



HCV BLOT 3.0 WESTERN BLOT ASSAY Manual de Instruções

CE

0123

| | |
|---------------------------------|---|
| DATA de REVISÃO: 2016-05 | Observação: alterações realizadas. |
| MAD0011-POR-4 | |

| | |
|------------|--|
| REF | (kit com 18 testes) : 11130-018 (kit com 36 testes) : 11130-036 |
|------------|--|

| |
|-------------------------|
| NOME E APLICAÇÃO |
|-------------------------|

MP Diagnostics HCV Blot 3.0 é um imunoensaio enzimático qualitativo para a detecção *in vitro* de anticorpos para HCV em soro ou plasma humano. É usado como um teste suplementar mais específico em amostras de soro ou plasma humano repetidamente reativas usando procedimentos de triagem como o ensaio de ELISA.

| |
|-------------------|
| INTRODUÇÃO |
|-------------------|

O HCV foi identificado como a maior causa de transmissão da hepatite não-A e não-B (NANB). Testes de triagem são amplamente utilizados para o diagnóstico da infecção da Hepatite C. Estes testes de triagem envolvem antígenos da região estrutural (capsíd) como também um ou mais antígenos mais específicos de regiões não-estruturais do vírus (NS3, NS4, NS5). Testes de triagem repetidamente positivos requerem testes adicionais e mais específicos para confirmar a soropositividade para o HCV. Reações falso-positivas são possíveis, se forem utilizados métodos de triagem convencionais tais como HCV imunoenzimáticos (ELISA).

Testes Confirmatórios adicionais devem incluir antígenos virais individuais como também controles negativos apropriados. O **MP Diagnostics HCV BLOT 3.0** inclui antígenos estruturais e não-estruturais do HCV e é usado como um teste confirmatório suplementar para análise e presença de anticorpos para o HCV.

| |
|----------------------|
| ARMAZENAMENTO |
|----------------------|

- Para o ensaio de WesternBlot, é importante usar um agitador de plataforma oscilante e não um agitador rotativo. Caso contrário, o dempenho do kit ficará comprometido. A velocidade e o ângulo de inclinação recomendados para o agitador são de 12 a 16 ciclos por minuto, e 5 a 10 graus, respectivamente.
- Se usar equipamento automatizado, verifique se está aferido antes do uso.
- Certifique-se que as amostras são adicionadas longe da tira. A bandeja pode ser agitada e a amostra adicionada no local onde a solução-tampão for coletada na extremidade inferior. Isto evitará a formação de manchas escuras devido à adição de amostra na tira.
- Evite o uso de congeladores do tipo frost free para armazenar reagentes e amostras.

| |
|----------------------|
| ARMAZENAMENTO |
|----------------------|

- Conserve o kit HCV BLOT 3.0 **MP Diagnostics** e seus componentes à 2°C a 8°C quando não estiverem em uso.
- Todos os reagentes e tiras do teste permanecem estáveis até a data de validade fornecida no kit se conservado entre 2°C a 8°C. Não congele os reagentes.

- A. **Tiras de antígeno**
- Evite exposição desnecessária das tiras de antígeno à luz.

- B. **Reagentes**
- Armazene os reagentes nos frascos originais e mantenha-os tampados ao armazená-los.
 - Dispense todos os reagentes ainda frios e volte a armazená-los o mais rápido possível a 2°C a 8°C.
 - Precipitações podem se formar quando o Substrato é armazenado à 2°C a 8°C. Isto não afetará o desempenho do kit.

| |
|---|
| PRECAUÇÃO: Evite exposição desnecessária do Substrato à luz. |
|---|

| |
|--|
| COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS |
|--|

Soro, amostras de plasma de EDTA ou citrato de plasma podem ser utilizados. Amostras coletadas em heparina preferencialmente não devem ser utilizadas pois podem causar uma reação não específica para a banda HCV Core.

As amostras devem ser conservadas à 2°C a 8°C se o teste for realizado dentro de 7 dias após a coleta ou congelada à -20°C se for previsto que o teste será realizado em mais de 7 dias após a coleta. É preferível usar amostras límpidas e não hemolisadas. Amostras lipêmicas, ictericas ou contaminadas (partículas ou bactérias) devem ser filtradas a (0.45µm) ou centrifugadas antes do teste.

As amostras podem ser inativadas, mas isso não é necessário para um bom desempenho do teste.

O procedimento de inativação é o seguinte:

- Afrouxe a tampa do recipiente da amostra.
- Inative termicamente as amostras a 56°C por 30 minutos em banho-maria.
- Esperre a amostra esfriar antes de fixar novamente a tampa.
- A amostra pode ser congelada até o momento da análise.

Recomenda-se não congelar e descongelar repetidamente as amostras.

| |
|--------------------------------------|
| DESCRIÇÃO DOS SÍMBOLOS USADOS |
|--------------------------------------|

Os símbolos gráficos usados ou encontrados nos produtos e embalagens **MP Diagnostics** estão indicados a seguir. Estes são os símbolos mais comuns em dispositivos médicos e respectivas embalagens. Alguns dos símbolos comuns são explicados em maior pormenor na norma internacional e europeia EN ISO 15223: 2012.

| | |
|---|---|
|  Usar até <i>Sinónimos:</i> Data de Validade |  Dispositivo médico para diagnóstico in vitro |
|  Código de Lote <i>Sinónimos:</i> Número de lote Código da remessa |  Número de catálogo |
|  Limites de temperatura |  Atenção. Ver Instruções de Uso |
|  Fabricante |  Representante Autorizado na Comunidade Europeia |
|  Contém o suficiente para <n> testes |  Consulte as instruções de uso |
|  Não reutilize | |

| |
|---|
| PRINCÍPIOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO |
|---|

As tiras de nitrocelulose contêm quatro proteínas recombinantes do HCV do formam o Capsid NS3, NS4 e regiões NS5 do genoma do HCV. As proteínas de HCV são expressadas como GST fusão proteínas, assim uma GST banda controle é incluída para indicar reatividade para nativa GST. As tiras de nitrocelulose também contêm uma banda controle IgG e a banda anti-IgG. As tiras de nitrocelulose são incubadas individualmente com amostras de soro ou plasma humanos diluídos e controles. Anticorpos específicos do HCV se presentes nas amostras irão se ligar as proteínas de HCV nas tiras. As tiras são lavadas para remover materiais não ligados e depois incubadas utilizando-se conjugado enzimático purificado com fosfatase alcalina. O anticorpo conjugado irá se ligar a qualquer antígeno/anticorpo apresentado na tira. O conjugado não ligado será removido das tiras pelo processo de lavagem. O BCIp/NBT substrato será adicionado para visualização das proteínas reativas nas tiras.

| |
|----------------------|
| ARMAZENAMENTO |
|----------------------|

- Aspirar o CONJUGADO das canaletas. Lavar como na etapa 8.
- Adicionar 2 ml da SOLUÇÃO de SUBSTRATO em cada canaleta.
- Cobrir a bandeja e incubar durante 15 minutos na plataforma de agitação.
- Aspirar o SUBSTRATO e enxaguar as tiras pelo menos três vezes com água grau reagente para parar a reação (a lavagem insuficiente nesta etapa poderá provocar o desenvolvimento de um fundo escuro).
- Usando a pinça remover cuidadosamente as tiras e coloque-as sobre papel toalha. Cobrir com toalhas de papel e secar. Alternativamente, deixar as tiras secarem nas canaletas da bandeja.
- Montar as tiras sobre folha de trabalho (papel branco não absorvente). Monte em folha de trabalho (livro branco não absorvente). Não aplicar fitas adesivas sobre as bandas reveladas. Observar as bandas (Veja Interpretação dos Resultados) e interpretar os resultados. Para armazenamento, mantenha as tiras no escuro.

| |
|----------------------|
| ARMAZENAMENTO |
|----------------------|

ii. Inclinr a bandeja ligeiramente, elevando a extremidade superior ou inferior da bandeja. A SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING fluirá para a extremidade mais baixa da bandeja. Adicione a amostra onde a SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING é coletada. Quando todas as amostras tiverem sido adicionadas, retorne a bandeja à posição horizontal original. Certifique-se que as tiras se mantêm sempre úmidas durante o procedimento.

- Alternativamente, caso não deseje inclinar a bandeja,as amostras podem ser adicionadas na extremidade superior ou inferior da canaleta. Desta forma, a leitura da tira não será afetada caso tenham se desenvolvido manchas escuras.

- Pipetadores e ponteiros de volumes apropriados.
- Sistema de aspiração e contenção em hipoclorito de sódio 56°C banho-maria (opcional)
- Hipoclorito de sódio para desinfecção

| |
|---------------------------------|
| PREPARAÇÃO DOS REAGENTES |
|---------------------------------|

- SOLUÇÃO TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDO**

(A) TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDO **deve ser preparado recentemente antes do uso.**

(B) Diluir 1 volume do TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO (20X) com 19 volumes de água grau reagente. Misturar bem.

- SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING**

(A) TAMPÃO PARA BLOTTING **deve ser preparado recentemente antes do uso.**

(B) Diluir 1 volume do TAMPÃO ESTOQUE CONCENTRADO (10X) com 9 volumes de água grau reagente. Misturar bem.

(C) Adicionar 1 g de PÓ PARA BLOTTING para cada 20 ml do TAMPÃO ESTOQUE DILUÍDO preparado no passo 2(B) acima. Misturar bem.

(D) Misturar novamente antes de dispensar.

- SOLUÇÃO DE TRABALHO DO CONJUGADO**

Nota: Prepare a solução em recipiente de polipropileno / proveta.

(A) SOLUÇÃO DE TRABALHO DO CONJUGADO **deve ser preparado recentemente antes do uso.**

(B) Preparar a SOLUÇÃO DE TRABALHO DO CONJUGADO diluindo o CONJUGADO 1:1000 no TAMPÃO PARA BLOTTING, por exemplo, 5µl CONJUGADO para 5ml do TAMPÃO PARA BLOTTING.

- SOLUÇÃO do SUBSTRATO (pronto para uso)**

(A) Dispensar o volume necessário diretamente do frasco. Usar uma pipeta limpa. Fechar bem o frasco após o uso.

| |
|------------------------------|
| PROCEDIMENTO DO TESTE |
|------------------------------|

Nota: A) Aspirar todos os produtos químicos e reagentes utilizados para o sistema de aspiração contendo hipoclorito de sódio.

B) Todas as incubações devem ser realizadas em plataforma de agitação por oscilação.

Precaução:

Algumas amostras podem provocar manchas escuras no ponto da tira em que são aplicadas. Para evitar este problema, deve-se:

- Pipetar a amostra somente após a adição da SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING.

| |
|---------------------------|
| COMPONENTES DO KIT |
|---------------------------|

| | |
|---|-------------------------------|
| Descrição dos componentes | Quantidade Fornecida |
|  TIRAS DE NITROCELULOSE Incorporadas com HCV recombinante estrutural e antígenos não estruturais. Duas bandas de soro controle adicionais (IgG anti-humano e IgG humano). Mantenha-as secas e longe de luz. | Disponíveis em 18 ou 36 tiras |
|  CONTROLE NÃO REATIVO Soro humano normal inativado não-reativo para o antígeno de superfície da Hepatite B (HBsAg), anticorpos para HIV-1, HIV-2 e HCV. Contém azida sódica e timerosal como conservantes. | 1 frasco (80 µl) |
|  CONTROLE REATIVO Soro humano inativado com alta concentração de anticorpos para HCV e não reativos para anti-HIV-1 e HIV-2 e HBsAg. Contém azida sódica e timerosal como conservantes. | 1 frasco (80 µl) |
|  TAMPÃO ESTOQUE CONCENTRADA (10x) Tampão TRIS com soro de cabra normal inativado por calor. Contém timerosal como conservante. | 1 frasco (20 ml) |
|  TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO (20x) Tampão TRIS/NaCl com tween -20. Contém timerosal como conservante. | 1 frasco (70 ml) |
|  CONJUGADO Anti-IgG humano (de cabra) conjugado com fosfatase alcalina. Contém azida sódica como conservante. | 1 frasco (120 µl) |
|  SUBSTRATO Solução de 5-bromo-4-cloro-3-indolfosfato (BCIP) e tetrazólio de nitrozul (NBT). | 1 frasco (100 ml) |
|  PÓ PARA BLOTTING Leite desnatado em pó. | 10 embalgens (1g cada) |
| Manual de Instruções | 1 exemplar |
| Pinças | 1 par |
| Bandejas de incubação* | |

Nota: O volume fornecido de reagentes é suficiente para 4 procedimentos.

* Tabuleiros de incubação fornecidos mas embalados separadamente em relação ao kit.

| |
|----------------------------|
| AVISOS E PRECAUÇÕES |
|----------------------------|

- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso de Profissional.
- Por favor, recorra a bula do produto para informações sobre componentes potencialmente perigosos.

| |
|---|
| INFORMAÇÕES DE SAÚDE E SEGURANÇA |
|---|

 **CUIDADO:** Este kit contém materiais de origem humana. Nenhum método de teste pode oferecer garantia total que produtos de sangue humano não transmitam infecções.

MANUSEIE AS AMOSTRAS ASSIM COMO OS CONTROLES REATIVOS E NÃO REATIVOS COMO AGENTES POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. Recomenda-se que os componentes e amostras dos testes sejam manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório. O descarte deverá ser realizado de acordo com procedimentos de segurança vigentes.

O *Controle Reativo* e o *Controle Não-Reativo* contêm Timerosal e azida sódica enquanto a Solução Tampão Estoque Concentrada e a Solução Tampão de Lavagem Concentrada contêm Timerosal e o Conjugado contêm azida sódica. A azida sódica pode reagir com cobre e o chumbo usados em alguns sistemas de canalização formando sais explosivos. Embora as quantidades usadas neste kit sejam pequenas, o descarte de materiais contendo azida sódica deve ser feito por lavagem com volumes relativamente altos de água de forma a evitar a formação de azida metálica no sistema de canalização.

Em conformidade com a norma CE 1272/2008 (CLP), os componentes perigosos são classificados e rotulados da seguinte forma:

| | |
|------------------------------------|---|
| Componente: | TIRAS DE NITROCELULOSE |
| Palavra-sinal: | Perigo |
| Pictograma: |  |
| Advertências de perigo: | H228 Sólido inflamável. |
| Recomendações de prudência: | P210 Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. – Não fumar. <p>P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.</p> |
| Advertências suplementares: | Folha de dados de segurança EUH210 disponível mediante pedido |
| Contém: | 100% nitrocelulose |

| | |
|-----------------------|---|
| Componente: | TAMPÃO ESTOQUE CONCENTRADA (10x) TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO (20x) |
| Palavra-sinal: | Advertência |
| Pictograma: |  |

| |
|----------------------|
| ARMAZENAMENTO |
|----------------------|

- Aspirar o CONJUGADO das canaletas. Lavar como na etapa 8.
- Adicionar 2 ml da SOLUÇÃO de SUBSTRATO em cada canaleta.
- Cobrir a bandeja e incubar durante 15 minutos na plataforma de agitação.
- Aspirar o SUBSTRATO e enxaguar as tiras pelo menos três vezes com água grau reagente para parar a reação (a lavagem insuficiente nesta etapa poderá provocar o desenvolvimento de um fundo escuro).
- Usando a pinça remover cuidadosamente as tiras e coloque-as sobre papel toalha. Cobrir com toalhas de papel e secar. Alternativamente, deixar as tiras secarem nas canaletas da bandeja.
- Montar as tiras sobre folha de trabalho (papel branco não absorvente). Monte em folha de trabalho (livro branco não absorvente). Não aplicar fitas adesivas sobre as bandas reveladas. Observar as bandas (Veja Interpretação dos Resultados) e interpretar os resultados. Para armazenamento, mantenha as tiras no escuro.

- Aspirar o CONJUGADO das canaletas. Lavar como na etapa 8.
- Adicionar 2 ml da SOLUÇÃO de SUBSTRATO em cada canaleta.
- Cobrir a bandeja e incubar durante 15 minutos na plataforma de agitação.
- Aspirar o SUBSTRATO e enxaguar as tiras pelo menos três vezes com água grau reagente para parar a reação (a lavagem insuficiente nesta etapa poderá provocar o desenvolvimento de um fundo escuro).
- Usando a pinça remover cuidadosamente as tiras e coloque-as sobre papel toalha. Cobrir com toalhas de papel e secar. Alternativamente, deixar as tiras secarem nas canaletas da bandeja.
- Montar as tiras sobre folha de trabalho (papel branco não absorvente). Monte em folha de trabalho (livro branco não absorvente). Não aplicar fitas adesivas sobre as bandas reveladas. Observar as bandas (Veja Interpretação dos Resultados) e interpretar os resultados. Para armazenamento, mantenha as tiras no escuro.

- Usando a pinça remover cuidadosamente as tiras e coloque-as sobre papel toalha. Cobrir com toalhas de papel e secar. Alternativamente, deixar as tiras secarem nas canaletas da bandeja.
- Montar as tiras sobre folha de trabalho (papel branco não absorvente). Monte em folha de trabalho (livro branco não absorvente). Não aplicar fitas adesivas sobre as bandas reveladas. Observar as bandas (Veja Interpretação dos Resultados) e interpretar os resultados. Para armazenamento, mantenha as tiras no escuro.

- Adicionar 2 ml da SOLUÇÃO PARA BLOTTING em cada canaleta.
- Adicinar 20 µl de cada soro de pacientes ou controles nas canaletas apropriadas. Deve-se ter cuidado para assegurar-se que as amostras não são adicionadas diretamente sobre as tiras.
- Cobrir a bandeja com a tampa fornecida e incubar durante 1 hora em temperatura ambiente (25 ± 3°C) na plataforma de agitação.

| | | |
|---------------------------------------|------------|----------------|
| RESUMO DOS PROTOCOLOS DO TESTE | | |
| Reagentes | Qty | Duração |
| Tiras de Nitrocelulose | 1 | - |
| Solução Tampão de Lavagem | 2 ml | 2 mins |
| Solução Tampão para Blotting | 2 ml | - |
| Amostra | 20 µl | 60 mins |
| Solução Tampão de Lavagem | 3 x 2 ml | 3 x 5 mins |
| Conjugado | 2 ml | 60 mins |
| Solução Tampão de Lavagem | 3 x 2 ml | 3 x 5 mins |
| Substrato (Pronto para uso) | 2 ml | 15 mins |
| Água destilada | 3 x 2 ml | - |

| | | | | | | | |
|--|---------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| QUANTIDADE NECESSÁRIAS DE REAGENTES PARA VÁRIAS TIRAS | | | | | | | |
| Reagentes | NÚMERO DE TIRAS A SEREM USADAS | | | | | | |
| | 3 | 6 | 9 | 15 | 20 | 27 | 36 |
| 1X Solução Tampão de Lavagem (ml) | 60 | 100 | 140 | 240 | 300 | 400 | 520 |
| 1X Solução Tampão para Blotting (ml) | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 160 |
| Conjugado (µl) | 11 | 17 | 23 | 35 | 45 | 59 | 77 |
| Substrato (ml) | 11 | 17 | 23 | 35 | 45 | 59 | 77 |
| Pó de Blotting (g) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 8 |

- Acrescentar 2 ml da SOLUÇÃO DE TRABALHO CONJUGADO em cada canaleta.
- Cobrir a bandeja e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente (25 ± 3°C) na plataforma de agitação.

| | |
|------------------------------------|---|
| Advertências de perigo: | H373 Pode afectar os órgãos após exposição prolongada ou repetida |
| Recomendações de prudência: | P260 Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. <p>PP501 Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com a legislação local/regional/nacional/internacional</p> |
| Advertências suplementares: | Folha de dados de segurança EUH210 disponível mediante pedido |
| Contém: | 0,1% timerosal |

- Evite contaminação microbiana dos reagentes ao abrir e retirar alíquotas dos frascos originais.
- Não pipetar com a boca.

- Manuseie as amostras de testes,as tiras de nitrocelulose, o Controle Reativo e Não-Reativo como agentes potencialmente infecciosos.

- Use vestuário de laboratório e luvas descartáveis durante a realização do teste. Descarte as luvas em sacos plásticos para lixo biológico perigoso. A seguir, lave bem as mãos.

- É altamente recomendável que o teste seja realizado numa câmara adequada para material biológico perigoso.

- Mantenha todo o material longe de alimentos e bebidas.

- Em caso de acidente ou contato com os olhos, lave imediatamente com água em abundância e procure orientação médica.

- Consulte um médico imediatamente caso ocorra ingestão de materiais contaminados ou contato com feridas abertas, ou outras soluções de continuidade da pele.

- Enxugue imediatamente derramamentos de materiais infecciosos com papel absorvente e limpe imediatamente a área contaminada com 1% de solução de hipoclorito de sódio antes de continuar o trabalho. O hipoclorito de sódio não deve ser usado em derramamentos contendo ácidos, a não ser que a área seja primeiro enxugada com papel absorvente. O material usado (inclusive as luvas descartáveis)deve ser descartado como material biológico potencialmente perigoso.Não esterelize em autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

- Antes do descarte,esterelize em autoclave a 121°C a 15 p.s.i. durante 30 minutos, todo o material contaminado utilizado. Alternativamente, descontamine o material em solução de hipoclorito de sódio a 5% durante 30-60 minutos antes de descartar em sacos para lixo biológico.

- Descontamine todas as substâncias químicas usadas e reagentes adicionando um volume suficiente de hipoclorito de sódio para obter uma concentração final de pelo menos 1%. Deixe agir durante 30 minutos para assegurar uma desinfecção efetiva.

- Nós não recomendamos a reutilização das bandejas de incubação.

| |
|----------------------|
| ARMAZENAMENTO |
|----------------------|

| |
|------------------------------|
| CONTROLE DE QUALIDADE |
|------------------------------|

Os controles Não-Reativo e Reativo devem ser usados, independentemente do número de amostras sob análise. Para que todos os resultados obtidos nos testes sejam considerados válidos, as seguintes condições deverão ser preenchidas:

- BANDA CONTROLE (Anti-IgG e IgG CONTROLE)**

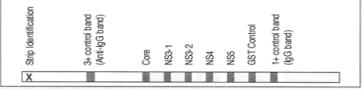
As duas bandas controle (anti-IgG e IgG, que se referem ao diagrama abaixo) poderão apresentar diferentes reações em todos os blots. A presença da banda anti-IgG indica que o soro foi adicionado na etapa de incubação inicial. A ausência da banda controle anti-IgG e a presença da banda IgG na tira, indica que houve falha para adicionar o soro do paciente. A ausência de qualquer banda no ensaio incluindo as bandas controle, indica falha na técnica ou em algum reagente do kit.
- CONTROLE NÃO REATIVO**

Somente a presença das bandas controle IgG e anti-IgG aparecerão na reação da tira. (Figo. 1c)
- CONTROLE REATIVO**

Todas as proteínas HCV recombinantes serão reativas juntamente com o soro controle reativo. Adicionalmente as bandas controle anti-IgG e IgG também estarão presentes. A banda controle GST pode não estar presente. (Figo 1b).

| |
|------------------------------------|
| INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS |
|------------------------------------|

O diagrama abaixo apresenta os antígenos e controles do HCV BLOT 3.0 **MP Diagnostics**.

| |
|---|
|  |
|---|

Localize e identifique a intensidade das bandas controle. A 3+ intensificada é a anti-IgG e a 1+ intensificada é a banda controle IgG. Essas deverão estar visíveis em todas as tiras. A intensidade de qualquer banda reativa é comparada com essas duas bandas como referência. A comparação com essas duas bandas é utilizada para avaliar o resultado da reação para cada antígeno nas tiras.

| | |
|------------------------------------|----------------------|
| PADRÃO | INTERPRETAÇÃO |
| 1) Nenhuma reatividade | - |
| 2) Reatividade < 1+ controle | ± |
| 3) Reatividade = 1+ controle | 1+ |
| 4) Reatividade > 1+ e <3+ controle | 2+ |
| 5) Reatividade = 3+ controle | 3+ |
| 6) Reatividade > 3+ controle | 4+ |

| |
|------------------------------|
| PRECAUÇÕES ANALÍTICAS |
|------------------------------|

- Amostras de soro, plasma de EDTA ou citrato de plasma podem ser utilizados. Amostras de plasma coletadas em heparina não devem ser utilizadas pois podem causar reações não-específicas para a banda núcleo de HCV. (HCV Core)

- O ótimo desempenho do ensaio requer **SEGUIR À RISCA** ao procedimento de ensaio descrito neste Manual de Instrução. Divergências do procedimento podem acarretar resultados anômalos.

- NÃO MODIFIQUE OU SUBSTITUA REAGENTES DE UM LOTE DE KIT PARA OUTRO.** Controles, conjugado ao procedimento de ensaio descrito neste Manual de Instrução. Divergências do procedimento podem acarretar resultados anômalos.

- Não use componentes do kit após a data de validade impressa no kit.

- Evite contaminação microbiana dos reagentes, ao abrir e retirar alíquotas dos frascos originais. A contaminação reduz prematuramente a vida útil dos kits e fornece resultados errôneos. Use técnicas assépticas como por exemplo, pipetas ou ponteiros descartáveis para retirar alíquotas dos frascos.

- Em cada ensaio de amostras de pacientes, deve-se utilizar os controles do kit em paralelo.

- Use uma ponteira de pipeta nova para cada

LIMITAÇÕES DO METODO

Uma excelente performance da reação requer estrita aderência do procedimento descrito. O não cumprimento poderá resultar em reações aberrantes.

Um resultado **NEGATIVO** não exclui a possibilidade de infecção pelo vírus do HCV. Um resultado **INDETERMINADO** não poderá ser considerado um diagnóstico de infecção pelo HCV. Reação de maior ou igual 1+ sobre um antígeno de HCV será considerado como uma reação não específica, uma indicação de uma infecção passada solucionada, ou uma indicação de uma recente soroconversão.

Nós recomendamos a restestagem com uma nova amostra de dois a seis meses após.

Amostras de soro que apresentem resultados indeterminados, podem ser testadas por PCR para futuras determinações quer a pessoa seja exposta ou infectada com HCV.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE EXPLÍCITA LIMITADA

O fabricante não oferece nenhuma garantia expressa se não a de que o kit de teste funcionará como um ensaio diagnóstico *in vitro* dentro das especificações e limitações descritas neste Manual de Instruções do Produto quando usado em conformidade com as instruções nele contidas. O fabricante isenta-se de qualquer garantia expressa ou implícita, incluindo as garantias expressas ou implícitas em relação a capacidade de comercialização, de utilização ou utilidade implícita para quaisquer outros fins. A responsabilidade do fabricante limita-se a substituição do produto ou reembolso do preço de compra do produto. O fabricante não será considerado responsável pelo comprador nem por terceiros por quaisquer danos, prejuízos, perdas de caráter econômico causados pelo uso ou aplicação do produto.

PROBLEMAS TÉCNICOS / RECLAMAÇÕES

Caso haja algum problema técnico, solicitamos proceder da seguinte forma:

1. Anotar o número do lote do kit e a data de vencimento.
2. Conserve o kit e os resultados que foram obtidos.
3. Contate o escritório da MP Biomedicals mais próximo ou seu distribuidor local.

REFERÊNCIAS

1. Choo Q-L., et al. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. *Science*; 244: 359-62.
2. Kuo G., et al. 1989. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human Non-A, Non-B hepatitis. *Science*; 244: 362-364.
3. Kleinman S., Altere o H., Busch M., et al. 1993. Increased detection of hepatitis C virus infected blood donors by a multiple antigen HCV enzyme immunoassay. *Transfusion*; 32: 805-813.
4. Van der Poel C. L. Reesink H., W., Schaasberg W. et al. 1990. Infectivity of seropositives for hepatitis C virus antibodies. *Lancet*; 335:558-560.
5. Colombo M., Kuo G., Choo Q-L., et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma, *Lancet*; 2: 1006-8.
6. Bruix J., Barrera J., Calvert X. et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis, *Lancet*; 2: 1004-6. 1004-6.



MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.
2 Pioneer Place
Singapura 627885
N.º tel. : + 65 6775 0008
N.º fax : + 65 6774 6146
Correio eletrônico : enquiry_ap@mpbio.com

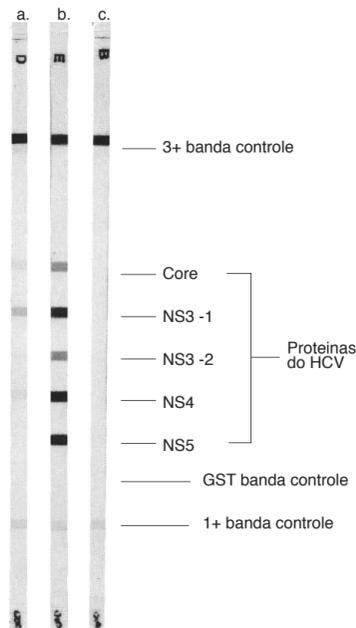


MP Biomedicals Germany GmbH
Thüringer Straße 15
37269 Eschwege
Alemanha
N.º tel. : +49 5651 921 204
N.º fax. : +49 5651 921 181
Correio eletrônico : diagnostics@mpbio.com

Escritórios Regionais:

MP Biomedicals Germany GmbH
Thüringer Straße 15
37269 Eschwege
Alemanha
N.º tel. : +49 5651 921 204
N.º fax. : +49 5651 921 181
Correio eletrônico : diagnostics@mpbio.com

FIGURA 1



- a. Controle Reativo Fraco
b. Controle Reativo Forte
c. Controle Não Reativo.
(Nota: A posição da banda GST está indicada, mas a banda não ficará visível se o soro não for reativo para a banda GST.)