

HCV Ab

**REF: KHC3IWA
96 TESTES
REF: KHC3IW
192 TESTES**

RADIM

HCV Ab

REF: KHC3IWA
96 TESTES
REF: KHC3IW
192 TESTES

REAGENTES DO KIT

REAGENTES	QUANTIDADE	QUANTIDADE	ESTADO FÍSICO
Microplaca	1 microplaca 96 testes	2 microplacas 96 testes	Pronto para uso
Solução de Lavagem (20X)	1 X 50 ml	2 X 50 ml	Concentrado
Diluyente do ensaio	3 X 3.0 ml	5 X 4.0 ml	Pronto para uso
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
Conjugado enzimático	1 X 16 ml	2 X 16 ml	Pronto para uso
Cromógeno/Substrato	1 X 16 ml	2 X 16 ml	Pronto para uso
Diluyente de amostra	1 X 50 ml	1 X 100 ml	Pronto para uso
Reagente Bloqueador	1X 16 ml	2X 16 ml	Pronto para uso

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO DE TERCEIRA GERAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DO VÍRUS ANTI-HEPATITE “C” EM SORO OU PLASMA HUMANO

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. APLICAÇÃO CLÍNICA

O Centro de Controle de Doenças ou CDC em Atlanta, EUA, define o vírus da Hepatite C conforme segue:

A Hepatite C é uma infecção viral do fígado que foi relatada como sendo parenteralmente transmitida “hepatite não A, não B” até a identificação do agente causal em 1989. A descoberta e a caracterização do vírus da hepatite C (HCV) levaram ao entendimento de seu papel primário na hepatite pós-transfusional e sua tendência em induzir uma infecção persistente.

O HCV é o maior causador da hepatite aguda e patologias crônicas do fígado incluindo a cirrose e câncer hepático. Globalmente estima-se que 170 milhões de pessoas estejam cronicamente infectados com o HCV a 4 milhões de pessoas são infectadas a cada ano. O HCV difunde-se primeiramente pelo contato direto com o sangue. A maior causa da infecção por HCV no mundo inteiro é o uso de sangue não rastreado e analisado para transfusão de sangue e o reuso de agulhas e seringas que não tenham sido adequadamente esterilizadas. Não existe até a presente data uma vacina para hepatite C e o tratamento da hepatite crônica é muito oneroso para a maioria da população dos países em desenvolvimento.

Desta forma sob o ponto de vista de uma perspectiva global, o maior impacto sobre a hepatite C é focalizar os esforços em reduzir o risco de transmissão do HCV em exposições nosocomiais (por exemplo, transfusões de sangue, práticas não seguras de injeções) e comportamentos de alto risco (por exemplo, injeções em usuários de drogas).

O vírus da hepatite C (HCV) é um dos vírus (A, B, C, D, e E) que também colabora para a grande maioria das hepatites virais. É um vírus RNA com envelope da família Flaviviridae que parece ter uma gama de hospedeiros pequena. Os seres humanos e os chimpanzés são as únicas espécies susceptíveis à infecção, sendo que em ambos se desenvolve uma patologia similar. Uma característica importante do vírus é a relativa mutabilidade de seu genoma, que por sua vez está relatado com a alta propensão (80%) de induzir infecção crônica. O HCV está dividido em vários genótipos distintos que podem ser importantes na determinação da severidade da doença e a resposta ao se tratamento.

O período de incubação da infecção HCV antes do estabelecimento dos sintomas clínicos vai de 15 a 150 dias. Nas infecções agudas, os sintomas mais comuns são fadiga e icterícia; no entanto a maioria dos casos (entre 60% e 70%), mesmo os que desenvolvem a infecção crônica, é assintomática. Cerca de 80% das pessoas infectadas progridem para

desenvolver uma infecção crônica. A cirrose ocorre em cerca de 10% a 29% das pessoas com infecção crônica e o câncer hepático se desenvolve em 1% a 5% das pessoas portadoras de infecção crônica em um período entre 20 a 30 anos. A maioria dos pacientes que sofrem de câncer hepático que não tem a infecção pelo vírus da hepatite C tem evidência de uma infecção por HCV. Os mecanismos pelos qual a infecção por HCV leva ao câncer hepático ainda não estão esclarecidos. A hepatite C também exacerba severidade de doenças hepáticas subjacentes quando coexistem com outras condições hepáticas. Em especial, as doenças hepáticas progridem mais rapidamente em pessoas com doenças do fígado causadas pelo álcool e infecção HCV. O HCV se difunde primariamente por contato direto com o sangue humano. A transmissão através de transfusão de sangue que não sejam analisadas em relação ao HCV, através do reuso de agulhas de seringas ou outros produtos de uso médico inadequadamente esterilizado ou ainda através do compartimento de agulhas entre usuários de drogas está muito bem documentado. A transmissão por via sexual e perinatal também pode ocorrer, embora seja menos freqüente. Outros métodos de transmissão como o sócio cultural e por práticas culturais que adotam procedimentos percutâneos (por exemplo, "piercing" corporal e nas orelhas, circuncisão, tatuagem) podem ocorrer se equipamentos inadequadamente esterilizados forem utilizados. O HCV não é disseminado por espirros, abraços, tosse, alimentos ou água, nem pelo compartilhamento de utensílios para alimentação ou contato casual.

Tanto nos países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento, os grupos de alto risco incluem os usuários de drogas injetáveis, bolsas de sangue não analisadas, hemofílicos, pacientes submetidos à diálise e pessoas com múltiplos parceiros sexuais que adotam a prática de sexo sem proteção.

Em países desenvolvidos, estima-se que 90% das pessoas portadoras de infecções crônicas de HCV foram anteriormente usuários de drogas e em pessoas com histórico de transfusão de sangue ou produtos de sangue não analisados. Em muitos países desenvolvidos, onde o sangue e seus produtos são analisados, ainda são utilizados, o maior meio de transmissão são os produtos médicos utilizados para injeção não esterilizados e as práticas de escarificação e circuncisão estão no grupo de risco se utilizarem ou reutilizarem dispositivos médicos não esterilizados.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 170 milhões de pessoas, 3% da população mundial estão infectadas com o HCV e corre o risco de desenvolver cirrose e/ou câncer hepático. A prevalência da infecção por HCV em alguns países na África, no Oeste do Mediterrâneo, no Sudeste da Ásia e Oeste do Pacífico (onde existem dados de prevalência) é alta se comparado a alguns países dos Estados Unidos e da Europa.

Os testes para diagnósticos para HCV são utilizados para impedir a infecção através da análise do plasma de doadores, para estabelecer o diagnóstico clínico e tomar melhores decisões em relação ao controle do paciente. Os testes diagnósticos comercialmente disponíveis atualmente baseiam-se na técnica de enzimoimunoensaio (EIA) para a detecção de anticorpos HCV específicos. Os EIAs podem detectar mais de 95% dos pacientes cronicamente infectados, mas podem detectar apenas 50% a 70% das infecções agudas. Um ensaio immunoblot recombinante (RIBA) que identifica anticorpos que reagem com antígenos individuais HCV é quase sempre utilizado como teste suplementar para a confirmação de um resultado positivo como teste suplementar para a confirmação

de um resultado positivo EIA. Os testes para o HCV circulante por amplificação do RNA (por exemplo, reação em cadeia polimerase ou PCR, ensaios por ramificação do DNA) também tem sido utilizados para a confirmação de resultados sorológicos assim como para avaliar a eficácia de uma terapia antiviral. Um resultado positivo indica a presença de infecção ativa e um potencial para disseminação da infecção e/ou o desenvolvimento de uma patologia hepática crônica.

As drogas antivirais tais como o interferon administradas isoladas ou em combinação com a ribavirina podem ser utilizadas para o tratamento de pessoas portadoras da hepatite C crônica, mas o custo do tratamento é muito alto. O tratamento com interferon isolado é eficaz em cerca de 10% a 20% dos pacientes. O interferon combinado com a ribavina é eficaz em cerca de 30% a 50% dos pacientes. A ribavina não parece ser eficaz quando utilizada isoladamente.

Não existe vacina contra o HCV. As pesquisas estão em desenvolvimento, mas a alta mutabilidade do genoma HCV complica o desenvolvimento da vacina. A ausência de conhecimento de qualquer resposta protetora imunológica que se segue à infecção por HCV também impede a pesquisa da vacina. Não se sabe se o sistema imunológico é capaz de eliminar o vírus.

No entanto, alguns estudos demonstraram a presença de anticorpos que neutralizam o vírus nos pacientes portadores da infecção por HCV. Na ausência de uma vacina, todas as precauções para impedir a infecção devem ser tomadas incluindo-se (a) o rastreamento e testes sanguíneos em doadores de órgãos e sangue; (b) inativação do vírus do plasma de produtos derivados do sangue; (c) implementação e manutenção de práticas de controle de infecção em instituições de saúde, incluindo-se a esterilização apropriada dos dispositivos médicos e dentais; (d) promoção ou alteração do comportamento entre o público em geral e os trabalhadores da área de saúde para reduzir o reuso de seringas e adotar práticas seguras de injeção e (e) redução do risco orientado as pessoas dos grupos de alto risco como os usuários de drogas e de práticas sexuais não seguras.

O genoma abriga os componentes estruturais, um nucleocapsídeo protéico e dos envelopes de glicoproteína e constituintes funcionas envolvidos na replicação e processamento da proteína.

A região da codificação do nucleocapsídeo parece ser a que mais se conserva entre os isolados obtidos ao redor do mundo.

2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

As microplacas são revestidas com antígenos HCV específicos derivado das regiões “core” e “ns” codificadas para a conservação e determinantes antigênicos imunodominantes (peptídeo “core”, peptídeos NS3, NS4 e NS5 recombinantes).

A fase sólida é primeiramente tratada com a amostra diluída e o HCV Ab é capturado quando presente, pelos antígenos.

Após a lavagem dos demais componentes da amostra, na segunda incubação os anticorpos ligados ao HCV, a IgG assim como a IgM detectados pela adição de anticorpos hIgG & M policlonais específicos, marcados com peroxidase de rábano (HRP).

A enzima capturada na fase sólida, agindo com o cromógeno/substrato, gera um sinal óptico que é proporcional à quantidade de anticorpos HCV presentes na amostra. Um valor de “cut-off” permite que as densidades ópticas sejam interpretadas como resultados de presença de anticorpos HCV negativos ou positivos.

3. Reagentes fornecidos com o kit:

Os reagentes são suficientes para 96 microcavidades.

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 peptídeo do “core” e peptídeos recombinantes NS3, NS4 e NS5, 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 96 testes = 1 microplaca

Kit 192 testes = 2 microplacas

Controle Negativo – Pronto para uso. Contém 1% de proteínas de soro de cabra – 10mM de tampão citrato pH 6,0 +/- 0,1 – 0,5% de Tween 20 -0,09% de azida sódica e 0,1% de Kathon GC como conservantes. O controle negativo é codificado com a coloração verde oliva.

Kit 96 testes = 1 frasco x 4,0ml

Kit 192 testes = 2 frascos x 4,0ml

Controle Positivo – Pronto para uso. Contém 1% de proteínas de soro de cabra – anticorpos humanos positivos contra HCV - 10mM de tampão citrato pH 6,0 +/- 0,1 – 0,5% de Tween 20 -0,09% de azida sódica e 0,1% de Kathon GC como conservantes. O controle positivo é codificado com a coloração verde escuro.

Kit 96 testes = 1 frasco x 2,0ml

Kit 192 testes = 2 frascos x 2,0ml

Calibrador – Liofilizados. Devem ser dissolvidos com água grau EIA conforme indicado no rótulo. Contém proteínas bovinas séricas – anticorpos humanos contra HCV cuja concentração é calibrada pelo NIBS Working Standard cód. 99/588-003 WI – 10 mUI/ml WHO – 10 mM de tampão fosfato pH 7,4 +/- 0,1 – 0,3 mg/ml 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. Usar o volume correto indicado no rótulo do frasco.

Kit 96 testes = 1 frasco

Kit 192 testes = 2 frascos

Solução de lavagem (20X concentrada): Solução concentrada 20X a ser diluída antes do uso, completar para 1000ml com água destilada. Contém 10 mM de tampão fosfato pH 7,4 +/- 0,2 – 0,05% de Tween 20 e 0,05% de Kathon GC como conservantes.

Kit 96 testes = 1 frasco x 50ml

Kit 192 testes = 2 frascos x 50ml

Conjugado enzimático – Pronto para uso. Contém anticorpos humanos policlonais (cabra) IgG e IgM conjugados com peroxidase de rábano (HRPO) – 5% de BSA (albumina sérica bovina) – 10 mM de tampão Tris pH 6,8 +/- 0,1 – 0,1% de Kathon GC e 0,02% de sulfato de gentamicina como conservantes. O reagente possui coloração vermelha.

Kit 96 testes = 1 frasco x 16ml

Kit 192 testes = 2 frascos x 16ml

Diluinte do ensaio: Contém 10 mM de tampão Tris pH 8,0 +/- 0,1 – 0,1% de kathon GC como conservantes para pré-tratamento das amostras e controles na microplaca, bloqueando as interferências.

Nota: utilizar todo o conteúdo de um frasco antes de abrir o segundo frasco. O reagente é sensível à oxidação.

Kit 96 testes = 3 frascos x 3ml

Kit 192 testes = 5 frascos x 4ml

Diluinte da amostra: Contém 1% de proteínas de cabra (ovinas) - 10 mM de tampão citrato pH 6,0 +/- 0,1 – 0,05% de Tween 20 – 0,09% de azida sódica e 0,1% de Kathon GC como conservantes.

Nota: O diluinte altera sua cor de verde oliva a verde escuro na presença da amostra.

Kit 96 testes = 1 frasco x 50ml

Kit 192 testes = 1 frasco x 100ml

Cromógeno / Substrato – Pronto para uso. Contém 50 nM 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 96 testes = 1 frasco x 16ml

Kit 192 testes = 2 frascos de 16ml

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

Kit 96 testes = 1 frasco 16ml

Kit 192 testes = 2 frascos de 16ml

Adesivos para selagem das microplacas

4. MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO.

Teste manual

- Micropipetas ajustáveis (200µL e 10µl) 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 SEAC.
- 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 – PREPARAÇÃO 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 resultados falsos negativos.
- 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 e 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. Manipular este componente como sendo potencialmente infectante, mesmo se o HCV, eventualmente presente no controle, tenha sido quimicamente inativado.

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. Manipular este componente como sendo potencialmente infectante, mesmo se o HCV, eventualmente presente no controle, tenha sido quimicamente inativado.

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

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 vidraria de plástico e se possível, recipientes descartáveis.

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 vidraria de plástico e se possível, recipientes descartáveis.

8. Diluente do ensaio

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

9. 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.

10. Diluente de amostra

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

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.** 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.
- 4.** O tempo de incubação tem uma tolerância de +/- 5%.
- 5.** 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.

6. Ao usar a estação de trabalho automatizada ELISA, todas as etapas críticas (dispensação, incubação, lavagem, leitura, agitação, manipulação dos dados) devem ser cuidadosamente configurados, 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.
7. Ao usar 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.
8. 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 estão 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 200µl de diluente e a seguir 10µl de amostra.

A amostra diluída é então cuidadosamente dispensada diretamente dentro da microcavidade apropriada das microplacas. Antes que a próxima amostra seja aspirada, as agulhas devem ser totalmente lavadas para evitar qualquer contaminação cruzada entre as amostras.

Não diluir os controles / calibradores, pois estão prontos para uso.

Pipetar 200µl de controles / calibrador nas microcavidades apropriadas.

Nota: monitorar visualmente que as amostras tenham sido diluídas e dispensadas nas microcavidades apropriadas. Isto é conseguido de modo simples verificando se as cores das amostras dispensadas alteraram sua cor para verde escuro, enquanto que a coloração do controle negativo permanece verde oliva.

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.

1. Colocar o número necessário de microcavidades no suporte de tiras da microplaca. Deixar a microcavidade A1 vazia “para o ‘blinking’”. Armazenar as outras tiras na embalagem selada contendo o dessecante entre 2° a 8°C.
2. Dispensar **200µl** de controle negativo em triplicata, **200µl** de calibrador em duplicata e **200µl** de controle positivo em uniplicata em cada microcavidade. Não diluir os controles e calibradores, pois os mesmos estão pré-diluídos, prontos para uso!
3. Adicionar **200µl** do diluente de amostra a todas as microcavidades; a seguir dispensar **10µl** da amostras em cada cavidade devidamente identificada. Agitar delicadamente a microplaca, evitando um excesso de fluxo e contaminação das microcavidades adjacentes, de modo a dispensar totalmente a amostra em seu diluente.

Nota: verificar se a coloração do diluente da amostra após a adição da amostra se alterou de verde claro para verde escuro, monitorando se as amostras realmente foram adicionadas.

4. Dispensar **50µl** do diluente de ensaio em todas as microcavidades contendo controles/calibrador e amostras. Verificar se a coloração das amostras tornou-se azul-escuro.

5. Incubar a microplaca durante **45 minutos a +37°C**.

Nota: as tiras a serem seladas com o filme adesivo fornecido, devem ser utilizadas apenas quando o teste é realizado manualmente.

6. Lavar a microplaca 4-5 vezes com a lavadora automática de microplacas, dispensando e aspirando **350µl** por microcavidade de solução de lavagem diluída.
7. Pipetar **100µl** de conjugado enzimático em todas as microcavidades, exceto na A1 (blinking) e cobrir com o filme selante adesivo. Verificar se este componente colorido de vermelho foi dispensado em todas as microcavidades exceto na A1.

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

8. Incubar a microplaca durante **45 minutos a +37°C**.

9. Lavar as microcavidades como descrito na etapa 6.

10. Pipetar **100µl** do Cromógeno/Substrato em cada microcavidade, incluindo o blinking. Incubar então a microplaca a temperatura ambiente por **15 minutos a 18° - 24°C**.

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

11. Pipetar **100µl** de ácido sulfúrico dentro de cada microcavidade para interromper a reação enzimática usando a mesma seqüência do item 10. A adição de ácido irá alterar a coloração do controle positivo e das amostras positivas do azul para o amarelo.
12. Medir a intensidade de cor da solução em cada microcavidade com um filtro **450nm** e a **620-630nm**, zerando o equipamento na microcavidade 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.

“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

Controles e calibrador	200µl
Diluyente de amostra	200µ
Amostras	10µ
Diluyente do ensaio	50µl
1ª incubação	45 min.
Temperatura	+37°C
Etapa de lavagem	4-5 ciclos 350µl / microcavidade
Conjugado enzimático	100µl
2ª incubação	45 min.
Temperatura	+37°C
Etapa de lavagem	4-5 ciclos 350µl / microcavidade
Cromógeno/Substrato	100µl
3ª incubação	15 min.
Temperatura	Ambiente (18° - 24°C)
Ácido sulfúrico	100µl
Leitura D.O.	450nm

12. CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

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 10 mUI/ml (OMS)	S/Co < 1,1
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 < 1,1	1. Se o procedimento foi corretamente realizado; 2. Se não houve erros durante a dispensação do controle negativo ao invés do calibrador;

	<p>3. Se o procedimento de lavagem e as configurações da lavadora foram validados no estudo de pré-qualificação;</p> <p>4. Se não ocorreu nenhuma contaminação externa no calibrador.</p>
<p>Controle Positivo</p> <p>< 1,000 D.O. 450nm</p>	<p>1. Se o procedimento foi corretamente realizado;</p> <p>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;</p> <p>3. Se o procedimento de lavagem e as configurações da lavadora foram validados no estudo de pré-qualificação;</p> <p>4. Se não ocorreu nenhuma contaminação externa no calibrador.</p>

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:

$$\text{“Cut-off”} = \text{Média NC D.O. 450nm} + 0,350$$

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	Anbíguo
>1,1	Positivo

Um resultado negativo indica que o paciente não foi infectado pelo HCV 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 HCV 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.
2. Qualquer resultado positivo deve ser confirmado por um método capaz de detectar anticorpos IgG e IgM (teste confirmatório) antes que o diagnóstico de hepatite viral seja estabelecida.
3. Como demonstrado nas características de desempenho do produto, o teste é capaz de detectar a soroconversão para anticorpos “core” HCV antes de outros kits disponíveis no mercado. Portanto um resultado positivo não confirmado com os referidos kits, não deve ser excluído como falso positivo. A amostra deve de qualquer maneira ser submetido a um teste confirmatório.
4. Considerando que o teste é capaz de detectar também anticorpos IgM, alguns resultados discrepantes com outros produtos comerciais para a detecção de anticorpos HCV-sem o conjugado anti-hIgM na formulação do conjugado enzimático, desta forma, sem a reatividade IgM-podem estar presentes. A positividade real da amostra contra anticorpos HCV deve ser confirmada examinada também a reatividade IgM, importante para o diagnóstico da infecção por HCV.
5. Quando o resultado dos testes é transmitido de um laboratório para outro local, a atenção deve ser redobrada para evitar transferência errada de dados.
6. 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	0,019 – 0,020 – 0,021 D.O. 450nm	
Valor médio	0,020 D.O. 450nm	
Inferior a 0,050	Aceito	
Controle positivo	2,189 D.O. 450nm	
Superior a 1,000	Aceito	
“Cut-off” = (0,020 + 0,350) = 0,370		
Calibrador	0,550 – 0,530D.O. 450nm	
Valor médio	0,540 D.O. 450nm	S/Co=1,4
S/C0 acima de 1,1	Aceito	

Amostra 1: 0,070 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 relatado no “Common Technical Specifications of CTS (Art.5, capítulo 3 da Diretoria da Comunidade Européia 98/79 EC para IVD).

15.1 Limite de detecção

O limite de detecção do ensaio foi calculado a partir do “british Working Standard for anti-HCV, NIBSC code 99/588-003-WI. A tabela abaixo relata os valores médios de D.O. 450nm deste padrão quando diluído em plasma negativo e a seguir analisado.

Diluição	Lote # 1	Lote # 2
Fator	S/Co	S/Co
1X	2,0	2,0
2X	1,1	1,2
4X	0,7	0,8
8X	0,5	0,5
Plasma negativo	0,3	0,3

Adicionalmente, a amostra codificada Accurun 1 – series 3000 – fornecida pela Boston Biomédica Inc., USA, foi avaliada e apresentou os resultados a seguir:

KHC3IW Lote ID	Accurun 1 Series	S/CO
1201	3000	1,5
0602	3000	1,5
1202	3000	1,9

Também foram analisados 7 amostras classificadas como positivas para HCV Ab com o Ortho HCV 3.0 SAve, code 930820, lote EXE065-1, as quais foram diluídas em plasma negativo para HCV de modo a gerar diluições limítrofes e testadas novamente com o HCV Ab Radim (KHC3IW) lote 1202 e com o kit da Ortho.

Foram obtidas as seguintes tabelas de resultados:

Amostra n ^a	Limite de Diluição	KHC3IW S/Co	Ortho 3.0 S/Co
1	256X	1,9	1,3
2	256X	1,9	0,7
3	256X	2,4	1,0
4	128X	2,5	3,2
5	85X	3,3	1,4
6	128X	2,2	0,8
7	128X	3,2	2,2

15.2 ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA E SENSIBILIDADE

A avaliação do desempenho do kit foi realizada em um teste em mais de 5000 amostras.

15.2.1 Especificidade diagnóstica

É definida como a probabilidade do teste em identificar resultados negativos na ausência do analito específico. Um total acima de 5000 amostras de doadores não selecionados, foram examinados.

A especificidade diagnóstica foi avaliada em relação a um kit aprovado pelo FDA dos Estados Unidos; 5043 amostras de doadores de sangue foram analisados obtendo-se uma especificidade diagnóstica de 99,5%; 210 pacientes internados foram testados para HCV Ab, foi encontrada uma especificidade diagnóstica de 99,5%.

Além disso, a especificidade diagnóstica foi avaliada testando 162 amostras contendo substâncias potencialmente interferentes (outras doenças infecciosas), anticorpos positivos contra E.coli, pacientes afetados por doenças virais não hepáticas, pacientes de diálise, gestantes, amostras hemolisadas, etc. Foi encontrado um valor de especificidade de 100%.

Nenhuma falsa reatividade devido ao método de coleta e preparação das amostras foi observada. Tanto o plasma, derivado de diferentes técnicas padronizadas de preparação (citrato, EDTA e heparina) e soro foram utilizados para determinar valor da especificidade.

Foram testadas amostras congeladas para verificar a interferência causada pela coleta e estocagem. Não foi observada nenhuma interferência.

15.2.2 Sensibilidade diagnóstica

Definida como a probabilidade do teste em identificar amostras positivas na presença de um analito específico.

A sensibilidade diagnóstica foi avaliada externamente em um número total de 359 amostras; foi encontrada uma sensibilidade diagnóstica de 100%. Internamente mais outras 50 amostras foram testadas, apresentando novamente um valor de sensibilidade diagnóstica de 100%.

Amostras positivas de infecções causadas por diferentes genótipos de HCV também foram testadas.

Alem disso, a maioria dos painéis de soro conversão existentes na Boston Biomédica Inc, foram testadas.

Abaixo temos os resultados de alguns painéis.

BBI WWHV 301

Amostras ID	KHC3IW Resultados S/Co	Ortho HCV 3 S/Co	Amostra ID	KHC3IW Resultados S/Co	Ortho HCV 3 S/Co
01	11,3	> 5,0	11	3,2	> 5,0
02	11,3	> 5,0	12	11,3	> 5,0
03	11,3	> 5,0	13	11,3	> 5,0
04	10,7	> 5,0	14	11,3	> 5,0
05	0,1	0,0	15	8,0	> 5,0
06	11,2	> 5,0	16	6,3	> 5,0
07	4,2	> 5,0	17	9,0	> 5,0
08	0,2	0,1	18	10,6	> 5,0
09	8,5	> 5,0	19	1,6	> 5,0
10	11,3	> 5,0	20	10,7	> 5,0

BBI PHV 920

Amostra ID	KHC3IW S/Co	Ortho SAVe S/Co
01	0,1	0,0
02	0,1	0,0
03	0,2	0,0
04	0,7	0,4
05	2,0	2,1
06	4,4	2,9
07	4,7	> 4,8
08	4,9	> 4,8
09	5,7	> 4,8
10	6,2	> 4,8

BBI PHV 908

Amostra ID	CVAB.CE S/Co	Ortho 3.0 S/Co
01	0,2	0,0
02	0,2	0,0
03	0,2	0,0
04	0,4	0,5
05	0,5	0,7
06	1,4	1,6
07	3,7	3,2
08	5,2	3,7
09	6,0	4,5
10	7,2	4,8
11	7,9	4,9
12	8,1	5,1
13	8,2	5,1

BBI PHV 905

Amostra ID	CVAB.CE S/Co	Ortho 3.0 S/Co
01	0,2	0,0
02	0,2	0,0
03	0,2	0,0
04	0,4	0,5
05	0,5	0,7
06	1,4	1,6
07	3,7	3,2
08	5,2	3,7
09	6,0	4,5

Finalmete o produto foi testado no painel EFS Ac HCV, Lote nº 01/08.03.22C/01/A, fornecido pelo Etablissement Français Du sang (EFS), France, com os seguintes resultados:

EFS Panel Ac HCV

Amostra	Lote# 1 S/Co	Lote # 2 S/Co	Lote # 2 S/Co	Resultados esperados
HCV 1	2,2	2,4	2,6	positivo
HCV 2	1,6	2,0	2,1	positivo
HCV 3	1,5	1,7	1,6	positivo
HCV 4	5,2	6,5	5,5	positivo
HCV 5	1,6	1,8	1,6	positivo
HCV 6	0,4	0,4	0,4	negativo

15.3 PRECISÃO

Foi calculada em duas amostras, uma negativa e uma positiva baixa, examinada em 16 replicatas em três corridas separadas.

Os resultados estão relatados conforme a seguir:

Lote # 1202

Amostra negativa (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O.450nm	0,094	0,099	0,096	0,096
Desvio-Padrão	0,008	0,007	0,008	0,007
CV%	8,7	6,6	7,9	7,7

Cal # 2 – 7K (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O. 450nm	0,396	0,403	0,418	0,406
Desvio-Padrão	0,023	0,029	0,027	0,026
CV%	5,9	7,1	6,4	6,5
S/Co	1,1	1,1	1,2	1,1

Lote # 0602

Amostra negativa (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O.450nm	0,097	0,096	0,094	0,096
Desvio-Padrão	0,009	0,010	0,008	0,009
CV%	8,9	10,1	8,4	9,1

Cal # 2 – 7K (N = 16)

Valores médios	1st corrida	2nd corrida	3rd corrida	Average value
D.O. 450nm	0,400	0,395	0,393	0,396
Desvio-Padrão	0,021	0,025	0,026	0,024
CV%	5,4	6,2	6,6	6,1
S/Co	1,2	1,2	1,1	1,2

Lote # 0602/2

Amostra negativa (N = 16)

Valores médios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valormédio
D.O.450nm	0,087	0,091	0,088	0,089
Desvio-Padrão	0,009	0,007	0,008	0,008
CV%	10,0	8,2	8,6	8,9

Cal # 2 – 7K (N = 16)

Valores médios	1st corrida	2nd corrida	3rd corrida	Average value
D.O. 450nm	0,386	0,390	0,391	0,389
Desvio-Padrão	0,023	0,021	0,023	0,022
CV%	6,0	5,3	5,8	5,7
S/Co	1,1	1,2	1,2	1,2

A variabilidade apresentada nas tabelas acima não causou uma classificação errônea das amostras.

16. LIMITAÇÕES






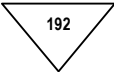

Resultados repetidamente falsos positivos foram avaliados como abaixo de 0,1% da população normal. Foi observado que amostras congeladas contendo partículas de fibrina ou agregados após o descongelamento podem gerar alguns falsos resultados.

17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) CDC. Public Health Service inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and sêmen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. MMWR 1991;40 (Nº. RR-4):1-17.
- 2) Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:62S-5S.
- 3) McQuillan GM, Alter MJ, Moyer LA, Lambert SB, Margolis HS. A population based serology study of hepatitis C virus infection in the United States. In Rizzeto M, Purcell RH, Gerin JL, Verme G, eds. *Viral Hepatitis and Liver Disease*, Edizione Minerva Medica, Turin, 1997, 267-70.
- 4) Dufour MC. Chronic liver disease and cirrhosis. In Everhart JE, ed. *Digestive diseases in the United States: epidemiology and impact*. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Washington, DC: US Government Printing Office, 1994; NIH publication nº. 94-1447, 615-45.
- 5) Alter MJ, Hadler SC, Judson FN, et al. Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *JAMA* 1990;264:2231-35.
- 6) Alter HJ, Holland PV, Purcell RH, et al. Post transfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis-B antigen-positive donors. *Ann Intern Med* 1972;77:691-9.
- 7) Alter HJ, Holland PV, Purcell RH, Feinstone SM, Morrow AG, Motitsugu Y. Clonical and serology analysis of transfusion-associated hepatitis. *Lancet* 1975;2:838-41.
- 8) Seef LB, Wright EC, Zimmerman HJ, McCollum RW, VA Cooperative Studies Group. VA cooperative study of post-transfusion hepatitis and responsible risk factors. *Am J Med Sci* 1975;270:355-62.
- 9) Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975;292:767-70.
- 10) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW. Isolation of a genome. *Science* 1989;244:359-62.

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: 80103990078
Resp. Técnico: Sueli S. Nakano / CRBM - 4501

Revisão: 01