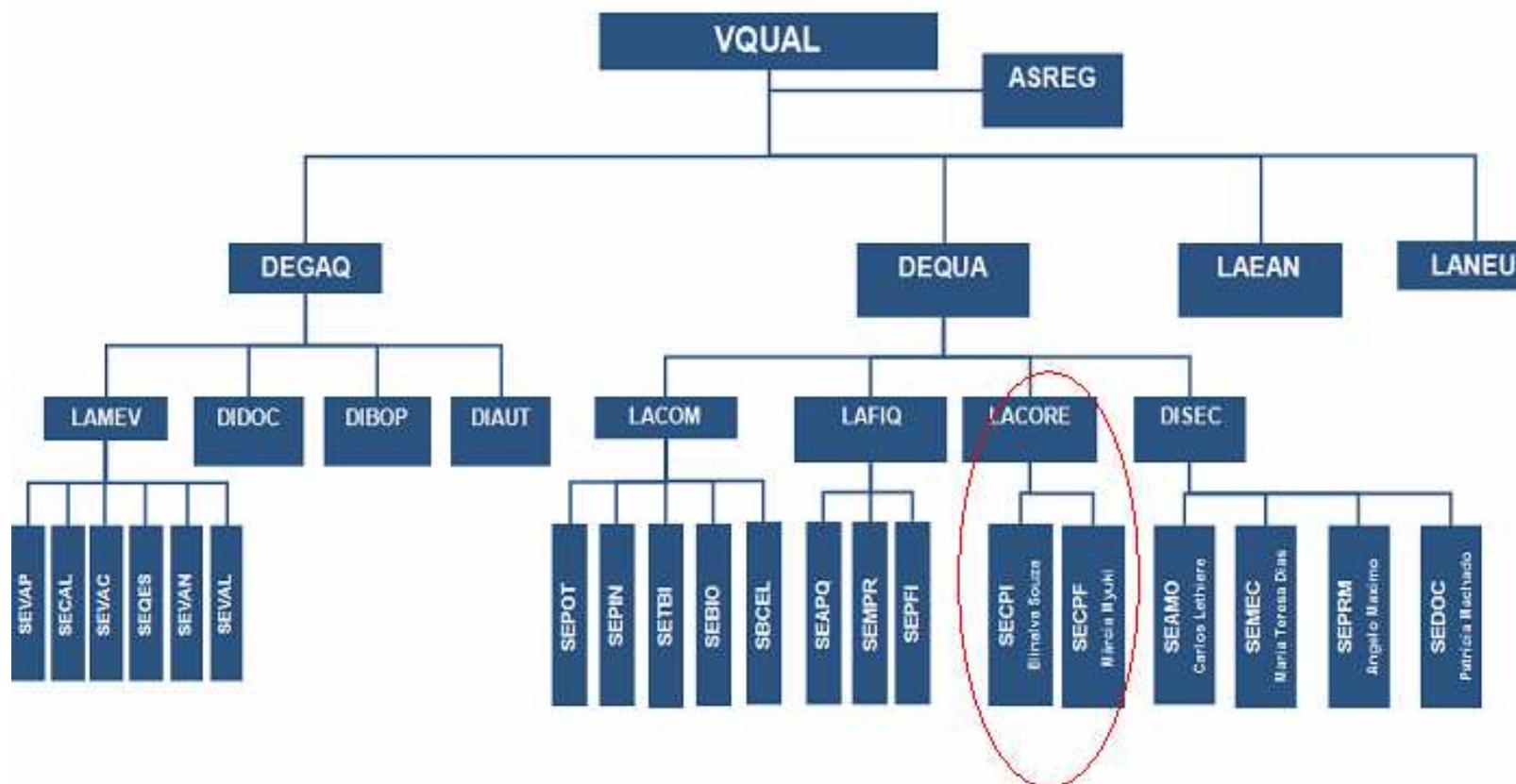


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

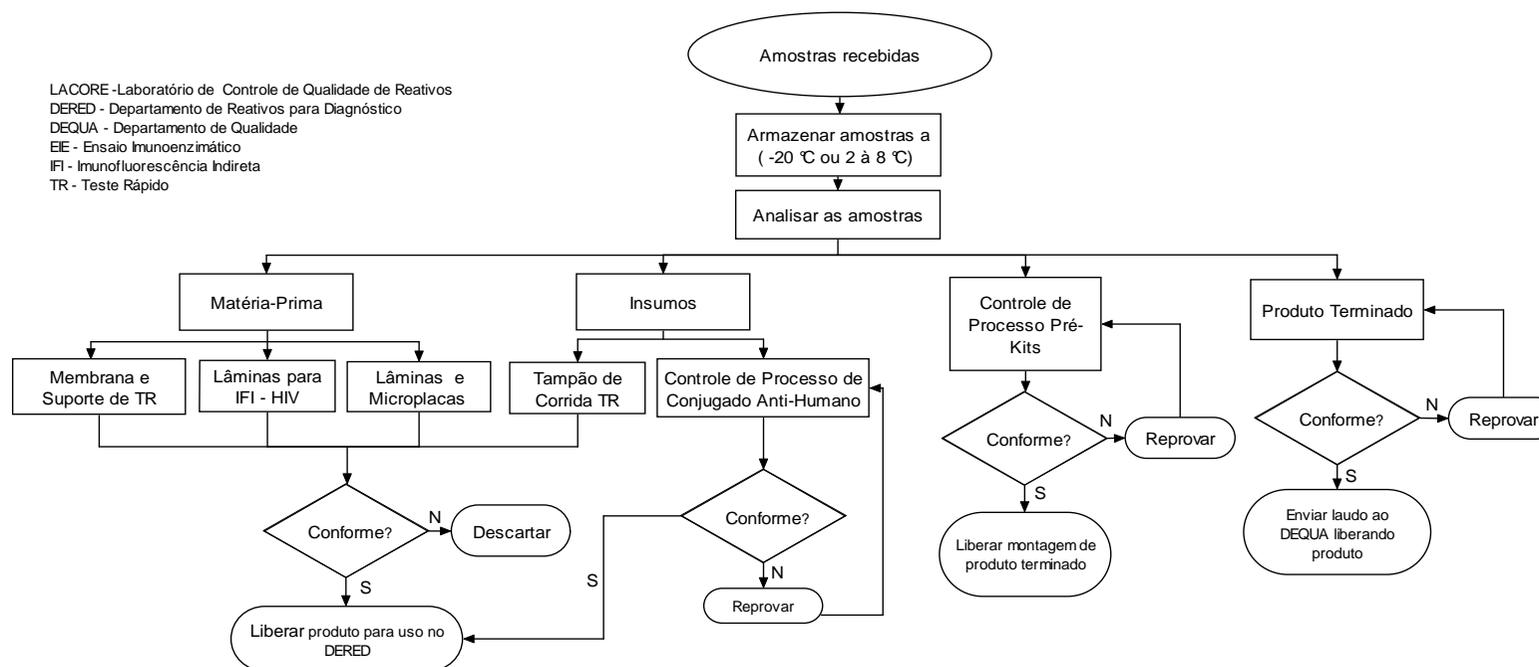


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

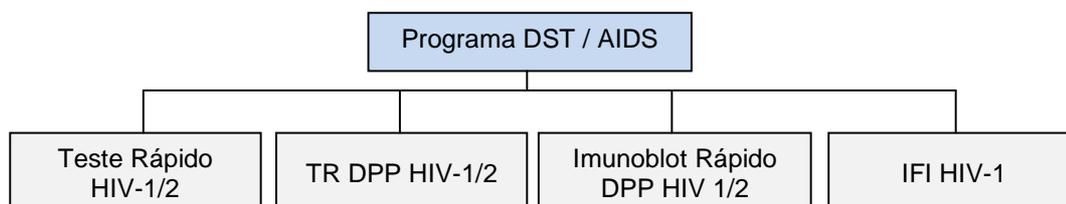


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

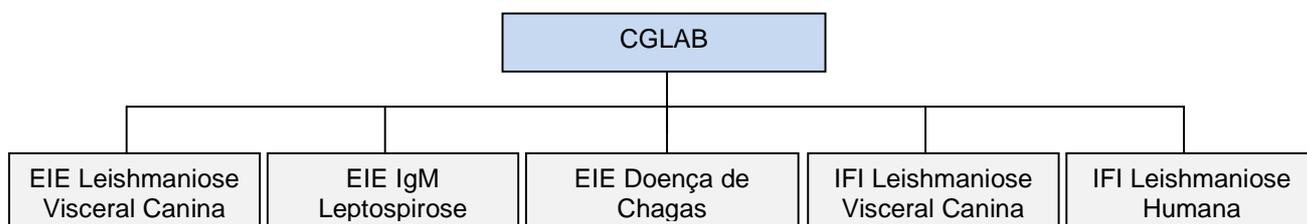


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão.(ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

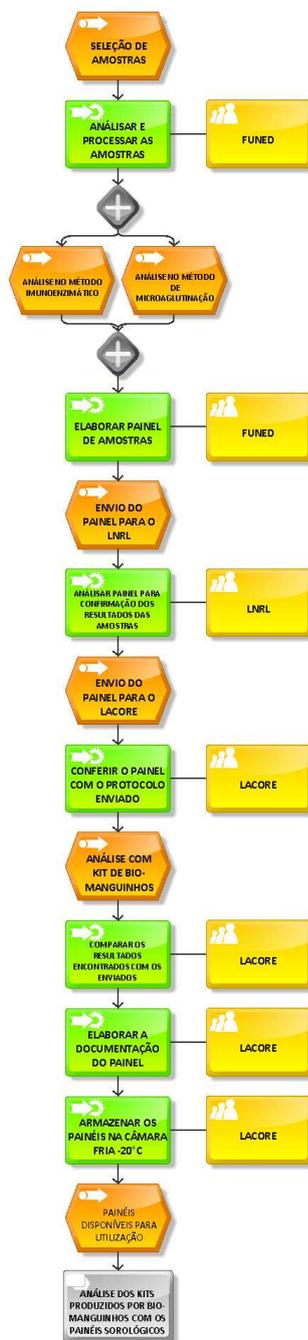


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado “ECM” as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema “ERP”, onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

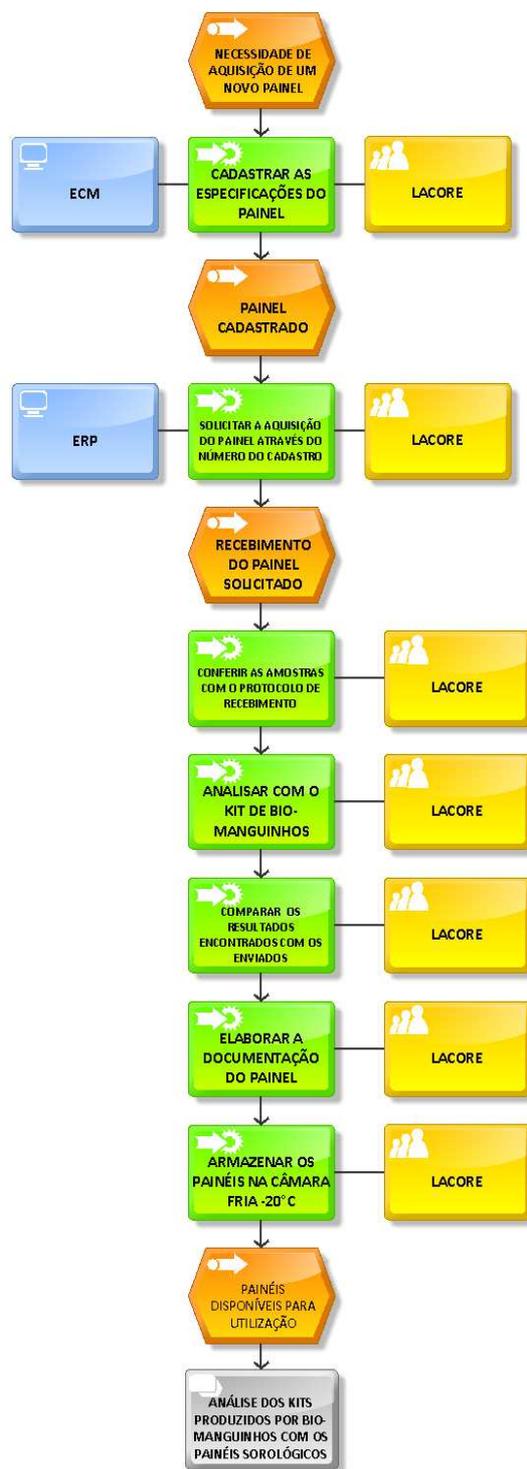


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

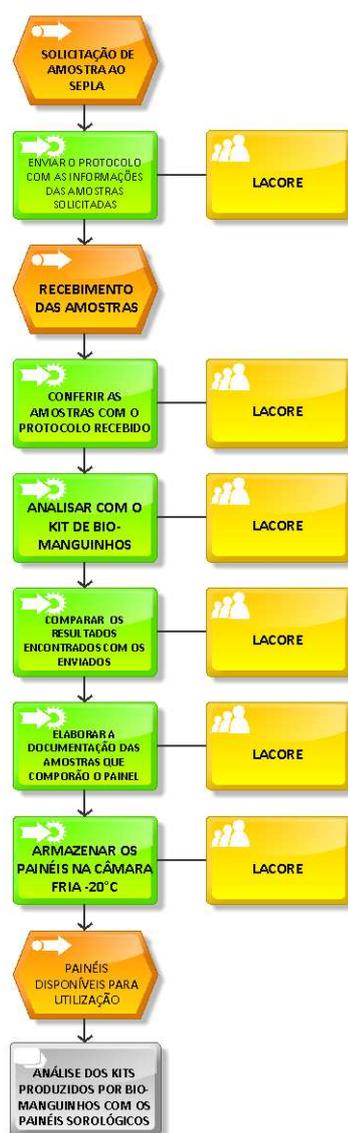


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

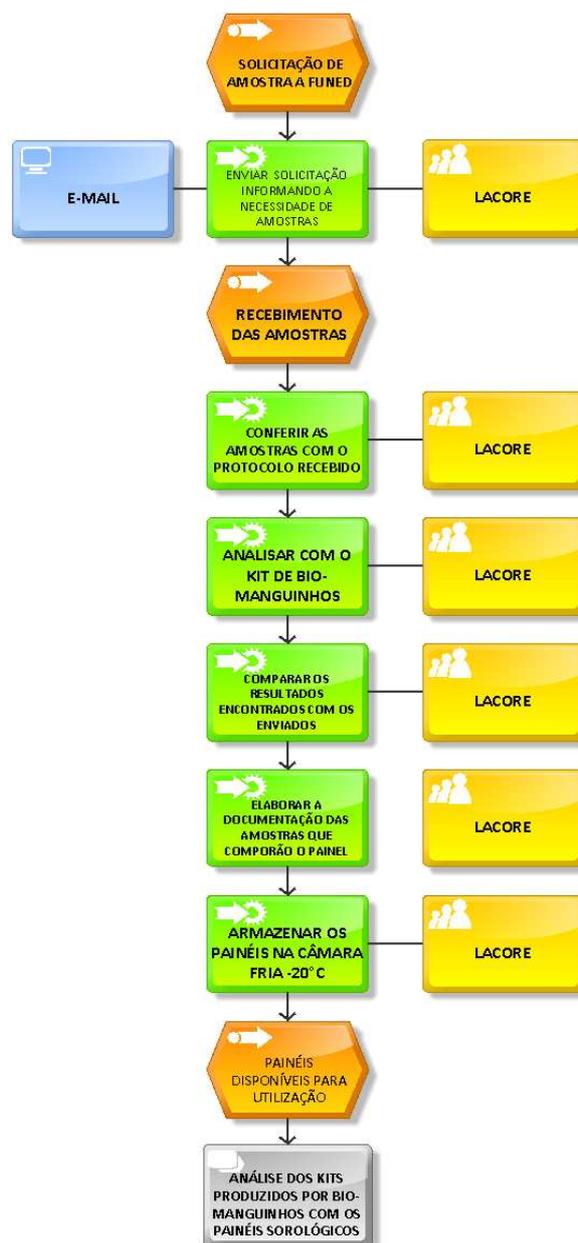


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

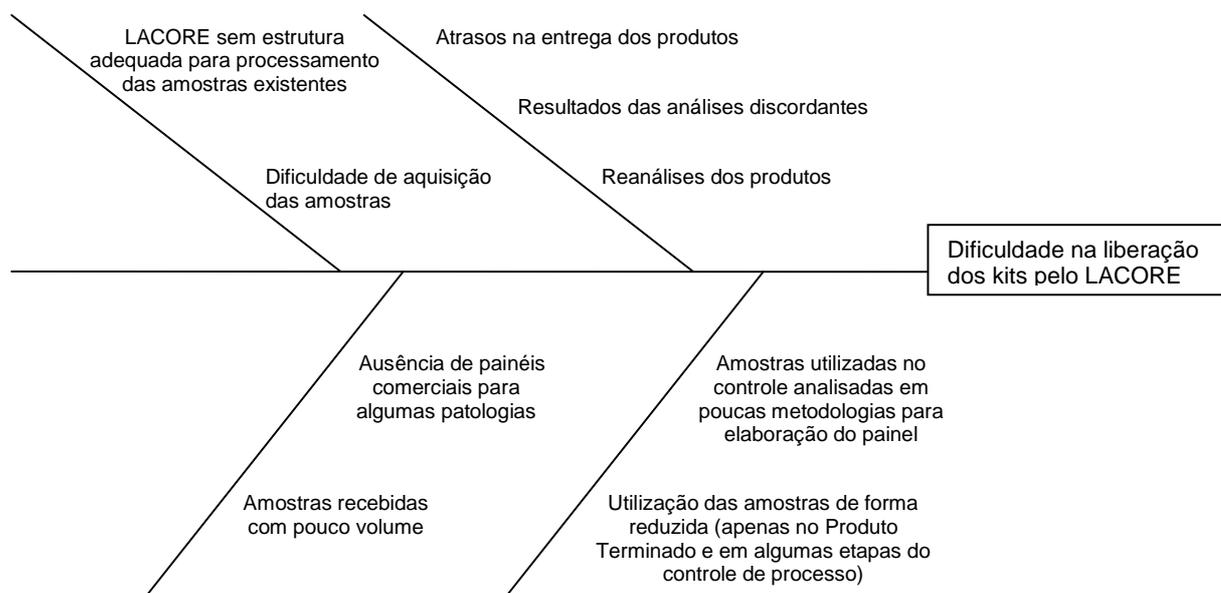


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Pannel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Monografia submetida ao Corpo Docente da Escola Politécnica da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Rio de Janeiro

Março de 2011

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA POLITÉCNICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM GESTÃO
INDUSTRIAL DE IMUNOBIOLOGICOS FOCO EM COMPETIVIDADE, PRODUTIVIDADE,
QUALIDADE E INOVAÇÃO.

Aprovada por:

Prof.

Prof.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MARÇO DE 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força neste longo caminho e perseverança para não desistir apesar de todas as dificuldades enfrentadas, pois sem Ele a realização deste curso não teria sido possível.

Aos apoios familiares, constantes e desmedidos que foram essenciais e que me trouxeram alegria nos momentos de angústia e leveza nos momentos de maior tensão.

Agradeço a oportunidade de ingressar neste curso concedida por Bio-Manguinhos e pelo meu chefe e orientador Luiz Alberto Pereira pela solidariedade, companheirismo e auxílio técnico ao longo desse ano.

Ao meu grande amigo Vinícius Pessanha, por toda dedicação e auxílio para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, contribuíram na concepção e execução deste trabalho.

Resumo da Monografia apresentada à Escola Politécnica / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista em Gestão Industrial de Imunobiológicos Foco em Competividade, Produtividade, Qualidade e Inovação.

PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM SISTEMA DE CAPTAÇÃO E
PROCESSAMENTO DE PAINÉIS SOROLÓGICOS PARA UTILIZAÇÃO NA ROTINA DO
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS – LACORE

Deborah Silva Ferreira

Março/2011

Orientadores: Luiz Alberto Pereira

Vinicius Alves Pessanha

Vinícius Carvalho Cardoso

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. O Laboratório de Controle de Reativos é responsável pelas análises de controle de qualidade de todos os reativos produzidos por Bio-Manguinhos. Este necessita de painéis de amostras caracterizadas para desempenho de várias atribuições, entre elas às análises dos kits para liberação. O sistema utilizado atualmente é falho e apresenta sérios problemas, sendo modelados os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos utilizados na rotina do laboratório, identificando e analisando as principais falhas e os problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos	3
Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE	5
Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.....	6
Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.....	6
Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.	15
Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.	16
Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.....	17
Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV....	19
Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	20
Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.....	21
Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.....	22
Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.....	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.....	7
Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.	26
Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.	28

SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF – Boas Práticas de Fabricação
CGLAB – Coordenação Geral dos Laboratórios
CORED – Controle de Reativos para Diagnóstico
DEQUA – Departamento da Qualidade
DIPPS – Divisão de Produção de Painéis Sorológicos
DPP – Plataforma de Duplo Percurso
DIPRE – Divisão de Produção de Reativos
EIE – Ensaio Imunoenzimático
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz
FO – Fluido Oral
FUNED – Fundação Ezequiel Dias
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IgM – Imunoglobulina M
IOC – Instituto Osvaldo Cruz
LACORE – Laboratório de Controle de Reativos
LNRL – Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose
SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor
SECAS – Seção de Caracterização Sorológica
SECPF – Seção de Controle de Produto Final
SECPI – Seção de Controle de Produto Intermediário
SECQR – Setor de Controle de Qualidade de Reativos
SEIMP – Setor de Compras por Importação
SEPLA – Seção de Processamento de Plasma
SSP – Sangue, Soro e Plasma
TR – Teste Rápido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1.	KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO	1
1.2.	LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS	1
1.2.1.	METODOLOGIAS EMPREGADAS	7
1.2.1.1.	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)	7
1.2.1.2.	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)	9
1.2.1.3.	IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO	9
1.3.	PAINÉIS SOROLÓGICOS	10
1.4.	OBJETIVOS	11
1.4.1.	OBJETIVO GERAL	11
1.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.5.	DELIMITAÇÃO DO ESTUDO	12
1.6.	JUSTIFICATIVA	12
1.7.	METODOLOGIA	13
1.8.	ESTRUTURA DO TRABALHO	13
2.	DESENVOLVIMENTO	15
2.1.	PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	15
2.2.	PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL	23
2.3.	PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO	24
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1. KITS REATIVOS PARA DIAGNÓSTICO

Os reativos para diagnóstico são insumos ou conjunto de insumos usados na detecção de antígenos ou anticorpos, visando obter um diagnóstico laboratorial para determinada doença. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 07/01/2011). Entre estes produtos se incluem os reagentes, instrumentos e sistemas que, em conjunto com as instruções para seu uso, contribuem para efetuar uma determinação qualitativa, quantitativa ou semi-quantitativa em uma amostra biológica e que não estejam destinados a cumprir função anatômica, física ou terapêutica alguma, que não sejam ingeridos, injetados ou inoculados em seres humanos e que são utilizados exclusivamente para prover informações sobre amostras coletadas do organismo humano.

A Portaria 686, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que todos os estabelecimentos que fabriquem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", cumpram as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle estabelecidas nesse regulamento.

Bio-Manguinhos através da sua Divisão de Produção de Reativos para Diagnóstico (DIPRE) conta com uma linha diversificada de reativos para diagnóstico de doenças virais, bacterianas e causadas por protozoários e tem sua produção dimensionada para atender às demandas do Ministério da Saúde, através de convênios que permitem a distribuição de seus kits aos laboratórios públicos.

1.2. LABORATÓRIO DE CONTROLE DE REATIVOS

O laboratório de controle de qualidade foi criado em 1999 com a necessidade de se controlar os kits de reativos produzidos por Bio-Manguinhos. As análises eram incipientes e realizadas em uma pequena área da produção, fato que não condizia com as Boas Práticas de Fabricação. No ano seguinte durante uma auditoria interna o laboratório recebeu uma não-conformidade, pois o controle de qualidade dos produtos era realizado no ambiente da produção, pela própria produção, estando em desacordo com as legislações vigentes, onde o laboratório produtor não pode ser responsável pelas análises

de controle de qualidade dos produtos, havendo a necessidade de adequação, a fim de garantir uma maior confiabilidade aos reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

Após a auditoria foi iniciada a implementação do Controle de Reativos para Diagnóstico (CORED) através de um projeto patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), sendo o marco inicial do controle de qualidade de reativos. Apesar de todo esforço o espaço físico e a aquisição de equipamentos ainda era um problema. Neste mesmo ano o laboratório recebeu a ANVISA para auditoria externa, onde esta ratificou a não-conformidade, sendo o laboratório realocado em uma área no quarto andar do prédio Rocha Lima, adequada para as atividades realizadas. No ano de 2006 o laboratório foi alocado na área que ocupa até os dias de hoje, no Centro Tecnológico Konosuke Fukai, Departamento da Qualidade (DEQUA).

Anos depois, a fim de adequar este laboratório aos modelos organizacionais de Bio-Manguinhos, este passou a se chamar Setor de Controle de Qualidade de Reativos (SECQR), tendo a criação de um centro de custos para compra de equipamentos e contratação de pessoal capacitado, visto que a demanda dos produtos estava em constante crescimento. Ainda com o intuito de adequar cada vez mais, no ano de 2008 passou a se chamar Laboratório de Controle de Reativos (LACORE), se dividindo ainda em duas subunidades organizacionais, de acordo com os processos realizados, sendo estas as Seções de Controle de Produto Intermediário (SECPI) e de Controle de Produto Final (SECPF), conforme apresentado na figura 01.

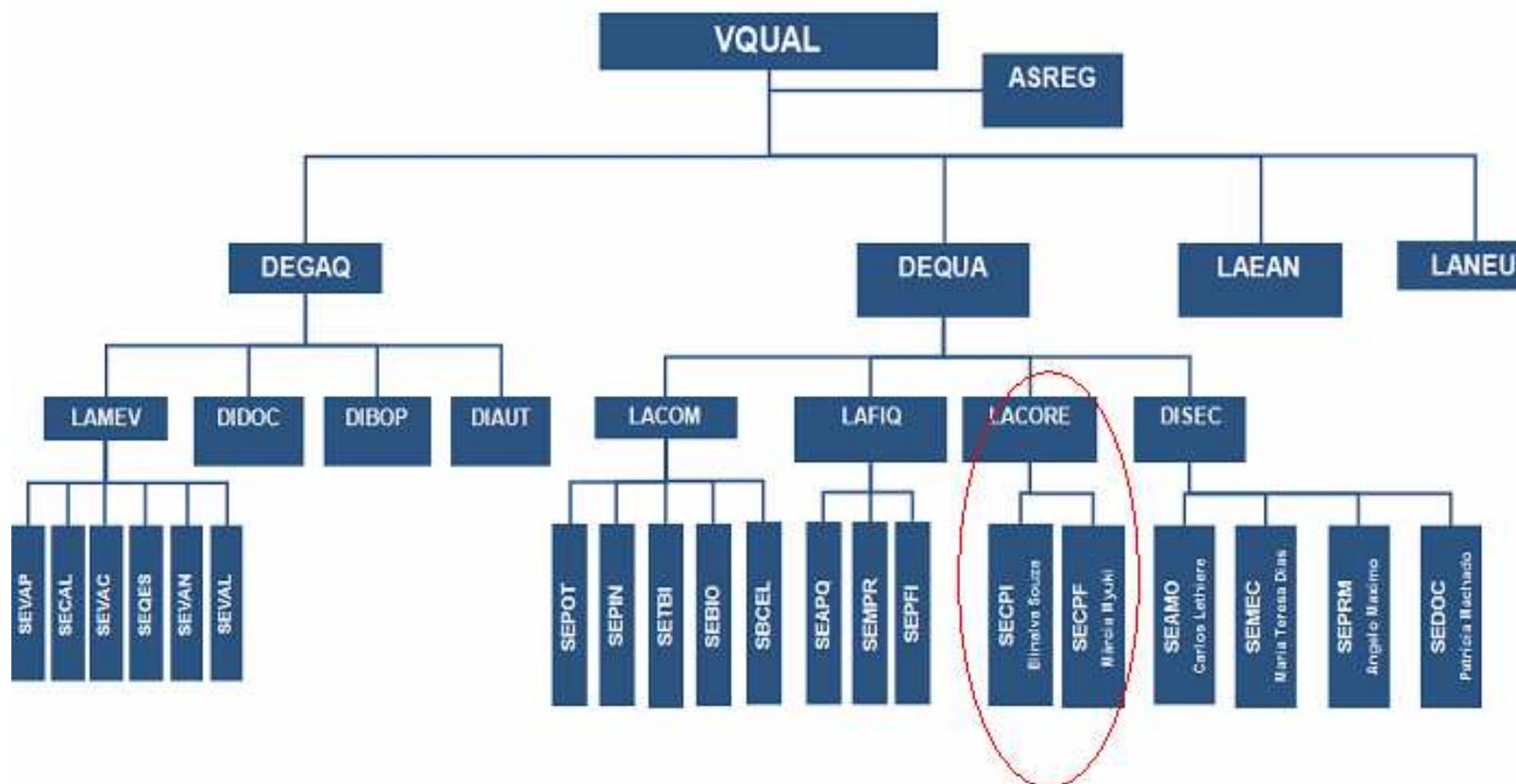


Figura 01: Organograma da Vice Diretoria de Qualidade de Bio-Manguinhos

A SECPI tem como atribuições atender as demandas procedendo às análises dos controles de matéria prima de microplacas, lâminas e cassetes, controles em processo dos kits (posto avançado da produção) e controle de processo (análises realizadas durante a produção de forma, se necessário, ajustar o processo para garantir que o produto se mantenha conforme suas especificações), além de emitir laudos e protocolos das análises processadas, de realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, entre outros. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção utiliza os painéis sorológicos nas etapas de análise dos cassetes, controle em processo dos testes rápidos e controle de processo dos kits de IFI HIV-1, EIE Leishmaniose Visceral Canina, EIE IgM Leptospirose e EIE Doença de Chagas, a fim de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. As análises com os painéis de amostras não são realizadas na SECPI em todos os kits devido à quantidade disponível para utilização ser reduzida. A partir dos resultados destas amostras, pode-se calcular os índices de sensibilidade e especificidade.

Já a SECPF é responsável pelas análises dos produtos finais, ou seja, produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final, emitir os laudos e protocolos das análises processadas, executar os ensaios periódicos de estudos de estabilidade e validação dos métodos, realizar a padronização e / ou otimização de métodos sob sua competência, além de dar suporte ao Serviço de Atendimento ao Cliente, através de reanálises e contatos diretos com os clientes para solucionar possíveis questões técnicas e executar e supervisionar os treinamentos ministrados para a rede de Laboratórios do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST / AIDS do Ministério da Saúde, com objetivo de preparar e qualificar os profissionais na utilização dos nossos produtos. (BIO-MANGUINHOS / ASSPO, 2008) Esta seção analisa toda a amostragem dos kits com painéis sorológicos, também com a finalidade de avaliar o desempenho dos kits em detectar a doença em amostras sabidamente positivas e negativas. A partir dos resultados destas amostras, também calculam-se os índices de sensibilidade e especificidade. A figura 02 representa as atividades de análise desenvolvidas no LACORE.

Fluxograma - LACORE - Laboratório de Controle de Qualidade de Reativos
Fluxo de amostra - Controle de Qualidade - Sala C 18

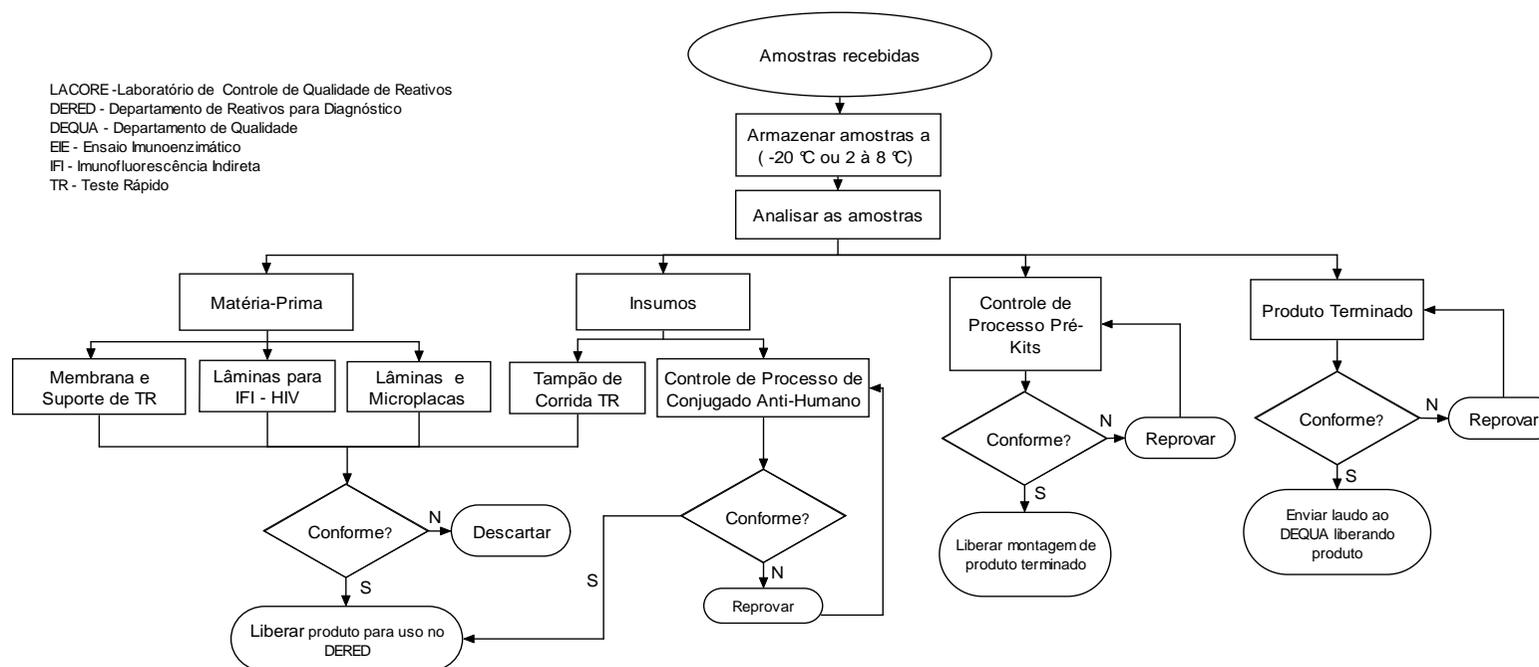


Figura 02: Fluxograma das atividades do LACORE

Os produtos produzidos são distribuídos nacionalmente pelo Programa DST / AIDS para os kits IFI HIV-1 e Testes Rápido HIV-1/2 e pela Coordenação Geral dos Laboratórios – CGLAB para os demais kits. A distribuição é representada conforme figura 03 e 04.

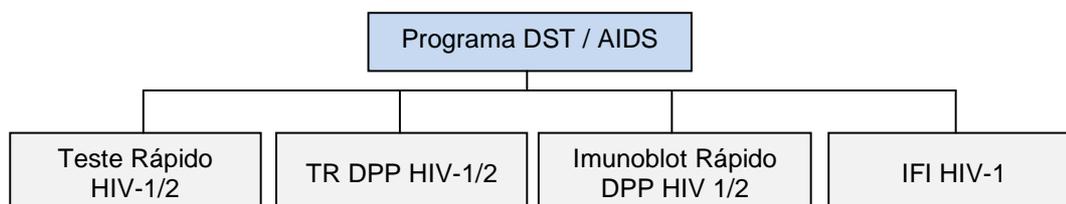


Figura 03: Kits distribuídos pelo Programa DST / AIDS do Ministério da Saúde.

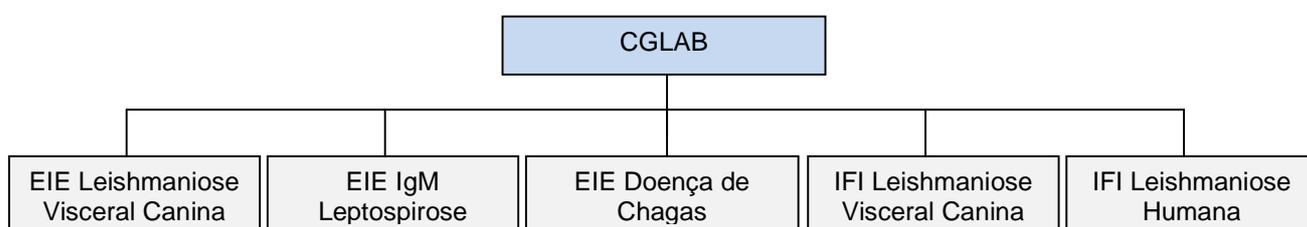


Figura 04: Kits distribuídos pela Coordenação Geral dos Laboratórios.

Esta Instituição, por sua vez exige para distribuição dos produtos que estes sejam também testados por outros laboratórios de referência, pertencentes ao Ministério da Saúde, tendo Bio-Manguinhos que estabelecer parcerias com outras instituições para liberação dos produtos, as quais são “nomeadas” controle externo dos kits, recebendo de Bio-Manguinhos um quantitativo de todos os lotes de kits produzidos, baseados no plano de amostragem utilizado pelo controle de qualidade interno, estando relacionado ao número de kits produzidos.

O controle externo deve proceder às análises conforme o controle de qualidade de Bio-Manguinhos e a instrução de uso do kit de reativos e após estas realizadas deve encaminhar um laudo de liberação, dando ao lote um resultado de reprovado ou aprovado. Os kits só são realmente encaminhados para os usuários, se aprovados pelos controles externo e interno.

Os kits de Elisa para diagnóstico da Leptospirose Humana têm como controles externos o Laboratório Nacional de Referência para Leptospirose (LNRL), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) / Fiocruz e o Laboratório de Doenças Bacterianas e Fúngicas, pertencente à Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

Já os kits de EIE e IFI para Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral Canina e IFI Leishmaniose Humana são controlados externamente pelo Laboratório de Doenças Parasitárias, também pertencente à FUNED.

1.2.1.METODOLOGIAS EMPREGADAS

São empregadas três metodologias de análises: Ensaio Imunoenzimático (EIE), Imunofluorescência Indireta (IFI) e Imunocromatografia de Fluxo. Ao todo Bio-Manguinhos possui 13 kits de reativos em seu portfólio já com os devidos registros junto aos órgãos regulatórios competentes e almeja registro de mais 2 kits. Os kits são apresentados conforme Tabela 1:

Ensaio Imunoenzimático
EIE Leishmaniose Visceral Canina
EIE IgM Leptospirose
EIE Doença de Chagas
Imunofluorescência Indireta
IFI Chagas
IFI Leishmaniose Visceral Canina
IFI Leishmaniose Humana
IFI HIV-1
Imunocromatografia de Fluxo
Teste Rápido HIV-1/2
TR DPP HIV-1/2 FO
TR DPP HIV-1/2 SSP
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2
Imunoblot Rápido DPP HIV-1/2 LAC
TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
TR DPP Leptospirose
TR DPP Sífilis

Tabela 01: Kits de Reativos produzidos por Bio-Manguinhos.

1.2.1.1. ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (EIE)

Destinado ao diagnóstico de Leptospirose, Chagas e Leishmaniose Visceral Canina. Com este ensaio realizamos a pesquisa de anticorpos específicos em soro ou plasma reagindo soros com antígenos ou imunorreagentes previamente adsorvidos nas cavidades das microplacas (fase sólida) previamente sensibilizadas. São adicionados nas

microplacas os controles do teste e as amostras a serem analisadas que, possuindo anticorpos específicos, se fixam aos antígenos. Em seguida, é adicionada uma antiimunoglobulina marcada com a enzima peroxidase, que se ligará aos anticorpos, caso estejam presentes. A reação é evidenciada pela utilização de substâncias cromógenas que reagem com a enzima peroxidase, gerando coloração medida em aparelho de absorvância. (BIO-MANGUINHOS, 2008a; BIO-MANGUINHOS, 2008b; BIO-MANGUINHOS, 2008c)

A sensibilização da microplaca consiste em revestir a placa com o antígeno tratado com solução alcalina (pH superior a 8), deixando-o com carga negativa, para promover a adsorção à placa passivamente por interação eletrostáticas, em virtude das cargas positivas do poliestireno ou polivinil utilizado para condicioná-las. (ÁVILA, 2001)

A etapa de lavagem é realizada para retirar o excesso de imunorreagentes não ligados e ocorrem entre as demais etapas do método. Utilizamos em Bio-Manguinhos lavadoras de placas automáticas, pois estas reduzem o tempo de realização do teste e proporcionam maior uniformidade ao processo.

A coloração do sistema é alterada quando adicionamos uma solução reveladora composta de um substrato (H_2O_2) correspondente à enzima Peroxidase conjugada e um cromógeno, a tetrametilbenzidina (TMB). A quebra do substrato pela enzima conjugada e seus produtos atuam no cromógeno que é um componente doador de elétrons. (ÁVILA, 2001)

O valor de corte (Cut-off) varia de acordo com o antígeno em análise, de maneira que assegure as características mais adequadas do ensaio para o correto diagnóstico sorológico. O título do Cut-off é determinado multiplicando a média dos soros negativos pelo desvio padrão do mesmo indicado na bula dos reativos. O título deve estar em uma zona intermediária entre os resultados reativos (positivos) e os não reativos (negativos). Pelo valor encontrado no título do Cut-off, estabelecemos a especificidade e sensibilidade do reativo com um painel de soro de referência. (ÁVILA, 2001)

O método é altamente sensível quando apresenta enzimas ativas, antígenos puros, substratos de alta qualidade, anticorpo e conjugado em ótimas condições. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.2. IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI)

A imunofluorescência é o teste mais utilizado no diagnóstico laboratorial para a pesquisa de anticorpos. (ÁVILA, 2001) Esta consiste na reação de anticorpos com antígenos específicos para o teste fixados nas lâminas de microscopia. A reação entre antígeno fixado e o anticorpo presente na amostra é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina humana (Ig) conjugada com um fluorocromo. (BIO-MANGUINHOS, 2009a; BIO-MANGUINHOS, 2009b; BIO-MANGUINHOS, 2009c)

Os fluorocromos geram um fenômeno denominado fluorescência, pois são substâncias que absorvem luz de um comprimento de onda menor, e quando excitados com a luz ultravioleta emitem luz de comprimento de onda maior. São muito sensíveis as visualizações e diferem quanto ao espectro de excitação e emissão. (ÁVILA, 2001) O fluorocromo utilizado nos kits de Bio-Manguinhos é o Isotiocianato de Fluoresceína (FITC – fluorescein isothiocyanate).

A grande vantagem do uso de marcadores é que mesmo concentrações extremamente baixas de fluorocromos, estes podem ser detectados através do microscópio de fluorescência. (ÁVILA, 2001)

As lâminas antes de serem visualizadas no microscópio de imunofluorescência com objetiva de aumento de 40X devem ser montadas em glicerina alcalina, porque a intensidade de luz emitida pela fluoresceína depende do pH do meio, sendo máxima em pH 8,5. (ÁVILA, 2001)

1.2.1.3. IMUNOCROMATOGRAFIA DE FLUXO

Os Testes Rápido são destinados para pesquisa de anticorpos específicos para determinadas doenças em amostras de sangue total, soro ou plasma. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010) Bio-Manguinhos produz estes testes em duas plataformas, a convencional (fluxo lateral) e a de duplo percurso.

O teste é composto por uma membrana de nitrocelulose, contendo os elementos da reação (anticorpos específicos e conjugados de proteínas A com ouro coloidal) ajustados em um invólucro plástico apropriado. O princípio de funcionamento baseia-se na reação específica antígeno-anticorpo. Compõe-se de uma fase sólida (membrana), na qual estão imobilizados elementos de captura (antígeno), e uma fase móvel, na qual estão

suspensos o conjugado de captura e a molécula-alvo que são os anticorpos. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

Os anticorpos presentes (caso existam) se ligam às proteínas específicas conjugadas ao ouro coloidal. Neste ensaio ocorre uma reação do tampão de corrida com o soro, plasma ou sangue total utilizado para o teste. O tampão de corrida propicia o fluxo lateral dos componentes liberados, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos.

No caso de uma amostra ser positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana de nitrocelulose, sendo capturado pelos antígenos fixados na área do teste (T) e produzindo uma linha roxa/rosa (resultado reagente). Na ausência de anticorpos, a linha roxa/rosa não aparece na área do teste (resultado não reagente).

Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na área de controle (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes. (BIO-MANGUINHOS, 2007; BIO-MANGUINHOS, 2010)

1.3. PAINÉIS SOROLÓGICOS

São amostras de soros produzidas a partir de plasma processado e se destinam a programas de controle de qualidade de produtos, de sorologia de laboratórios e hemocentros e são utilizados para controle interno. (BIO-MANGUINHOS, acessado em 10/01/2011)

As amostras de soro recebidas para a montagem dos painéis sorológicos são provenientes de Instituições Nacionais e da Seção de Processamento de Plasma (SEPLA), pertencente ao Departamento de Reativos para Diagnóstico (DERED). Estas amostras são processadas, caracterizadas sorologicamente e envasadas, sendo, em seguida, enviadas ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) para análise e validação para serem utilizadas como controle interno para suas respectivas doenças.

Nas análises de todas as metodologias empregadas no controle de qualidade dos kits diagnósticos (Ensaio Imunoenzimático, Imunofluorescência Indireta e Imunocromatografia de Fluxo) é necessária a utilização de painéis sorológicos. No LACORE esses insumos são utilizados em etapas do controle em processo, controle de processo e produto final dos testes rápidos, controle de processo e produto final dos EIE e IFI HIV-1, controle de produto final dos demais kits, além da utilização nos estudos de

estabilidade, validação dos métodos e atendimento ao SAC. Durante os testes de controle de qualidade, seja pelo controle interno ou externo, deve-se realizar uma etapa onde o kit é exposto a amostras caracterizadas para a doença a qual se deseja diagnosticar tendo como objetivo avaliar os índices de sensibilidade e especificidade do produto em detectar a doença. Estes índices são calculados e precisam estar de acordo com os valores de referência definidos em conjunto entre desenvolvimento, produção e qualidade do kit.

Determina-se, dessa forma, a sensibilidade do teste a fim de demonstrar o quanto o teste é sensível para encontrar a porcentagem de pacientes doentes com teste positivo em uma população sabidamente infectada. Para determinar a especificidade do teste é definida a porcentagem de indivíduos “normais” com teste negativo em população sabidamente identificada. Entende-se por indivíduo normal aquele que não é portador da doença para a qual o diagnóstico do teste é destinado. A especificidade pode ser influenciada por inúmeros fatores que levam a falsos resultados positivos, como por exemplo, indivíduos polinfectados por parasitas intestinais apresentam um somatório de componentes antigênicos que reagem cruzadamente com inúmeros antígenos - alvo dos testes sorológicos. (ÁVILA, 2001)

No entanto, a aquisição e o processamento de amostras para composição dos painéis sorológicos vêm sendo um grande percalço, estas amostras são imprescindíveis para a liberação de todos os kits, porém algumas não são encontradas para comercialização e outras são recebidas através de doações. Além disso, as amostras de soro precisam ser caracterizadas e de origem confiável, tendo o LACORE à responsabilidade de captação e processamento destas amostras.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma proposta de implementação de um sistema para captação e processamento de painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Este trabalho visa modelar os processos existentes para captação e processamento das amostras que compõem os painéis sorológicos além de identificar e analisar as principais falhas e problemas gerados com a utilização deste sistema, propondo a implementação de um novo processo para estas atividades.

1.5. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

Será abordada a situação atual do laboratório no que tange os processos de recebimento e processamento das amostras de soro para produção dos painéis internos. Os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para tal, seguindo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), conferindo uma maior confiabilidade nos resultados gerados por este laboratório.

A implantação deste sistema não será descrita neste trabalho, pois o laboratório precisaria de uma ampliação de sua estrutura física para comportar os equipamentos utilizados para atendimento da demanda atual e os novos equipamentos que seriam adquiridos para realização desta atividade.

O termo sistema utilizado neste trabalho refere-se um conjunto de elementos interconectados, de modo a formar um todo organizado, significando "combinar", "ajustar", "formar um conjunto".

1.6. JUSTIFICATIVA

A implementação deste sistema possibilitará a melhoria dos processos, a fim de garantir que as análises para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos sejam realizadas com amostras caracterizadas, ou seja, amostras que tenham passado por análises em diferentes metodologias tendo seu resultado identificado em relação à doença em questão, aumentando a confiança aos resultados encontrados, a eficiência dos processos e conseqüentemente a diminuição das reanálises dos lotes, das reprovações e das reclamações ao SAC.

1.7. METODOLOGIA

O trabalho consiste em um estudo de caso para a implementação de um sistema de captação e processamento das amostras de soro para elaboração dos painéis sorológicos que serão utilizados na rotina do Laboratório de Controle de Reativos de Bio-Manguinhos / FIOCRUZ.

Para realização deste trabalho foram levantados os dados do laboratório referente a este processo, como os procedimentos operacionais padrões das atividades e as instruções de trabalho, sendo realizada uma análise e modelagem dos processos atuais. Além de entrevistas abertas com o gerente do LACORE, Luiz Alberto Pereira, para melhor contextualizar as atividades desenvolvidas por este laboratório e com a gerente da Divisão de Produção de Painéis Sorológicos (DIPPS), Angélica Santos Lameiras responsável pela produção dos painéis sorológicos para o INCQS, onde pode-se obter um maior conhecimento sobre esta atividade e como este processo poderia ser implementado no LACORE.

Um extensivo levantamento bibliográfico foi feito em bases de dados textuais e referenciais disponíveis na Internet, no entanto, poucos apresentaram relevância em relação ao tema do trabalho proposto.

1.8. ESTRUTURA DO TRABALHO

O capítulo I traz as definições do que são os produtos diagnósticos e a forma de como esses são controlados em Bio-Manguinhos, sendo que para essa liberação seja realizada de uma forma confiável é indispensável à utilização dos painéis sorológicos caracterizados, além dos objetivos, delimitação do estudo, justificativa, metodologia e estrutura do trabalho.

O segundo capítulo traz a situação atual do laboratório, os problemas encontrados durante todo o processo e sugestões de melhorias com a implementação de um novo sistema para esta atividade.

O último capítulo traz as considerações finais deste trabalho.

1.9. CONCEITOS ESSENCIAIS DE MODELAGENS DOS PROCESSOS

A gestão de processos de negócio é um conjunto de métodos e técnicas que auxiliam a organização na gestão de seu negócio através do conhecimento e entendimento de seus processos. Como primeiro passo para tal gestão, as organizações se vêem em face a formalizar seus processos, representando-os através de uma linguagem comum e de entendimento uniforme. A modelagem de processos de negócio auxilia nesta formalização, pois ajuda a organização a responder às questões críticas sobre o seu negócio, como: o que está sendo feito, por que está sendo feito, onde, por quem, quando e de que forma é feito. (ARAÚJO, 2004)

A tarefa de modelagem de processos envolve o levantamento e representação de uma grande quantidade de informações. Para tanto, é interessante utilizar ferramentas computacionais que auxiliem na construção, consulta e manutenção destas informações. Atualmente, existem ferramentas que são projetadas para este fim, se propondo a apoiar a modelagem de processos de negócio, como: ARIS (IDS Scheer), ProVision (Proforma), entre outras. (ARAÚJO, 2004)

Tais ferramentas disponibilizam, para o usuário, funcionalidades diferentes para manipulação dos modelos construídos. Além de representar graficamente o modelo de negócio, também disponibilizam funcionalidades para validar a consistência estrutural dos diagramas construídos. Outra característica importante presente em várias ferramentas é a simulação da execução dos processos. Através da simulação, a organização pode fazer alterações em seus processos avaliando o impacto ocasionado por elas, antes de executá-las realmente. Além de auxiliar na estimativa dos custos, do tempo e dos recursos gastos durante a execução dos processos. (ARAÚJO, 2004)

Este trabalho se concentrará na metodologia ARIS, da ID Sheer, devido a facilidade de utilização e personalização, além desta já ser utilizada em casos de Bio-Manguinhos.

A plataforma ARIS foi criada por Scheer e considera que o modelo de negócio seja constituído de modelos e descrições sobre o negócio. Como principal vantagem, destaca-se a variedade de modelos, separando a informação e permitindo sua melhor visualização e entendimento. Além dessa, a possibilidade da customização da ferramenta, visando adaptar-se à realidade de cada organização. (CHAVES, 2008)

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. PROCEDIMENTO ATUAL PARA RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

Atualmente existe um procedimento utilizado pelo LACORE para recebimento e processamento das amostras de sangue ou soro para a produção dos painéis sorológicos utilizados na rotina. Este procedimento foi elaborado no ano de 2009, com o objetivo de ter painéis caracterizados para a liberação dos produtos, para a utilização nos estudos de estabilidade e validação dos métodos.



Figura 05: Macroprocesso das atividades inerentes as amostras.

Para o kit de Leptospirose foi realizada uma parceria entre Bio-Manguinhos e os controles externos do kit, após uma reunião entre o LACORE e a CGLAB, a fim de utilizar o mesmo painel para os três controles. A FUNED seleciona as amostras, que são provenientes da sua rotina, testa em dois métodos, imunoenzimático e microaglutinação. No método imunoenzimático é testado com dois fabricantes diferentes, sendo um deles o produzido por Bio-Manguinhos. Após a montagem do painel por parte da FUNED, este é enviado para o LNRL que desempenha o papel de confirmar os resultados encontrados pela FUNED, antes das amostras serem utilizadas no controle dos kits.

No ato do recebimento dos soros que são provenientes destes laboratórios, os técnicos do LACORE conferem o volume, a quantidade de amostras e a numeração de origem dos frascos com os dados contidos no protocolo de caracterização enviado e antes da utilização, este é analisado com os kits de Bio-Manguinhos aprovados e os resultados são comparados aos enviados pelos dois laboratórios e arquivados em pastas juntamente com a documentação recebida, gerando os protocolos de processamento das amostras. As amostras as quais obtiveram os mesmos resultados de ambos os

laboratórios são armazenadas em câmara fria a temperatura de -20°C , ficando disponíveis para utilização na rotina do LACORE. (BIO-MANGUINHOS / LACORE, 2009)

Este procedimento é realizado sempre que verificado o término das amostras, tendo o LACORE que solicitar por e-mail para a FUNED a elaboração de um novo painel.

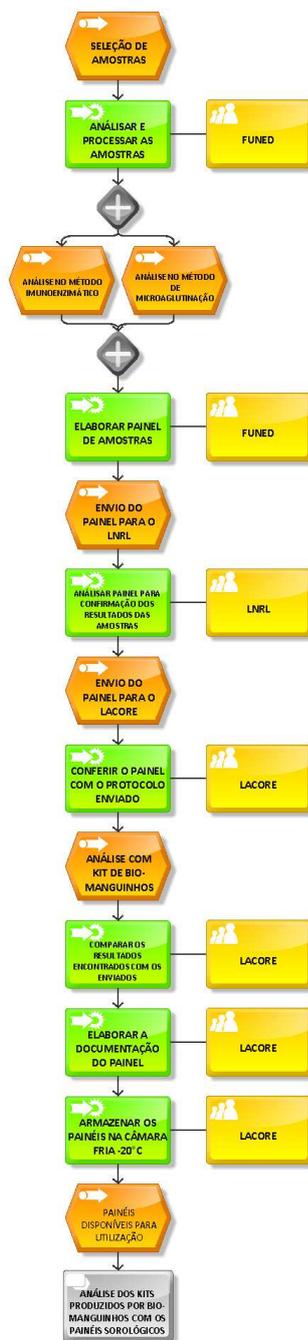


Figura 06: Processo de elaboração dos painéis para Leptospirose.

Algumas amostras utilizadas na montagem dos painéis para utilização nos kits para diagnóstico do vírus HIV são fornecidos pelo SEPLA e outras adquiridas através de importação. A solicitação realizada para o SEPLA ocorre através de um protocolo de solicitação de soros interno, onde descrevemos a quantidade de soro a ser enviada e o tipo de amostra, sendo positiva ou negativa para a doença. O fornecimento do soro leva em média 48 horas úteis.



Figura 07: Processo de solicitação de amostras para HIV a SEPLA.

Já a aquisição dos painéis de origem comercial envolve muitos processos, pois antes da solicitação da compra precisa-se cadastrar em um sistema operacional de Bio-Manguinhos denominado "ECM" as especificações como a quantidade de amostras que compõem o painel, a caracterização, a referência comercial, a temperatura de armazenagem, a marca, entre outros. Após o cadastro do painel, este poderá ser comprado sempre que houver demanda por parte do laboratório responsável pelo cadastro ou qualquer outro que precise utilizar este mesmo produto.

A solicitação de compra é realizada no sistema "ERP", onde solicitamos através do número de registro do cadastro a quantidade que deverá ser adquirida e o local onde o mesmo será entregue. Esta solicitação é visualizada pelo Setor de Compras por Importação (SEIMP), que a partir daí terá toda a responsabilidade pela aquisição e importação do mesmo. O tempo de recebimento dos painéis é relativo, pois depende de muitos fatores que extrapolam as atribuições de Bio-Manguinhos.

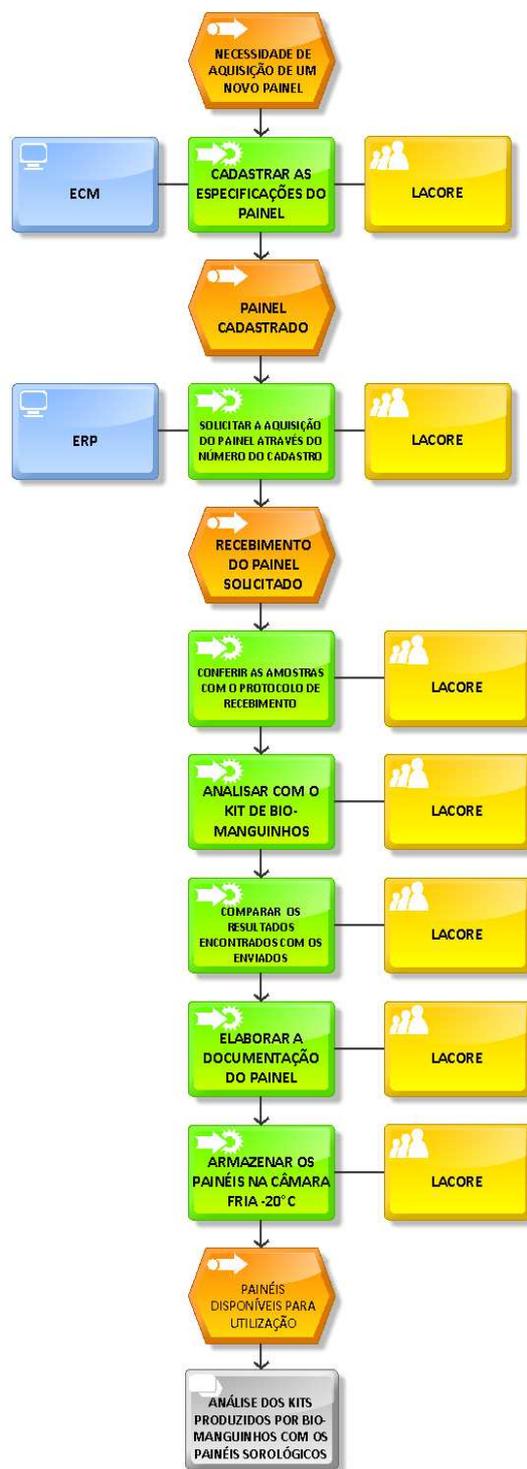


Figura 08: Processo de cadastro e aquisição de painéis de amostras para HIV.

Devido à doença de chagas ser um problema epidemiológico apenas dos países da América Latina, não existem painéis com as características necessárias para a utilização no controle de reativos disponíveis para comercialização. As amostras utilizadas para composição do painel para o diagnóstico desta doença são fornecidas apenas pelo SEPLA, com o mesmo procedimento para solicitação realizado para o HIV. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.

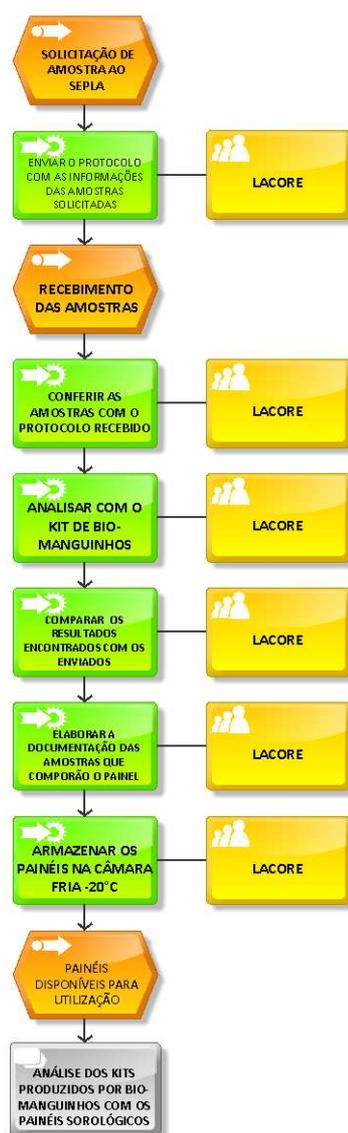


Figura 09: Processo de solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

Através da estreita relação do LACORE com a FUNED algumas amostras para composição dos painéis de Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana são doadas por esta instituição. A solicitação é feita informalmente através de e-mails.

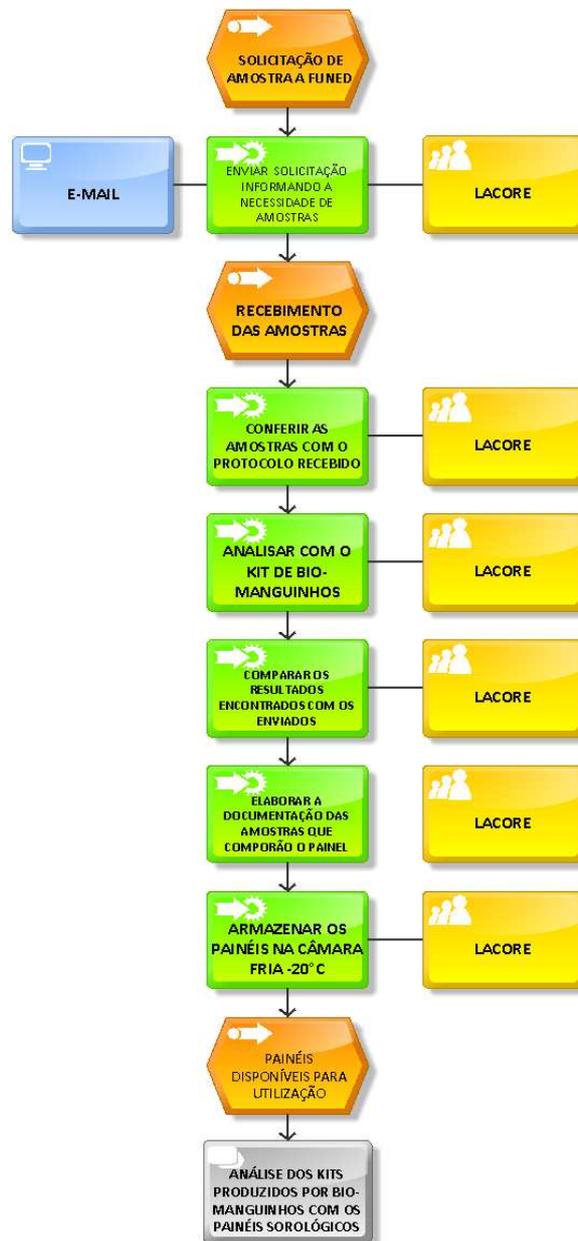


Figura 10: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a FUNED.

Estes painéis também são compostos por algumas amostras fornecidas pelo SEPLA, também seguindo o mesmo procedimento para solicitação realizado para o vírus HIV e a doença de chagas. Os controles interno e externo dos kits para esta patologia não utilizam os mesmos painéis.



Figura 11: Processo de Solicitação de amostras para Leishmaniose Visceral Canina e Leishmaniose Humana a SEPLA.

2.2. PROBLEMÁTICA DO SISTEMA ATUAL

No sistema utilizado para captação e processamento das amostras de soros empregadas para liberação dos kits produzidos por Bio-Manguinhos pode-se identificar algumas causas que dificultam a realização destes processos.

A primeira delas encontra-se na dificuldade de aquisição destes painéis, pois alguns deles não são encontrados facilmente para comercialização e quando encontrados, apresentam alto custo e um volume reduzido, o que gera uma grande despesa para Bio-Manguinhos, pois com a crescente demanda faz-se necessário um maior volume para utilização nas análises de liberação dos lotes de kits produzidos.

Outra dificuldade é que algumas das amostras recebidas são provenientes de doações da rotina de laboratórios públicos, não tendo às vezes um histórico clínico disponível e nem resultados em diferentes metodologias de análise, a fim de confirmar a caracterização desta amostra. O LACORE por sua vez, quando recebe estas amostras também não dispõe de recursos físicos para uma correta confirmação da caracterização destas amostras, apenas testando-as em lotes aprovados dos kits de Bio-Manguinhos. A utilização das referidas amostras na rotina do laboratório causa muitos problemas, pois em determinados lotes algumas amostras apresentam-se com resultados discordantes, não havendo como distinguir se o lote está realmente com problemas ou se as amostras é que não estão caracterizadas de forma correta e não expressam confiabilidade e as vezes não há outras disponíveis para substituição. Estes resultados discordantes causam dúvidas em relação às análises, precisando que sejam realizadas retestes destes produtos, ocasionando atrasos na liberação e entregas destes kits, ficando a rede pública desabastecida.

Além do laboratório não possuir outros kits comerciais para confirmação dos resultados das amostras enviadas, este também não possui uma estrutura física adequada, devido à falta de equipamentos para o processamento destas amostras, pois toda a manipulação destas é realizada fora de uma cabine de segurança biológica, ficando expostos os técnicos que realizam este procedimento, a falta de equipamentos de análise automatizados, falta de outros kits comerciais e de uma maior área física que comporte as análises de rotina para liberação dos kits e o processamento das amostras.

Para auxiliar a fase de análise e diagnóstico será utilizado o Diagrama de Causa e Efeito. Este, também é conhecido como Diagrama de Ishikawa ou de Espinha de Peixe, foi criado por Kaoru Ishikawa e é uma ferramenta amplamente utilizada pelas mais

diversas organizações. O propósito principal de um diagrama de causa e efeito é fornecer uma maneira de avaliar de forma sistemática todos os fatores que podem afetar determinada situação, conforme figura 09. (O Gerente, acessado em 01/03/2011)

O diagrama apresentado abaixo não segue a classificação dos problemas na forma estrutural dos 6M (Método, Matéria-prima, Mão-de-obra, Máquinas, Medição, Meio ambiente), sendo apenas utilizado para ilustrar os problemas encontrados.

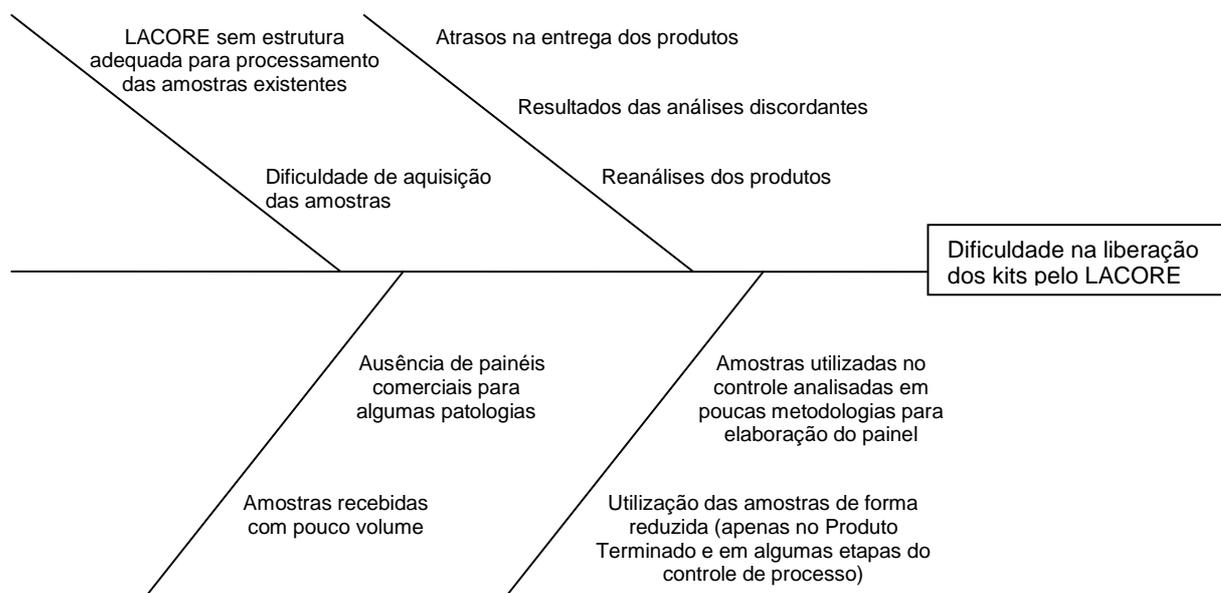


Figura 12: Diagrama de Causa e Efeito.

2.3. PROPOSIÇÃO DE MELHORIAS E REDESENHO DO PROCESSO

A proposta de melhoria será dividida em duas partes, melhoria dos processos de captação e processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos e melhoria da estrutura física do laboratório para análise destas amostras.

Para melhoria dos processos de captação seriam realizadas parcerias com instituições públicas com a finalidade de fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina, que servirão como matéria prima para a produção dos painéis

sorológicos, de forma que o LACORE captasse todas estas amostras e realizasse as análises para caracterização em seu laboratório.

Primeiramente, o LACORE firmaria parcerias com os laboratórios que já fazem o uso dos kits em sua rotina, solicitando ao SAC a relação de todos os clientes da rede pública. O primeiro contato seria realizado por telefone informalmente, onde o gerente do LACORE explicaria a utilização e a necessidade das amostras para o laboratório, avaliando a viabilidade do fornecimento juntamente com o responsável pela área contatada. Se o fornecimento for viável e aceito, este processo seria então formalizado através de um ofício enviado por Bio-Manguinhos a instituição cedente. Neste ofício será descrito para qual finalidade estas amostras serão empregadas e a responsabilidade do LACORE com estas, conforme acordado por telefone.

As amostras recebidas serão cadastradas com a numeração original e registradas com um número de controle interno do LACORE, garantindo-se assim a rastreabilidade de qualquer bolsa ou amostra, caso haja necessidade. Logo após o registro, estas serão armazenadas e liberadas para os processos de recalcificação, clarificação e aliqüotadas em menores volumes para evitar possíveis contaminações e se ter reposições, visto que as mesmas precisam ficar armazenadas em temperatura inferior a -20°C , e o constante descongelamento das mesmas afeta as características, pois são amostras de origem biológica. A caracterização das amostras deve ser realizada com uma alíquota deste soro.

O processo de recalcificação do plasma consiste na reposição do cálcio perdido, por meio da adição de cloreto de cálcio e ácido aminocapróico. Já o processo de clarificação consiste na adição de caolin (silicato de alumínio) para tornar o soro límpido.

O processo de caracterização das amostras será realizado seguindo os algoritmos para testagem da Portaria 153 de 14 de junho de 2004 para Sífilis, HIV e Doença de Chagas e para as demais patologias, devido à falta de uma normativa específica serão utilizados os mesmos critérios.

Para realização das análises serão utilizados os kits produzidos por Bio-Manguinhos e kits comerciais adquiridos através de solicitações de compra. Os kits comerciais utilizados para caracterização das amostras foram selecionados de acordo com os já empregados na rotina do SECAS / DIPPS. Estas amostras serão analisadas em dois testes de triagem e um teste confirmatório. As relações das metodologias e dos fabricantes estão descritas na tabela 02.

Reações Sorológicas para:	Metodologias / Fabricantes		
HIV 1/2	EIE Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Biomérieux	Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2 Bio-Manguinhos	IFI HIV-1 Bio-Manguinhos
Leptospirose	EIE IgM Leptospirose Bio-Manguinhos	EIE IgM Leptospira Panbio	-----
Sífilis	VDRL Brás Laborclin	EIE Trepanostika Biomérieux	FTA-ABS Wama
Leishmaniose Humana	Teste Rápido IT LEISH DiaMed	IFI Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos	-----
Leishmaniose Visceral Canina	EIE Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos	Calazar Canino Elisa / S7 Biogene	IFI Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos
Doença de Chagas	EIE Chagas Bio-Manguinhos	EIE Chagatest Wener	IFI Imunocruzi Biomérieux

Tabela 02: Kits comerciais utilizados para caracterização.

Após todo este processo, as amostras que obtiverem os mesmos resultados nas diferentes análises serão armazenadas na temperatura de -20°C e algumas alíquotas empregadas na rotina e também encaminhadas para utilização nos controles externos e nos laboratórios da produção dos kits.

Com a definição das análises de caracterização das amostras, torna-se necessário à adequação da estrutura física do laboratório a fim de se atender as normas de biossegurança e as boas práticas de fabricação. O LACORE atualmente está alocado em uma área de 42 m² no Departamento da Qualidade / Complexo Tecnológico de Vacinas – CTV e conta com 15 técnicos. Para a realização das análises de caracterização das amostras na metodologia de EIE seria necessária a aquisição de uma lavadora e uma leitora de microplacas, pois as que o laboratório possui são utilizadas para a rotina do controle dos kits e atendem a uma crescente demanda.

Além destes equipamentos, também seria necessária a aquisição de uma centrífuga, um banho-maria, uma cabine de segurança, um agitador de tubos e uma estufa, para complementar os equipamentos que já existem no laboratório e que não precisam ter sua utilização dedicada às atividades de processamento das amostras.

As atividades de processamento das amostras para composição dos painéis sorológicos também podem ser realizadas em uma outra área, necessitando, de acordo com as características mínimas para construção de um laboratório para este fim, faz-se necessário no mínimo 18 m² para alocação dos equipamentos que serão utilizados. Para a implantação deste sistema em outra área também seria preciso o aumento do quadro de funcionários, pois os funcionários alocados no laboratório atendem a demanda de toda a rotina existente, sendo preciso a contratação de mais 02, para atendimento exclusivo das análises de caracterização, de acordo com as atividades que serão realizadas.

Todo este levantamento das necessidades do laboratório foi definido pelo gerente do mesmo, e a partir da identificação e análise das causas foi possível estabelecer um plano de ação para o alcance dos objetivos deste projeto.

Nº	Problema	Ação de Melhoria	Recursos Necessários	Prazo
1	LACORE sem estrutura adequada para processamento das amostras	Adequação do laboratório existente.	Aquisição de equipamentos como lavadoras, leitoras, cabine de segurança, centrífuga, banho maria, entre outros.	01 ano
		Alocação do processamento dos painéis em outro laboratório.	Disponibilização de uma área física de 18 m ² .	02 anos
2	Dificuldade de aquisição das amostras	Parceria com instituições públicas para fornecimento de bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	Ofícios gerados pelo próprio LACORE.	03 meses
3	Ausência de painéis comerciais para algumas patologias	Elaboração de painéis para estas patologias	Bolsas de sangue ou amostras sorológicas de rotina.	06 meses
4	Amostras recebidas com pouco volume	Pré-seleção de amostras com volume suficiente.	Pessoal capacitado e treinado para a atividade de recebimento das amostras.	01 mês
5	Atrasos na entrega dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
6	Resultados das análises discordantes	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
7	Reanálises dos produtos	Análises realizadas com painéis sorológicos caracterizados.	Painéis sorológicos caracterizados.	06 meses
8	Amostras utilizadas no controle analisadas em poucas	Amostras analisadas em diferentes metodologias	Kits comerciais para análise das amostras.	06 meses

	metodologias para elaboração do painel	para elaboração do painel.		
9	Utilização das amostras de forma reduzida (apenas no Produto Terminado e em alguns produtos no controle de processo)	Utilização dos painéis na etapa final do controle de processo de todos os kits.	Painéis sorológicos caracterizados e em volume suficiente para análise em todas as etapas do controle.	06 meses

Tabela 03: Plano de ação para alcance dos objetivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho tem o objetivo de propor a implantação de um sistema de captação e processamento de amostras para elaboração de painéis sorológicos para a utilização na rotina do LACORE. Através do levantamento das informações a cerca destes processos, obtidas através de entrevistas abertas e análise dos processos atuais foi possível à estruturação de uma visão sistêmica do funcionamento destes.

O trabalho cumpriu com seu objetivo que era fazer uma proposta de implementação deste processo. Desta forma, conseguimos levantar os pontos críticos dos processos atuais e analisá-los, a fim de trazer incrementos no nível de eficiência dos processos.

A implementação de um sistema de captação e processamento de painéis sorológicos para utilização nas metodologias de controle de qualidade dos kits diagnósticos produzidos em Bio-Manguinhos além de contribuir para a segurança da liberação desses produtos, reduziria as reanálises dos processos, pois seriam utilizadas amostras conhecidamente caracterizadas e que não gerariam dúvidas quanto a sua procedência e, também, valorizaria a imagem do LACORE em relação aos controles externos de qualidade devido à confiabilidade das análises realizadas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 686 de 27 de Agosto de 1998. Institui e implementa as Boas Práticas de Fabricação para os estabelecimentos que fabriquem ou comercializem produtos para diagnóstico de uso "*in vitro*", 1998.

ARAÚJO, R., CAPPELLI, C., GOMES, A., PERREIRA, M., A definição de processos de software sob o ponto de vista da gestão de processos de negócio. VI Simpósio Internacional de Melhoria de Processos de Software, São Paulo, 2004.

ÁVILA, S. L. M., FERREIRA, A. W, Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes. 2 ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Imunoblot Rápido DPP HIV 1/2. 2010.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit Teste Rápido HIV 1/2. 2007.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina. 2008a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE IgM Leptospirose. 2008b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit EIE Chagas. 2008c.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Visceral Canina. 2008d.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI HIV-1. 2009a.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Leishmaniose Humana. 2009b.

BIO-MANGUINHOS, Manual de Instrução do Kit IFI Chagas. 2009c.

BIO-MANGUINHOS, FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/portifolio>, acessado em 07/01/2011.

BIO-MANGUINHOS / LACORE, Procedimento operacional Padrão Nº 3575. Recebimento e Processamento de Amostras de Sangue e Soro para Produção de Painel Interno. LACORE, 2009.

BIO-MANGUINHOS / ASSPO, Manual da Organização Nº 2924, 2008.

BIO-MANGUINHOS / FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Disponível em: <http://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdf/portifolio>, acessado em 10/01/2011.

CHAVES, V., M., G., Implementação do Método MAC KNIGHT para elicitación de requisitos na metodologia ARIS. Projeto de Graduação apresentado à Escola de Informática Aplicada da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, TELE-LAB, Controle de Qualidade Interno de Testes Sorológicos em Unidades Hemoterápicas de Saúde Pública, Brasília, 2008.

O Gerente. Disponível em: http://www.ogerente.com.br/qual/dt/qualidade-dt-diagrama_causa_efeito.htm, acessado em 01/03/2011.