

INSTRUÇÕES DE USO

ORTHO® HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE (Verificação da Adição da Amostra)

Código REM: 02OR0167K2
02OR0168K1

Código do Fabricante: 930820
930800



Revisada em Janeiro de 2008
631300942

INDICAÇÃO DE UTILIZAÇÃO

O ORTHO® HCV 3.0 ELISA Test System Enhanced SAVE é um teste de imunoadsorção qualitativo e ligado a enzimas para a detecção de anticorpos contra o vírus da Hepatite C (Anti-HCV) em soro ou plasma humano.

PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

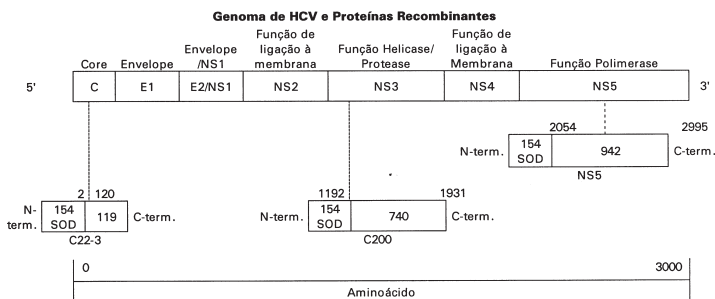
SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO

O teste ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System Enhanced SAVE é um teste de imunoadsorção ligado a enzimas (ELISA) que utiliza microcavidades revestidas com antígenos recombinantes codificados para o vírus da Hepatite C, como fase sólida. A tecnologia ELISA baseia-se no princípio de que os antígenos ou anticorpos que se fixam à fase sólida, podem ser detectados por um anticorpo ou antígeno complementar marcado com uma enzima capaz de atuar sobre um substrato cromogênico. Quando se aplica o substrato enzimático, a presença do antígeno ou anticorpo pode ser detectada mediante o desenvolvimento de um produto final colorido. Os imunoensois deste tipo foram desenvolvidos no início dos anos 70.¹ Desde essa época a tecnologia ELISA tem sido amplamente utilizada para a detecção de antígenos e anticorpos contra uma ampla variedade de doenças infecciosas.

O vírus da Hepatite C (HCV) é agora conhecido como sendo o agente causador da maioria, senão de todas, as hepatites não-A, não-B (NANBH) transmitidas pelo sangue.^{2,7} Estudos realizados em todo o mundo indicam que o HCV se transmite através do sangue ou produtos derivados do sangue contaminados, através de transfusões sanguíneas ou através de contatos pessoais íntimos. Estudos realizados nos Estados Unidos, mostraram que mais de 90% das infecções hepáticas associadas à transfusões são consideradas infecções NANBH.^{8,9} Em todo o mundo, são reconhecidas outras formas de NANBH.

No teste ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System Enhanced SAVE utilizam-se três antígenos codificados recombinantes do vírus da hepatite C. Os três antígenos recombinantes, desenvolvidos pela, Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc são c22-3, c200 e NS5. Na Figura 1 está uma representação gráfica do genoma mutável do HCV e das proteínas recombinantes.

Figura 1



A proteína recombinante c22-3 do HCV é codificada pela região mutável do núcleo do genoma pertencente ao HCV. Comparações da sequência de aminoácidos e nucleotídeos, de flavovírus e pestivírus com a de HCV, sugerem que c22-3 deriva de uma região estrutural do genoma que codifica a proteína do nucleocápsido RNA-ligante. Crê-se que as proteínas do nucleocápsido, estão envolvidas na formação da estrutura do núcleo viral. Vários estudos indicam que os anticorpos que se desenvolvem após uma infecção com HCV, são geralmente reagentes com c22-3¹⁰. Além disso, estudos realizados com o teste CHIRON™ RIBA™ HCV 2.0 STRIP IMMUNOBLOT (SIA), para o anti-HCV, demonstraram que, em muitos casos, os anticorpos anti c22-3 aparecem antes que os anticorpos contra a c100-3, após uma infecção com HCV.¹¹

A proteína recombinante c200 do HCV é codificada pelas regiões mutáveis, NS3 e NS4 do genoma do HCV. Comparações entre a sequência de aminoácidos e nucleotídeos de flavovírus e pestivírus com a do HCV sugerem, que a c200 deriva de regiões não estruturais do genoma. A proteína recombinante c200 contém a sequência da proteína c33c, geneticamente associada à sequência da proteína c100-3.

A proteína c33c é codificada pela porção mutável NS3 do genoma do HCV. Comparações entre a sequência de aminoácidos e nucleotídeos de flavovírus e pestivírus com a do HCV sugerem que a região NS3 codifica a helicase viral, uma enzima envolvida no desenrolamento do RNA durante a replicação do genoma viral através do RNA polimerase dependente do RNA. Estudos indicam que os anticorpos que se desenvolvem após a infecção com HCV são geralmente reagentes com c33c. Estudos realizados com o teste CHIRON RIBA HCV 2.0 SIA para o anti-HCV mostraram que os anticorpos reagentes com c33c, aparecem geralmente antes que se desenvolvem os anticorpos contra a c100-3.¹⁰

A proteína recombinante c100-3 do HCV, é codificada pela região mutável NS4 do genoma pertencente ao HCV. Comparações da sequência de aminoácidos e nucleotídeos, de flavovírus e pestivírus, com a do HCV, sugerem que a c100-3 deriva de uma região não estrutural do genoma. Atualmente a função desta porção do genoma do HCV é desconhecida. Os anticorpos desenvolvidos após a infecção com o HCV são geralmente reagentes com c100-3.¹⁰

A proteína recombinante NS5 do HCV é codificada pela região mutável NS5 do genoma do HCV. Comparações entre a sequência de aminoácidos e nucleotídeos de flavovírus e pestivírus com a do HCV, sugerem que a NS5 é derivada de uma região não estrutural do genoma que codifica a polimerase viral, uma enzima que participa na replicação do HCV. Estudos indicam que uma proporção significativa de pessoas infectadas com HCV desenvolvem anticorpos contra NS5.¹²⁻¹³

A utilização das proteínas recombinantes do HCV derivadas do núcleo e das regiões NS3, NS4 e NS5 do genoma do HCV, demonstraram ser mais eficazes na identificação de pacientes diagnosticados com Hepatite não-A, não-B aguda e crônica, que os testes com um único antígeno (c100-3).^{12,13} Por outro lado, o uso destas proteínas adicionais permite uma detecção mais precoce da soroc conversão após a infecção com o HCV. Apesar das respostas do anticorpo contra os antígenos codificados pela região NS5 não serem tão frequentes na resposta à infecção pelo HCV como as que se produzem contra os antígenos codificados no núcleo e na região NS3, a adição da NS5 às proteínas recombinantes c22-3 e c200 no teste ORTHO HCV 3.0 ELISA Enhanced SAVE, permite a detecção de anticorpos contra um número significativamente maior de epítopos codificados por HCV.

A sequência de aminoácidos das três proteínas recombinantes do HCV é a seguinte:

Proteína Recombinante	Sequência Polipeptídica
c22-3	AA # 2-120
c200	AA # 1192-1931
NS5	AA # 2054-2995

Essas três proteínas recombinantes são produzidas pelo organismo *S. cerevisiae* (levedura).

O objetivo principal deste ensaio é a triagem de doadores de sangue de modo que as unidades que contenham o anticorpo HCV possam ser identificadas e eliminadas do Banco de Sangue. Apesar da presença do anti-HCV não constituir um diagnóstico de infecção pelo HCV, a determinação de Anti-HCV pode ser usada como uma ajuda no diagnóstico da hepatite C e no diagnóstico diferencial de hepatite não-A, não-B em conjunto com a determinação de enzimas hepáticas, marcadores sorológicos adicionais e avaliação clínica. Os antígenos codificados pelo vírus da Hepatite C (c22-3, c200 e NS5 recombinantes) utilizados no preparo do kit ORTHO HCV 3.0 ELISA Enhanced SAVE são produzidos, sob Licença dos EUA, pela Novartis Vaccines, and Diagnostics Inc. face a um contrato de fabricação.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O procedimento do teste consiste em um ensaio de três etapas efetuado em uma microcavidade revestida com uma combinação de antígenos (c22-3, c200 e NS5) recombinantes do vírus da Hepatite C (rHCV).

Durante a primeira etapa, uma amostra diluída é incubada na cavidade de teste durante um período de tempo especificado. Se na amostra existir anticorpos reagentes para um dos três antígenos, forma-se-ão complexos de antígeno-anticorpo na superfície da microcavidade. Se o anti-HCV não estiver presente, os complexos não serão formados. Na etapa de lavagem subsequente, as proteínas livres no soro ou plasma serão removidas.

Na segunda etapa, anticorpo monoclonal de camundongo conjugado com peroxidase de rábano é adicionado à microcavidade. O conjugado se liga especificamente à porção IgG humana dos complexos de antígeno-anticorpo. Se estes complexos não estiverem presentes, o conjugado livre será removido pela lavagem subsequente.

Na terceira etapa, adiciona-se à cavidade do teste um sistema de detecção enzimático composto de o-fenilendiamina (OPD) e peróxido de hidrogênio. Se o conjugado ligado estiver presente, a OPD será oxidada, resultando em um produto final de cor amarela. Nesta reação, a peroxidase oxida-se de forma bivalente, pelo peróxido de hidrogênio formando um composto intermediário, que por sua vez, é reduzido ao seu estado inicial mediante uma interação subsequente com o íon hidrogênio da OPD. É então adicionado ácido sulfúrico para interromper a reação. A forma oxidada resultante de OPD apresenta uma cor laranja, com um máximo de absorvância a 490 nm - 492 nm.

A intensidade da cor depende da quantidade de conjugado ligado, e é portanto função da concentração de anti-HCV presente na amostra. A intensidade da cor é medida com uma leitora de microcavidades (fotômetro), destinada a medir a absorvância da luz em uma microcavidade.

REAGENTES

Abreviaturas do Rótulo	Kit de 192 testes	Kit de 480 testes	Descrição dos Componentes
HCV	2	5	Microplacas (96 cavidades cada): recobertas de antígenos codificados do vírus da hepatite C (c22-3, c-200 e NS5 recombinantes) - c22-3, c200 e NS5 derivados de levedura.
CON	1 frasco (55 mL)	1 frasco (125 mL)	Conjugado: Anticorpo contra IgG humana (murino monoclonal) - cadeia pesada de anti-IgG humana (murino monoclonal) conjugada com peroxidase de rábano com estabilizantes proteicos bovinos. Conservante: ProClin TM 300 1%.
DP	1 frasco (70 mL)	1 frasco (190 mL)	Dilúente de Amostras - solução salina com tampão de fosfatos e estabilizantes proteicos bovinos. Conservante: 2 - cloroacetamida a 0,1%.

OPD	1 frasco (30 comprimidos)	1 frasco (30 comprimidos)	Comprimidos de OPD - contém o-fenilendiamina - 2HCl.
SB	1 frasco (190 mL)	1 frasco (190 mL)	Tampão Substrato - G - tampão citrato-fosfatos com 0,02 de peróxido de hidrogênio. Conservante: 2-cloroacetamida 0,1%.
PC	1 frasco (1,2 mL)	1 frasco (1,2 mL)	Controle Positivo (Humano) Fonte: Soro ou plasma humano tratado fotoquimicamente contendo anti-HCV, e não reagentes para o antígeno de superfície da Hepatite B (HBsAg) e anticorpos contra o vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 e 2 (HIV-1 e HIV-2). Conservantes: Azida sódica a 0,2% e EDTA 0,9%.
Neal	1 frasco (1,8 mL)	1 frasco (1,8 mL)	Calibrador Negativo (Humano) Fonte: Soro ou plasma humano não reagente para HBsAg, e Anticorpos para o HIV-1, HIV-2 e Anti-HCV. Conservantes: Azida sódica 0,2% e EDTA 0,9%.
	1 x 150 mL	2 x 150 mL	Tampão de Lavagem Concentrado (20X) - tampão fosfato com cloreto de sódio e detergente. Conservante 2-cloroacetamida 2%.
	21	21	Selantes para placa, descartáveis.

ARMAZENAMENTO

Conservar as embalagens abertas e fechadas a uma temperatura entre 2° e 8°C, exceto Tampão de Lavagem que deve ser armazenado de 15-30°C e o Ácido Sulfúrico que deve ser armazenado a temperatura ambiente.

PRECAUÇÕES:

- Advertência: Alguns componentes deste kit contêm derivados de sangue humano. Nenhum método de teste conhecido pode garantir totalmente que os produtos derivados do sangue humano não sejam capazes de transmitir agentes infecciosos. Por isso, todos os derivados de sangue devem ser considerados como potencialmente infecciosos. Recomenda-se que estes reagentes e as amostras humanas sejam manuseados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório.^{14,15}
- Utilizar luvas descartáveis quando manipular os reagentes do kit e as amostras. Posteriormente lavar bem as mãos.
- Todas as amostras deverão ser manipuladas como se fossem agentes potencialmente infecciosos.
- Azida sódica está incluída como conservante no Controle Positivo e no Calibrador Negativo. É descrito que a azida sódica forma azidas de chumbo ou cobre no sistema de canalização do laboratório. Estas azidas são potencialmente explosivas. Para evitar a sua acumulação, deixar correr água em abundância quando desprezar estas soluções na canalização. A seguir estão os Requisitos de Segurança e Risco.¹⁶
R: 22 - Nocivo por ingestão
S: 28 - Após contato com a pele, lavar imediatamente e abundantemente com água.
- Manipular e eliminar todas as amostras e materiais utilizados na execução do teste como se contivessem agentes infecciosos. A eliminação de todas as amostras e materiais deve ser feita em conformidade com os procedimentos definidos pelas normas ou regulamentos nacionais de segurança adequadas e relativas a agentes com risco biológico.^{17,18}
- O ácido sulfúrico (H₂SO₄) 4N é um ácido forte. Secar imediatamente pequenas quantidades derramadas. Lavar a área com água. Se o ácido entrar em contato com a pele ou com os olhos, enxaguar abundantemente com água e procurar assistência médica.
- Manipular os comprimidos de OPD somente com pinças revestidas por plástico ou Teflon®. As pinças metálicas podem reagir com os comprimidos e interferir com os resultados do teste.
- Evitar o contato de OPD com os olhos, com a pele ou com vestuário, pois, pode causar irritação ou reações alérgicas na pele. Se os comprimidos de OPD entrarem em contato com a pele, lavar abundantemente com água corrente. OPD é tóxico por inalação, ingestão e contato com a pele. Em caso de indisposição, consultar um médico. A seguir estão os Requisitos de Segurança e Risco.¹⁶
T, N,R: 20/21-25-36-40-43-50/53-68 - Também nocivo por inalação e em contato com a pele. Tóxico por ingestão. Irritante para os olhos. Possibilidade de efeitos cancerígenos. Pode causar sensibilização em contato com a pele. Muito tóxico para os organismos aquáticos, podendo causar efeitos nefastos a longo prazo no ambiente aquático. Possibilidade de efeitos irreversíveis.

S: 26-36/37-45-60-61 – No caso de contato com os olhos, enxágue-os imediatamente com água abundante e procure orientação médica. Usar vestuário de proteção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (se possível mostrar-lhe o rótulo). Este material e seu conteúdo devem ser descartados como lixo perigoso. Evite sua liberação no meio ambiente. Consultar as fichas de instruções especiais/dados de segurança.

9 - Os comprimidos de OPD são sensíveis à luz e à umidade. Manter o frasco **hermeticamente** fechado quando não estiver utilizando. **Manter o frasco em temperatura ambiente (entre 15 a 30°C) antes de abri-lo.** A bolsa de dessecante deve ficar sempre no interior do frasco. Não utilizar comprimidos que estejam amarelos ou partidos.

10 - Para o preparo do Tampão de Lavagem a água deve ser destilada ou deionizada. A água para reagente laboratorial clínico, do Tipo I e do Tipo II é aceitável. 19 Conservar a água em recipientes não metálicos.

11 - Não misturar os números de lote de placas de microcavidades revestidas, Diluente de Amostra, Reagente Conjugado, Calibrador Negativo, ou Controle Positivo de kits com números de lotes diferentes. Qualquer número de lote do Tampão Substrato-G, comprimidos OPD, Ácido Sulfúrico 4N, e Tampão Concentrado de Lavagem 20X podem ser usados desde que não sejam utilizados após o prazo de validade marcado no rótulo.

12 - Todos os reagentes e componentes **devem** estar à temperatura ambiente antes de serem utilizados, e os componentes do kit deverão retornar à temperatura entre 2° e 8° C após a utilização.

13 - As tiras das microcavidades são seladas em sacos protetores com um dessecante, indicador do teor de umidade. O dessecante, que é normalmente azul/roxo, ficará cor-de-rosa se a bolsa contiver umidade excessiva. Se o dessecante se apresentar cor-de-rosa, as tiras da microcavidade não devem ser usadas.

14 - Todos os componentes fechados podem ser utilizados até o fim do prazo de validade indicado na embalagem.

As tiras de microcavidades devem ser utilizadas no prazo máximo de 42 dias após a abertura da embalagem sem mantidas a uma temperatura entre 2° e 8° C dentro da mesma embalagem, com o dessecante. Todos os outros componentes podem ser usados no prazo máximo de 84 dias após a abertura quando armazenados a uma temperatura entre 2° e 8° C.

15 - A contaminação cruzada entre reagentes irá invalidar os resultados do teste. Recomenda-se a utilização de reservatórios permanentemente rotulados e corretamente identificados para cada reagente.

16 - Assegurar-se de que a amostra foi adicionada à microcavidade. A não adição da amostra pode produzir um resultado falso negativo. Deve confirmar a adição das amostras, controles e calibradores às microcavidades, quer visualmente, quer mediante leitor fotométrico (consultar o Passo 5 do Procedimento de Teste para Incubação **PADRÃO** e Incubação **CURTA**).

17 - As amostras que apresentam hemólise macroscópica podem não apresentar uma alteração de cor visível quando são adicionadas às microcavidades contendo o Diluente de Amostras. Amostras hemolisadas poderão necessitar de confirmação visual de que o dispositivo de pipetagem administrou a amostra.

18 - Quando utilizar uma micropipeta de canal único para a adição manual da amostra, utilizar uma ponteira nova para cada amostra a analisar. Quando utilizar uma micropipeta multicanal, terá de utilizar ponteiros novas para cada reagente a ser adicionado.

19 - O cumprimento estrito do procedimento de lavagem especificado é crucial para garantir o melhor desempenho do ensaio. (consultar o Passo 7 de Teste para Incubação **PADRÃO** e Incubação **CURTA**).

20 - Não deixar que as microcavidades sequem uma vez começado o ensaio.

21 - Não tocar no fundo da superfície exterior das microcavidades. Impressões digitais ou arranhões poderão interferir com a leitura da microcavidade.

22 - Assegurar-se de que as tiras de microcavidades estejam bem posicionadas no suporte de tiras de microcavidades durante o procedimento de teste. Se for necessário, antes de proceder a leitura, limpar o fundo da microcavidade cuidadosamente com um pano macio, sem fibras e absorvente para remover qualquer umidade, pó ou detritos.

23 - Valores de calibradores negativos ou controles positivos que não estão dentro do intervalo esperado (consultar a seção de Procedimentos de Controle de Qualidade), podem indicar um problema técnico ou deterioração do produto.

24 - Não permitir que os vapores do hipoclorito de sódio ou outras fontes entrem em contato com as tiras de microcavidades durante a análise, pois isso poderá inibir a reação de coloração.

25 - Todos os equipamentos de pipetagem devem ser usados com cuidado e calibrados regularmente, de acordo com as instruções do fabricante do equipamento.

26 - A leitora de microcavidade deverá conter um filtro de referência com ajuste a 620 nm ou 630 nm. Se usar um instrumento sem um filtro de referência, as áreas no fundo das microcavidades que se encontram opacas, riscadas ou irregulares, podem originar leituras elevadas.

27. ProClin 300 é incluído como um conservante no Conjugado. Seguindo os Requisitos de Segurança e Risco.¹⁶

R: 43 - Pode causar sensibilização em contato com a pele.

S: 24-37 - Evitar o contato com a pele. Usar luvas adequadas.

28. Cloroacetamida-2 é incluído como um conservante no Diluente de Amostra, Tampão Concentrado de Lavagem 20X e Tampão substrato-G. Seguindo os Requisitos de Segurança e Risco.¹⁶

R:43- Pode causar sensibilização em contato com a pele.

S: 24-37 - Evitar o contato com a pele. Usar luvas adequadas.

COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Não é necessário qualquer preparo especial do paciente/doador antes da coleta da amostra. O sangue deverá ser coletado de acordo com as técnicas médicas aprovadas. O plasma coletado com uma porcentagem imprópria de amostras e anticoagulante, não deve ser utilizado. Pode ser utilizado soro, incluindo soro coletado em tubos de separação de soro, ou plasma coletado em anticoagulantes à base de EDTA, Heparina ou citrato, sendo que a amostra deve ser testada o mais rapidamente possível após a coleta. **Não usar qualquer amostra que tenha sido tratada através do calor.** O soro ou plasma podem ser armazenados a uma temperatura entre 2° e 8° C durante um período máximo de 7 dias. Se for necessário um armazenamento mais prolongado, as amostras devem ser congeladas (a uma temperatura igual ou inferior a -20oC), para evitar possíveis conta- minações. Não é recomendado o armazenamento de amostras em congeladores com descongelação automática. Evitar repetidos procedimentos de congelamento e descongelamento. Misturar bem a amostra após ser descongelada e antes do teste. Não se observou nenhum efeito na reatividade de ORTHO HCV 3.0 ELISA TEST SYSTEM com Enhanced SAVE, quando submeteram 15 amostras fracamente reagentes e 15 amostras não reagentes a 5 ciclos de congelamento e descongelamento. São preferidas as amostras transparentes e não hemolisadas. Qualquer precipitado na amostra deverá ser removido por centrifugação. Não se verificou nenhum efeito na reatividade quando se trataram 17 amostras fracamente reagentes e 17 amostras não reagentes com 0,050 - 0,200 g/dL de hemoglobina. Também não se verificou nenhum efeito de lipemia visível (289 a 1035 mg/dL de triglicídeos) ao ensaiar 15 amostras fracamente reagentes e 15 amostras não reagentes. Todas as amostras devem ser manuseadas como capazes de transmitir agentes infecciosos. Se as amostras tiverem que ser transportadas, deverão ser embaladas de acordo com as normas e regulamentos da Associação Internacional de Transportes Aéreos (International Air Transport Association - IATA) e com outras normas e regulamentos aplicáveis. 20 Os estudos demonstraram que as amostras podem ser enviadas à temperatura ambiente (até 37°C) ou refrigeradas (entre 2° e 8°C) durante um período máximo de 7 dias, e após a chegada devem ser armazenadas a uma temperatura entre 2° e 8° C. Para os transportes que requerem tempos de trânsito mais prolongados (mais de 7 dias), as amostras deverão ser congeladas (-20°C ou inferior).

PREPARO DO REAGENTE

1. Preparo do Tampão de Lavagem (1X): Misturar 50 mL do Tampão de Lavagem Concentrado a 20 x com 950 mL de água destilada ou deionizada. O Tampão de Lavagem (1X) é estável durante 30 dias quando armazenado à temperatura ambiente. Para armazenamento mais prolongados (até 60 dias), armazenar a uma temperatura entre 2° e 8° C. Registrar a data em que o Tampão de Lavagem (1X) foi preparado e o prazo de validade indicado no recipiente. Desprezar o Tampão de Lavagem (1X) caso este se apresente visivelmente contaminado.

NOTA: Pode ser usado qualquer número de lote de Tampão de Lavagem Concentrado 20X para preparar este reagente sempre que o prazo de validade não tenha expirado no rótulo.

2. Preparo da Solução de Substrato: Devem ser utilizados recipientes limpos de vidro ou de plástico. Antes do final da segunda incubação, transferir uma quantidade suficiente de Tampão de Substrato-G para um recipiente e proteja o conteúdo da luz. **Dissolver completamente o número apropriado de comprimidos de OPD no Tampão de Substrato-G antes de utilizar.**

Cada placa de microcavidade requer pelo menos 20 mL de Solução de Substrato. Poderá ser necessário mais Solução de Substrato, dependendo do dispensador utilizado. Consultar as instruções do fabricante do instrumento para requerimentos adicionais de reagente. **A seguir estão as instruções para uso geral.**

Número de Cavidades	Número de Placas	Número de Comprimidos de OPD	Tampão Substrato-G (mL)
24	0,25	1	6
48	0,50	2	12
72	0,75	3	18
96	1	4	24
192	2	7	42
288	3	10	60

A Solução de Substrato permanece estável por um período máximo de 60 minutos após a adição dos comprimidos de OPD, quando mantida à temperatura ambiente e no escuro. A Solução de Substrato deverá estar incolor ou amarelo pálido quando se utilizar. Registrar a hora em que os comprimidos de OPD são adicionados ao Tampão Substrato-G e o prazo de validade do mesmo recipiente. **Se a Solução Substrato apresentar uma coloração amarela durante o seu preparo, descartar e preparar uma nova quantidade.**

PROCEDIMENTO

Os procedimentos abaixo referidos aplicam-se à utilização manual. Ao utilizar equipamentos automáticos, seguir as instruções do manual do usuário do aparelho fornecido pelo fabricante. Os laboratórios devem seguir os seus próprios procedimentos de validação aprovados para demonstrar a compatibilidade deste produto com os sistemas automatizados.

Materiais Fornecidos

Kit com 192 testes.

Kit com 480 testes.

(Consultar a seção REAGENTES para uma listagem completa)

Material Necessário Mas Não Fornecido

1. Micropipeta multicanal ajustável com capacidade para dispensar de 50 µL e 200 µL; com uma exatidão mínima de ± 5% ou um dispensador de reagente equivalente.

2. Micropipetas de canal único ajustáveis ou fixas com capacidade para dispensar de 20 µL a 30 µL com uma exatidão mínima de ± 5% de 200 µL ou 300 µL com uma exatidão mínima de ± 5% ou um pipetador-diluidor equivalente

3. Ponteiros descartáveis ou equivalentes, para 5 µL a 300 µL.

4. Pipeta sorológica de tamanho adequado ou proveta graduada.

5. Depósito para micropipeta multicanal ou recipiente para reagentes equivalente.

6. Aparelho de aspiração-lavagem multicanal, com capacidade de dispensar e aspirar pelo menos 300 µL por cavidade (Consultar o manual do operador do equipamento para informações técnicas adicionais).

7. Leitora de microcavidades de comprimento de onda duplo com capacidade de leitura a 490 nm ou 492 nm com um filtro de referência para um comprimento de onda de 620 nm ou 630 nm e 610 nm quando se realizar a leitura SAVE. Se for utilizado um equipamento sem um filtro de referência, as áreas no fundo das microcavidades que são opacas, riscadas ou irregulares podem causar leituras elevadas. O intervalo linear do leitor de microcavidades deve ser de pelo menos 0 a 2,5 unidades de absorbância. Consultar as especificações do fabricante do equipamento.

8. Incubadora (seca ou úmida) para uma temperatura de 37°C ± 1°C.

9. É aceitável água destilada ou deionizada, água para reagentes laboratoriais clínicos de Tipo I ou Tipo II (consultar a seção de PRECAUÇÕES).

10. Solução de hipoclorito de sódio a 5,25%.

11. Ácido sulfúrico 4N(H2SO4) para determinar a adequabilidade do ácido, preparar uma Solução conforme descrito na seção PREPARO DOS REAGENTES. Adicionar 200 µL da solução de Substrato a três microcavidades, depois adicionar 50 µL de H2SO4 4N a ser testado a cada microcavidade. Ler as microcavidades a um comprimento de onda de 490 nm ou 492 nm com um filtro de referência para um comprimento de onda de 620 nm ou 630 nm no "momento 0" e "60 minutos". Todos os valores de absorbância em cada intervalo de tempo devem ser iguais ou inferiores a 0,050.

12. Tiras de microcavidades não revestidas.

13. Tampão Concentrado de Lavagem 20X (Código do produto 933730, 6x150mL: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.) - Tampão fosfato com Cloro de sódio e detergente. Conservante: 2-cloroacetamida 2%.

14. Agitador de microplacas de velocidade variável, opcional.

Procedimento do teste - Incubação PADRÃO

1. Aproximadamente 30 minutos antes do início do procedimento, colocar todos os componentes do kit à temperatura ambiente (entre 15° e 30°C). Inverter várias vezes os reagentes líquidos suavemente, mas evitar a formação de espuma. Verificar a temperatura da incubadora, mantendo em 37°C ± 1°C.

2. Determinar o número total de cavidades necessárias para o ensaio. Além da amostra, deve ser incluído em cada placa ou placa parcial branco do reagente, 3 calibradores negativos e 2 controles positivos. As cavidades não utilizadas devem ser armazenadas a uma temperatura entre 2° e 8° C, no envelope de alumínio fornecido, com dessecante, hermeticamente selado e utilizadas no prazo máximo de 42 dias após a abertura do envelope de alumínio. Registrar a data em que o envelope foi aberto e o prazo de validade das cavidades que não foram utilizadas no espaço reservado no envelope. É permitido realizar o teste numa placa que não esteja completa, desde que sejam mantidas as seguintes condições:

- * Tiras de microcavidades de diferentes placas podem ser misturadas para juntar placas completas ou parciais, desde que estas sejam do mesmo lote, que estejam dentro do prazo de validade do envelope aberto e que sejam derivadas de placas que tenham demonstrado a resposta adequada aos controles/calibradores do kit.
- * Quando juntar uma placa que contenha tiras de uma placa recém aberta e ainda não testada, as tiras devem receber o complemento total dos controles/calibradores da placa.

PRECAUÇÕES: Manusear as tiras de microcavidades com cuidado. Não tocar na superfície externa do fundo das cavidades.

3. Montar as tiras de microcavidades no suporte para tiras de microcavidades, se for necessário. **As tiras de microcavidades devem estar niveladas no suporte para tiras de microcavidades.** Para placas incompletas, adicionar tiras de microcavidades não revestidas.

4. Preparar um registro (mapa das placas) identificando a localização dos controles, calibradores e amostras nas microcavidades. Dispor as cavidades de controle/calibrador do ensaio de forma que a cavidade 1A seja o branco do reagente. A partir da cavidade 1A, dispor todos os controles e calibradores com uma configuração tipo fila (horizontal) ou coluna (vertical), como se segue. A configuração depende do software.

Cavidade 1A Branco do Reagente

Calibrador Negativo

Calibrador Negativo

Calibrador Negativo

Controle Positivo

Controle Positivo

5. Verificar se todo o equipamento de dispensação manual é capaz de pipetar os volume especificados, conforme descrito no procedimento, seguindo as instruções do fabricante do equipamento. Verificar

visualmente as microcavidades após a adição das amostras, calibradores e controles. Uma mudança de cor, de verde para azul indica que a amostra, calibrador ou controle foi adicionado a cavidade. Se não ocorrer uma mudança de cor, o resultado do controle, calibrador ou amostra deve ser invalidado e deve ser efetuado um novo teste. Adicionar os controles, calibradores ou amostras às cavidades, da seguinte forma:

A. Adição Direta da Amostra:

- 1) Adicionar 200 µL do Diluente de Amostras a todas as cavidades, **incluindo 1A**.
- 2) Adicionar 20 µL dos controles, calibradores ou amostras às cavidades apropriadas.

- 3) Se os controles, calibradores e amostras foram dispensados manualmente, assegurar-se que o conteúdo das cavidades está bem misturado. Utilizar um agitador de microplacas; a mistura manual com um pipetador ou equivalente também é aceitável. Se utilizar um agitador, deve utilizá-lo a uma velocidade reduzida ou moderada para evitar espalhar o conteúdo das cavidades.

B. Para Adição de Amostra Previamente Diluída:

- 1) Adicionar 300 µL de Diluente de Amostras a um tubo ou recipiente.
- 2) Adicionar 30 µL de controle, calibrador ou amostra ao tubo. Homogeneizar por completo.
- 3) Transferir 220 µL de cada controle, calibrador ou amostra previamente diluídos para a posição da cavidade adequada.
- 4) Adicionar 200 µL de Diluente de Amostra à cavidade 1A.

C. A mudança de cor SAVE também pode ser lida fotometricamente. Para documentar a adição da amostra, deve-se realizar uma leitura do Diluente SAVE após a adição do Diluente de Amostras, controles, calibradores e amostras às microcavidades, como a seguir:

- 1) Se for necessário, secar a umidade do fundo das microcavidades cuidadosamente com um pano macio, sem fibras soltas e absorvente antes de ler. Se for necessário, nivelar as tiras no suporte de microcavidades.

- 2) Ler a placa das tiras de microcavidades a um comprimento de onda de 610 nm. Não é necessário nenhum filtro de referência. Realizar a leitura do branco na cavidade 1A, de acordo com instruções do fabricante do equipamento.

- 3) Todos os controles, calibradores ou amostras devem exibir um valor igual ou superior a 0,315. Se uma cavidade apresentar um valor inferior a 0,315, o resultado do controle, calibrador ou amostra deve ser invalidado e deve ser efetuado um novo teste. Refazer o teste para amostra em uma única microcavidade e verificar visualmente e fotometricamente a adição da amostra. Não são necessários quaisquer testes adicionais se a leitura da absorbância nas microcavidades do teste refeito permanecer menor que 0,315 e se a adição da amostra for visualmente verificada.

6. Para o processamento manual de placas de microcavidades, cobrir o suporte das tiras de microcavidades com um selo adesivo para placas. Quando se utilizar um processador de microplacas automático para incubação, seguir as recomendações do fabricante do equipamento em relação à selagem da placa da microcavidade. Incubar a uma temperatura de 37°C ± 1°C durante **60 minutos ± 5 minutos**.

7. Se necessário, nivelar as tiras no suporte para tiras de microcavidades. Com um dispositivo de aspiração-lavagem, aspirar e lavar todas as cavidades cinco vezes, utilizando Tampão de Lavagem (1X).

Precaução: O cumprimento estrito do procedimento de lavagem especificado é crucial para assegurar o melhor desempenho do ensaio. Seguir os passos especificados para garantir uma lavagem completa.

a) Aspirar as soluções de amostras das microcavidades e depois preencher completamente com Tampão de Lavagem. Não permitir que as cavidades transbordem. Esperar aproximadamente 20 segundos entre a adição do Tampão de Lavagem e a subsequente aspiração.

b) Efetuar a sequência aspiração- preenchimento mais **quatro** vezes.

c) Aspirar completamente as cavidades. Se necessário, inverter a placa e bater firmemente em um papel limpo, para remover o excesso do Tampão de Lavagem.

8. Adicionar 200 µL do Conjugado a todas as cavidades, **incluindo 1A**. Se for necessário documentar a adição do Conjugado, realizar uma leitura fotométrica após a adição do Conjugado às microcavidades, da seguinte forma:

a) Se for necessário, antes de ler, secar a umidade do fundo das microcavidades cuidadosamente com um pano macio, sem fibras soltas e absorvente. Se for necessário, nivelar as tiras no suporte de microcavidades.

b) Ler a placa das tiras de microcavidades a um comprimento de onda de 490 nm ou 492 nm. Para leitores de duplo comprimento de onda, estabelecer o comprimento de onda de referência a 620 nm ou 630 nm. **Não ler o branco na cavidade 1A**.

c) Cada controle, calibrador ou amostra deve apresentar um valor superior ou igual a 0,700. Se uma cavidade tiver um valor inferior a 0,700, o resultado do controle, calibrador ou amostra deve ser invalidado e deve realizar-se de novo o teste.

9. Para o processamento manual de placas de microcavidades, cobrir o suporte para tiras de microcavidade com um selo adesivo para placas. Quando utilizar um processador de microplacas automático para incubação, seguir as recomendações do fabricante do equipamento em relação à selagem da placa da microcavidade. Incubar a uma temperatura de 37°C ± 1°C durante **60 minutos ± 5 minutos**.

10. Antes de usar, preparar uma quantidade suficiente de Solução de Substrato para ser usado no passo 12, de modo a permitir que os comprimidos de OPD se **dissolvam completamente**. Consultar PREPARO DOS REAGENTES. Não utilizar mais do que um único preparo de Solução de Substrato numa placa.

11. Após a segunda incubação, lavar as cavidades conforme descrito no Passo 7.

12. Adicionar 200 µL de Solução de Substrato em todas as cavidades, **incluindo 1A**.

13. Incubar à temperatura ambiente no escuro durante **30 minutos ± 1 minuto**.

14. Adicionar 50 µL de ácido sulfúrico (H2SO4) 4N a todas as cavidades, **incluindo 1A**. Para assegurar uma homogeneização adequada, o ácido deve ser adicionado de uma maneira constante. Se for necessário, agitar suavemente a placa ou utilizar um agitador de placas de microcavidades para misturar o conteúdo. Deve-se ter atenção especial para não espalhar o conteúdo das cavidades. Quando utilizar um processador de microplacas automático, seguir as instruções do fabricante do equipamento no que diz respeito à homogeneização.

15. Se for necessário, antes de ler, eliminar a umidade do fundo das microcavidades cuidadosamente com um pano macio, sem fibras e absorvente. Se for necessário, nivelar as tiras no suporte para tiras de microcavidades. Ler a placa das tiras de microcavidades a um comprimento de onda de 490 nm ou 492 nm. Para leitores de duplo comprimento de onda, estabelecer o comprimento de onda de referência a 620 nm ou 630 nm. Ler o branco da cavidade 1A de acordo com as instruções do fabricante do equipamento. O usuário deve assegurar-se que o valor do branco (cavidade 1A) foi subtraído de todos os valores das cavidades de controle, calibrador e amostras antes da aplicação dos critérios de Controle de Qualidade. **NOTA:** As placas das tiras de microcavidades devem ser lidas no período de 60 minutos após a adição do ácido sulfúrico 4N. As placas devem ser armazenadas no escuro até serem lidas.

Procedimento de Controle de Qualidade - Incubação PADRÃO⁽²¹⁻²²⁾

1. Critérios de Aceitação do Branco do Reagente

Uma placa é considerada válida em relação ao branco do reagente se o valor da absorbância da cavidade do branco do reagente (cavidade 1A) for igual ou superior a - 0,020 e igual ou inferior a 0,050.

2. Critérios de Aceitação do Calibrador Negativo

- a) Os valores individuais do calibrador negativo devem ser iguais ou inferiores a 0,120 e iguais ou superiores a -0,005. Se um dos três valores do calibrador estiver fora destes limites, recalcular o valor médio do calibrador negativo (Ncal \bar{x}), baseando-se nos dois valores do calibrador aceitáveis. Se dois ou mais dos três valores do calibrador estiverem fora de qualquer destes limites, a placa é inválida e o teste deverá ser repetido.
- b) Determinar a média dos valores do calibrador negativo (Ncal \bar{x}).

Exemplo:

Calibrador negativo	Absorbância
1	0,010
2	0,030
3	0,020
Absorbância Total = 0,060	
Ncal \bar{x} = $\frac{\text{Absorbância Total}}{3}$ = 0,020	

3. Critérios de Aceitação de Controle Positivo

O controle positivo é utilizado para verificar se os componentes do kit de teste são capazes de detectar uma amostra reagente, desde que o procedimento do teste tenha sido seguido. Uma placa é considerada válida no que diz respeito ao controle positivo, se ambos os valores do controle positivo forem superiores ou iguais a 0,800, dentro do intervalo linear do leitor e não diferirem mais de 0,600.

NOTA: Resultados acima do limite superior do intervalo linear do leitor de microcavidades podem aparecer como "OVER" ou "*" ou ">".

4. Cálculo do Valor do Cut off

Valor do Cut off = Ncal \bar{x} + 0,600

Exemplo:

Calibrador negativo	Absorbância
1	0,010
2	0,030
3	0,020
Total de absorbância = 0,060	
Ncal \bar{x} = $\frac{\text{Absorbância Total}}{3}$ = 0,020	
Valor de Cut off = 0,020 + 0,600 = 0,620	

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Amostras com valores de absorbância inferiores a -0,025 devem ser testadas novamente em uma cavidade individual. A amostra deve ser considerada não reagente se o valor de absorbância do novo teste for inferior ao Valor de Cut off, mesmo que o valor de absorbância do novo teste permaneça inferior a -0,025.
- Amostras com valores de absorbância inferiores ao Valor do Cut off e iguais ou superiores a -0,025 são consideradas como não reagentes. Não são necessários testes complementares.
- Amostras com valores de absorbância iguais ou superiores ao Valor de Cut off são consideradas inicialmente como reagentes e devem ser testadas novamente em duplicata antes da interpretação final.
- Após fazer um novo teste com uma amostra inicialmente reagente, a amostra é considerada repetidamente reagente para anticorpos contra HCV, se uma ou ambas das determinações duplicadas for (em) reagente (s) isto é, iguais ou superiores ao Valor do Cut off.
- Após novo teste de uma amostra inicialmente reagente, a amostra é considerada não reagente para anticorpos contra o HCV se ambas as determinações duplicadas forem não reagentes, isto é, inferiores ao Valor do Cut off.

Procedimento de Teste - Incubação CURTA

- Aproximadamente 30 minutos antes do início do procedimento, colocar os componentes do kit à temperatura ambiente (entre 15 e 30°C). Inverter os reagentes líquidos suavemente várias vezes, mas evitar a formação de espuma. Verificar a temperatura da incubadora; mantendo a uma temperatura de 37°C \pm 1°C.
- Determinar o número total de cavidades necessárias para o teste. Além das amostras, devem ser incluídos em cada placa ou placa parcial um branco do reagente, 3 calibradores negativos e 2 controles positivos. As cavidades não utilizadas devem ser armazenadas a uma temperatura entre 2° e 8°C, no envelope de alumínio fornecido, **com dessecante**, hermeticamente selado e utilizadas no prazo máximo de 42 dias após aberto o envelope de alumínio. Registrar a data em que a abertura do envelope e o prazo de validade das cavidades que não foram utilizadas no espaço reservado no envelope. É permitido realizar o teste numa placa que não esteja completa, desde que sejam mantidas as seguintes condições:
 - Tiras de microcavidades de diferentes placas podem ser misturadas para completar placas totais ou parciais, desde que estas sejam do mesmo lote, estejam dentro do prazo de validade do envelope aberto e que sejam provenientes de placas que tenham demonstrado a resposta adequada aos controles/calibradores do kit.
 - Quando montar uma placa que contenha tiras de uma placa recentemente aberta e ainda não testada, as tiras devem receber o complemento total dos controles/calibradores do kit.

PRECAUÇÃO: Manusear as tiras de microcavidades com cuidado. Não tocar na superfície externa do fundo das cavidades.

- Se necessário, reunir as tiras de microcavidades no suporte para tiras de microcavidades. **As tiras de microcavidades devem estar niveladas no suporte para tiras de microcavidades.** Para placas incompletas, adicionar placas de microcavidades não revestidas.
- Preparar um registro (mapa das placas) identificando a localização dos controles, calibradores e amostras nas microcavidades. Colocar as cavidades de teste do controle de teste de forma que a cavidade 1A seja o branco do reagente. A partir da cavidade 1A, dispor todos os controles com uma configuração tipo linha (horizontal) ou coluna (vertical), como se segue. A configuração depende do software utilizado.

Cavidade 1A-	Branco do Reagente
	Calibrador Negativo
	Calibrador Negativo
	Calibrador Negativo
	Controle Positivo
	Controle Positivo

- Verificar se todo dispensador manual é capaz de pipetar os volumes especificados como descrito no procedimento, seguindo as instruções do fabricante do equipamento. Verificar visualmente as microcavidades após a adição das amostras, calibradores e controles. Uma mudança de cor, de verde para azul é indicativo de que a amostra, calibrador ou controle foi adicionado a cavidade. Se não ocorrer uma mudança de cor, o resultado da amostra, calibrador ou controle deve ser invalidado e deve ser realizado um novo teste. Adicionar amostras, controles ou calibradores as microcavidades, da seguinte forma:

A. Adição Direta da Amostra:

- Adicionar 200 μ L de Diluente de Amostras a todas as cavidades, **Incluindo 1A**.
- Adicionar 20 μ L dos controles, calibradores ou amostras as cavidades apropriadas.
- Se os controles, calibradores e amostras foram dispensados manualmente, assegurar-se de que o conteúdo das cavidades está bem homogeneizado. Usar um agitador de microplacas: a mistura manual com um pipetador ou equivalente também é aceitável. Se utilizar um agitador, deve ser utilizado a uma velocidade reduzida ou moderada para evitar espalhar o conteúdo das cavidades.

B. Para Adição de Amostras Previamente Diluídas

- Adicionar 300 μ L de Diluente de Amostras a um tubo ou recipiente.
- Adicionar 30 μ L de controle, calibrador ou amostra ao tubo. Homogeneizar completamente.
- Transferir 220 μ L de cada controle, calibrador ou amostra previamente diluídos para a posição apropriada da cavidade.
- Adicionar 200 μ L de Diluente de Amostra a cavidade 1A.

C. A mudança de cor SAVE também pode ser lida fotometricamente. Para documentar a adição da amostra, deve-se realizar uma leitura do Diluente SAVE após a adição do Diluente da Amostra, controles, calibradores e amostras às microcavidades, como a seguir:

- Se for necessário, secar a umidade do fundo das microcavidades cuidadosamente com um pano macio, sem fibras e absorvente antes de ler. Se for necessário, nivelar as tiras no suporte de microcavidades.
- Ler a placa das tiras de microcavidades a um comprimento de onda de 610 nm. Não é necessário nenhum filtro de referência. Realizar a leitura do branco na cavidade 1A, de acordo com instruções do fabricante do equipamento.
- Todos os controles, calibradores ou amostras devem exibir um valor igual ou superior a 0,315. Se uma cavidade apresentar um valor inferior a 0,315, o resultado do controle, calibrador ou amostra deve ser invalidado e deve ser efetuado um novo teste. Refazer o teste para amostra em uma única microcavidade e verificar visualmente e fotometricamente a adição da amostra. Não são necessários quaisquer testes

adicionais se a leitura da absorbância nas microcavidades do teste refeito permanecer menor que 0,315 e se a adição da amostra for visualmente verificada.

- Para o processamento manual de placas de microcavidades, cobrir o suporte das tiras de microcavidades com um selo adesivo para placas. Quando se utilizar um processador de microplacas automático para incubação, seguir as recomendações do fabricante do equipamento em relação à selagem da placa da microcavidade. Incubar a 37°C \pm 1°C durante **30 minutos \pm 1 minutos**.
- Se necessário, nivelar as tiras no suporte para tiras de microcavidades. Com um dispositivo de aspiração-lavagem, aspirar e lavar todas as cavidades **cinco** vezes, utilizando Tampão de Lavagem (1X). **Precaução:** O cumprimento estrito do procedimento de lavagem especificado é crucial para assegurar o melhor desempenho do ensaio. Seguir os passos especificados para garantir uma lavagem completa.
- Aspirar as soluções de amostra das microcavidades e depois preencher completamente com Tampão de Lavagem. Não permitir que as cavidades transbordem. Esperar aproximadamente 20 segundos entre a adição do Tampão de Lavagem e a subsequente aspiração.
- Completar a sequência aspiração - preenchimento mais **quatro** vezes.
- Aspirar completamente as cavidades. Se for necessário, inverter a placa e bater firmemente em um papel limpo, para remover o excesso do Tampão de Lavagem.
- Adicionar 200 μ L do Conjugado a todas as cavidades, **Incluindo 1A**. Se for necessário documentar a adição do Conjugado, realizar uma leitura fotométrica após a adição do Conjugado às microcavidades, da seguinte forma:
 - Se for necessário, antes de ler, secar a umidade do fundo das microcavidades cuidadosamente com um pano macio, sem fibras soltas e absorvente. Se for necessário, nivelar as tiras no suporte de microcavidades.
 - Ler a placa das tiras de microcavidades a um comprimento de onda de 490 nm ou 492 nm. Para leitores de duplo comprimento de onda, estabelecer o comprimento de onda de referência a 620 nm ou 630 nm. **Não ler o branco na cavidade 1A**.
 - Cada controle, calibrador ou amostra deve apresentar um valor superior ou igual a 0,700. Se uma cavidade tiver um valor inferior a 0,700, o resultado do controle, calibrador ou amostra deve ser invalidado e deve realizar-se de novo o teste.
- Para o processamento manual de placas de microcavidades, cobrir o suporte para tiras de microcavidade com um **novo selo adesivo para placas**. Quando utilizar um processador de microplacas automático para incubação, seguir as recomendações do fabricante do equipamento em relação à selagem da placa da microcavidade. Incubar a 37°C \pm 1°C durante **30 minutos \pm 1 minuto**.
- Antes de usar, preparar uma quantidade **suficiente** de Solução de Substrato para ser usado no Passo 12, de modo a permitir que os comprimidos de OPD se **dissolvam completamente**. Consultar PREPARO DOS REAGENTES. Não utilizar mais do que um único preparo de Solução de Substrato numa placa.
- Após a segunda incubação, lavar as cavidades conforme foi descrito no Passo 7.
- Adicionar 200 μ L de Solução de Substrato a todas as cavidades, **Incluindo 1A**.
- Incubar à temperatura ambiente no escuro durante **30 minutos \pm 1 minuto**.
- Adicionar 50 μ L de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 4N a todas as cavidades, **Incluindo 1A**. Para assegurar uma homogeneização adequada, o ácido deve ser adicionado de uma maneira constante. Se for necessário, agitar suavemente a placa ou utilizar um agitador de placas de microcavidades para misturar o conteúdo. Deve-se ter atenção especial para não espalhar o conteúdo das cavidades. Quando utilizar um processador de microplacas automático, seguir as instruções do fabricante do equipamento no que diz respeito à homogeneização.
- Se for necessário, antes de ler, eliminar a umidade do fundo das tiras de microcavidades cuidadosamente com um pano macio, sem fibras e absorvente. Se for necessário, nivelar as tiras no suporte para tiras de microcavidades. Ler a placa das tiras de microcavidades a um comprimento de onda de 490 nm ou 492 nm. Para leitores de duplo comprimento de onda, estabelecer o comprimento de onda de referência a 620 nm ou 630 nm. Ler o branco da cavidade 1A de acordo com as instruções do fabricante do equipamento. O usuário deve assegurar-se que o valor do branco (cavidade 1A) foi subtraído de todos os valores das cavidades de controle, calibrador e amostras antes da aplicação dos critérios de Controle de Qualidade. **NOTA:** As placas das tiras de microcavidades devem ser lidas no período de 60 minutos após a adição do ácido sulfúrico 4N. As placas devem ser armazenadas no escuro até serem lidas.

Procedimentos de Controle de Qualidade - Incubação CURTA⁽²¹⁻²²⁾

1. Critério de Aceitação do Branco do Reagente

Uma placa é considerada válida em relação ao branco do reagente se o valor da absorbância da cavidade do branco do reagente (cavidade 1A) for igual ou superior a - 0,020 e igual ou inferior a 0,050.

2. Critério de Aceitação do Calibrador Negativo:

a) Os valores individuais do calibrador negativo devem ser iguais ou inferiores a 0,120 e iguais ou superiores a -0,005. Se um dos três valores do calibrador estiver fora destes limites, recalcular o valor médio do calibrador negativo (Ncal \bar{x}), baseando-se nos dois valores do calibrador aceitáveis. Se dois ou mais dos três valores do calibrador estiverem fora de qualquer destes limites, a placa é inválida e o teste deverá ser repetido.

- Determinar a média dos valores do calibrador negativo (Ncal \bar{x}).

Exemplo:

Calibrador negativo	Absorbância
1	0,005
2	0,015
3	0,010
Absorbância Total = 0,030	
Ncal \bar{x} = $\frac{\text{Absorbância Total}}{3}$ = 0,010	

3. Critérios de Aceitação de Controle Positivo

O controle positivo é utilizado para verificar se os componentes do kit teste são capazes de detectar uma amostra reagente admitindo que o procedimento do teste tenha sido estritamente seguido. Uma placa é considerada válida no que diz respeito ao controle positivo, se ambos os valores do controle positivo forem superiores ou iguais ao valor de Cut off, dentro do intervalo linear do leitor de microcavidades.

NOTA: Resultados acima do limite superior do intervalo linear do leitor de microcavidades podem aparecer como "OVER" ou "*" ou ">".

4. Cálculo do Valor de Cut off

Valor do Cut off = Ncal \bar{x} + 0,330

Exemplo:

Calibrador negativo	Absorbância
1	0,005
2	0,015
3	0,010
Absorbância Total = 0,030	
Ncal \bar{x} = $\frac{\text{Absorbância Total}}{3}$ = 0,010	
Valor de Cut off = 0,010 + 0,330 = 0,340	

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Amostras com valores de absorbância inferiores a - 0,025 devem ser testadas novamente em uma microcavidade individual. A amostra deve ser considerada não reagente se o valor de absorbância do novo teste for inferior ao Valor de Cut off, mesmo que o valor de absorbância do novo teste permaneça inferior que - 0,025.
- Amostras com valores de absorbância inferiores ao Valor de Cut off e iguais ou superiores - 0,025 são consideradas como não reagentes. Não são necessários testes complementares.
- Amostras com valores de absorbância iguais ou superiores ao Valor de Cut off são consideradas inicialmente como reagentes e devem ser testadas novamente em duplicata antes da interpretação final.
- Após fazer um novo teste com uma amostra inicialmente reagente, a amostra é considerada repetidamente reagente para anticorpos contra HCV, se uma ou ambas das determinações duplicadas for (em) reagente (s) isto é, iguais ou superiores ao Valor do Cut off.
- Após novo teste de uma amostra inicialmente reagente, a amostra é considerada não reagente para anticorpos contra o HCV se ambas as determinações duplicadas forem não reagentes, isto é, inferiores ao Valor do Cut off.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O Procedimento e Interpretação de Resultados deve ser seguidos rigorosamente para garantir a exatidão dos resultados obtidos. Um laboratório que utilize o ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE deve ter um programa de treinamento ao profissional sobre a utilização e manuseamento adequados do produto.

O ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE é limitado à detecção de Anti-HCV em soro ou plasma humano. A presença de anti-HCV não constitui um diagnóstico da Hepatite C, mas pode ser indicativo de uma infecção recente e/ou passada pelo vírus da Hepatite C. Um resultado de teste não reagente não exclui a possibilidade de exposição ao vírus da hepatite C. Níveis de anti-HCV podem ser indetectáveis em uma infecção recente.

Dados obtidos a partir do teste em indivíduos de risco elevado ou baixo para infecção por HCV sugerem que amostras repetidamente reagentes com altos níveis de absorbância demonstram maior probabilidade para demonstrar a presença de anti-HCV nos testes suplementares. Reatividade ao nível ou um pouco acima do Valor do Cut off é mais frequentemente não específicas, especialmente em amostras obtidas de indivíduos com baixo risco de infecção. No entanto, a presença de anti-HCV em algumas destas amostras pode ser demonstrada por testes suplementares.

O controle positivo presente no kit de teste não deve ser usado para quantificar a sensibilidade do ensaio. O controle positivo é usado para verificar se os componentes do kit de teste são capazes de detectar uma amostra reagente, desde que se tenha cumprido estritamente o procedimento de teste.

Quando os valores do controle positivo estão acima do intervalo linear do leitor de microplacas, o controle positivo não pode ser utilizado para calcular a precisão do teste.

**RESULTADOS ESPERADOS
SENSIBILIDADE**

Sensibilidade de Soroconversão

A sensibilidade do ORTHO HCV 3.0 ELISA com Enhanced SAVE foi determinada testando múltiplos lotes com 20 painéis disponíveis comerciais de soroconversão em anti-HCV. O ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE detectou em 17 de 20 casos, anticorpos contra o HCV na mesma data de coleta que o ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE. O ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE detectou em 3 de 20 casos, anticorpos contra HCV antes do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE. Não se verificaram diferenças significativas entre as coletas detectadas pelos procedimentos Padrão e Curto do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE. Os resultados estão resumidos no Quadro 1.

Quadro 1. Sensibilidade em Soroconversão por Data de Coleta

Painel	ALT	PCR	ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE		ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE		Padrão do CHIRON® RIBA HCV 3.0 SIA em Soroconversão
			Procedimento Curto	Procedimento Padrão	Procedimento Curto	Procedimento Padrão	
NABI SC-0050	1567	+	1	1	1	1	c33c
NABI SC-0100	301	+	1	1	1	1	c33c
NABI SC-0010	162	+	3*	3	2	3	c22p
NABI SC -0030	309	+	2	3	3	3	c100p
BBI PHV904	> 450	+	4	4	5	5	c33c
BBI PHV 901	158	+	3	3	3	3	c33c/c100p
BBI PHV 905	144	+	6*	6*	6	7	c33c/c22p
BBI PHV 906	11	+	1	1	1	1	c33c
"D"	804	+	7	7	7	7	c33c
BCP 61067	244	NT	11	11	11	11	c33c/c22p
BCP 61083	44	NT	10*	10*	10	10	c33c
BCP 790989	132	+	39*	39*	39	39	c33c
NABI SC-0090	582	+	6	6	6	6	c33c
NABI SC-0070	561	NT	7	7	7	7	c33c/c22p/c100p/NS5
4814	391	+	5	5	5	5	c33c
NABI SC-0040	70	+	3	4	3	4	c33c
552-358002	20	NT	1	1	1	1	c33c/c100p
NABI SC-0060	47	+	3	3	3	3	c22p
NABI SC-0080	40	+	4	4	4	4	c33c/c100p
STD976	141	NT	15	16*	17	17	c22p

NT = não testado

*= A primeira coleta que foi reagente em 3 lotes, esta amostra foi borderline em coletas anteriores.

Para além dos painéis de soroconversão disponíveis no mercado, foram testados 61 painéis europeus locais com os procedimentos de incubação padrão (60, 60, 30) e curto (30, 30, 30) do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE em três locais de teste independentes. O ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE consistiu no ensaio de referência.

Não se mostraram aceitáveis para análise seis painéis para o local 1, três painéis para o local 2 e dois painéis para o local 3. As razões para a exclusão foram: 1) a coleta antes da transfusão foi positiva, 2) o painel produziu historicamente resultados inconsistentes ou 3) a primeira amostra não se encontrava disponível. Os resultados estão resumidos no Quadro 2.

Quadro 2: Painéis de Soroconversão em Locais Europeus

Local	Número de Painéis	Número de Painéis Aceitáveis	Situação	ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE Procedimentos de Incubação Padrão e Curto
1	22	16	Mesma coleta que o da Referência	14
			Anterior à Referência	2
2	25	22	Mesma coleta que o da Referência	20
			Anterior à Referência	2
3	14	12	Mesma coleta que o da Referência	8
			Anterior à Referência	3
			Posterior à Referência	1
Total	61	50	Mesma coleta que o da Referência	42
			Anterior à Referência	7
			Posterior à Referência	1

O ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE detectou soroconversão em uma coleta antes do método de referência (ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE) para 7 painéis. O ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE detectou soroconversão em uma coleta depois do método de referência para um painel. Os pormenores para os painéis de soroconversão em que se observaram diferenças constam do Quadro 3.

Quadro 3: Pormenores para os Resultados de Soroconversão Discordantes

Membro do Painel	ALT	PCR	HCV 3.0 ELISA com SAVE		HCV 3.0 com SAVE Razão S/C	CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA Padrão
			Curto	Padrão		
POUL	NT*	NT	1,44	1,03	0,94, 0,75	NS3, Núcleo
SER	291	NT	3,26	2,45	0,42, 0,74, 1,12	Núcleo
BOU J	84	NT	1,00	2,02	0,67	NS3
DEZ	160	NT	1,43	1,02	0,42	NS3, Núcleo, NS5
COE	> 2N	+	7,41	> 4,9	0,84	Núcleo
BEL	N	+	2,55	2,00	0,78	NS3
JUG	NT	+	6,79	> 4,9	0,87	NT
COR	3N	+	0,65	0,76	1,20	Negativo

*NT = não testado

**N = normal

Sensibilidade de Diluição

Vinte amostras positivas pelo CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA foram diluídas a níveis de anti-HCV considerados negativos pelo ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE. Uma comparação entre os procedimentos de incubação curta e padrão entre lotes múltiplos do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE demonstrou sensibilidade equivalente. O ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE apresentou uma sensibilidade equivalente comparativamente com o ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE.

Sensibilidade Clínica

Um total de 438 amostras presumivelmente positivas para anti-HCV foi testado com os procedimentos de incubação padrão e curto do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE.

As 18 amostras de pacientes com infecção aguda (N=1) ou crônica (N=17) por HCV foram repetidamente reagentes com os dois procedimentos de incubação, padrão e curto.

As 223 amostras de genótipo 1, 2, 3 e 4 do HCV e as 29 amostras não tipadas mas bem documentadas e positivas para HCV foram todas repetidamente reagentes com os dois procedimentos de incubação, padrão e curto.

Foram testadas 168 amostras de 152 portadores crônicos de HCV em quatro locais de teste independentes na Europa. Destas, 168 das 168 amostras mostraram-se repetidamente reagentes com os dois procedimentos de incubação, padrão e curto. Cento e vinte destas amostras foram testadas com o ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE e 120 das 120 mostraram-se reagentes. Os resultados estão resumidos no Quadro 4.

Quadro 4: Reatividade do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE Resultados com Amostras Positivas para HCV

Grupo	Número de Amostras	Número Repetidamente Reagente	Reagentes (%)
Aguda (N=1) e crônica (N=17) para HCV	18	18	100
Genótipo 1 do HCV	106	106	100
Genótipo 2 do HCV	45	45	100
Genótipo 3 do HCV	70	70	100
Genótipo 4 do HCV	2	2	100
Não tipado	29	29	100
Portadores Crônicos de HCV	168	168	100
Total	438	438	100

Para além das 438 amostras descritas no Quadro 4, o painel 1993 do SFTS foi testado em três locais independentes na Europa.

O painel é constituído por vinte e três amostras positivas por PCR (Categoria 1) e vinte e três amostras negativas por PCR (Categoria 2 [N=14]). Os resultados estão resumidos no Quadro 5.

Quadro 5: Reatividade com o Painel de 1993 do SFTS

Categoria	Número de Amostras	Reatividade Consensual	ORTHO HCV 3.0 com Enhanced SAVE Curto	ORTHO HCV 3.0 com Enhanced SAVE Padrão	HCV 3.0 SAVE
1	23	Reagente	23 (100%)	23 (100%)	23 (100%)
2	9	Reagente	6 (66,7%)	6 (66,7%)	6 (66,7%)
		Não Reagente	2 (22,2%)	2 (22,2%)	2 (22,2%)
		Inconsistente	1 (11,1%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)
3	14	Reagente	2 (14,3%)	2 (14,3%)	2 (14,3%)
		Não Reagente	8 (57,1%)	9 (64,3%)	12 (85,7%)
		Inconsistente	4 (28,6%)	3 (21,4%)	0 (0%)

Todas as 23 amostras positivas por PCR foram reagentes com o ensaio HCV 3.0 com Enhanced SAVE e com os procedimentos de incubação padrão e curto HCV 3.0 com Enhanced SAVE, bem como com o ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com SAVE.

Seis das nove amostras negativas por PCR da Categoria 2 foram reagentes com o ensaio HCV 3.0 SAVE e com os procedimentos de incubação padrão e curto HCV 3.0 com Enhanced SAVE. Pelo menos uma faixa foi positiva com todas as seis amostras, e o Núcleo foi detectado 83% das vezes. Duas das nove amostras negativas por PCR da Categoria 2 foram não reagentes com o ensaio HCV 3.0 SAVE e com os procedimentos de incubação padrão e curto HCV 3.0 com Enhanced SAVE. O NS3 foi o único detectado com o CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA para estas duas amostras.

Duas das catorze amostras negativas por PCR da Categoria 3 foram reagentes com o ensaio HCV 3.0 SAVE e com os procedimentos de incubação padrão e curto HCV 3.0 com Enhanced SAVE. CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA foi negativo para estas duas amostras. Oito amostras foram não reagentes com cada um dos ensaios da ORTHO. Sete de oito amostras (87,5%) foram negativas com o CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA. NS3 e NS5 foram detectadas para a outra amostra.

Uma das amostras da Categoria 2 e quatro das amostras da Categoria 3 produziram resultados inconsistentes com o ensaio HCV 3.0 com Enhanced SAVE (consultar o Quadro 6 para pormenores).

Quadro 6: Resultados para os Membros do Painel com Resultados Inconsistentes da Categoria 2 e 3 do SFTS

Painel/DI	Local	HCV 3.0 com Enhanced SAVE		HCV 3.0 SAVE Razão S/C	CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA
		Curto Razão S/C	Padrão Razão S/C		
18	1	0,70	1,52	0,79	Sem Faixas
	2	2,68, 3,13	3,81, 4,20		
	3	1,13, 1,10	0,94, 0,95		
13	1	0,71	0,49	0,54	Sem Faixas
	2	1,23, 1,49	1,22, 1,21		
	3	1,24, 1,05	0,78, 0,83		
14	1	0,27	0,51	0,34	Sem Faixas
	2	0,68, 1,04	0,51, 0,67		
	3	0,81, 0,95	0,39, 0,36		
17	1	0,52	0,31	0,26	Sem Faixas
	2	0,30, 0,29	0,37, 0,39		
	3	2,08, 2,07	1,93, 1,95		
44	1	1,12, 1,01	0,86, 0,84	0,62	NS5
	2	1,08, 1,26	1,26, 1,28		
	3	0,89, 0,89	0,72, 0,78		

Todas as amostras foram não reagentes com o ensaio de referência (HCV 3.0 com SAVE) e todas, exceto a amostra 44, foram negativas com o CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA.

**ESPECIFICIDADE
Reatividade em Voluntários Doadores de Sangue**

A especificidade do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE foi avaliada em uma população de doadores voluntários presumivelmente saudáveis de 4 locais de testes clínicos geograficamente diferentes da Europa.

A especificidade do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAVE nesta população de baixa prevalência foi calculada da seguinte forma:

Especificidade = (TN/TN + FP)

Onde TN = verdadeiros negativos, ou seja, o número de amostras não reagentes por ELISA

Onde FP = falsos positivos, ou seja, repetidamente reagentes por ELISA e negativos ou indeterminados por SIA e outros ensaios suplementares.

Nos quatro locais de ensaios clínicos na Europa foi testado um total de 13143 doadores de sangue saudáveis. Nove mil, seiscientos e vinte e seis amostras (9626) foram testadas com o procedimento de incubação padrão e 3517 foram testadas com o procedimento de incubação curto. Treze mil, cento e trinta (13130) das amostras foram não reagentes, 13 (0,10%) amostras foram inicialmente reagentes e 8 amostras (0,06%) foram repe-

tidamente reagentes. A especificidade do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAvE nesta população para o procedimento de incubação padrão (N = 9626) foi de 99,93% com limites de confiança inferior e superior de 95% de 99,84% a 99,97%. A especificidade para o procedimento de incubação curto foi equivalente a do procedimento de incubação padrão. No Quadro 7 apresentam-se as taxas de reatividade inicial e repetida.

As amostras repetidamente reagentes por ELISA foram testadas por testes suplementares de imunoblot (SIA) e posteriormente avaliadas por EIAs de peptídeos. Uma vez removidas as três amostras positivas ou indeterminadas por SIA e reagentes por EIAs de peptídeos, a especificidade nesta população de baixo risco foi de:

99,96% [13138/13143] com um limite de confiança inferior e superior de 95% de 99,91 a 99,99%.

Quadro 7

Local	Número Testado	Procedimento	Número de Amostras Inicialmente Reagentes (%)	Número de Amostras Repetidamente Reagentes (%)
Local 1 (Reino Unido)	3517	Curto	1 (0,03%)	1 (0,03%)
Local 2 (Alemanha)	3473	Padrão	7 (0,20%)	3 (0,09%)
Local 3 (França)	2345	Padrão	0 (0%)	0 (0%)
	2324*	Curto	0 (0%)	0 (0%)
Local 4 (Alemanha)	3808	Padrão	5 (0,13%)	4 (0,11%)
Total	13143		13 (0,10%)	8 (0,06%)

* Subconjunto de doadores testado com o procedimento de ensaio padrão e não incluído no total.

Reatividade em Situações Médicas Não Relacionadas com HCV

Para avaliar a reatividade do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com Enhanced SAvE com amostras potencialmente capazes de estabelecer reações cruzadas, testou-se um total de 278 amostras de indivíduos com doenças retrovirais não-HCV, doenças não retrovirais e outras doenças ou situações médicas selecionadas, incluindo recipientes de vacinas e anticorpos heterofílicos anti-rato. Todas as amostras foram inicialmente testadas com os dois procedimentos de incubação, padrão e curto. Todas as amostras inicialmente reagentes foram novamente testadas com os dois procedimentos de incubação, padrão e curto. Os dados foram interpretados como repetidamente reagentes se os dois resultados, inicial e repetido, fossem reagentes. Os resultados estão resumidos no Quadro 8 (procedimento de incubação padrão) e Quadro 9 (procedimento de incubação curto)

Para o procedimento de incubação padrão, 225 das amostras (80,94%) das amostras foram não reagentes e 53 amostras (19,06%) amostras foram repetidamente reagentes (14 com anticorpos positivos contra o HIV, uma positiva para CMV, 17 positivas para EBV, 7 positivas para HSV, 4 positivas para sífilis, 4 positivas para toxoplasmose, duas positivas para anticorpos antinucleares e 4 positivas para fator reumatoide). Das 53 amostras repetidamente reagentes, 52 foram confirmadas positivas com o ensaio RIBA 3. A amostra positiva e repetidamente reagente para CMV não foi confirmada como positiva pelo CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA.

Uma amostra adicional foi repetidamente reagente com o procedimento de incubação curto. Tratava-se de uma amostra positiva para EBV que não se confirmou como positiva com o CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA.

Quadro 8: Frequência de Reatividade Anti-HCV em Situações Médicas Não Relacionadas com HCV Procedimento de Incubação Padrão

Grupo	Número de Amostras	Número Não Reagente	Número Inicialmente Reagente	Número Repetidamente Reagente	Número de Resultados Positivos no Ensaio Suplementar*
Doença retroviral ^a	25	9	16	14	14 ^f
Doença não retroviral ^b	175	141	34	33	32

Imunoglobulinas Elevadas ^d	50	44	6	5	5
Recipientes de Vacina ^e	13	13	0	0	NT
Anticorpo Heterofílico Anti-rato	15	14	1	1	1
Total	278	221	57	53	52

Quadro 9: Frequência de Reatividade Anti-HCV em Situações Médicas Não Relacionadas com HCV Procedimento de Incubação Curto

Grupo	Número de Amostras	Número Não Reagente	Número Inicialmente Reagente	Número Repetidamente Reagente	Número de Resultados Positivos no Ensaio Suplementar*
Doença retroviral ^a	25	10	15	14	14 ^f
Doença não retroviral ^b	175	141	34	34	32
Imunoglobulinas Elevadas ^d	50	45	5	5	5
Recipientes de Vacina ^e	13	13	0	0	NT
Anticorpo Heterofílico Anti-rato	15	14	1	1	1
Total	278	223	55	54	52

- a Os testes de ensaio suplementar foram efetuados com o CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 Sai
- b Este grupo incluiu amostras positivas para HIV
- c Este grupo incluiu amostras com CMV, EBV, HSV, Rubéola, Sífilis e Toxoplasmose
- d As amostras neste grupo incluíram amostras de indivíduos com Anticorpos Antinucleares (ANA) e Fator Reumatoide (FR)
- e Este grupo incluiu indivíduos que receberam uma vacina contra a gripe no mês antes do teste
- f Existiram 2 amostras de HIV que foram reagentes em uma de duas determinações para os dois procedimentos de incubação, padrão e curto. Estas amostras foram indeterminadas no CHIRON® RIBA™ HCV 3.0 SIA.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade inter-ensaio e intra-ensaio do ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com ENHANCED SAvE foi determinada para os procedimentos de incubação padrão e curto em quatro locais diferentes, testando um painel de 3 amostras. As amostras eram constituídas por uma amostra não reagente, uma amostra fracamente reagente e uma amostra fortemente reagente. Foi testado um mínimo de 2 placas de microcavidades por dia numa média de 24 a 30 duplicatas da mesma amostra por placa de microcavidade.

Após análise estatística, o coeficiente de variação intra-ensaio (CV) variou de 6,6 a 13,2% com uma média de 9,9%. O CV inter-ensaio variou de 1,2 a 14,8% e de um dia para o outro de 1,2 a 15%.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

Estudos clínicos demonstraram que o ORTHO HCV 3.0 ELISA Test System com ENHANCED SAvE é capaz de detectar anticorpos contra o HCV e soro ou plasma humanos e é adequado para utilização em rastreio de doadores de sangue e como meio de auxílio no diagnóstico de infecção por HCV.

RESUMO DAS REVISÕES

Revisões em conformidade com os requisitos de embalagem da IVD MDD.

BIBLIOGRAFIA

1. Engvall E, Perlmann P. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): quantitative assay of IgG. *Immunochemistry* 1971; 8:871-74.
2. Choo Q-L, Weiner AJ, Overby LR, Kuo G, Houghton M. Hepatitis C virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bull* 1990; 46:423-41.
3. Kuo G, Choo Q-L, Alter HJ et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244:362-4.
4. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo Q-L, Kuo G. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989; 321:1494-500.
5. Esteban JI, Gonzalez A, Hernandez JM et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med* 1990; 323:1107-12.
6. van der Poel CL, Reesink HW, Lelie PN, Leentvaar-Kuypers A, Choo Q-L, Kuo G, Houghton M. Anti-hepatitis C antibodies and non-A, non-B post-transfusion hepatitis in the Netherlands. *Lancet* 1989; 2:297-98.
7. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244:359-61.
8. Alter HJ, Holland PV, Morrow AG et al. Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. *Lancet* 1975; 2:838-41.
9. Alter HJ. The dominant role of non-A, non-B in the pathogenesis of post-transfusion hepatitis: a clinical assessment. *Clin Gastroenterol* 1980; 9:155-70.
10. McHutchison JG, Person JL et al. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high risk populations. *Hepatology* 1992; 15:19-25.
11. van der Poel CL, Cuyper HTM, Reesink HW et al. Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 1991; 337:317-19.
12. Chien D, Choo Q-L et al. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection using an immunodominant chimeric polyprotein to capture circulating antibodies: reevaluation of the role of HCV in liver disease. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89:10,011-15.
13. Kuo G, Choo Q-L, Shuster J, Kuo C, Berger K, Lee WS, Medina-Selby A, Houghton M. Serodiagnosis of Hepatitis C Viral Infection Using Recombinant-based Assays for Circulating Antibodies to Different Viral Proteins. In, "Viral Hepatitis and Liver Disease. Proceedings of the 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease: Contemporary Issues and Future Prospects," pp. 347-349. Edited by Hollinger FB, Lemon SM, and Margolis M. Published by Williams and Wilkins.
14. Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other bloodborne pathogens in health-care settings. *MMWR* 1988; 37(24): 377-87.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Proposed guideline: Protection of laboratory workers from infectious disease transmitted by blood and tissue. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1987; 7(9). (NCCLS document M29-P).
16. Commission Directive 2001/60/EC of 7 August 2001 adapting to technical progress Directive 1999/45/EC of the European Parliament and of the Council concerning the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to the classification, packaging and labelling of dangerous preparations.
17. Sehulster LM, Hollinger FB, Dreesman GR, Melnick JL. Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigens by sodium hypochlorite disinfection. *Appl Environ Microbiol* 1981; 42:762-7.
18. Bond WW, Favero MS, Peterson NJ, Ebert JW. Inactivation of hepatitis B virus by intermediate-to-high-level disinfectant chemicals. *J Clin Microbiol* 1983; 18:535-8.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory - second edition: approved guideline. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991; 11(13). (NCCLS document C3-A2) ISBN1-562328-127-X).
20. International Air Transport Association (IATA): Dangerous Goods Regulations.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Proposed guideline: Specifications for immunological testing for immunological testing for infectious disease. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991; 11(19). (NCCLS document I/LA 18-P).
22. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline. Internal quality control testing: principles and definitions. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1990. (NCCLS document C24-A).

SIMBOLOGIA

Os seguintes símbolos podem ter sido utilizados no rótulo deste produto.



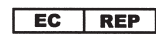
Atenção: Consultar as instruções de utilização



Para uso diagnóstico in vitro



Número de lote



Representante Autorizado



Utilizar até/data de validade (DD/MM/AAAA)



Código do Produto



Armazenar entre



Este lado para cima



Antígenos Recombinantes Fornecidos por



Controle Positivo



Calibrador Negativo



Contém o Suficiente para "n" Testes



Fabricante



Atenção: Consultar as Instruções de Uso



Ortho-Clinical Diagnostics
62 The Broadway
Amersham, Bucks, UK



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.
uma empresa Johnson & Johnson company
Raritan, New Jersey 08869

Antígenos Recombinantes fornecidos por:

CHIRON
Novartis Vaccines and Diagnostics
Emeryville CA 94608



PRECAUÇÕES QUANTO AO PRODUTO:

MANUSEAR COMO SENDO CAPAZ DE TRANSMITIR AGENTES INFECCIOSOS.

POTENCIALMENTE INFECTANTE.

PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*



Fabricado por: Ortho-Clinical Diagnostics, Inc
uma empresa Johnson & Johnson
Raritan, New Jersey 08869

Data de revisão: Janeiro de 2008

Distribuído por: REM Indústria e Comércio Ltda.
Rua Columbus, 282 - Vila Leopoldina
CEP: 05304-010 - São Paulo - S.P.
CNPJ: 47.334.701/0001-20

Serviço de Atendimento ao Consumidor:
REM Indústria e Comércio Ltda.
Rua Columbus, 282 - Vila Leopoldina
São Paulo - SP - CEP 05304-010
Telefone: 55-11-3377.9922/ Fax: 55-11-3377.9900