ELISA HEV

CE

DATA DE REVISÃO: 05/05
MBK 0011-BRA-0

Observação: alterações realçadas.

REF 21150-096T (kit de 96 testes)

NOME E APLICAÇÃO

O TESTE HEV ELISA DA MP Diagnostics (MPD) é uma prova imunoenzimática para a detecção de anticorpos IgG para o vírus da hepatite E (HEV) no soro ou plasma humanos.

DESCRIÇÃO DE 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; estes símbolos são explicados com mais detalhes no British and European Standard BS EN 980: 2003.

	Usar até *Sinônimos:* Data de validade	IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
LOT	Código do lote *Sinônimos:* Número do lote Número da remessa	REF	Número de catálogo
	Limites de temperatura		Atenção. Ver Instruções de Uso
	Fabricante	EC REP	Representante Autorizado na Comunidade Européia
Σ	Contém o suficiente para <n> testes		Consulte as instruções de uso
	Não reutilize		

INTRODUÇÃO

O diagnóstico da hepatite viral devida à infeção pelo vírus da hepatite A (HAV) e pelo vírus da hepatite B (HBV) é possível graças à disponibilidade de testes sorológicos confiáveis e sensíveis para marcadores apropriados. A ausência clínica e diagnóstica de marcadores para HAV e HBV levou à identificação de outro grupo de agentes da hepatite viral, coletivamente designados vírus da hepatite não-A não-B (HNANB) (1,2). Foram reconhecidas duas formas epidemiologicamente distintas de HNANB transmitidas seja por via parenteral seja por via fecal ou oral (3,4,5). O vírus responsável pela maioria dos casos de HNANB com transmissão parenteral foi clonado (6). A clonagem deste agente, denominado vírus da hepatite C (HCV) levou ao desenvolvimento de testes de diagnóstico para a presença de anticorpos anti-HCV.

Uma segunda forma epidemiologicamente diferente de HNANB, denominada HNANB de transmissão entérica (HNANB-TE), foi encontrada em países em desenvolvimento. Os principais surtos de HNANB-TE ocorreram na Ásia, ex-União Soviética, América Central e África (7,8). A evolução da doença é geralmente aguda, com cura espontânea e sem desenvolvimento de seqüelas crônicas. Contudo, ocorre uma elevada incidência de mortalidade (10-20 %) em mulheres grávidas (7) e uma taxa de mortalidade de 1-2 % na população geral, o que é 10 vezes superior à do HAV. O agente etiológico da HNANB-TE foi clonado (9) e denominado vírus da hepatite E (HEB). A clonagem do HEV por pesquisadores levou à identificação de epítopos virais comuns ao tipo viral, úteis para o desenvolvimento de um teste de diagnóstico para anticorpos anti-HEV (10). O **HEV ELISA da MP Diagnostics** utiliza estes antígenos recombinantes do HEV, oriundos da região estrutural do genoma viral, para detectar a presença de anticorpos para o HEV.

PRINCÍPIOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

Os poços das tiras de poliestireno da microplaca são revestidos com três antígenos recombinantes do HEV que correspondem às regiões estruturais do vírus da hepatite E. As amostras de soro ou plasma humano, diluídas na solução-tampão de diluição, são incubadas nestes poços revestidos. Os anticorpos anti-HEV, caso presentes, se unirão aos antígenos HEV da fase sólida. Após lavagem completa dos poços para retirada de material não ligado, adiciona-se aos poços anti-IgG humana purificada por afinidade e marcada com peroxidase do rábano. Este anticorpo marcado se ligará a todos os complexos antígeno-anticorpo anteriormente formados e o excesso de anticorpos não ligados é removido por lavagem. Uma solução de substrato contendo 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (TMB) é então adicionada a cada poço. A presença de anticorpos específicos é indicada pelo desenvolvimento de coloração azul após a adição do substrato. A reação é interrompida pela adição de ácido cloridrico. A intensidade da cor é medida em espectrofotômetro a 450 nm e é proporcional à quantidade de anticorpos presentes na amostra.

COMPONENTES DO KIT

	Descrição dos Componentes	Quantidade Fornecida
MICROPLATE	**MICROPLACA HEV** Doze tiras de 8 poços por placa, lacradas em bolsas de alumínio com dessecante. Cada poço da microplaca contém proteínas HEV recombinantes adsorvidas. Conservar entre 2 °C e 8 °C.	1 placa (96 poços)
CONTROL —	**CONTROLE NÃO REATIVO** Soro humano normal inativado, não reativo para anti-HCV, anti-HEV, HBsAg e anti-HIV 1. Contém tiomersal e azida sódica como conservantes. Conservar entre 2 °C e 8 °C.	1 frasco (160 µl)
CONTROL +	**CONTROLE REATIVO** Soro humano inativado contendo título elevado de anticorpos IgG específicos para HEV. Contém tiomersal e azida sódica como conservantes. Conservar entre 2 °C e 8 °C.	1 frasco (120 µl)
DILUENT	**DILUENTE** Solução salina com Tris contendo soro caprino normal tratado por calor, soro albumina bovina e estabilizantes. Contém Bronidox™ como conservante. Conservar entre 2 °C e 8 °C.	1 frasco (100 ml)
WASH PLATE 20X	**CONCENTRADO (20X) PARA LAVAGEM DE PLACAS** Solução-tampão fosfato com Tween-20. Contém cloroacetamida como conservante. Conservar entre 2 °C e 8 °C.	1 frasco (120 ml)
CONJUGATE T	**CONJUGADO** Anti-IgG humana preparada em cabra e marcada com peroxidase de rábano. Contém tiomersal como conservantes. Conservar entre 2 °C e 8 °C.	1 frasco (70 µl)
SUBS TMB	**SUBSTRATO** Solução-tampão contendo 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine. Conservar em local escuro entre 2 °C e 8 °C.	1 frasco (12,5 ml)
SOLN STOP HCl 1N	**SOLUÇÃO DE INTERRUPÇÃO** Solução de ácido cloridrico 1N. Conservar em local escuro entre 2 °C e 8 °C.	1 frasco (30 ml)
	TAMPAS DAS PLACAS Tampas adesivas para uso durante a incubação das microplacas.	4 unidades
	MANUAL DE INSTRUÇÕES	1 cópia

Bronidox™ é marca registrada da Henkel Chemical Co.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Para uso exclusivo em diagnóstico *in vitro.*
2. Exclusivamente para uso profissional
3. Solicitamos consultar a documentação dos produtos para informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES DE SAÚDE E SEGURANÇA

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

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

O ***Controle Reativo*** e o ***Controle Não Reativo*** contêm tiomersal e azida sódica. A azida sódica pode reagir com o 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 deve ser feito por lavagem com volumes relativamente altos de água de forma a evitar a formação de azida metálica no sistema de canalização.

1. Evite a contaminação microbiana dos reagentes ao abrir e retirar alíquotas dos frascos originais.
2. Não pipete com a boca.
3. Manuseie as amostras, as microplacas, os controles reativos e os controles não reativos como agentes potencialmente infecciosos.
4. Use vestuário de laboratório e luvas descartáveis durante a realização do teste. Descarte as luvas em sacos plásticos para descarte de lixo biológico perigoso. A seguir, lave bem as mãos.
5. É altamente recomendável que este teste seja realizado em uma câmara adequada para material biológico perigoso.
6. Mantenha todo o material longe de alimentos e bebidas.
7. Em caso de acidente ou contato com os olhos, lave imediatamente com água em abundância e procure ajuda médica.
8. Consulte imediatamente um médico caso sejam ingeridos materiais contaminados ou haja contato destes com feridas abertas, ou outras soluções de continuidade da pele.
9. Nunca adicione água à Solução de Interrupção.

10. Limpe imediatamente derramamentos de materiais infecciosos com papel absorvente e esfregue imediatamente a área contaminada com solução de hipoclorito de sódio a 1 % antes de continuar o trabalho. O hipoclorito de sódio não deve ser usado em derramamentos que contêm ácidos, a menos que a área seja primeiro enxugada com papel absorvente. O material usado (incluindo as luvas descartáveis) deve ser descartado como material biológico potencialmente perigoso. Não esterilize em autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

11. Antes do descarte, esterilize em autoclave todo o material usado e contaminado a121°C, 15 psi durante 30 minutos. Alternativamente, descontamine o material em solução de hipoclorito de sódio a 5 % durante 30-60 minutos antes de descartar em sacos para lixo biológico perigoso.

12. Descontamine todos os produtos químicos e reagentes usados adicionando um volume suficiente de hipoclorito de sódio de forma a obter uma concentração final de pelo menos 1 %. Deixe agir durante 30 minutos para garantir uma descontaminação eficiente.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

1. Para garantir um desempenho perfeito do teste é necessário **SEGUIR À RISCA** os procedimentos descritos neste Manual de Instruções. A desobediência destes procedimentos podem acarretar resultados errôneos.

2. **NÃO MODIFIQUE NEM SUBSTITUA REAGENTES DE UM LOTE DO KIT POR OUTRO.** Os controles, o conjugado e as microplacas são combinados entre si para oferecer um desempenho perfeito. Use somente reagentes fornecidos com o kit.

3. Não use componentes do kit após a data de validade impressa na caixa do kit.

4. Evite a 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 incluindo pipetas ou ponteiras de pipetas descartáveis para retirar alíquotas dos frascos.

5. Para evitar a contaminação cruzada, use uma ponteira de pipeta nova para cada amostra aliquotada; não toque no topo ou no fundo das tiras, na borda dos poços ou no líquido dos poços com os dedos ou com as ponteiras das pipetas.

6. Recomenda-se que a vidraria a ser usada com os reagentes seja lavada com ácido clorídrico 2M e enxagüada abundantemente com água destilada ou deionizada antes do uso.

7. Para obter os melhores resultados, deixe que todos os reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente (25 °C ± 3 °C) antes do uso. Imediatamente após o uso, volte a armazenar entre 2 °C e 8 °C.

8. Use somente água de qualidade reagente, deionizada ou destilada, para diluir os reagentes.

9. Todos os reagentes devem ser bem misturados antes do uso.

10. A solução de conjugado de trabalho e a solução-tampão de lavagem diluída devem ser **preparadas imediatamente antes do uso.**

11. Não exponha os reagentes, nem realize testes em áreas contendo altos níveis de vapores de desinfetantes químicos (e.g., vapores de hipoclorito) durante as etapas de armazenamento ou de incubação. O contato inibe a reação colorida. Da mesma forma, não exponha os reagentes à luz intensa.

12. Não retire as microplacas das bolsas de alumínio até imediatamente antes do uso. As tiras abertas, não usadas, devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C em suas bolsas de armazenamento com o dessecante fornecido.

13. Em cada processamento de amostras de pacientes deve-se testar os controles do kit em paralelo.

14. Deve tomar-se o cuidado de não tocar ou respingar a borda do poço com conjugado. Não sopre na micropipeta. Recomenda-se usar pipetagem reversa sempre que possível.

15. A utilização de amostras muito hemolisadas, soros com coagulação incompleta, amostras de plasma contendo fibrina ou amostras com contaminação microbiana pode fornecer resultados errôneos.

16. **NÃO USE BANHO-MARIA PARA INCUBAR AS PLACAS.**

17. Não use incubadoras de CO_2.

18. Durante a incubação a 37 °C, deve-se evitar a evaporação. Cubra as placas com as tampas adesivas fornecidas.

19. Evite abrir e fechar repetidamente a porta da incubadora durante as etapas de incubação.

20. Não mantenha a solução de interrupção em recipiente raso nem retorne-a ao frasco após o uso.

21. Verifique se o fundo da placa está limpo e seco e se não há bolhas na superfície do líquido antes de iniciar a leitura da placa. Remova todas as bolhas da placa, e.g. por pancadas leves.

22. Se usar equipamento automático, confira se está aferido antes do uso.

23. É altamente recomendável fazer a manutenção de rotina do sistema de aspiração e lavagem para evitar contaminação por passagem de amostras muito reativas para amostras não reativas.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

1. Conserve o kit HEV ELISA MPD e seus componentes entre 2 °C e 8 °C quando não estiver sendo utilizado.
2. Todos os reagentes e microplacas do teste são estáveis até a data de validade fornecida no kit, se conservados entre 2 °C e 8 °C. Não congele os reagentes.
3. Quando o Concentrado (20x) para lavagem de placas é mantido entre 2 °C e 8 °C pode ocorrer formação de cristais. Estes deverão ser dissolvidos por aquecimento a 37 ˚C antes do uso.
4. Pode ocorrer formação de precipitado quando o Diluente é conservado entre 2 °C e 8 °C. Isto não afetará o desempenho do kit.
5. As tiras de microplacas abertas e não usadas, devem ser mantidas em bolsa fechada, com o dessecante fornecido, entre 2 °C e 8 °C.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

As amostras devem ser conservadas entre 2 °C a 8 °C se o teste for realizado dentro de 7 dias após a coleta, ou congelados a -20 °C se for previsto que o teste será realizado em mais de 7 dias após coleta. As amostras límpidas, não hemolisadas, são preferíveis. Amostras lipêmicas, ictéricas ou contaminadas (partículas) devem ser filtradas (0,45µm) ou centrifugadas antes do teste.

Os soros dos pacientes podem ser inativados,, mas esta não é uma exigência para o perfeito desempenho do teste.
Inative da seguinte forma:

1. Afrouxe as tampas dos recipientes de soro.
2. Aqueça o soro a 56 °C durante 30 minutos em banho-maria.
3. Deixe o soro esfriar antes de apertar novamente as tampas.
4. O soro pode ser mantido congelado até a análise.

Recomendamos que os soros dos pacientes não sejam submetidos a vários ciclos de congelamento e descongelamento.

MATERIAL ADICIONAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

1. Papel absorvente para forrar bancadas e toalhas de papel.
2. Tubos ou recipientes de polipropileno.
3. Pipetas graduadas: 5 ml, 10 ml.
4. Pipetador multicanal capaz de distribuir 50 µl, 100 µl, e 200 µl.
5. Pipetador capaz de distribuir 1-1000 µl.
6. Ponteiras de pipetas descartáveis
7. Recipientes (cubas) de reagentes com capacidade para 25 ml.
8. Água deionizada ou destilada, qualidade reagente.
9. Frascos: 500 ml, 1 litro.
10. Uma incubadora a 37 °C.
11. Um leitor de microplacas de comprimento de onda duplo (A_{450}-A_{620}) ou simples (A_{450})
12. Solução de hipoclorito de sódio (5 %) ou água sanitária para uso doméstico.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

1. CONJUGADO DE TRABALHO

a. O CONJUGADO DE TRABALHO deve ser **preparado imediatamente antes do uso.**
b. Para preparar o conjugado diluído, dilua o conjugado a 1:500 com o diluente fornecido no kit; por exemplo, 10 µl de conjugado para 5 ml de diluente.
c. Use exclusivamente recipientes ou tubos de polipropileno.

PROTOCOLO DE PREPARAÇÃO DE CONJUGADO

Número de testes	Vol. de conjugado (µl)	Vol. de diluente (ml)
24	10,0	5,0
48	16,0	8,0
72	20,0	10,0
96	24,0	12,0

2. SOLUÇÃO-TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDA

a. A SOLUÇÃO-TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDA deve ser **preparada imediatamente antes do uso.**
b. Dilua 1 volume de CONCENTRADO PARA LAVAGEM DE PLACAS com 19 volumes de água destilada (qualidade reagente). Misture bem. Para lavar uma placa são necessários aproximadamente 400 ml de solução-tampão para lavagem de placas.

PROCEDIMENTO DO TESTE

IMPORTANTE:- Os imunoensaios desta natureza são sensíveis à temperatura e dependentes do tempo. É necessário seguir à risca os procedimentos do teste para garantir um desempenho perfeito. Alterações em relação ao procedimento recomendado podem acarretar resultados errôneos.

1. Remova a microplaca da bolsa de alumínio.

2. Agite os frascos de amostras e de controle antes do uso.

3. Preencha um recipiente de reagente com **DILUENTE.** Usando um pipetador multicanal, adicione 200 µl de **DILUENTE** em todos os poços. — 200 µl

4. Os poços A1 e B1 são **'BRANCOS' - NÃO ADICIONE AMOSTRAS A ESTES POÇOS.** Acrescente 10 µl adicionais de diluente a estes poços. — 10 µl

5. Acrescente 10 µl de amostra ao poço designado, começando pelo poço H1. Isto resultará numa concentração final da amostra de 1: 21. **NÃO COLOQUE AMOSTRA NUM POÇO VAZIO.** — 10 µl

6. Após adicionar a amostra a ser analisada, acrescente 10 µl/poço de **CONTROLE NÃO REATIVO** a cada um dos poços C1, D1 & E1. — 10 µl

7. Adicione 10 µl de **CONTROLE REATIVO** por poço aos poços F1 e G1. Misture bem batendo levemente em todos os lados da microplaca, tendo o cuidado de manter a placa plana sobre a bancada. — 10 µl

8. Para evitar evaporação durante a incubação, cubra cuidadosamente a microplaca com uma tampa de placa fornecida.

9. **Incube durante 30 minutos a 37 °C (não utilize banho-maria a 37 °C para a incubação).** — 30 minutos

10. Antes de lavar a microplaca, prepare o **CONJUGADO DE TRABALHO** conforme descrito em **PREPARAÇÃO DE REAGENTES.**

11. Remova e descarte a tampa da placa; lave então a microplaca com **SOLUÇÃO-TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDA** usando um dos dois métodos recomendados. — 300 µl por poço x 6

    A. Lavadora Automática ou Semi-Automática de Microplacas - Lave seis (6) vezes com pelo menos 300 µl por poço e por lavagem.

    B. Lavadora Manual de Microplacas - Aspire completamente o conteúdo de todos os poços, levando suavemente a ponta do aspirador até o fundo de cada poço. **CUIDADO PARA NÃO ARRANHAR A SUPERFÍCIE INTERNA DO POÇO.** Preencha toda a placa com pelo menos 300 µl/poço, e depois aspire imediatamente na mesma ordem. Execute este ciclo seis (6) vezes.

12. Seque completamente invertendo a microplaca sobre papel absorvente e dando batidas firmes na placa. Toda a solução-tampão de lavagem residual da placa deve ser totalmente eliminada. Se houver resíduos de solução-tampão de lavagem na placa, poderá ocorrer inibição de desenvolvimento de cor durante a incubação do substrato.

13. Preencha um recipiente de reagente com **CONJUGADO DE TRABALHO.** Usando um pipetador multicanal, adicione 100 µl de **CONJUGADO DE TRABALHO** a cada poço. Coloque outra tampa de placa. — 100 µl

14. **Incube a microplaca durante 30 minutos a 37 °C (não utilize banho-maria a 37 °C para a incubação).** — 30 minutos

15. Remova e descarte a tampa de placa. Repita o procedimento de lavagem como nas etapas 11 e 12. — 300 µl por poço x 6

16. Preencha um recipiente de reagente com **SOLUÇÃO DE SUBSTRATO.** Usando um pipetador multicanal, adicione 100 µl de **SOLUÇÃO DE SUBSTRATO** a cada poço. Coloque uma tampa de placa. — 100 µl

17. Incube durante 15 minutos em local escuro e à temperatura ambiente (25 ± 3 °C). — 15 minutos

18. Remova e descarte a tampa da placa.

19. Usando um pipetador multicanal, adicione 100 µl de **SOLUÇÃO DE INTERRUPÇÃO** a cada poço. Misture suavemente batendo na placa. — 100 µl

20. Determine a absorbância de cada poço a 450 nm. Caso seja usado um instrumento de filtro duplo, o comprimento de onda de referência deve ser de 620 nm.

NOTA: A absorbância deve ser lida no prazo de uma 10 minutos após a adição da SOLUÇÃO DE INTERRUPÇÃO

CONTROLE DE QUALIDADE

1. Em todas as placas de todos os processamentos de amostras, deve-se testar o BRANCO e o CONTROLE REATIVO em duplicata e o CONTROLE NÃO REATIVO em triplicata.

2. Os valores de absorbância do branco devem ser ≤ 0,100.

3. Os valores de absorbância do Controle Não Reativo devem ser ≤ 0,100 depois de subtraído o Branco.

4. Pelo menos 2 dos 3 valores de absorbância do Controle Não Reativo devem ser ≤ 0,100 depois de subtraído o Branco.

5. Cada um dos 2 valores de absorbância do Controle Reativo deve ser ≥ 0,700 depois de subtraído o Branco. Caso 1 ou mais valores de Controle Reativo apresente desvio > 30% da média dos seus respectivos controles, o processamento é considerado inválido e deverá ser repetido.

6. Para que o teste seja válido, a diferença entre as absorbâncias médias do Controle Reativo e do Controle Não Reativo ($RC\bar{x}$ - $NRC\bar{x}$) deve ser igual ou maior que 0,600. Caso contrário, a técnica pode ser colocada sob suspeita e o teste deverá ser repetido. Caso a $RC\bar{x}$ - $NRC\bar{x}$ seja sempre baixa, pode ter ocorrido deterioração dos reagentes.

RESULTADOS

Cada microplaca deve ser considerada em separado para o cálculo e a interpretação dos resultados do teste, independentemente do número de placas processadas.

OS VALORES MÉDIOS DE ABSORBÂNCIA DO BRANCO DEVEM SER SUBTRAÍDOS DOS VALORES DE ABSORBÂNCIA DOS CONTROLES E DAS AMOSTRAS ANTES DA INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

A presença ou ausência de anticorpos IgG específicos para HEV é determinada comparando a absorbância das amostras com o VALOR DE CORTE (CUT OFF) da placa.

O VALOR DE CORTE (CUT OFF) para o HEV ELISA MPD é calculado como sendo 0,500 + a absorbância média do Controle Não Reativo.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

1. Cálculo da absorbância média do Controle Não Reativo ($NRC\bar{x}$)

Exemplo:	Poço N°.	Absorbância
	C1	0,048
	D1	0,046
	E1	0,047
	Total	0,141
	Média	0,141/3 = 0,047 ($NRC\bar{x}$)

a. Os valores do Controle Não Reativo devem ser ≤ 0,100. Caso algum valor do Controle Não Reativo não satisfaça qualquer um dos critérios anteriores, deve ser excluído como anormal. A média do Controle Não Reativo ($RC\bar{x}$) deve ser então recalculada usando-se os valores individuais restantes de Controle Não Reativo. Todos os restantes valores de Controle Não Reativo devem satisfazer os critérios anteriores ou o teste será considerado inválido e deverá ser repetido.

2. Cálculo da absorbância média do Controle Reativo ($RC\bar{x}$)

Exemplo:	Poço N°.	Absorbância
	F1	1,048
	G1	1,056
	Total	2,104
	Média	2,104/2 = 1,052 ($RC\bar{x}$)

a. O Controle Reativo deve ser ≥ 0,700. Caso um dos valores de Controle Reativo não satisfizer ambos os critérios anteriores, o teste será considerado inválido e deverá ser repetido.

3. Cálculo da diferença entre $RC\bar{x}$ e $NRC\bar{x}$.

Exemplo:		
	$NRC\bar{x}$	= 0,047
	$RC\bar{x}$	= 1,052
	$RC\bar{x}$ -$NRC\bar{x}$	= 1,052 - 0,047
		= 1,005

Para que o teste seja válido, o valor de $RC\bar{x}$ -$NRC\bar{x}$ deve ser ≥ 0,600. Caso contrário, deve-se suspeitar que a técnica tenha sido incorreta ou que houve deterioração de reagentes e o teste deverá ser repetido.

4. Cálculo do VALOR DE CORTE (CUT OFF).

	VALOR DE CORTE	= 0,500 + $NRC\bar{x}$
Exemplo:	$NRC\bar{x}$	= 0,047
	VALOR DE CORTE	= 0,500 + 0,047
	(CUT OFF)	= 0,547

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. Amostras com valores de absorbância **inferiores** ao VALOR DE CORTE (CUT OFF)são consideradas **Não Reativas** pelo HEV ELISA MPD.
2. Amostras com valores de absorbância **iguais ou superiores ao** valor LIMITE são consideradas **inicialmente reativas** pelos critérios do HEV ELISA MPD e devem ser novamente analisadas em duplicata antes da interpretação.
3. Amostras reativas na segunda análise devem ser interpretadas como **repetidamente reativas** para anticorpos para HEV pelos critérios do HEV ELISA MPD.
4. Amostras inicialmente reativas e que comportam-se como **Não Reativas** quando analisadas pela segunda vez são consideradas **negativas** pelos critérios do HEV ELISA MPD.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

Ao testar amostras de doadores de sangue de áreas não endêmicas como Alemanha e Austrália, a soropositividade tende a ser bastante baixa, aproximadamente 1-2 %. Contudo, em países como a China e Hong Kong, onde ocorrem surtos epidêmicos de HEV durante a estação das chuvas, a soropositividade é elevada, sendo de aproximadamente 15 %. A soropositividade no HEV ELISA MPD indica exposição anterior. A soropositividade entre indivíduos sadios em populações de baixo risco tende a ser baixa, aproximadamente <1 %, enquanto a soropositividade entre indivíduos saudáveis dentro de áreas endêmicas tende a ser um pouco mais elevada. Uma proporção considerável das infecções por HEV é assintomática, e esta é a razão para a soropositividade na ausência da doença.

LIMITAÇÃO DO MÉTODO

Resultados repetidamente positivos do HEV ELISA MPD constituem evidência presuntiva da presença de anticorpos para HEV na amostra. Um resultado **NÃO-REATIVO** do HEV ELISA MPD indica provável ausência de anticorpos detectáveis para HEV na amostra. Um resultado **NEGATIVO** não exclui a possibilidade de exposição a ou de infecção pelo HEV.

Pode-se suspeitar de resultados falsos reativos com um kit para testes desta natureza. A proporção de falsos reativos dependerá da sensibilidade e da especificidade do kit de teste. Para a maioria dos ensaios de triagem ou rastreamento, quanto mais elevada a prevalência de anticorpos na população, menor será a proporção de amostras falsas reativas.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE EXPLÍCITA E LIMITADA

O fabricante não oferece nenhuma outra garantia expressa senão a de que o kit de teste funcionará como um ensaio de 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 responsabilidade, expressa ou implícita, incluindo as garantias expressas ou implícitas em relação à capacidade de comercialização, de utilização ou utilidade implícita para quaisquer outros fins. A responsabilidade do fabricante limita-se à substituição do produto, ou ao reembolso do preço de compra do produto. O fabricante não será considerado responsável pelo comprador ou por terceiros, por quaisquer danos, prejuízos ou perdas de caráter econômico causados pelo uso ou aplicação do produto. O fabricante não apresenta nenhuma declaração, expressa ou implícita, que este produto não infringirá os direitos de propriedade intelectual de terceiros.

PROBLEMAS TÉCNICOS E QUEIXAS

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

1. Anote o número de lote do kit e a data de validade.
2. Conserve o kit e os resultados obtidos.
3. Contate o escritório MP Biomedicals mais próximo ou o seu distribuidor local.

REFERÊNCIAS

1. Feinstone, S., A.Z. Kapikian, R.H. Purcell, H.J. Alter, and P.V. Holland. 1975. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. New England Journal of Medicine. 292: 767.

2. Prince, A.M., G.F. Grady, and C.Hazzi. 1974. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B virus. Lancet 2: 241.

3. Alter, H.J., R.H. Purcell, P.V. Holland, and H. Popper. 1978. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. Lancet 1: 459.

4. Balayan, M.S., A.G. Andzhapandze, S.S. Savinskaya, E.S. Ketiladze, D.M. Braginski, A.P. Savinow, V.F. Poleschuk. 1983. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal oral route. Intervirology 20: 23.

5. Tabor, E., R.J. Gerety, J.A. Drucker, et al. 1978. Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. Lancet 1: 463.

6. Choo, Q.L., G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley and M. Houghton. 1990. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B hepatitis genome. Science 244: 359.

7. Bradley, D.W. 1990. Enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. pp 442-461. In A.J. Zuckerman (ed) British Medical Bulletin 46(2). Churchill Livingstone, New York.

8. Purcell, R.H. and J.R. Ticehurst. 1988. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis: Epidemiology and clinical characteristis. pp. 131-137. In A.J. Zuckerman (ed). Viral Hepatitis and Liver Disease. Alan R. Liss Inc., New York.

9. Reyes, G.R., M.A. Purdy, J.P. Kim, K.C. Luk, L.M. Young, K.E. Fry, and D. Bradley. 1990. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. Science 247: 1335.

10. Yarbough, P.O., A.W. Tam, K.E. Fry, K. Krawczynski, K.A. McCaustland, D.W. Bradley and G.R. Reyes. 1991. Hepatitis E virus: Identification of type-common epitopes. Journal of Virology 65: 5790.

MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.
85 Science Park Drive
#04-01, The Cavendish
Singapore Science Park
Cingapura 118259
Tel N°. : + 65 6775 0008
Fax N°. : + 65 6775 4536
E-mail : enquiry_ap@mpbio.com

EC REP

Medical Technology Promedt
Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert
Alemanha
Tel N°. : + 49 68 94 58 1020
Fax N°. : + 49 68 94 58 1021
E-mail : info@mt-procons.com

Escritórios Regionais:

MP Biomedicals Suisse S.A.
Halle de Fret/Aeroport
P.O. Box 1015
1211 Genebra 5
Suíça
Tel N°. : (4122) 788-1908
Fax N°. : (4122) 788-1986
E-mail: mpbiosuisse@mpbio.com

* Patente EUA	5,741,490; 5,770,689; 5,885,768; 5,686,239
* Patente Cingapura	39445, 49225
* Austrália	644878
* Taiwan	63167
* Coréia do Sul	178399, 180530

* Outras patentes pendentes

* O nome e o logotipo Genelabs são licenciados da Genelabs Technologies, Inc.