

HBe Ag / Ab

IEMA WELL

Ref: KHB4IW

96 TESTES

 **RADIM**

REAGENTES DO KIT

Reagente	Quant.	Estado físico
Microplaca	1 X 96	Pronto para uso
Solução de lavagem	1 x 50 ml	Concentrado
Controle negativo	1 x 3 ml	Pronto para uso
Controle positivo HBeAg	1 x 1 ml	Pronto para uso
Controle positivo HBeAb	1 x 1 ml	Pronto para uso
Neutralizante	1 x 5 ml	Liofilizada
Diluyente da solução neutralizante	1 x 5 ml	Pronto para uso
Conjugado enzimático	1 x 14 ml	Pronto para uso
Cromógeno	1 x 15 ml	Líquido
Tampão substrato	1 x 15 ml	Líquido
Reagente bloqueador	1 x 14 ml	Pronto para uso

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO PARA DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DO ANTÍGENO “e” DO VÍRUS DA HEPATITE B (HBeAg) E/OU ANTICORPOS CONTRA O ANTÍGENO “e” (ANTI-HBe) EM PLASMA OU SORO HUMANO

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. APLICAÇÃO CLÍNICA

O teste para o antígeno “e” de Hepatite B (HBeAg) e seu anticorpo (anti-HBe), é um recurso diagnóstico importante na monitoração da infecção pelo vírus da Hepatite B. A presença do HBeAg em soro é um indicativo de uma fase de replicação ativa do vírus de Hepatite B. Este antígeno permite monitorar a evolução da infecção e tem, pelo menos na fase aguda, um valor prognóstico importante. Por outro lado, a presença dos anticorpos anti-HBe indicam uma diminuição da fase de replicação ativa do vírus e é um recurso diagnóstico importante para monitorar a soroconversão no caso de uma infecção aguda ou determinar a condição de portadores crônicos do vírus HBV.

2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

Para a determinação do HBeAg, o método baseia-se em ensaio imunoenzimométrico “sanduíche” na sua fase sólida. A amostra é incubada em microplaca sensibilizada com anti-HBe monoclonal juntamente com um segundo anticorpo monoclonal conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). Os dois anticorpos reagem com o antígeno formando um “sanduíche”. Após a lavagem, a atividade da enzima ligada na fase sólida será proporcional à concentração de HBeAg da amostra e identificada adicionando uma solução de cromógeno (tetrametilbenzidina TMB) e tampão substrato. A intensidade da cor desenvolvida é medida usando um espectrofotômetro em um comprimento de onda de 450 nm e 405 nm.

Para a determinação do anti-HBe, o método baseia-se em ensaio imunoenzimométrico “competitivo” na sua fase sólida. A amostra é incubada em microplaca sensibilizada com anti-HBe monoclonal, com uma solução neutralizante (HBeAg obtido através de um DNA recombinante) juntamente com um segundo anticorpo monoclonal conjugado com peroxidase de rábano (HRPO). Após a lavagem, a atividade da enzima ligada na fase sólida será inversamente proporcional à concentração de anticorpo anti-Hbe da amostra e identificada adicionando uma solução de cromógeno (tetrametilbenzidina TMB) e tampão substrato. A intensidade da cor desenvolvida é medida usando um espectrofotômetro em um comprimento de onda de 450 nm e 405 nm.

3. REAGENTES FORNECIDOS COM O KIT

- Os reagentes são suficientes para 96 testes
- Estocar o kit entre 2° a 8°C.
- A data de validade de cada reagente é apresentada na etiqueta do frasco.
- Uma vez aberto, o kit é estável entre 2° a 8°C por 2 meses.

3.1 Reagentes Específicos

1 - Microplaca - 1 microplaca x 96 microcavidades autoquebráveis, sensibilizadas com anticorpos monoclonais anti-HBe. Manter as microcavidades não utilizadas entre 2° e 8°C, na embalagem plástica fornecida e devidamente selada.

2 - Controle Negativo - 1 frasco x 3 ml – matriz sérica, negativo para todos os marcadores de Hepatite B, anti-HIV e anti-HCV. Pronto para uso. Conservante: neomicina.

3 – Controle Positivo HBeAg - 1 frasco x 1 ml – matriz sérica, positivo para HBeAg, negativo para HBsAg, anti-HIV e anti-HCV. Pronto para uso. Conservante: neomicina.

4 – Controle Positivo HBeAb - 1 frasco x 1 ml – matriz sérica, positivo para HBeAb, negativo para HBsAg, anti-HIV e anti-HCV. Pronto para uso. Conservante: neomicina.

5 - Solução Neutralizante (HBeAg) - 1 frasco liofilizado – contém HBeAg e BSA, liofilizado. Reconstituir a solução neutralizante adicionando ao frasco 5 ml de diluente do neutralizante fornecido no kit.

Após reconstituição, armazenar por 1 semana a 2-8°C, para períodos longos congelar a -20°C em alíquotas. Conservante: neomicina.

6 - Diluente neutralizante - 1 frasco x 5 ml – contém Tampão Tris-HCl, BSA e estabilizadores. Pronto para uso. Conservante: neomicina.

7 - Conjugado enzimático: 1 frasco x 14ml – IgG monoclonal anti-HBe conjugado com peroxidase de rábano (HRPO), em TRIS-HCl, BSA e estabilizadores. Pronto para uso. Conservante: Neomicina.

3.2 Reagentes comuns para kits da linha Hepatite B

8 - Solução de Lavagem (Concentrada) - 1 frasco x 50ml - PBS e Tween 20. Conservante: Mertiolato (<0.05%). Dilua o frasco em 500ml de água destilada. Armazenar a solução diluída entre 2° e 8°C por 30 dias. Na presença de cristais insolúveis, ressuspender a solução colocando o frasco a 37°C por alguns minutos.

9a – Cromógeno - 1 frasco x 15 ml – Tetrametilbenzidina (TMB) em tampão em citrato fosfato e DMSO. Líquido.

9b - Tampão substrato - 1 frasco x 15 ml – Tampão citrato fosfato e H₂O₂. Líquido.

Nota: Para obter a solução substrato, misture volumes iguais de cromógeno com tampão substrato usando um frasco escuro e extremamente limpo. Evite exposição de luz e use em no máximo 1 hora.

10 - Reagente bloqueador - 1 frasco x 14ml de ácido sulfúrico 1N (H₂SO₄ 1N) Pronto para uso.

– **Adesivo para selagem das microplacas**

– **Saco plástico**

4. MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

Teste Manual

- Micropipetas automáticas ajustáveis com ponteiros descartáveis.
- Incubador ajustável em 37°C ± 2°C.
- Provetas graduadas para diluição dos reagentes.
- Bomba de aspiração ou lavadora de microplacas automatizado.
- Espectrofotômetro para microplacas capaz de medir absorbâncias entre 0-3.0 dentro de um intervalo de comprimentos de onda 450 nm e 405 nm.
- H₂O destilado.

Teste automático

- Este teste pode ser usado em equipamento automático para kits ELISA em microplaca.
- Garantimos suas aplicações em equipamentos automáticos RADIM e/ou SEAC.
- Caso não seja utilizado um equipamento automático para microplaca que não seja RADIM ou SEAC, é de inteira responsabilidade do usuário certificar-se que foi apropriadamente testado para os kits ELISA.

5. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Para obter resultados corretos e reproduzíveis, as seguintes regras devem ser observadas:

- Não misturar reagentes específicos (ver 3.1) de lotes diferentes.
- É possível misturar os reagentes comuns (ver item 3.2) de lotes diferentes.
- Não usar reagentes após a sua data de validade.
- Não armazenar ou deixar os reagentes e amostras em temperaturas altas ou em áreas de possível contaminação.
- Usar os artigos de laboratório em vidro totalmente limpo, isentos de contaminação por íons metálicos ou substâncias oxidantes.
- Usar água destilada, armazenada em recipientes totalmente limpos.
- Evite qualquer contaminação entre as amostras; para esta finalidade devem ser utilizadas ponteiras descartáveis para cada amostra e cada reagente.
- Não modificar de nenhum modo o “Procedimento de Ensaio”. Se você não respeitar:
 - Sequência e a quantidade de reagente adicionado
 - Tempos de incubação e temperaturapodem ocorrer resultados clínicos incorretos.
- Reconstituir reagentes liofilizados, se presentes, conforme descrito nos receptivos rótulos. Qualquer desvio no uso dos reagentes ou volumes errados pode afetar a confiabilidade dos resultados obtidos.
- No caso de procedimento manual, é importante usar pipetas calibradas e possuir os manuais técnicos adequados. É de importância primordial uma boa precisão para a preparação e dispensação dos reagentes. Assegurar-se que todos os equipamentos usados estão em perfeitas condições de operação, que tenham sido corretamente calibrados e tenham sido submetidos a uma manutenção rotineira.
- Assegurar-se de que a bomba de aspiração ou dispositivo de lavagem de microcavidades automatizadas esteja em perfeitas condições de operação. O enxágue inadequado das microcavidades pode causar classificações incorretas das amostras. Assegurar-se que todos os equipamentos usados estejam em perfeitas condições de operação.
- Assegurar-se de que o espectrofotômetro para microplaca está em perfeitas condições de operação. O uso de espectrofotômetro descalibrado ou com filtros sujos pode causar uma leitura incorreta com conseqüente classificação incorreta de amostras. Assegurar-se de que todos os equipamentos usados estão em perfeitas condições de operação
- Assegurar-se de que a incubadora a seco (se necessário) esteja em perfeitas condições de operação. Uma temperatura de incubação diferente de $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pode causar perda de sensibilidade e/ou desnaturação biológica (amostras e/ou

reagentes). Assegurar-se de que o equipamento usado está em perfeitas condições de operação e que é verificada periodicamente a temperatura registrada.

- Assegurar-se de que a agitadora de microplaca (se necessário) esteja em perfeitas condições de operação. Uma agitação incorreta pode causar classificações erradas de amostras.
- Assegurar-se de que todos os equipamentos usados para armazenagem das amostras e/ou do sistema estejam em perfeitas condições de operação. A armazenagem em temperatura diferente da especificada pode causar desnaturação biológica do material (amostras e/ou reagentes). Assegurar-se de que o equipamento usado esteja em perfeitas condições de operação e que seja verificado periodicamente com registro de temperatura.
- Utilizar um método adequado para identificação correta das amostras de pacientes. Uma identificação incorreta pode causar perda de especificidade do sistema e resultados clínicos errôneos.

Para evitar contaminação pessoal e ambiental, as seguintes precauções devem ser observadas:

- Utilizar luvas descartáveis ao manipular material potencialmente infectante e enquanto estiver realizando o teste.
- Não pipetar reagentes com a boca.
- Não fumar, beber, comer ou aplicar cosméticos durante a realização do teste.
- O Cromógeno e o Reagente Bloqueador devem ser manipulados com cuidado. Evitar o contato com a pele, olhos e membranas mucosas. Em caso de acidentes enxaguar muito bem com água corrente.
- Todos os materiais de origem humana utilizados para a preparação deste kit apresentaram resultados negativos para HBsAg, anti-HIV e anti-HCV. Considerando-se que nenhum teste atualmente pode garantir a completa ausência destes vírus, todas as amostras e reagentes contendo material biológico utilizados para o teste devem ser considerados potencialmente infectantes.
- Evitar respingos e formação de aerossóis; nestes casos, lavar cuidadosamente com solução de hipoclorito de sódio a 3%. Qualquer material de limpeza deve ser tratado como potencialmente infectantes e descartado de acordo.
- De acordo com a legislação italiana D.L. nr. 22 datada de 05/02/97, em conformidade com as Diretrizes da Comunidade Européia (91/156/EEC, 91/689/EEC, 94/62/EEC), todos os produtos para descarte formados tanto pelo procedimento manual e/ou procedimento automatizado são considerados como material de descarte especial bioperigosos (Classificação Européia código 180103). Desta forma, devem ser eliminados delegando a tarefa a empresas especializadas, qualificados para a coleta e descarte de dejetos.

6. COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

O teste pode ser realizado em amostras de soro ou plasma. Amostras altamente lipêmicas ou hemolisadas devem ser descartadas. Manter as amostras devidamente armazenadas entre 2 a 8°C por 7 dias; para períodos mais longos, recomenda-se congelar as amostras a -20°C. As amostras de plasma podem apresentar filamentos de fibrina que podem interferir no teste; assegurar-se de que as amostras estejam sempre perfeitamente límpidas antes do uso. Devem ser evitados o congelamento e descongelamento repetitivo das amostras.

7a. PROCEDIMENTO DE ENSAIO (HBeAg)*

- Deixar que todos os reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente.
- Misturar amostras por inversão antes do uso.

7a.1 Preparar as microcavidades para o ensaio. O controle negativo deve ser incluído em quadruplicata e o controle positivo e o “blank” em duplicata, uma vez para cada amostra.

7a.2 Pipetar **100 µl** de Controle negativo, controle positivo e amostras dentro das respectivas microcavidades.

7a.3 Pipetar **100 µl** de conjugado enzimático dentro das microcavidades, com exceção do “blank”.

7a.4 Cobrir a microplaca com o adesivo para selagem e homogeneizar delicadamente.

7a.5 Incubar as microcavidades por **3 horas ± 10 minutos a 37 ± 2°C**.

7a.6 Remover o adesivo para selagem e aspirar cuidadosamente a mistura incubada de todas as microcavidades.

7a.7 Lavar as microcavidades **4 vezes** com **350 µl** de solução de lavagem diluída. Aspirar todos os líquidos das microcavidades.

7a.8 Pipetar **200 µl** de solução substrato preparada (ver parágrafo reagente) em todas as microcavidades.

7a.9 Incubar por **20 ± 2 minutos a 37±2°C** protegendo da incidência de luz direta.

7a.10 Pipetar **100 µl** de reagente bloqueador em todas as microcavidades.

7a.11 Ler a absorbância das microcavidades, com um espectrofotômetro bicromático a 450 nm, com comprimento de onda de referência a 620 nm (ajustar o equipamento no zero com a microcavidades Blank). No caso de overflow dos valores de absorbância, ler a 405 nm. As leituras devem ser completadas no espaço de tempo de 15 minutos após o término do ensaio.

7b. PROCEDIMENTO DE ENSAIO (anti-HBe)*

- Deixar que todos os reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente.
- Misturar amostras por inversão antes do uso.

7b.1 Preparar as microcavidades para o ensaio. O controle negativo deve ser incluído em quadruplicata e o controle positivo e o “blank” em duplicata, uma vez para cada amostra.

7b.2 Pipetar **50 µl** de Controle negativo, controle positivo e amostras dentro das respectivas microcavidades.

7b.3 Pipetar **50 µl** de Solução neutralizante em todas as microcavidades, com exceção do “blank”.

7b.4 Pipetar **100 µl** de conjugado enzimático dentro das microcavidades, com exceção do “blank”.

7a.5 Cobrir a microplaca com o adesivo para selagem e homogeneizar delicadamente.

7a.6 Incubar as microcavidades por **3 horas ± 10 minutos a 37 ± 2°C**.

7a.7 Remover o adesivo para selagem e aspirar cuidadosamente a mistura incubada de todas as microcavidades.

7a.8 Lavar as microcavidades **4 vezes** com **350 µl** de solução de lavagem diluída. Aspirar todos os líquidos das microcavidades.

7a.9 Pipetar **200 µl** de solução substrato preparada (ver parágrafo reagente) em todas as microcavidades.

7a.10 Incubar por **20 ± 2 minutos a 37±2°C** protegendo da incidência de luz direta.

7a.11 Pipetar **100 µl** de reagente bloqueador em todas as microcavidades.

7a.12 Ler a absorbância das microcavidades, com um espectrofotômetro bicromático a 450 nm, com comprimento de onda de referência a 620 nm (ajustar o equipamento no zero com a microcavidades Blank). No caso de overflow dos valores de absorbância, ler a 405 nm. As leituras devem ser completadas no espaço de tempo de 15 minutos após o término do ensaio.

* Ao utilizar os equipamentos RADIM e/ou SEAC, consultar o respectivo Manual do Usuário.

8a. ESQUEMA DE ENSAIO

Ver ao final das instruções de uso.

9a. CÁLCULO DOS RESULTADOS (HBeAg)*

Absorbância Média do Controle Negativo: calcular a média das absorbâncias dos controles negativos. O teste deve ser considerado válido se a média das D.O. for menor que 0,050.

Absorbância Média do Controle Positivo: calcular a média das absorbâncias dos controles positivos. O teste deve ser considerado válido se a média das D.O. for maior que 0,800.

Valor “cut-off”: Absorbância Média do Controle Negativo + 0,100

Quando usar o equipamento RADIM e/ou SEAC, a leitura do espectrofotômetro será realizada automaticamente em 3 diferentes comprimentos de onda: 450, 405 e 620nm permitindo uma ampla faixa de leitura.

9a.1 EXEMPLO DE CÁLCULO

Os valores a seguir devem ser considerados apenas como um exemplo e **não devem** ser utilizados ao invés dos dados experimentais.

Controles negativos: $(0.015 + 0.018 + 0.020 + 0.019) : 4 = 0.018$ (Controle Negativo Médio) (<0.050)

Controles positivos: $(1.480 + 1.500) : 2 = 1.490$ (Controle Positivo Médio) (>0.800).

O teste deve ser considerado válido.

Valor “cut-off”: $0.018 + 0.100 = 0.118$

9a.2 INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

As amostras com uma absorbância maior que o valor “cut-off” devem ser consideradas reativas para o HBeAg. As amostras com uma absorbância menor que o valor “cut-off” devem ser consideradas não reativas para HBeAg.

Uma amostra reagente no primeiro ensaio, deve ser retestada, e caso o resultado da amostra não seja repetidamente positiva, deve ser considerado negativa para o HBeAg. Amostras reagentes repetidamente devem ser consideradas positivas para HBeAg. As

amostras com uma absorbância com taxa de “cut-off” $\pm 10\%$ (zona cinzenta) devem ser consideradas questionáveis e serem retestadas.

- Absorbância menor que o valor “cut-off”: amostras negativas de HBeAg.
- Absorbância maior ou igual ao valor “cut-off”: amostras positivas de HBeAg.
- Absorbância com taxa de $\pm 10\%$ de “cut-off” (zona cinza): amostras questionáveis para HBeAg.

9b. CÁLCULO DOS RESULTADOS (anti-HBe)*

Absorbância Média do Controle Negativo: calcular a média das absorbâncias dos controles negativos. O teste deve ser considerado válido se a média de absorbância for maior que 1.000.

Absorbância Média do controle positivo: calcular a média das absorbâncias dos controles positivos. O teste deve ser considerado válido se a relação entre a média de absorbância do controle negativo e positivo for maior que 10 (MNC/MPC).

Valor “cut-off”: (Média do controle negativo + média de controle positivo):2

Quando usar o equipamento RADIM e/ou SEAC, a leitura do espectrofotômetro será realizada automaticamente em 3 diferentes comprimentos de onda: 450, 405 e 620nm permitindo uma ampla faixa de leitura.

9b.1 EXEMPLO DE CÁLCULO

Os valores a seguir devem ser considerados apenas como um exemplo e **não devem** ser utilizados ao invés dos dados experimentais.

Controles negativos: $(1.750 + 1.790 + 1.720 + 1.760) : 4 = 1.755$ (média do controle negativo) (>1.00)

Controles positivos: $(0.020 + 0.030) : 2 = 0.025$ (média do controle positivo)
MNC/MPC = 70.2 (>10)

O teste deve ser considerado válido.

Valor “cut-off”: $(1.755 + 0.025) : 2 = 0.890$

9b.2 INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

As amostras com uma absorbância superior que o valor “cut-off” devem ser consideradas não reagente para o anti-HBe. As amostras com uma absorbância inferior que o valor “cut-off” devem ser consideradas reagentes para anti-HBe.

As amostras reativas no primeiro ensaio (absorbância menor que o valor “cut-off”) devem ser retestadas para confirmação. Caso o resultado da amostra não seja repetidamente positiva, deve ser considerado negativa para o anti-HBe. Amostras

reagentes repetidamente devem ser consideradas positivas para anti-HBe. As amostras com uma absorbância com taxa de “cut-off” $\pm 10\%$ (zona cinza) deve ser considerada questionável e ser retestada.

- Absorbância maior que o valor “cut-off”: amostras negativas anti-HBe.
- Absorbância menor ou igual ao valor "cut-off": amostras positivas anti-HBe.
- Absorbância com taxa de $\pm 10\%$ de “cut-off” (zona cinzenta): amostras questionáveis para anti-HBe.

NOTA – Critério de validação do blank (para os dois procedimentos)
Os requisitos a seguir devem ser atendidos para que os testes sejam válidos.
- A absorbância do “blank” a 450 nm deve ser $<0,150$.

10. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

10.1 ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

A especificidade diagnóstica do método foi avaliado em um grupo de mais de 500 amostras (doadores e pacientes hospitalizados negativos) para HBeAg e anti-HBe, com resultado de $\geq 98\%$.

10.2 SENSIBILIDADE DIAGNÓSTICA

A sensibilidade diagnóstica foi avaliada em mais de 200 amostras positivas para HBeAg e anti-HBe, com resultado de $\geq 98\%$.

10.3 ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

A especificidade analítica pode ser definida como sendo a habilidade do ensaio em detectar precisamente o analito específico na presença de fatores que potencialmente interferem na matriz da amostra. Estudos controlados de substâncias potencialmente interferentes mostraram que o desempenho do ensaio não foi afetado por anticoagulantes (EDTA e heparina), ou pela presença de auto-anticorpos ou viroses correlatas.

10.4 SENSIBILIDADE ANALÍTICA

A sensibilidade analítica pode também ser expressa conforme o limite de detecção, que é a quantidade mínima de análise detectável específica pelo ensaio. O limite de detecção calculado pelo painel de referência PEI é 0,5 UI/ml para HBeAg e 0,6 UI/ml para anti-HBe.

10.5 PRECISÃO

A precisão foi avaliada em equipamento Radim determinando a repetibilidade e a reprodutibilidade do ensaio (variabilidade de intra e enter-ensaio), de 3 soros em diferentes concentrações de HBeAg e anti-HBe. Para transformar o resultado qualitativo em um parâmetro quantitativo, as densidades óticas obtidas para os soros foram divididos pelo valor cut-off, obtendo-se assim uma média amostra/cut-off (S/CO).

Repetibilidade (Intra-ensaio)

Anti-HBe

Soro	Média	±	S.D.	C.V. %	Replicatas nº
a	1,64	±	0,09	5,4	10
b	1,11	±	0,09	7,9	10
c	0,790	±	0,07	9,0	10

HBeAg

Soro	Média	±	S.D.	C.V. %	Replicatas nº
a	0,35	±	0,005	13,4	10
b	2,22	±	0,12	5,5	10
c	48,83	±	1,55	3,2	10

Reprodutibilidade (Enter-ensaio)

HBeAg

Soro	Média	±	S.D.	C.V. %	Dosagens nº
a	1,2	±	0,08	7,5	10
b	37,02	±	4,62	12,5	10
c	68,04	±	4,68	6,87	10

Anti-HBe

Soro	Média	±	S.D.	C.V. %	Dosagens nº
a	0,22	±	0,02	7,87	10
b	0,80	±	0,10	12,2	10
c	1,75	±	0,18	10,6	10

11. LIMITES DO ENSAIO

Os resultados do ensaio devem ser interpretados cuidadosamente e confirmados por avaliação clínica e posteriores testes de diagnósticos.

SÍMBOLOS

EN 980 - EDMA

REF Referencia ou número do pedido

LOT Lote



Data de vencimento



Para uso diagnóstico In-vitro



Marcação CE segundo a diretiva IVD 98/79 CE



Conservar entre 2 e 8°C



Fabricante



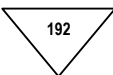
Risco biológico



Consultar as instruções de uso



Suficiente para 96 testes



Suficiente para 192 testes



Data de referência



Reconstituir com



Água destilada ou deionizada

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Krugman S., Overby L.R., Mushanwar I.K., Ling C.M., Frosner G.G. and Deinhardt F. Viral Hepatitis, Type B. Studies on Natural History and Prevention Re-examined. N. Engl. J. Med., 300: 101-106, 1979.
- 2 - Magnus L.O., Lindholm A., Lundin P. and Iwarson S. A New Antigen-Antibody System. Clinical Significance in Long-Term Carriers of Hepatitis B Surface Antigen. J. Am. Med. Assoc., 231: 356-359, 1975.
- 3 - Aldershvile J., Frosner G.G., Nielson J.O., Hardt F., Deinhardt F. and Skinhoy P. Hepatitis Be Antigen and Antibody Measured by Radioimmunoassay in Acute Hepatitis B Surface Antigen-Positive Hepatitis. J. Infect. Dis. 141: 293-298, 1980.
- 4 - Mushanwar I.K., Overby L.R., Frosner G.G., Deinhardt F. and Ling C.M. Prevalence of HBeAg and its Antibody as Detected by Radioimmunoassays. J. Med. Virol. 2: 77-87, 1978.
- 5 - Ling C.M., Mushanwar I.K., Overby L.R., Berquist K.R. And Maynard J.E. Hepatitis Be Antigen and its Correlation with Other Serological Markers in Chimpanzees. Infection and immunity. 24: 352-356, 1979.

ESQUEMA DO ENSAIO (HBeAg)

Microcavidades	Blank	Controle Negativo	Controle Positivo	Amostras
Controle negativo	-----	100 µl	-----	-----
Controle Positivo	-----	-----	100 µl	-----
Amostras	-----	-----	-----	100 µl
Conjugado enzimático	-----	100 µl	100 µl	100 µl

- Incubação: 37±2°C, 3h±10'
- Aspirar e lavar: 4 x 350 µl.

Solução substrato	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
-------------------	--------	--------	--------	--------

- Incubação: 37±2°C, 20'±2'

Reagente bloqueador	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
---------------------	--------	--------	--------	--------

- Leitura: 450 - 405 nm.

ESQUEMA DO ENSAIO (anti-HBe)

Microcavidades	Blank	Controle Negativo	Controle Positivo	Amostras
Controle negativo	-----	50 µl	-----	-----
Controle Positivo	-----	-----	50 µl	-----
Amostras	-----	-----	-----	50 µl
Solução neutralizante	-----	50 µl	50 µl	50 µl
Conjugado enzimático	-----	100 µl	100 µl	100 µl

- Incubação: 37±2°C, 3h±10'
- Aspirar e lavar: 4 x 350 µl.

Solução substrato	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
-------------------	--------	--------	--------	--------

- Incubação: 37±2°C, 20'±2'

Reagente bloqueador	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
---------------------	--------	--------	--------	--------

- Leitura: 450 - 405 nm.

Fabricado por:

RADIM SPA

Via del Mare, 125

00040 - Pomezia

ITÁLIA

Importado e distribuído por:

RADIM LATINO AMÉRICA DIAGNÓSTICOS LTDA.

Rua Domingos de Morais, 1061 – Cj. 111 e 112 – Vila Mariana

CEP. 04009-002 – São Paulo - SP

BRASIL

CNPJ. 04.595.434/0001-32

Serviço de Atendimento ao Consumidor:

Fone - 11-5084-9669

Fax: 11-5082-2029

POTENCIALMENTE INFECTANTE

Uso exclusivo ara diagnóstico in vitro

Reg ANVISA: 80103990084

Conservar entre 2°C - 8°C

Resp. Técnico - Dra. Sueli Sayori Nakano - CRBM 4501