

HBsAg ONE

**REF: KHB5IWA
96 TESTES
REF: KHB5IW
192 TESTES**

RADIM

HBsAg ONE

REF: KHA4EW
96 TESTES

REF: KHB5IW
192 TESTES

REAGENTES DO KIT

REAGENTES	QUANTIDADE 96 TESTES	QUANTIDADE 192 TESTES	ESTADO FÍSICO
Microplaca	1 microplaca 96 testes	2 microplacas 96 testes	Pronto para uso
Solução de Lavagem (20X)	2 X 50 ml	2 X 50 ml	Concentrado
Controle Negativo	1 X 4.0 ml	2 X 4.0 ml	Pronto para uso
Controle Positivo	1 X 2.0 ml	1 X 4.0 ml	Pronto para uso
Calibrador	2 frascos	4 frascos	Liofilizado
Diluyente do Conjugado	1 X 15ml	1 X 30ml	
Conjugado enzimático 20X concentrado	1 X 0,8 ml	1 X 1,5 ml	Pronto para uso
Cromógeno/Substrato	2 X 16 ml	3 X 16 ml	Pronto para uso
Reagente Bloqueador	1X 16 ml	2 X 16 ml	Pronto para uso

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO DE TERCEIRA GERAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO EM UMA ETAPA DO ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE DO VÍRUS DA HEPATITE “B” EM SORO OU PLASMA HUMANO

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. APLICAÇÃO CLÍNICA

A Organização Mundial de Saúde WHO World Health Organization, define a infecção pelo vírus da Hepatite B conforme segue:

A hepatite B é uma das maiores doenças da humanidade, e é um problema de saúde pública global. A hepatite significa a inflamação do fígado, sendo a causa mais comum a infecção com um dos cinco vírus denominados vírus da hepatite A, B, C, D e E. Todos esses vírus podem causar uma doença aguda com sintomas que se prolongam por várias semanas, incluindo pele e olhos amarelos (icterícia); urina escura; fadiga extrema; náusea; vômitos e dores abdominais. O vírus da hepatite B pode causar infecção crônica, e neste caso, o paciente torna-se um portador do vírus durante toda a sua vida; anos após acaba desenvolvendo cirrose ou câncer hepático.

O HBV é o tipo mais sério de hepatite viral, causando hepatite crônica para a qual existe vacina aprovada. O vírus da hepatite B é transmitido pelo contato sanguíneo ou fluidos corporais de uma pessoa infectada da mesma maneira que ocorre com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o vírus causador da AIDS. No entanto, o HBV é 50 a 100 vezes mais infectante que o HIV. Os principais caminhos para a infecção são: (a) perinatal (de mãe para filho no nascimento); (b) transmissão criança-criança; (c) transfusões e injeções sem segurança; (d) contato sexual.

O maior índice de infecções mundialmente difundidas são as de mãe para filho, de criança para criança em contatos domésticos e o reuso de seringas e agulhas sem esterilização. Nos países em desenvolvimento, quase todas as crianças estão infectadas com o vírus. Na maioria dos países industrializados (Leste da Europa e América do Norte), o padrão de transmissão é diferente. Nesses países a transmissão de mãe para filho e de criança para criança gerava 1/3 das infecções crônicas antes da implementação dos programas de vacinação. No entanto a maioria das infecções nestes países é adquirida

durante a fase adulta por atividade sexual e uso de drogas. Além disso, o vírus da hepatite B é classificado como uma doença infecciosa ocupacional de maior risco para os trabalhadores da área da saúde e a maioria destes trabalhadores foi vacinada com a vacina contra a hepatite B.

O vírus da hepatite B não é transmissível por alimento ou água, e não pode ser adquirido casualmente nos locais de trabalho. Altas taxas de infecção crônica de HBV são também encontradas no sudeste da Europa central e Europa Oriental. No Oriente Médio e no subcontinente indiano cerca de 5% estão cronicamente infectados. A infecção é menos comum na Europa Ocidental e na América Ocidental e na América do Norte, onde menos de 1% da população está cronicamente infectada.

Crianças jovens que são infectadas com HBV são mais susceptíveis em desenvolver a infecção crônica. Cerca de 90% das crianças infectadas durante o primeiro ano de vida e 30% a 50% das crianças infectadas entre 1 e 4 anos desenvolvem infecção crônica. O risco de morte por HBV correlacionado com câncer no fígado ou cirrose é de aproximadamente 25% para pessoas que se tornam cronicamente infectadas durante a infância. A hepatite B é tratada em alguns pacientes com medicamentos denominados Interferon ou **lamivudina**, que podem auxiliar em alguns casos de pacientes. As vezes os pacientes portadores de cirrose hepática são submetidos a transplantes de fígado, com uma porcentagem variável de sucesso. É preferível impedir esta doença com vacinação que tentar a curar a mesma.

A vacina de hepatite B tem resultados evidenciados de eficácia e segurança. Desde 1982, mais de um bilhão de doses da vacina foram mundialmente aplicados. A vacina é aplicada em uma série de três doses intramusculares. Estudos demonstraram que a vacina é 95% eficaz na prevenção em crianças e adultos em desenvolver a infecção crônica, se ainda não tiverem sido infectados. Na maioria dos países onde 8% a 15% das crianças costumam se tornar cronicamente infectado por HBV, a taxa de infecção crônica foi reduzida abaixo de 1% em grupos imunizados de crianças. Desde 1991, a WHO (Organização Mundial de Saúde) tem solicitado a todos os países que adicionem a vacina de hepatite B em seus programas nacionais de imunização.

O antígeno de superfície da hepatite B ou HBsAg é a proteína mais importante do envelope do vírus da hepatite B, responsável pela hepatite viral crônica e aguda.

O antígeno de superfície contém um determinante “a” comum em todos os subtipos conhecidos, imunologicamente diferenciados por dois sub-grupos (**ay** e **ad**).

A habilidade em detectar o HBsAg com imunoenaios de alta sensibilidade nos últimos anos, resultou a um entendimento de sua distribuição e disseminação epidemiológica ao redor do mundo e um decréscimo radical do risco da infecção por transfusão de sangue.

2. PRINCÍPIO DO TESTE

Um anticorpo monoclonal de camundongo específico para HBsAg está fixado na superfície das microcavidades. O soro ou plasma do paciente é adicionado na microcavidade juntamente com um segundo anticorpo monoclonal, conjugado com peroxidase de rábano silvestre (HRP) e direcionado contra um epítopo diferente.

O complexo imunoespecífico, formado na presença de HBsAg na amostra é captutado pela fase sólida. Ao final da incubação na primeira etapa, as

microcavidades são lavadas para remover proteínas séricas do soro e o conjugado (HRP) não ligado.

O cromógeno/substrato é então adicionado e na presença do imunocolplexo captutado pelo HBsAg, o substrato incolor é hidrolisado pelo conjugado marcado com HRP resultando em um produto final colorido. Após o bloqueio da reação enzimática, a densidade óptica é medida por uma leitora ELISA.

A intensidade da cor é proporcional à quantidade de HBsAg presente na amostra.

3. Reagentes fornecidos com o kit:

Os reagentes são suficientes para 96 testes (Ref: KHB5IWA) ou para 192 testes (Ref: KHB5IW)

Estocar o kit entre 2°C e 8°C.

A data de validade de cada reagente é apresentada na etiqueta do frasco.

Microplaca revestida – 96 microcavidades autoquebráveis, revestidas com anti-HBs, anticorpo monoclonal (camundongo), purificado por afinidade, específico para o determinante “a”, selada em embalagem com dessecante. Deixar que as microplacas atinjam a temperatura ambiente antes da abertura. Manter as microcavidades não utilizadas entre 2° a 8°C, na embalagem com dessecante devidamente selada.

Kit para 96 testes = 1 microplaca

Kit para 192 testes = 2 microplacas

Controle Negativo – Pronto para uso. Contém soro de cabra – 10mM de tampão fosfato pH 7,4 +/- 0,1 – 0,09% de azida sódica e 0,1%, de Kathon GC como conservantes. O controle negativo é codificado com a coloração amarelo palha.

Kit para 96 testes = 1 X 4,0ml/frasco

Kit para 192 testes = 2 X 4,0ml/frasco

Controle Positivo – Pronto para uso. Contém soro de cabra, HBsAg recombinante não infectante - 10mM de tampão fosfato pH 7,4 +/- 0,1 – 0,02% de sulfato de gentamicina e 0,1% de Kathon GC como conservantes. O controle positivo é codificado com a coloração verde.

Kit para 96 testes = 1 X 2,0ml/frasco

Kit para 192 testes = 1X 4,0ml/frasco

Calibrador – Liofilizado. Devem ser dissolvidos com água grau EIA conforme indicado no rótulo. Contém soro fetal bovino, HBsAg recombinante não infectante na concentração 0,5 UI/ml (2° Padrão Internacional WHO para HBsAg, NIBSC código 00/588), 10mM de tampão fosfato pH 7,4 +/- 0,1 – 0,02% de sulfato de gentamicina e 0,1% de Kathon GC como conservantes.

Nota: o volume necessário para dissolver o conteúdo do frasco pode variar de lote para lote. Verificar o volume correto indicado no rótulo.

Kit para 96 testes = 2 frascos

Kit para 192 testes = 4 frascos

Solução de lavagem (20X concentrada): Contém 10 mM de tampão fosfato pH 7,0 +/- 0,2 – 0,05% de Tween 20 e 0,05% de Kathon GC como conservantes.

Kit para 96 testes = 2 X 50ml/frasco

Kit para 192 testes = 2X 50ml/frasco

Conjugado enzimático (20X concentrado) – Anticorpo monoclonal de camundongo para HBsAg, determinante “a” marcado com peroxidase de rábano (HRPO) – 5% de BSA (albumina sérica bovina) – 10 mM de tampão Tris pH 6,8 +/- 0,1 – 5% de BSA (albumina bovina sérica), 0,1% de Kathon GC e 0,02% de sulfato de gentamicina como conservantes.

Kit para 96 testes = 1 X 0,80ml/frasco

Kit para 192 testes = 1 X 1,5ml/frasco

Diluinte do conjugado enzimático: Pronto para uso na cor vermelha. Contém 10 mM de tampão Tris pH 6,8 +/- 0,1 – 0,1% de kathon GC, 1% de soro normal de camundongo, 5% de BSA e 0,02% de sulfato de gentamicina como conservantes.

Kit para 96 testes = 1 X 15ml/frasco

Kit para 192 testes = 1 X 30ml/frasco

Cromógeno / Substrato – Contém 50 mM de tampão citrato fosfato pH 3,5-3,8 – 4% de dimetilsulfóxido (DMSO) – 0,03% de tetrametilbenzidina (TMB) e 0,02% de peróxido de hidrogênio.

Nota: Deve ser estocado ao abrigo da luz; pois é um reagente fotossensível.

Kit para 96 testes = 2 X 16ml/frasco

Kit para 192 testes = 3 X 16ml/frasco

Reagente Bloqueador – Contém ácido sulfúrico 0,3M. Pronto para uso.

Kit para 96 testes = 1 X 16ml/frasco

Kit para 192 testes = 2 X 16ml/frasco

Adesivos para selagem das microplacas

4. MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO.

Teste manual

- Micropipetas ajustáveis (150µL, 100µl e 50µl) com ponteiros descartáveis.
- Água grau EIA
- Cronômetro (timer) com faixa de 60 minutos ou acima.
- Papel absorvente
- Incubadora com termostato para microplaca ELISA calibrado (a seco ou banho maria), com capacidade de agitação a 1300 rpm +/- 150, a 37°C.
- Lavadora de microplacas para ELISA calibrada.

- Vórtex ou similar.
- Leitora de microplaca para ELISA calibrada com filtros de 450nm e se possível de 620 – 630 nm.

Teste Automático

- Este teste pode ser utilizado com um instrumento automático para kit de ELISA em microplaca.
- Garantimos sua aplicação nos instrumentos automáticos da RADIM e/ou EAC.
- Ao utilizar um instrumento automático, que não seja de fabricação da RADIM e/ou SEAC para microplacas, a responsabilidade final é do usuário em se certificar que o mesmo tenha sido apropriadamente testado para os testes por ELISA.

5. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- O kit deve ser usado por pessoal devidamente treinado e com prática, sob a supervisão do responsável técnico do laboratório clínico.
- Quando o kit for usado para o rastreamento de unidades de sangue (bolsas de sangue) e componentes de sangue, deve ser utilizado em um laboratório certificado por autoridades nacionais desta área (Ministério da Saúde ou entidade similar) para realizar este tipo de análise.
- Todo o pessoal envolvido no desempenho do ensaio deve usar roupas de laboratório (aventais, máscaras, luvas descartáveis e óculos). Deve ser evitado o uso de qualquer dispositivo afiado ou de corte. Todo o pessoal envolvido deve ser treinado em procedimentos de biossegurança, conforme recomendado pelo CDC – Center for Disease Control (EUA) e relatado na publicação do Instituto Nacional de Saúde.
- Todo o pessoal envolvido no manuseio de amostras deve estar vacinado contra o HBV e HAV, as vacinas utilizadas devem ser seguras e eficazes.
- Todo o ambiente laboratorial deve ser controlado de modo a evitar contaminações bacterianas e poeiras oriundas do ar; tomar cuidado ao abrir os frascos do kit e microplacas e ao realizar o teste. Proteger o cromógeno (TMB) da incidência da luz direta e evitar vibração superficial da bancada quando o teste estiver sendo realizado.
- Após o recebimento, armazenar o kit entre 2° a 8C em refrigerador com temperatura controlada ou câmara fria.
- Não intercambiar os componentes de lotes diferentes dos kits. Recomenda-se que os componentes entre dois kits do mesmo lote não sejam trocados.
- Verifique se os reagentes estão límpidos e não contém partículas precipitadas visíveis ou agregadas. Se contiverem, avise ao supervisor do laboratório para iniciar os procedimentos necessários para a substituição do kit.

- Evitar a contaminação cruzada entre soro/plasma usando ponteiras de pipetas descartáveis e trocando as mesmas após cada amostra.
- Evitar a contaminação cruzada entre reagentes do kit usando ponteiras de pipetas descartáveis e trocando as mesmas após cada uso.
- Não use o kit após a data do vencimento registrada na parte interna e externa dos rótulos dos frascos. Um estudo realizado com o kit aberto não demonstrou nenhuma perda importante de atividade após 6 reuso e até 6 meses após a abertura do kit.
- Tratar todas as amostras como potencialmente infectantes. Todas as amostras de soro humano devem ser manipuladas como recomendado pelas normas de biossegurança nível 2.
- Recomenda-se o uso de vidraria plástica descartável na preparação dos reagentes líquidos ou na transferência para as estações de trabalhos automatizados, de modo a evitar a contaminação cruzada.
- Os dejetos produzidos durante o uso devem ser descartados de acordo com as diretrizes e leis nacionais referentes aos dejetos laboratoriais de substâncias químicas e biológicas. Em particular, líquidos gerados pelo procedimento de lavagem, resíduos de controles e amostras devem ser tratados como potencialmente infectantes e inativados. Antes do descarte, assegure-se do procedimento de inativação, tratando com uma solução de hipoclorito de sódio a 10%, durante 16-18 horas ou inativação por calor de autoclave a 121°C durante 20 minutos.
- Respingos acidentais de amostras e de etapas do procedimento devem ser adsorvidos com papel absorvente umedecido com alvejante caseiro e a seguir com água. As toalhas de papel são a seguir descartadas em recipientes específicos para descarte de materiais hospitalares e de laboratório.
- O reagente bloqueador é irritante. Em caso de respingos, lave a superfície com água em abundância.
- Outros materiais gerados durante o uso do kit (por exemplo, ponteiras de pipetas usadas para amostras, controles e microplacas usadas) devem ser manuseados como potencialmente infectantes e descartado de acordo com as diretrizes e leis nacionais referentes a descarte laboratoriais.

6. AMOSTRAS – PREPARO E AVISOS

- O sangue é coletado assepticamente por venipunção e o soro ou plasma é preparado usando técnicas convencionais de preparação de amostra para análises clínicas laboratoriais. Não foi observada nenhuma influência em amostras coletadas com os anticoagulantes citrato, EDTA e heparina.
- Evitar qualquer adição de conservantes nas amostras; principalmente azida sódica, pois este reagente pode afetar a atividade enzimática do conjugado, gerando resultado falso negativo.
- As amostras devem ser claramente identificadas com código ou nomes para evitar a interpretação errônea de resultados. Quando um kit é utilizado para o

rastreamento de unidades de sangue em graus, é fortemente recomendável a identificação por rótulo com códigos de barras e leituras eletrônicas.

- Amostras hemolisadas e visivelmente hiperlipêmicas devem ser descartadas, pois podem gerar resultados falsos. As amostras contendo resíduos de fibrina, partículas pesadas, filamentos microbianos e corpúsculos devem ser descartados, pois podem gerar uma elevação de resultados falsos.
- O soro/plasma pode ser armazenado entre 2° a 8°C até cinco dias após a coleta. Para períodos de armazenagem mais longos, as amostras podem ser armazenadas por congelamento a -20°C durante vários meses. Qualquer amostra congelada não deve ser congelada/descongelada mais que uma vez, pois podem ser geradas partículas que afetarão os resultados do teste.
- Se houver a presença de partículas, centrifugar a 2000 rpm durante 20 minutos ou filtrar a amostra em filtro descartável de porosidade 0,2-0,8µm para clarificar a amostra a ser utilizada para o teste.

7. PREPARO DOS COMPONENTES E AVISOS

Um estudo realizado em um kit aberto não indicou perda relevante do desempenho até 6 rotinas em até 6 meses após a sua abertura.

1. Microcavidades revestidas

Deixar que a microplaca atinja a temperatura ambiente (aproximadamente por 1 hora) antes da abertura da embalagem. Verifique se o dessecante não se tornou verde escuro, indicando uma falha no processo de fabricação.

Neste caso, ligue para o SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor.

As tiras que não forem utilizadas devem ser colocadas de volta na embalagem de alumínio, com o dessecante fornecido, firmemente selada e armazenada entre 2° a 8°C. Após a primeira abertura, as tiras não utilizadas permanecem estáveis até o indicador de umidade dentro da embalagem do dessecante passar de amarelo para verde.

2. Controle negativo

Pronto para uso. Misture bem em vórtex antes do uso.

3. Controle positivo

Pronto para uso. Misture bem em vórtex antes do uso. O controle positivo não contém qualquer HBV infectante considerando que é composto por HBsAg sintético recombinante.

4. Calibrador

Adicionar o volume de água grau ELISA informado no rótulo do frasco liofilizado; deixar dissolver por completo e então misturar suavemente em vórtex.

Nota: o calibrador dissolvido não é estável; armazenar congelado em alíquotas a -20°C.

5. Solução de lavagem (concentrada)

A solução concentrada 20X deve ser diluída com água grau ELISA até 1000ml e misturada delicadamente por inversão antes do uso. Como alguns cristais podem estar presentes dentro do frasco, assegurar-se de dissolver todo o conteúdo ao preparar a solução.

Durante o preparo evitar a formação de espuma, pois a presença de bolhas pode impactar na eficiência dos ciclos de lavagem.

Nota: uma vez diluída, a solução de lavagem é estável por 1 semana entre 2° a 8°C.

6. Conjugado enzimático

A solução de trabalho é preparada diluindo 20X o reagente concentrado com o Diluente do Conjugado Enzimático (ex: 100µl do conjugado concentrado com 1,9 ml de diluente de conjugado).

Misture bem com vórtex antes do uso.

A solução de trabalho não é estável. Evite a contaminação microbiana do líquido com substâncias oxidantes ou poeiras. Caso este componente deva ser transferido, usar somente recipiente de plástico, e se possível, recipientes estéreis descartáveis.

Nota: preparar somente o volume necessário para o trabalho do dia que foi diluído; pois o conjugado diluído não é estável.

7. Cromógeno / Substrato

Pronto para uso. Misturar bem em vórtex antes do uso.

Evite a contaminação microbiana do líquido com substâncias oxidantes ou poeiras. Caso este componente deva ser transferido, usar somente recipientes de plástico e se possível, recipientes descartáveis.

8. H₂SO₄ – Ácido sulfúrico

Atenção: Irritante (Xi R36/38; S2/26/30)

R36/38= irritante para olhos e pele

S2/26/30= em caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com água em abundância e procurar ajuda médica.

8. EQUIPAMENTOS E DISPOSITIVOS USADOS EM CONJUNTO COM O KIT

1. As micropipetas devem ser calibradas para dispensar o volume correto necessário pelo ensaio e devem ser submetidos à descontaminação regular (70% de etanol, 10% de solução alvejante, desinfetantes hospitalares) e das partes que poderiam entrar acidentalmente em contato com a amostra ou componentes do kit.

Devem ser também submetidas regularmente a manutenção para demonstrar uma precisão de 1% e uma exatidão de +/- 2%. A descontaminação de respingos ou resíduos dos componentes do kit deve ser realizada regularmente.

2. A incubadora ELISA deve estar regulada a +37°C (tolerância de +/-1°C) e regularmente verificado para assegurar que a temperatura coreta seja mantida. Tanto o incubador a seco como em banho maria são adequados para incubações e o equipamento deve estar validado para incubação dos testes ELISA.

3. No caso de agitação durante as incubações, o equipamento deve assegurar 350 rpm +/- 150. A amplitude da agitação é muito importante, pois uma agitação errada pode originar respingos e até alguns resultados falsos positivos.

4. A lavadora ELISA é extremamente importante durante todo o desempenho do ensaio. A lavadora deve estar cuidadosamente validada e corretamente otimizada usando controles do kit e painéis de referência, antes de usar os kits para os testes laboratoriais da rotina. Geralmente ciclos de lavagem 4-5 (aspiração + dispensação de 300µl/microcavidade de solução de lavagem = 1 ciclo) são suficientes para assegurar que o ensaio tenha o desempenho desejado. Sugere-se um intervalo de 20-30 segundos entre ciclos. Para configurar corretamente os números, é recomendado fazer um ensaio com os controles do kit e caracterizar bem as amostras de referência, amostras negativas e amostras positivas e verificar-se os valores estão relatados na seção “Controle de Qualidade Interna”.

Deve-ser realizada, de acordo com as instruções do fabricante, calibrações rotineiras de volumes dispensados e a manutenção (descontaminação e limpeza das agulhas) da lavadora.

5. Os tempos de incubação têm uma tolerância de $\pm 5\%$.

6. A leitora de microplaca ELISA deve estar equipada com um filtro de leitura de 450nm e ter um segundo filtro de 620-630nm para propósitos de “blinking”. Seu desempenho padrão deve ser (a) largura da banda < 10nm; (b) faixa de absorbância entre 0 a > 2.0; (c) linearidade > 2.0; (d) repetibilidade > 1%.

O blinking é realizado na microcavidade identificada na seção “Procedimento do Ensaio”. O sistema óptico da leitora deve ser calibrado regularmente para assegurar que a medida da densidade óptica seja correta. Deve ser submetido à manutenção regular de acordo com as instruções do fabricante.

7. Ao usar a estação de trabalho automatizada ELISA, todas as etapas críticas (dispensação, incubação, lavagem, leitura, agitação, manipulação dos dados) devem ser cuidadosamente configuradas, calibrados, controlados regularmente e verificados de modo a estar dentro dos valores especificados, na seção Controle de Qualidade Interno. O protocolo de ensaio deve ser instalado no sistema de operação da unidade e validado com a lavadora e a leitora. Além disso, a manipulação dos líquidos na estação (dispensação e lavagem) devem ser

validadas e configuradas corretamente. Uma atenção especial deve ser dada para evitar “carry-over” pelas agulhas usadas na dispensação e lavagem das amostras. Isto deve ser estudado e controlado para minimizar a possibilidade de contaminação das microcavidades adjacentes com as amostras fortemente positivas que causam resultado falso positivos. O uso de estações de trabalho automatizado ELISA é recomendado para rastreamento do sangue e quando número de amostras a serem testadas exceder a 20-30 min por percurso.

8. Ao utilizar dispositivos automáticos, no caso do suporte dos frascos do equipamento não se adequar totalmente aos frascos fornecidos no kit, transferir a solução em frascos apropriados e etiquetar com os mesmos rótulos retirados do frasco original. Esta operação é importante de modo a evitar a mistura do conteúdo dos frascos ao realizar a transferência. Quando o teste terminar, colocar os frascos secundários entre 2° a 8°C firmemente tampados.

9. O Serviço de Atendimento ao Consumidor oferece suporte ao usuário na configuração e verificação dos equipamentos usados em combinação com o kit, para assegurar a completa conformidade com os requerimentos descritos.

9. CONTROLES DE PRÉ - ENSAIO E OPERAÇÕES

- Verificar a data de vencimento do kit, impressa no rótulo externo da caixa do kit, não use se estiver vencido.
- Verificar se os componentes líquidos não está contaminados por agregados ou partículas visíveis a olho nu. Verificar se o Cromógeno/Substrato está incolor ou azul pálido, aspirando um pequeno volume em uma pipeta de plástico estéril. Certificar-se que não ocorreu quebra do frasco durante o transporte e nenhum líquido tenha se extravasado dentro da caixa do kit. Verificar-se a embalagem de alumínio contendo a microplaca não está rompida ou danificada.
- Diluir todo o conteúdo da solução de lavagem concentrada 20X conforme descrito acima.
- Dissolver o calibrador conforme descrito acima e agitar suavemente.
- Deixar que os outros componentes atinjam a temperatura ambiente (aproximadamente 1 hora) e então agitar como descrito.
- Ajustar à incubadora ELISA a +37°C e preparar a lavadora rinsando com a solução de lavagem diluída, de acordo com as instruções do fabricante. Configurar o número correto de ciclos de lavagem conforme descrito na validação do equipamento para uso com o kit.
- Verificar se a leitora ELISA está ligada ou certificar-se que a mesma já esteja ligada pelo menos 20 minutos antes da leitura.
- Caso esteja usando estação de trabalho automatizado, ligar e verificar a configuração e assegurar-se de usar o protocolo de ensaio correto.
- Verificar se as micropipetas estão configuradas no volume especificado.

- Verificar se todos os outros equipamentos estão disponíveis e prontos para uso.
- Em caso de problemas, não continuar com o teste e avisar o supervisor.

10. PROCEDIMENTO DE ENSAIO

O ensaio deve ser realizado conforme abaixo relatado, tomando cuidado para manter o mesmo tempo de incubação para todas as amostras que estiverem sendo testadas.

Ensaio automatizado

Em caso do teste for realizada com o sistema ELISA automatizada, sugerimos fazer primeiro a dispensação no equipamento de 150µl de controles, calibrador, a seguir a seguir todas as amostras e finalmente 100µ de conjugado enzimático diluído.

Para a etapa de pré-lavagem (etapa 1 do procedimento do ensaio) e em todas as próximas operações, seguir as instruções relatadas no ensaio manual abaixo.

Para a próxima operação, seguir o procedimento relatado abaixo para o ensaio manual.

É fortemente recomendado que o intervalo de tempo entre a dispensação da primeira amostra e da última amostra seja calculado pelo equipamento e levado em consideração atrasando o intervalo da primeira operação de lavagem de modo adequado.

Ensaio manual

1. Colocar o número necessário de microcavidades no suporte de tiras da microplaca. Deixar a microcavidade A1 vazia “para o ‘blanking’”. Armazenar as outras tiras na embalagem selada contendo o dessecante entre 2° a 8°C.

Nota: a pré-lavagem é fundamental para obter resultados específicos e seguros tanto no procedimento manual quanto no automático.

Não omita esta etapa!!!

2. Deixar a microcavidade A1 vazia para o “blanking”.

3. Dispensar 150µl de controle negativo em triplicata, 150µl de calibrador em duplicata e 150µl de controle positivo em uniplicata seguido por 150µl de cada amostra em cada microcavidade.

4. Verificar a presença de amostras nas microcavidades a lho nu (existe uma diferenciação de cores entre as microcavidades cheias e as vazias) ou por leitura a 450/620nm (as amostras apresentam valores D.O. maiores que 0,100).

5. Dispensar 100µl de conjugado enzimático em todas as microcavidades, com exceção do A1 usada para “blanking”.

Nota: Tomar cuidado para não tocar na superfície interna da microcavidade com a ponteira da pipeta quando o conjugado for dispensado. Pode ocorrer contaminação.

6. Após a adição do conjugado, verificar se a cor das amostras se alterou de amarelo para vermelho e então incubar a microplaca durante 120 min a + 37°C.

Nota: As tiras devem ser seladas com o filme adesivo somente quando o teste for realizado manualmente. Não cobrir as tiras quando usar equipamentos automatizados ELISA.

7. Lavar a microplaca 4-5 vezes com a lavadora automática de microplacas, dispensando e aspirando 350µl por microcavidade de solução de lavagem diluída.

8. Pipetar 200µl de substrato/cromógeno dentro das microcavidades, incluindo o poço A1.

Nota: não expor a microplaca à incidência de luz direta, pois podem ocorrer alterações de fluído “background”.

9. Incubar a microplaca protegida da luz à temperatura ambiente (18-24°C) durante 30 min. As microcavidades que contiverem amostras positivas, calibrador e amostras positivas adquirem a coloração azul claro.

10. Pipetar 100µl de ácido sulfúrico dentro das microcavidades para acessar a reação enzimática, usando a mesma sequência da etapa 8. A adição do ácido sulfúrico alterará a coloração do controle positivo, do calibrador e das amostras positivas de azul para amarelo.

11. Medir a intensidade da cor da solução de cada microcavidade (ver seção “Equipamentos e Dispositivos Usados em Combinação com o Kit”) usando filtro de 450nm e se possível, um filtro de 620-630nm (para o “background”), zerando (“blinking”) o equipamento em A1.

Notas importantes

- Se o segundo filtro não estiver disponível, assegurar-se que nenhuma impressão digital ou poeira esteja presente no fundo externo da microcavidade antes da leitura a 450nm. Isso poderá gerar falsos positivos quando da leitura.
- A leitura deve ser feita de modo ideal imediatamente após a adição da solução ácida, mas nunca mais que 20 minutos após adição do reagente. Pode ocorrer auto-oxidação do cromógeno gerando um “background” mais elevado.
- Quando as amostras testadas não estiverem seguramente limpas ou estiverem congeladas, é recomendado o procedimento de ensaio relatado abaixo, pois as mesmas são susceptíveis a interferências devido à hemólise, hiperlipemia, contaminação bacteriana e miopartículas. O ensaio é feito em duas etapas a 37°C em agitador na velocidade de 350rpm ± 150rpm conforme segue:

1. Dispensar 100µl de controles, calibrador e amostras.
2. Incubar por 60 min. A +37°C em agitador a 350 rpm ± 150rpm.

3. Lavar de acordo com as instruções (ver seção “Equipamentos e Dispositivos Usados em Combinação com o Kit”).
4. Dispensar 100µl de conjugado enzimático diluído.
5. Incubar por 30 min. A +37°C em agitador a 350 rpm ± 150rpm.
6. Lavar.
7. Dispensar 100µl de solução TMB e água oxigenada.
8. Incubar por 30 min. A temperatura ambiente em agitador a 350 rpm ± 150rpm.
9. Interromper a reação com 100µl de ácido sulfúrico.
10. Realizar a leitura.

Este método mostra desempenho similares ao padrão um e portanto pode ser usado alternativamente.

“Ao utilizar equipamento automático RADIM e/ou SEAC para microplacas, consultar o respectivo Manual do Usuário. Ao usar os equipamentos acima mencionados, a leitura do espectrofotômetro será realizada automaticamente em 3 comprimentos de ondas diferentes; 450, 620 e 405nm, permitindo uma faixa de curva mais ampla.

11. ESQUEMA DO ENSAIO

Operações	Procedimentos
Etapa de pré-lavagem	Ciclo nr. 1
Controles, calibradores e amostras	150µl
Conjugado enzimático diluído	100µl
1ª incubação	120 min.
Temperatura	+37°C
Etapa de lavagem	4-5 ciclos 350µl / microcavidade
Cromógeno/Substrato	200µl
2ª incubação	30 min.
Temperatura	Ambiente (18° - 24°C)
Ácido sulfúrico	100µl
Leitura D.O.	450nm

12. CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Uma verificação é realizada nos controles/calibradores a qualquer momento que o kit é utilizado de modo a verificar se a D.O. esperada a 450nm ou valores S/Co foram alcançados e relatados conforme abaixo:

Assegurar-se que os seguintes resultados sejam atingidos

Parâmetro	Requisitos
Microcavidade blanking	<0,100 Valor D.O.450 nm
Controle Negativo	<0,050 valor médio D.O.nm após o blank
Calibrador 0,5 UI/ml (2ª preparação da OMS)	S/Co \geq 2
Controle Positivo	> 1,000 Valor D.O. a 450nm

Se os resultados dos testes atingirem os requisitos acima, prosseguir para a próxima seção.

Caso não atinjam não continuar e realizar as seguintes verificações:

Problema	Verificação
Microcavidade “blank” > 0,100 D.O. 450nm	1. Se o Cromógeno/Substrato não se contaminou durante o ensaio
Controle Negativo (NC) > 0,050 D.O.450nm após o blanking Coeficiente de variação > 30%	1. Se o procedimento de lavagem e as configurações da lavadora estão validados no estudo de pré-qualificação; 2. Se foi usada a solução de lavagem apropriada e se a lavadora foi ativada antes do uso; 3. Se não ocorreu erros no procedimento do ensaio (dispensação de controle positivo ao invés de controle negativo); 4. Se não houve contaminação do controle negativo ou das microcavidades onde o controle foi dispensado devido a respingos de amostra positiva ou do conjugado enzimático; 5. Se as micropipetas não foram contaminadas com as amostras positivas ou com o conjugado enzimático; 6. Se as agulhas da lavadora não estão bloqueadas ou parcialmente obstruídas.
Calibrador S/Co < 2,0	1. Se o procedimento foi corretamente realizado; 2. Se não houve erros durante a dispensação do controle negativo ao invés do calibrador; 3. Se o procedimento de lavagem e as configurações da lavadora foram validados no estudo de pré-qualificação; 4. Se não ocorreu nenhuma contaminação

	externa no calibrador.
Controle Positivo < 1,000 D.O. 450nm	<ol style="list-style-type: none"> 1. Se o procedimento foi corretamente realizado; 2. Se não houve erros durante a distribuição do controle (dispensação do controle negativo ao invés do controle positivo). Neste caso, o controle negativo irá apresentar também um valor de D.O.450nm > 0,150; 3. Se o procedimento de lavagem e as configurações da lavadora foram validados no estudo de pré-qualificação; 4. Se não ocorreu nenhuma contaminação externa no calibrador.

Se quaisquer dos problemas acima ocorrerem, relatar o problema ao supervisor para que sejam tomadas as devidas decisões e ações.

13. CÁLCULO DO “CUT-OFF”

Os resultados dos testes são calculados através do valor de “cut-off” determinado pela seguinte fórmula:

$$\text{“Cut-off”} = \text{Média NC D.O. 450nm} + 0,050$$

O valor encontrado para o teste é usado para interpretação de resultados conforme descrito no próximo parágrafo:

Nota importante: Quando o cálculo dos resultados é realizado operando o sistema de estação de trabalho automatizado ELISA, certifique-se que seja utilizada a fórmula apropriada para o cálculo de “cut-off” e gerar a interpretação correta dos resultados.

14. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

Os resultados são interpretados como a média do resultado da amostra D.O. 450nm e o valor de “cut-off” de acordo com a tabela a seguir:

Co/S	Interpretação
< 0,9	Negativo
0,9 – 1,1	Ambíguo
>1,1	Positivo

Um resultado negativo indica que o paciente não foi infectado pelo HBV ou que a unidade de sangue pode ser utilizada para transfusão.

Qualquer paciente que tenha um resultado ambíguo deve ser re-testado com uma segunda amostra coletada 1-2 semanas após a coleta da primeira amostra.

Um resultado positivo é indicativo de uma infecção por HBV e desta forma o paciente deve ser tratado de acordo ou a unidade de sangue para transfusão descartada.

Notas importantes:

1. A interpretação de resultados deve ser feita pelo supervisor do laboratório para reduzir o risco de julgamento errôneo e interpretações errôneas.
2. Qualquer resultado positivo deve ser confirmado primeiro repetindo o teste na amostra, após haver filtrado a amostra em um filtro de porosidade 0,2µm – 0,8µm
3. para remover qualquer interferência por micropartículas. Se o resultado continuar positivo, deve ser testado por um método alternativo (teste confirmatório) antes de confirmar o diagnóstico de hepatite viral.
4. Quando o resultado dos testes é transmitido de um laboratório para outro local, a atenção deve ser redobrada para evitar transferência errada de dados.
5. O diagnóstico da infecção de hepatite viral deve ser informado ao paciente pelo método especializado desta área.

Um exemplo de cálculo é relatado abaixo:

Os dados a seguir não devem ser usados ao invés dos dados reais obtidos pelo usuário.

Controle negativo	0,012 – 0,008 – 0,010 D.O. 450nm
Valor médio	0,010 D.O. 450nm
Inferior a 0,050	Aceito

Controle positivo	2,489 D.O. 450nm
Superior a 1,000	Aceito

“Cut-off” = (0,010 + 0,050) = 0,060

Calibrador	0,350 – 0,370 D.O. 450nm	
Valor médio	0,360 D.O. 450nm	S/Co=6,0
S/Co superior a 2,0	Aceito	

Amostra 1:	0,028 D.O. 450nm
Amostra 2:	1,690 D.O. 450nm
Amostra 1:	S/Co < 0,9 negativo
Amostra 2:	S/Co > 1,1 positivo

15. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

A avaliação das características de desempenho foi realizada de acordo com o relatório das Especificações Técnicas Comuns ou CTS (“Common Technical Specifications of CTS”), (Art.5, capítulo 3 da Diretoria da Comunidade Européia 98/79 EC IVD).

15.1 Limite de detecção

O limite de detecção do ensaio foi calculado através das seguintes preparações internacionalmente especificadas.

- Padrões para HBsAg – sub-tipos ay e ad – fornecidos pelo Instituto Paul Erlich (para preparação de 50.000 U/ml e 100 U/ml respectivamente);
- NIBSC 2 British working standart (padrão French/UK código 99/640-005-WI).
- WHO (Organização Mundial de Saúde) International Standart, código nº 80/549.
- 2 WHO (Organização Mundial de Saúde) International Standart, NIBSC código 00/588.

Os resultados do controle de qualidade são representados na tabela a seguir:

Preparação Padronizada	UI/ml ou ng/ml
PEI	
Sub - tipo ad	0.0125
Sub – tipo ay	0.0125
NIBSC	0.03
1º padrão WHO (Organização Mundial de Saúde)	0.05
2º padrão WHO (Organização Mundial de Saúde)	0.1 – 0.05

O painel # 806 fornecido pela Boston Biomedical Inc, EUA também foi testado para definir o limite de sensibilidade.

Os resultados estão na tabela a seguir:

Painel BBI 806

Identificação	HBsAg Sub-tipo	BBI ng/ml	Abbott ng/ml	PEI U/ml	Lote 1 S/Co	Lote 2 S/Co	Lote 3 S/Co
806 -1	ad	2,5	3,1	0,31	9.5	9.4	9.7
806 - 2	ad	1,5	1,6	0,17	5.1	5.0	5.3
806 - 3	ad	1	1	0,1	3.2	3.2	3.3
806 – 4	ad	0,8	0,9	0,09	2.6	2.4	2.8
806 – 5	ad	0,6	0,7	0,07	2.3	2.1	2.4
806 – 6	ad	0,5	0,5	0,06	2.0	1.8	1.9
806 – 7	ad	0,4	0,5	0,05	1.7	1.6	1.8
806 – 8	ad	0,3	0,3	0,03	1.4	1.3	1.5
806 – 9	ad	0,2	0,2	0,02	1.2	1.1	1.2
806 – 10	ad	0,1	0,1	0,01	0.8	0.7	0.8
806 – 11	ay	2,4	1,8	0,21	10.5	10.7	10.6

806 – 12	ay	1,3	1	0,11	5.3	5.6	5.5
806 – 13	ay	0,9	0,6	0,07	4.7	4.9	4.9
806 – 14	ay	0,8	0,5	0,06	3.9	4.0	4.0
806 – 15	ay	0,6	0,4	0,05	2.6	2.7	2.5
806 – 16	ay	0,5	0,4	0,04	2.4	2.5	2.5
806 --17	ay	0,4	0,3	0,03	1.7	1.8	1.9
806 --18	ay	0,3	0,3	0,03	1.6	1.7	1.7
806 – 19	ay	0,2	0,2	0,02	1.4	1.6	1.5
806 – 20	ay	0,1	0,1	0,01	1.1	1.2	1.1
806 - 21	negativo	0	0	0	0.2	0.2	0.2

Alem disso, um painel de sensibilidade, fornecido pela EFS, França foi testada com o Procedimento Padrão e apresentou os resultados a seguir:

Painel EFS, França

Amostra	(c) Teórico de HBsAG ng/ml	Média D.O. 450nm	S/Co	Ortho S/Co
HB 1	0.10	0.039	0.7	0.6
HB 2	0.20	0.082	1.4	1.2
HB 3	0.30	0.116	2.0	1.8
HB 4	0.45	0.161	2.7	2.8
HB 5	0.66	0.210	3.6	3.9
HB 6	diluyente	0.009	0.2	0.2

Painel de sensibilidade SFTS, França, AG HBs 2004

Identificação da amostra	características	Ng/ml	S/CO
151	Adw2 + ayw3	2.24 ± 0.15	10.8
152	Adw2 + ayw3	1.15 ± 0.06	5.8
153	Adw2 + ayw3	0.95 ± 0.05	5.0
154	Adw2 + ayw3	0.58 ± 0.04	3.3
155	Adw2 + ayw3	0.050 ± 0.03	2.6
156	Adw2 + ayw3	0.36 ± 0.02	1.9
157	Adw2 + ayw3	0.23 ± 0.02	1.3
158	Adw2 + ayw3	0.13 ± 0.02	0.7
159	Adw2 + ayw3	0.06 ± 0.01	0.4
160	Adw2 + ayw3	0.04 ± 0.01	0.2
161	Adw2	0.5 ± 1.0	2.8
162	Adw4	0.5 ± 1.0	2.6
163	Adr	0.5 ± 1.0	3.0
164	Ayw1	0.5 ± 1.0	2.9

165	Ayw2	0.5 ± 1.0	3.9
166	Ayw3	0.5 ± 1.0	4.6
167	Ayw3	0.5 ± 1.0	4.3
168	Ayw4	0.5 ± 1.0	4.2
169	Ayr	0.5 ± 1.0	3.6
170	Diluyente	/	0.1

15.2 Sensibilidade clínica

A sensibilidade clínica foi testada em painéis de amostras classificadas como positivas por um kit aprovado pelo FDA dos EUA.

As amostras positivas foram coletadas de diferentes regiões geográficas (incluindo tanto os sub-tipos ad como ay) e de diferentes patologias HBV (hepatites B agudas, assintomáticas e crônicas).

Um valor total de 100% foi encontrado no estudo realizado em um total de mais que 400 amostras.

Um total de mais de 20 soroconversões e painéis de desempenho também foram estudados, pelo exame dos dois painéis fornecidos pelo Boston Biomédica Inc., EUA estão relacionados abaixo:

BBI PHM 916

Identificação da amostra	HBsAg conc. ng/ml	Radim S/Co	Ortho EIA S/Co	Sorim EIA S/Co
01	< 0.1	0.4	0.2	0.0
02	< 0.1	0.3	0.2	0.1
03	< 0.1	0.3	0.2	0.0
04	< 0.1	0.4	0.1	0.0
05	< 0.1	0.4	0.2	0.0
06	< 0.1	0.4	0.6	0.1
07	< 0.1	0.4	0.2	0.1
08	< 0.1	0.5	0.2	0.1
09	0.2	0.9	0.4	0.2
10	0.5	1.4	2.2	1.2
11	2.3	4.5	10.1	6.2

BBI PHM 923

Identificação da amostra	HBsAg conc. ng/ml	Radim S/Co	Ortho EIA S/Co	Sorin EIA S/Co
01	< 0.1	0.4	0.1	0.0
02	< 0.1	0.4	0.2	0.1
03	<0.2	1.2	1.4	0.9
04	< 0.5	1.4	2.6	1.8

15.3 Especificidade clínica

A especificidade clínica foi determinada em painéis de amostras negativas de indivíduos normais e doadores, classificados como negativos com o kit registrado na Itália pelo Ministério da Saúde Italiano.

Tanto o plasma, derivado de diferentes técnicas padronizadas de preparação (citrato, EDTA e heparina) como soros foram usados para determinar a especificidade. Não foi observada nenhuma falsa reatividade devido ao método de preparação da amostra. Amostras congeladas também foram testadas para averiguação de interferências com o desempenho do teste. Nenhuma interferência foi observada em amostras limpas e isentas de partículas.

Foram testados todos os sub-tipos conhecidos de HBsAg, “ad” e “aY”, e isoformas “w” e “r”, fornecidos pela CNTS, França, e determinados positivos conforme era esperado do kit.

Foram examinadas amostras derivadas de pacientes com vírus diferentes (HCV, HAV) e patologias hepáticas não virais que possam interferir no teste.

Nenhuma reação cruzada foi observada.

As avaliações de desempenho realizadas em um Centro de Referência Externa avaliaram mais de 5.000 amostras com resultados acima de 99,5%.

15.3 PRECISÃO

A precisão foi calculada em três amostras examinadas em replicatas em ensaios diferentes. Os valores médios obtidos de um estudo realizado em duas amostras de reatividade HBsAg diferentes, examinadas em 16 replicatas em três ensaios diferentes (Procedimento Padrão) em três lotes está relatado a seguir:

Lote # 1

Amostra negativa (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O.450nm	0,036	0,036	0,032	0,034
Desvio-Padrão	0,004	0,006	0,005	0,005
CV%	10,1	15,5	16,2	13,9

NIBSC 0,1 ng/ml (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O. 450nm	0,133	0,121	0,118	0,124
Desvio-Padrão	0,019	0,008	0,011	0,013
CV%	14,1	6,9	9,2	10,2
S/Co	1,5	1,4	1,4	1,4

Lote # 2

Amostra negativa (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O.450nm	0,034	0,035	0,031	0,033
Desvio-Padrão	0,005	0,005	0,005	0,005
CV%	15,5	13,5	15,4	14,8

NIBSC 0,1 ng/ml (N = 16)

Valores médios	1st corrida	2nd corrida	3rd corrida	Average value
D.O. 450nm	0,125	0,129	0,129	0,127
Desvio-Padrão	0,012	0,010	0,013	0,012
CV%	9,7	7,5	10,4	9,2
S/Co	1,5	1,5	1,6	1,5

Lote # 3

Amostra negativa (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O.450nm	0,034	0,035	0,034	0,034
Desvio-Padrão	0,004	0,005	0,004	0,004
CV%	10,5	12,9	11,2	11,5

NIBSC 0,1 ng/ml (N = 16)

Valores médios	1st corrida	2nd corrida	3rd corrida	Average value
D.O. 450nm	0,124	0,129	0,126	0,126
Desvio-Padrão	0,009	0,012	0,015	0,012
CV%	7,2	9,4	11,7	9,4
S/Co	1,5	1,5	1,5	1,5

16. LIMITAÇÕES




Resultados repetidamente falsos positivos foram avaliados em amostras recentemente coletadas em menos que 0,1% da população normal, a maioria das amostras causadas por altos títulos de anticorpos anti-camundongo heterófilos (HAMA). As interferências em amostras frescas também foram observadas quando as mesmas não estavam límpidas ou com coleta inadequada.

17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aach R.D., Grismam J>W>, Parker S.W. Detection of Austrália antigen by radioimmunoassay. Proc. Natl. Acad.Sci.USA, 68:1956, 1971.
2. Blumerg B.S., Suinick A.I., London W.T. Hepatitis and leukemia: their relation to Austrália antigen. Bull.N.Y.Acad.Med. 44:1556, 1968.
3. Boniolo A., Dovic M., Matteja R. The use of enzyme-linked immunosorbent assay for screening hybridoma antibodies against hepatitis B surface antigen. J. Immunol.Meth. 49:1, 1982.
4. Caldwell C.W., Barpet J.T. Enzyme immunoassay for hepatitis B and its comparison to other methods.Cli.Chim.Acata 81:305, 1977.
5. Fazekas S., De St.Groth, Scheidegger D. production of monoclonal antibodies: strategy and tactics.J.Immunol.Meth. 35:1,1980.
6. Reesink H.W. et al. Comparison of six 3rd generation tests for the detection of HBsAg.Vox>Sang. 39:61, 1980.
7. Rook G.A.W. Chromogens for the enzyme-linked immumosorbent assay (ELISA) using horseradish peroxidase.Lepr.Rev.52:281, 1981.
8. Schoder J. Monoclonal antibodies: a new tool for research and immunodiagnostic.Med.Biol.58:281, 1981.

SÍMBOLOS

EN 980 - EDMA

REF	Referencia ou número do pedido
	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

Fabricado por:
RADIM SPA
Via del Mare, 125
00040 – Pomezia
ITÁLIA

Importado e distribuído por:
RADIM LATINO AMÉRICA DIAGNÓSTICOS LTDA.
Rua Domingos de Moraes, 1061 cj 111 e 112 – Vila Mariana
CEP. 04009-002 – São Paulo – SP
CNPJ. 04.595.434/0001-32

Serviço de Atendimento ao Consumidor:
Fone: 11 – 5084-9669 / Fax: 11 – 5082-2029

POTENCIALMENTE INFECTANTE
Uso exclusivo para diagnóstico in vitro
Conservar entre 2° a 8°C
Reg ANVISA: 80103990077
Resp. Técnico: Sueli S. Nakano / CRBM - 4501

Revisão: 01