



# HCV

## ELISA 3ª generación

Ensaio imunoenzimático (ELISA) para a detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A hepatite C é a forma mais comum de hepatite post-transfusional. Seu agente etiológico é o vírus C (HCV) e sua transmissão se produz principalmente pela via parenteral. Outras vias de transmissão como a materno-fetal e a sexual são pouco eficientes.

O 80% das pessoas infectadas pelo HCV desenvolvem infecção crônica, sendo que um 30% da doença evolui até a cirrose ou câncer de fígado. A maioria das pessoas com hepatite C não apresentam sintomas, portanto, a doença rara vez é diagnosticada antes do aparecimento das complicações clínicas.

O genoma do HCV é constituído por uma cadeia simples positiva de ARN que codifica uma poliproteína capaz de originar pelo menos 9 proteínas funcionais. As primeiras provas para hepatite C foram de primeira geração, que utilizavam somente a proteína NS4, sendo portanto pouco sensíveis e específicas. Atualmente existem ensaios de terceira geração que acrescentam proteínas do core (estrutural) e das regiões não estruturais (NS3, NS4 e NS5).

Os ensaios sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HCV detectam anticorpos anti-HCV e são utilizados no diagnóstico da infecção e no controle de doadores em bancos de sangue.

### FUNDAMENTOS DO MÉTODO

As cubetas de policubeta encontram-se recobertas com antígenos recombinantes provenientes da região estrutural (core) e não estrutural (NS3, NS4 e NS5) do vírus da hepatite C. A amostra diluída é incubada nas cubetas. Se a amostra contém os anticorpos contra o vírus, estes ligam-se aos antígenos da cubeta. O material não unido é eliminado por lavagem. No estágio seguinte acrescenta-se o conjugado que contém anticorpo monoclonal anti-IgG humana conjugado com peroxidase, o qual será unido aos complexos antígeno-anticorpo formados previamente. O conjugado não unido é eliminado por lavagem. A seguir, acrescenta-se uma solução contendo tetrametilbenzidina e peróxido de hidrogênio. As amostras reativas desenvolvem uma cor azul clara que muda ao amarelo quando a reação é detida com ácido sulfúrico.

### REAGENTES FORNECIDOS

**Policubeta sensibilizada:** policubeta de tiras recortáveis com 96 cubetas recobertas com antígenos recombinantes do HCV.

**Diluyente de Amostra:** tampão salino com tensoativo, de cor violeta.

**Conjugado Concentrado:** anticorpo monoclonal anti-IgG

humana conjugado com peroxidase (10x), de cor vermelho.

**Diluyente de Conjugado:** tampão salino com proteínas.

**Revelador:** solução de tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio.

**Stopper:** ácido sulfúrico 2 N.

**Tampão de Lavagem Concentrado:** tampão salino com tensoativo (25x), de cor verde.

**Controle Positivo:** soro humano inativado contendo anticorpos contra o HCV. Cor alaranjado.

**Controle Negativo:** soro humano não reativo, inativado. Cor amarelo.

### REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Água destilada ou desionizada.

### MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Micropipetas para medir os volumes indicados
- Ponteiras descartáveis
- Material volumétrico para preparar as diluições indicadas
- Estufa a 37°C
- Papel absorvente
- Luvas descartáveis
- Relógio alarme ou cronômetro
- Hipoclorito de sódio
- Sistema de lavagem de policubetas (manual ou automático)
- Espectrofotômetro para leitura de policubetas

### PRECAUÇÕES

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se fossem capazes de transmitir a infecção.
- Os soros controles foram examinados para antígeno de superfície de Hepatite B (HBsAg) e anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), encontrando-se não reativos. Porém, recomenda-se manipulá-los com as precauções requeridas para amostras potencialmente infecciosas.
- Todos os materiais utilizados no ensaio devem ser tratados a fim de assegurar a inativação de agentes patogênicos. O método recomendado para este procedimento é autoclavar durante 1 hora a 121°C. Os líquidos descartados podem ser desinfetados com hipoclorito de sódio, (concentração final de 5%) durante pelo menos 60 minutos.
- Evitar que os vapores de hipoclorito provenientes dos recipientes de descarte biológicos ou outras formas entrem em contato com a policubeta, pois o hipoclorito afeta a reação.
- Evitar o derrame de líquidos e a formação de aerossóis.
- Não utilizar os reagentes após da sua data de vencimento.
- Não intercambiar reagentes de lotes diferentes, nem mo-

dificar os procedimentos do ensaio.

- Não utilizar reagentes de outra origem.
- Evitar o contato das paredes das cubetas com os ponteiras.
- Não utilizar elementos metálicos que possam entrar em contato com os reagentes.
- As policubetas devem ser incubadas em estufa. Evitar abrir a estufa durante a incubação. Não utilizar banho-maria.
- Evitar o contato do ácido sulfúrico (Stopper) com a pele, mucosas e os olhos. R36/38: irrita os olhos e a pele. R34: provoca queimaduras. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com abundante água e acudir ao médico. S28: caso de contato com a pele, lavar imediatamente com abundante água. S37/39: utilizar luvas adequadas e proteção apropriadas para os olhos/cara.
- Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos durante a manipulação das amostras e reagentes do ensaio.
- A TMB é sensível à luz. Manter o frasco fechado quando não for utilizado.
- Todos os reagentes e as amostras devem-se descartar conforme à regulação local vigente.

### PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

É importante que todo o material utilizado para a preparação dos reagentes, esteja limpo e livre de detergente e hipoclorito.

**Tampão de Lavagem:** a baixa temperatura os componentes do reagente podem precipitar. Neste caso, esquentar a solução a 37°C até a sua dissolução completa. Para a obtenção do tampão de lavagem pronto para uso (1x), diluir uma parte do Tampão de Lavagem Concentrado (25x) com 24 partes de água destilada ou desionizada. Ex.: 20 ml com 480 ml para uma policubeta.

**Conjugado:** para a obtenção do conjugado pronto para uso (1x), diluir uma parte de Conjugado Concentrado (10x) com 9 partes de Diluente de Conjugado (ex.: vide a tabela seguinte com volume necessário de Conjugado Concentrado e Diluente de Conjugado):

Nº de cubetas	Conjugado Concentrado	Diluente de Conjugado
8	100 ul	0,9 ml
16	200 ul	1,8 ml
24	300 ul	2,7 ml
32	400 ul	3,6 ml
96	1200 ul	10,8 ml

**Diluente de Amostra, Diluente de Conjugado, Revelador, Stopper, Controle Positivo e Controle Negativo:** prontos para uso.

### ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

**Tampão de Lavagem Concentrado e Stopper:** conservar

a temperatura entre 2 e 25°C.

**Tampão de Lavagem (1x):** conservar em recipiente fechado. É estável 3 meses a temperatura entre 2 e 25°C.

**Conjugado (1x):** estável 6 horas a temperatura entre 2 e 25°C.

**Policubeta sensibilizada:** não abrir a embalagem até o momento de uso, e esperar atingir a temperatura ambiente, pois ao contrário se favorecerá a condensação de umidade na superfície das cubetas. As tiras de cubetas não utilizadas devem ser conservadas dentro do envelope com o dessecante, perfeitamente fechado e mantida entre 2-10°C. As tiras conservadas nestas condições podem-se utilizar nos 4 meses posteriores desde que não se ultrapasse a data de vencimento do kit.

### AMOSTRA

Soro ou plasma

**a) Coleta:** obter soro ou plasma da maneira habitual.

**b) Aditivos:** não são necessários para soro. Para as amostras de plasmas pode-se utilizar heparina, citrato ou EDTA como anticoagulantes.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não observam-se interferências com amostras que contêm bilirrubina até 25 mg/dl, ácido ascórbico até 50 mg/dl, triglicérides até 1500 mg/dl, nem hemoglobina até 300 mg/dl. As amostras que contêm partículas, devem-se centrifugar.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a amostra pode-se conservar sob refrigeração (2-10°C) até 3 dias. Se necessita-se conservar por mais tempo, deverá se congelar a -20°C ou menos. Não é recomendável realizar vários ciclos de congelamento e descongelamento, desde que pode produzir resultados errôneos. Caso de utilizar amostras congeladas, devem-se homogeneizar e centrifugar antes de seu uso.

A inativação pelo calor pode alterar o resultado.

Não utilizar amostras com contaminação microbiana.

Caso as amostras devam-se transportar, embalar conforme as especificações legais referentes ao transporte de material infeccioso.

### PROCEDIMENTO DO ENSAIO

**1-** Levar os reagentes e as amostras a temperatura ambiente antes de iniciar a prova.

**2-** Preparar o volume necessário de Tampão de Lavagem (1x).

**3-** Colocar no suporte de tiras, o número de cubetas requeridas para a quantidade de determinações a realizar, incluindo 2 cubetas para o Controle Positivo (CP) e 3 para o Controle Negativo (CN).

**4-** Colocar o Diluente de Amostra, após a amostra (A) e os controles, segundo o seguinte esquema:

	A	CP	CN
<b>Diluente de Amostra</b>	100 ul	100 ul	100 ul
<b>Controle Positivo</b>	-	20 ul	-
<b>Controle Negativo</b>	-	-	20 ul
<b>Amostra</b>	20 ul	-	-

Homogeneizar misturando 2 ou 3 vezes por carga e descarga da micropipeta ou agitando a policubeta durante 10 segundos. Ao adicionar a amostra, o Diluente de Amostra mudará de cor (vide a tabela seguinte). Pode-se verificar a correta dispensação dos controles ou a amostra nas cubetas, em forma visual ou mediante leitura espectrofotométrica (a 610/650 nm).

Tipo de amostra	Sem amostra	Soro ou plasma	Controle Positivo	Controle Negativo
Cor	Violeta	Azul claro	Alaranjado escuro	Verde

Advertência: as amostras hemolisadas ou com turbidez, podem mudar a cor final sem alterar os resultados. A mudança da cor pode depender do volume de amostra acrescentado e da sua composição. Uma viragem da cor de menor intensidade pode-se dever a uma menor quantidade amostra, a que a mesma não esteja nas condições apropriadas, ou que tenha um nível baixo de proteínas.

**5-** Para evitar a evaporação, cobrir a policubeta com a fita auto-adesiva fornecida, e incubar  $60 \pm 2$  minutos a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Paralelamente, preparar o conjugado diluído (vide a tabela em PREPARAÇÃO DOS REAGENTES).

**6-** Após da incubação, eliminar completamente o líquido de cada cubeta. Lavar 5 vezes seguindo as instruções de lavagem (vide PROCEDIMENTO DE LAVAGEM).

**7-** Acrescentar o Conjugado:

Conjugado diluído	100 ul	100 ul	100 ul
-------------------	--------	--------	--------

Para evitar a evaporação, cobrir a policubeta com fita auto-adesiva.

**8-** Incubar  $30 \pm 1$  minuto a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

**9-** Lavar 5 vezes segundo as instruções de lavagem.

**10-** Colocar o Revelador, transvasando a um recipiente limpo apenas o volume necessário de Revelador. Não voltar o Revelador remanescente ao frasco original. Evitar o contato do reagente com agentes oxidantes.

Revelador	100 ul	100 ul	100 ul
-----------	--------	--------	--------

**11-** Incubar  $30 \pm 2$  minutos a temperatura ambiente ( $18-25^\circ\text{C}$ ), ao abrigo da luz.

**12-** Acrescentar o Stopper:

Stopper	100 ul	100 ul	100 ul
---------	--------	--------	--------

**13-** Ler a absorbância em espectrofotômetro em forma monocromática a 450 nm ou bicromática a 450/620-650 nm.

Nota: recomenda-se realizar sempre a leitura em forma bicromática. Caso a leitura for monocromática, realizar um branco de reagentes que deverá ser rsubtraído das leituras das amostras.

### ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

A cor da reação é estável durante 10 minutos, portanto os resultados devem-se observar dentro desse lapso.

### PROCEDIMENTO DE LAVAGEM

Eliminar o líquido das cubetas por aspiração ou inversão. As cubetas lavam-se com 350 ul de Tampão de Lavagem. Assegurar-se que a altura alcançada ao encher as cubetas não cause desbordos. A solução de lavagem deve permanecer em contato com as cubetas entre 30 e 60 segundos. Garanta-se que após da última lavagem não fique líquido residual. Realize-se um dobre aspirado para eliminar o excesso de tampão. Caso de persistir após este procedimento, inverter a policubeta acima do papel absorvente e batê-la várias vezes a fim evitar resultados errôneos.

**Nota:** o procedimento de lavagem é crítico para o resultado do ensaio. Se ficar tampão de lavagem nas cubetas ou se as mesmas não estão completamente cheias, obterão-se resultados errôneos. Não deve-se deixar que as cubetas se sequem durante o procedimento. As lavadoras automáticas devem-se enxaguar com água destilada ou desionizada ao final do dia para evitar obstruções pelas sais presentes no tampão de lavagem.

### RESUMO DO PROCEDIMENTO

ESTÁGIO	PROCEDIMENTO	PRECAUÇÕES/OBSERVAÇÕES
Diluição	Preparação da solução de lavagem (1x)	Dissolução dos cristais de sais
Diluente de Amostra	Acrescentar 100 ul de Diluente de Amostra em cada cubeta	
Amostras	Acrescentar 20 ul de A, CP e CN	Observa-se mudança de cor quando acrescenta-se a amostra e os controles
Incubação	Cobrir as cubetas e incubar durante $60 \pm 2$ minutos a $37 \pm 1^\circ\text{C}$	Em estufa
Lavagem	Lavar cada cubeta com 350 ul de tampão de lavagem (5 vezes)	Tempo de contato da solução de lavagem entre 30 e 60 segundos. Eliminar completamente o líquido residual das cubetas
Diluição	Preparação do Conjugado (1x)	Durante a incubação com a amostra, diluir o Conjugado Concentrado (10x)

Conjugado	Acrescentar 100 ul de Conjugado (1x)	
Incubação	Cobrir as cubetas e incubar durante 30 ± 1 minutos a 37 ± 1°C	Em estufa
Lavagem	Idem à lavagem anterior	
Revelado	Acrescentar 100 ul de Revelador	Transvasar o volume necessário de Revelador a usar. Não pipetar do frasco original. Descartar o reagente remanescente. Evitar o contato com agentes oxidantes. Não expor à luz.
Incubação	Durante 30 ± 2 minutos entre 18-25°C	Manter a microplaca ao abrigo da luz
Detenção	Acrescentar 100 ul de Stopper	
Leitura	Ler em espectrofotômetro	Ler dentro dos 10 minutos

### CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO DA CORRIDA

O ensaio é considerado válida se cumpridas simultaneamente as seguintes condições:

1- A média das absorbâncias dos Controles Negativos deve ser menor ou igual a 0,100.

Exemplo:

Leitura 1 = 0,042; Leitura 2 = 0,058; Leitura 3 = 0,050

Média = (0,042 + 0,058 + 0,050) / 3 = 0,050

2- Eliminar qualquer Controle Negativo com absorbância maior a 0,100

3- Se eliminar algum Controle Negativo, voltar a calcular a média dos Controles Negativos. Um ensaio é válido se aceitam-se pelo menos dois dos Controles Negativos.

4- A média das absorbâncias dos Controles Positivos deve ser maior a 1,000.

Exemplo:

Leitura 1 = 1,407; Leitura 2 = 1,331

Média = (1,407 + 1,331) / 2 = 1,369

5- A diferença entre a média das absorbâncias dos Controles Positivos e Controles Negativos deve ser maior ou igual a 0,900.

Se uma destas condições não se cumprirem, repetir o ensaio. Lembrar que as leituras obtidas dependerão da sensibilidade do analisador utilizado.

### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A presença ou ausência de anticorpos anti-HCV é determinada relacionando a absorbância da amostra com o valor do Cut-off.

Cut-off = CN + 0,150

CN: média das absorbâncias do Controle Negativo

Exemplo: 0,045 + 0,150 = 0,195

**Amostras Não Reativas:** consideram-se aquelas com absorbâncias menores ao valor Cut-off.

**Amostras Reativas:** consideram-se aquelas com absorbâncias maiores ou iguais ao valor Cut-off.

Toda amostra inicialmente reativa, deve-se repetir em duplicata. Se uma ou ambas duplicatas foram reativas, a amostra

deverá se considerar reativa.

Uma amostra inicialmente reativa pode ser não reativa em ambas duplicatas. Isto pode-se dever a:

- Contaminação cruzada de uma cubeta não reativa por uma amostra reativa.
- Contaminação da amostra durante a dispensação, imprecisão no dispensado da amostra, Conjugado ou Revelador na cubeta.
- Reutilização de ponteiras.
- Contaminação da cubeta com hipoclorito ou outros agentes oxidantes.

Em certos casos uma amostra não reativa pode apresentar uma reação falsamente reativa no ensaio inicial, assim como na suas repetições. Algumas das causas deste fenômeno podem ser:

- Contaminação da amostra durante a sua extração, processamento ou conservação.
- Presença de substâncias interferentes, como auto-anticorpos, fármacos, etc.
- Dispensado ou aspirado ineficiente da solução de lavagem (sistema obstruído).

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

Não utilizar pool de soros ou plasmas.

Não utilizar outros fluidos corporais como a saliva, líquido cefalorraquidiano ou urina.

A presença de anticorpos contra o vírus C indica infecção recente ou passada pelo vírus, mas não permite diferenciar entre uma infecção aguda, crônica ou resolvida. Devido ao tempo prolongado que transcorre entre a infecção e a soroconversão, os níveis de anti-HCV podem ser indetectáveis nas fases prévias à infecção. Assim, um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção por HCV.

As amostras repetidamente reativas deverão se analisar por técnicas suplementares ou confirmatórias, como imunoblot ou PCR respectivamente.

### CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE PERFORMANCE

#### a) Sensibilidade

**Sensibilidade em Painéis de Performance:** em um estudo realizado com diferentes painéis comerciais internacionais, obtiveram-se os seguintes resultados:

PHV 103 (Anti-HCV Low Titer Performance Panel, BBI, USA): detectaram-se 14 das 14 amostras reativas.  
 PHV 105M (Anti-HCV Low Titer Performance Panel, BBI, USA): detectaram-se 12 das 12 amostras reativas.  
 PHV 205 (Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel, BBI, USA): detectaram-se 23 das 23 amostras reativas.  
 PHV 206 (Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel, BBI, USA): detectaram-se 23 das 23 amostras reativas.  
 PHV 207 (Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel, BBI, USA): detectaram-se 21 das 23 amostras reativas.  
 PP 0404 (Painel de Performance para HCV, Q Panel, Brasil): detectaram-se 16 das 16 amostras reativas.  
 PP 0405 (Painel de Performance para HCV, Q Panel, Brasil): detectaram-se 16 das 16 amostras reativas.  
 PP 0406 (Painel de Performance para HCV, Q Panel, Brasil): detectaram-se 16 das 16 amostras reativas.

**Sensibilidade em Painéis de Soroconversão:** analisaram-se os seguintes painéis comerciais internacionais de soroconversão de BBI (USA):

Painel	Número de amostras	HCV ELISA 3ª geração	RIBA	Padrão de soroconversão
PHV 901	11	9 (97)	9 (97)	NS3-NS4
PHV 906	7	5 (7)	7 (0)	NS3-NS4
PHV 910	5	3 (8)	3 (8)	core
PHV 912	3	1 (7)	1 (7)	core
PHV 920	10	7 (13)	7 (13)	core-NS3

Na tabela indica-se o número de amostras reativas com cada método. O número entre parênteses indica o número de dias entre a coleta de sangue inicial e a primeira amostra reativa.

**Sensibilidade a diferentes genótipos:** analisou-se o painel Worldwide HCV Performance Panel WWHV 302 BBI, USA. Detectaram-se 14 das 14 amostras reativas. Também se detectaram 14 amostras do genótipo 1, 5 do genótipo 2 e 4 do genótipo 4.

**Sensibilidade clínica em Painéis de amostras reativas anti-HCV:** em um estudo realizado em 190 amostras com infecção pelo HCV, confirmadas por diferentes métodos, encontraram-se reativas com o kit HCV ELISA 3ª geração, a totalidade das amostras.

Em um estudo com 356 amostras reativas provenientes de diferentes instituições hospitalares, detectaram-se 355 amostras.

#### b) Especificidade

Em um estudo realizado com 1364 amostras de soros e plasmas de banco de sangue, a especificidade obtida foi de 99,41%.

Em um estudo de 1660 amostras de plasmas de dois centros de saúde (com alta prevalência de HCV), encontrou-se uma especificidade de 99,58%.

Estudou-se a possível presença de reatividade cruzada analisando 556 amostras provenientes de indivíduos com diferentes condições clínicas que poderiam ser causa de reações inespecíficas para a prova HCV ELISA 3ª geração. Este grupo incluía:

- amostras com anticorpos contra HAV, HBV, EBV, CMV, HASV, VZV, HIV, HTLV e outros vírus;
  - amostras com diferentes auto-anticorpos (AGA, AMA, ATA, FAN, fator reumatóide e outros);
  - amostras com anticorpos contra *Treponema pallidum*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Toxoplasma gondii*, *Toxocara canis*, *Trypanosoma cruzi* e outros microrganismos;
  - amostras de pacientes hemodialisados e mulheres grávidas.
- A especificidade obtida para esta população foi de 98,38%.

#### c) Precisão

Estudou-se a precisão da prova segundo o protocolo EP5-A recomendado pelo CLSI (ex NCCLS). Os ensaios foram realizados com amostras de diferentes níveis de reatividade no HCV ELISA 3ª geração e com os controles. Realizaram-se 2 testes diários analisando cada amostra em duplicata durante 20 dias.

	Média de absorbância	Intra-ensaio		Total	
		D.P.	C.V.	D.P.	C.V.
Amostra 1	0,330	0,026	7,92%	0,038	11,42%
Amostra 2	0,405	0,031	7,73%	0,050	12,37%
Amostra 3	0,579	0,044	7,53%	0,075	13,02%
Amostra 4	0,976	0,076	7,76%	0,102	10,42%
Controle (+)	1,297	0,082	6,30%	0,164	12,64%
Controle (-)	0,047	0,004	8,38%	0,007	14,86%

n = 80

#### APRESENTAÇÃO

Kit para 96 determinações (Cód. 1483258).

Kit para 192 determinações (Cód. 1483259).

#### REFERÊNCIA

- Butler, JE (2000) *Methods* 22, 4-23.
- Colin, C. et al (2001) *Journal of Viral Hepatitis* 8, 87-95.
- Choo, Q. et al. (1989) *Science* 244, 359-362.
- Engvall, E. (1980) *Methods in Enzymology* 70, 419-439.
- Erensoy, S. (2001) *Journal of Clinical Virology* 21, 271-281.
- Forns, X. (2006) *Journal of Hepatology* 44, S35-S39.
- Gómez-Cordero, I., Alvarez-García, M. (2003) *Revista Biomédica* 14, 253-268.
- Khudyakov, Y. et al. (1995) *Virology* 206, 666-672.
- Lok, A., Gunaratnam, N. (1997) *Hepatology* 26 (3), 48S-55S.
- Penin, F. et al. (2004) *Hepatology* 39 (1), 5-19.
- Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A 19/2 (1999) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- Specifications for Immunological Testing for Infectious Diseases. Approved Guideline I/LA18-A2 (1994) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- Clinical Evaluation of Immunoassays. Approved Guideline I/LA21-A (2002) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- Interference testing in Clinical Chemistry. Approved Guideline EP7-A (2002) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

## EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS

**Policubeta** | **Sensib.**

Policubeta sensibilizada

**Diluyente** | **Muestra**

Diluyente de Amostra

**Conjugado** | **Conc.**

Conjugado Concentrado

**Conjugado** | **Diluy.**

Diluyente de Conjugado

**Revelador**

Revelador

**Buf. Lavado** | **Conc.**

Tampão de Lavagem Concentrado

**Control** | **+**

Controle Positivo


**Control** | **-**

Controle Negativo

**Stopper**


Stopper

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes

 Data de validade


 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico


 Volume após da reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico


 Irritante


 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina

UR110708