

Bioclin

BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE

REF **K365**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da Doença de Chagas, em amostras biológicas (soro e plasma humano) através de teste enzimaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático

O kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa de anticorpos IgG contra *Trypanosoma cruzi* em amostras humanas de soro ou plasma. Anticorpos IgG específicos para *T. cruzi*, presentes na amostra, se ligam aos antígenos recombinantes de *T. cruzi* revestidos na microplaca formando imunocomplexos antígeno-anticorpos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Anticorpos anti-IgG conjugado à peroxidase são adicionados à microplaca, que é então incubada. Os anticorpos anti-IgG conjugados à peroxidase se ligam aos complexos de antígeno-anticorpos ligados à placa. É realizada uma nova lavagem para remover os excedentes. Após esta etapa, o substrato é adicionado e incubado produzindo uma cor azul, que indica a detecção de anticorpos IgG anti-*T. cruzi* presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

REAGENTES

1- Placa Sensibilizada – Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Placa sensibilizada com antígeno recombinante de *Trypanosoma cruzi* e conservante.

2- Conjugado – Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão contendo anti-IgG ligado à Peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.

3- Lavagem Concentrada – Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão (Fosfato < 0,5 mol/L, Cloreto de Potássio < 100 mmol/L, Cloreto de Sódio < 5 mol/L), surfactante e conservante.

4- Diluente de Amostra - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão, estabilizantes, surfactante, corante e conservante.

5- Substrato – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo peróxido de ureia, tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.

6- Solução de Parada – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido clorídrico 1 M.

7- Controle Negativo – Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão, estabilizante, surfactante e conservante. Potencialmente infectante.

8- Controle Positivo – Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, anticorpos IgG anti-*T. cruzi*, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. Potencialmente infectante.

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
1- Placa Sensibilizada	1 unidade (96 cavidades)	2 unidades (192 cavidades)	5 unidades (480 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 100 mL	1 Frasco x 250 mL
4- Diluente de Amostra	1 Frasco x 25 mL	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 110 mL
5- Substrato	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 1 mL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 1 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior

Materiais necessários não contidos no kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Leitora de ELISA com capacidade de absorvância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- 5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 6- Cronômetro ou relógio.
- 7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
- 8- Água destilada ou deionizada.
- 9- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10- Incubadora 37 °C ± 2 °C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas até 30 °C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- **Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 °C.
- 4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
- 5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 6- A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
- 7- Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para anti-HIV, HbsAg e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.
- 8- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
- 9- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
- 10- Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.
- 11- Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.
- 12- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 13- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha com Dados de Segurança) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- 14- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 15- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina)
Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro desse período, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20 °C. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado (30 dias) e amostras coletadas com outros anticoagulantes diferentes dos citados, não devem ser utilizadas.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE é estável após aberto por até 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N° 3 (Lavagem Concentrada) na proporção 1:20 de água destilada ou deionizada; por exemplo: 50 mL de solução de Lavagem Concentrada em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo, a solução pode ser estocada entre 2 e 30 °C por até 30 dias. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

Todos os demais reagentes são prontos pra uso.

TÉCNICA

Para uso em equipamentos automáticos, consulte ao SAC (Serviço de Assessoria de Cliente).

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras e controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.

- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
- 2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- 3- Pipetar 100 µL de Diluente de Amostra. Inclusive na cavidade para o Branco.
- 4- Pipetar 5 µL dos Controles e Amostras nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do diluente no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao poço corretamente.
- 5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
- 6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 7- Retirar o selador das cavidades.
- 8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem com agitação (shake) de 5 segundos. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.
- Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
- 9- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
- 10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2°C.
- 12- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 13- Repetir o item 8.
- 14- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 16- Incubar por 15 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 17- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 18- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco e Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ACESSORIA AO CLIENTE:

SAC: (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

ITEM	ABSORVÂNCIA
Branco	< 0,100
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo	> 1,000

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS QUALITATIVOS

Calcular o Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:

Cut Off = (Absorvância Média Obtida do Controle Positivo x 0,100) + 0,200.

Exemplo:

ITEM	ABSORVÂNCIA
Controle Positivo	A1 = 2,051
	A2 = 2,034
Cut Off: (Absorvância Média Obtida com Controle Positivo x 0,100) + 0,200	(((2,051 + 2,034) /2) x 0,100) + 0,200 = 0,404

Calcular o Índice dividindo a absorvância da amostra pelo valor de Cut Off. Exemplo:

ITEM	ABSORVÂNCIA
Amostra	1,525
Valor de Cut Off	0,404
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,525 / 0,404 = 3,78

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usadas para cálculo dos resultados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para determinação dos resultados.

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (Não Reagente)	< 0,9
Indeterminado	Entre 0,9 e 1,1
Positivo (Reagente)	> 1,1

Amostras com índice superior a 1,1 são consideradas como positivas, amostras com índice inferiores a 0,9 são consideradas como negativas e amostras que apresentam índice entre 0,9 e 1,1 são consideradas indeterminadas. Dessa forma, temos que a amostra citada no exemplo, cuja absorvância foi 1,525 e índice de 3,78, apresenta resultado positivo (índice > 1,1).

Observação: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados permanecerem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. A interpretação de um teste diagnóstico não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis, antes do diagnóstico descritivo da doença.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnóstico não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis, antes do diagnóstico descritivo da doença.

INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada para as concentrações de Triglicérides 1200 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 100 amostras de soro e plasma negativas para Doença de Chagas, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 10 amostras positivas para HIV, 10 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para CMV, 10 amostras positivas para Sífilis, 10 amostras positivas para Toxoplasmose, 10 amostras positivas para HBsAg, 10 amostras positivas para HCV, 10 amostras positivas para Chikungunya, 10 amostras positivas para Rubéola e 10 amostras positivas para Leishmaniose Visceral Humana. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para HIV, Zika, CMV, Sífilis, Toxoplasmose, HBsAg, HCV, Chikungunya, Rubéola e Leishmaniose Visceral Humana. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnóstico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Repetibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,780	1,810	0,116
Desvio Padrão	0,092	0,146	0,019
Coefficiente de Variação (%)	11,855	8,053	16,394

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Reprodutibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,740	1,734	0,141
Desvio Padrão	0,074	0,142	0,014
Coefficiente de Variação (%)	9,910	8,140	10,703

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

O kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE foi utilizado para a análise de amostras clínicas previamente caracterizadas e confirmadas através de outro método de enzimmunoensaio de referência. Os resultados mostram

que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE é de >99,9% e a especificidade clínica é de >99,9%.

MÉTODO		Biolisa Chagas Recombinante		TOTAL
		Positivo	Negativo	
Kit Referência	Positivo	157	0	157
	Negativo	0	172	172
Resultado Total		157	172	329

Sensibilidade Clínica: >99,9% (157/157) - IC 95% (97,7 – 100%)

Especificidade Clínica: >99,9% (172/172) - IC 95% (97,9 – 100%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A doença de Chagas é uma doença crônica causada por infecção com o protozoário *T. cruzi*. O parasita é transmitido aos seres humanos por um grupo de insetos da família Roduvidae, sendo o barbeiro (*Triatoma infestans*), o principal vetor. A infecção também pode ser transmitida congenitamente, pela transfusão de sangue ou transplantes de órgãos. Esta infecção afeta vários órgãos em diferentes graus e sistemas, especialmente do coração e do trato gastrointestinal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8): 1337–44.2017 AACR
2. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
3. Burns Jr. JM, ET al. Identification and synthesis of a major conserved antigenic epitope of Trypanosoma cruzi. Proc Natl Acad Sci USA 89: 1239-1243, 1992.
4. Gruber, A. anda Zingales, B. Trypanosoma cruzi: Characterization of two recombinant antigens with potencial application in the diagnosis of Chagas Disease. Exp. Parasitol. 76:1-12, 1993.
5. Ibañez, C.F., Afranchino, J.I., Medina, R.A., Reyes, M.B., Leguizamon, S., Camargo, M.E., Aslund, L., Petteron, U. and Frascch, A.C.C. Multiple Trypanosoma Cruzii antigens containing tabdemly repeated amino acid sequence motifs. Mol. Biochem. Parasitol 30:27-34, 1998.
6. Peralta JM, et al. Serodiagnosis of Chagas' disease by enzyme-linked immunosorbent assay using two synthetic peptides as antigens. J Clin Microbiology 32(4): 971-974, 1994.
7. Spencer, H.C., Allain, D.S., Sulzer, A.J., Collins, W.E. Evaluation of the Micro Enzyme Lynked Immunosorbent Assay for Antibodies to Trypanosoma cruzi. Am. J. Trop. Med. Hyg., 29 (2): 179.182, 1980.
8. Umezawa ES, ET al. Evaluation of recombinant antigen for serodiagnosis of Chagas' disease in South and Central America, J Clin Microbiol 37(5): 1554-1560, 1999.
9. Bioclin - Dados de Arquivo.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE na ANVISA: 10269360489

Revisão: Abril/2026

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

Bioclin

BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE

REF **K365**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG contra *Trypanosoma cruzi*, el protozoo causante de la enfermedad de Chagas, en muestras biológicas (suero y plasma humanos) mediante enzaimunoensayo. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimunoensayo o inmunoenzimático

El kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE es un inmunoensayo enzimático en fase sólida basado en el principio de la detección cualitativa de anticuerpos IgG contra *Trypanosoma cruzi* en muestras de suero o plasma humano. Anticuerpos IgG específicos para *T. cruzi* presentes en la muestra se unen a los antígenos recombinantes de *T. cruzi* que recubren la microplaca, formando complejos inmunes antígeno-anticuerpo. Tras la incubación inicial, se lava la microplaca para eliminar los materiales no unidos. Se añaden anticuerpos anti-IgG conjugados con peroxidasa a la microplaca, que posteriormente se incuba. Los anticuerpos anti-IgG conjugados con peroxidasa se unen a los complejos antígeno-anticuerpo de la placa. Se realiza un lavado adicional para eliminar el exceso de material. Tras este paso, se añade el sustrato y se incuba, obteniéndose un color azul, que indica la detección de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi* presentes en las muestras. Se añade la Solución de Parada para interrumpir la reacción, lo que produce un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REATIVOS

1- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa sensibilizada con antígeno recombinante de *Trypanosoma cruzi* y conservante.

2- Conjugado - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón con anti-IgG unido a peroxidasa, surfactante, estabilizantes, colorante y conservante.

3- Lavado Concentrado - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón (Fosfato < 0,5 mol/L, Cloruro de Potasio < 100 mmol/L, Cloruro de Sodio < 5 mol/L), surfactante y conservante.

4- Diluyente de Muestra - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, estabilizantes, surfactante, colorante y conservante.

5- Sustrato - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón con peróxido de urea, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.

6- Solución de Parada - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: ácido clorhídrico 1 M.

7- Control Negativo - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: solución tampón, estabilizador, surfactante y conservante. Potencialmente infeccioso.

8- Control Positivo - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: solución tampón, anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*, colorante, estabilizadores, surfactante y conservante. Potencialmente infeccioso.

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
1- Placa Sensibilizada	1 unidade (96 cavidades)	2 unidades (192 cavidades)	5 unidades (480 cavidades)
2- Conjugado	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
4- Diluyente de Muestra	1 Vial x 25 mL	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 110 mL
5- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Soluición de Parada	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
7- Control Negativo	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
8- Control Positivo	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.

Materiales necesarios, no contenidos en los Kit:

- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- Lavadora de microplaca (opcional).
- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- Cronómetro o reloj.
- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.
- Agua destilada o deionizada.
- Herramientas de Control de Calidad.
- Incubadora de 37 °C ± 2 °C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 a 8 °C. El transporte a temperaturas de hasta 30 °C no debe exceder los 5 días. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.

2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.

3- El sobre de aluminio conteniendo la microplaca debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar entre 2 y 8 °C.

4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.

5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.

6- La Solución de Parada contiene ácido clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto manosearlo con el debido cuidado.

7- Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV y Anti-HCV. Sin embargo esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.

8- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.

9- Por medida de protección, se debe cubrir la placa durante la reacción.

10- Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.

11- No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de hipoclorito durante almacenamiento o etapas de incubación.

12- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

13- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

No se deben utilizar muestras hemolizadas o altamente lipémicas. Las muestras pueden conservarse refrigeradas, entre 2 y 8 °C, durante un máximo de 5 días. Si no se pueden analizar en 5 días, pueden conservarse hasta 30 días a una temperatura de -20 °C. No se deben utilizar muestras de plasma conservadas durante periodos superiores al recomendado (30 días) ni muestras obtenidas con anticoagulantes distintos a los mencionados.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de la Apertura

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE es estable hasta 30 días tras su apertura. Esta estabilidad puede variar según la prueba y las condiciones ambientales. Por lo tanto, se recomienda supervisar el rendimiento del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación técnica.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluya el contenido del vial N.º 3 (Lavado Concentrado) en una proporción de 1:20 con agua destilada o desionizada; por ejemplo: 50 ml de solución de Lavado Concentrado en 1000 ml de agua destilada o desionizada. Tras su preparación, la solución puede conservarse entre 2 y 30 °C hasta 30 días. Si se produce cristalización, caliente a 37 °C hasta su disolución.

Todos los demás reactivos están listos para usar

TÉCNICA

Para uso en equipos automáticos, consultar al SAC (Servicio de Atención al Cliente).

Antes de comenzar el ensayo, deje que todos los reactivos, muestras y controles se establezcan a temperatura ambiente (15 – 30 °C) durante al menos 40 minutos.

- Separe los pocillos que se utilizarán, considerando: controles y muestras (se recomienda realizar el análisis por duplicado). Devuelva las tiras no utilizadas de la microplaca a su envase original sellado.
- Separe el primer pocillo para el blanco (OPCIONAL).
- Pipetee 100 µL de diluyente de muestra. Incluyéndolo en el pocillo del blanco.
- Pipetee 5 µL de controles y muestras en los pocillos previamente determinados. Observe el cambio de color del diluyente al momento de agregar la muestra. Este cambio de color indica que la muestra se agregó correctamente al pocillo.

5- Homogeneice suavemente durante ± 30 segundos y cubra los pocillos con sellador de placas.

6- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.

7- Retirar el sellador de los pocillos.

8- Desechar el contenido de los pocillos mediante aspiración (lavadora) o decantación (manual). Utilizar aproximadamente 300 µL de solución de lavado, previamente preparada, y realizar un total de cinco (5) ciclos de lavado con agitación de 5 segundos. Para asegurar que la placa esté seca, al finalizar el lavado, golpearla ligeramente sobre papel absorbente durante unos segundos.

Nota: Un lavado o secado inadecuado puede causar resultados inadecuados.

9- Pipetear 100 µL de conjugado en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.

10- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.

11- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.

12- Retirar el sellador de placas de los pocillos.

13- Repetir el paso 8.

14- Pipetear 100 µL de sustrato en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.

15- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.

16- Incubar durante 15 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.

17- Retirar el sellador de placas de los pocillos.

18- Pipetear 100 µL de solución de parada en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.

19- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.

20- Leer utilizando un filtro dual: 450 nm / 630 nm durante hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verificar que los resultados obtenidos para la lectura del Blanco y Controles sean consistentes con los valores que se muestran a continuación:

PARA OBTENER LAS INSTRUCCIONES DE USO EN FORMATO IMPRESO, SIN COSTO ADICIONAL, CONTACTE CON EL SERVICIO DE ASESORAMIENTO AL CLIENTE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,100
Control Negativo	< 0,100
Control Positivo	> 1,000

Si los valores están fuera del rango esperado, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcule el valor de corte mediante la siguiente fórmula:

Cut Off = (Absorbancia media obtenida del control positivo x 0,100) + 0,200.
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo	A1 = 2,051
	A2 = 2,034
Cut Off: (Absorbancia promedio obtenida con control positivo x 0,100) + 0,200	((2,051 + 2,034) /2) x 0,100) + 0,200 = 0,404

Calcular el Índice dividiendo la absorbancia de la muestra pelo valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,525
Valor de Cut Off	0,404
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	1,525 / 0,404 = 3,78

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para fins ilustrativos e não podem ser utilizados para calcular dois resultados.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Después de calcular el índice de muestra, considere los índices siguientes para determinar los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (No Reactivo)	< 0,9
Indeterminado	Entre 0,9 e 1,1
Positivo (Reactivo)	> 1,1

Las muestras con un índice superior a 1,1 se consideran positivas, las muestras con un índice inferior a 0,9 se consideran negativas y las muestras con un índice entre 0,9 y 1,1 se consideran indeterminadas. Por lo tanto, la muestra del ejemplo, con una absorbancia de 1,525 y un índice de 3,78, arroja un resultado positivo (Índice > 1,1).

Nota: En caso de un resultado indeterminado, la muestra debe volver a analizarse. Las muestras que repetidamente arrojan resultados indeterminados deben volver a analizarse con un método alternativo. Si los resultados persisten, se debe recolectar una nueva muestra en dos semanas. El resultado de la última muestra recolectada prevalecerá. La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en un solo ensayo. Se deben incluir otras pruebas confirmatorias antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes de realizar un diagnóstico descriptivo de la enfermedad. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por

el profesional médico responsable y no deben ser el único criterio para determinar el diagnóstico o el tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en un solo ensayo. Se deben incluir otras pruebas confirmatorias antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes de realizar un diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

INTERFERENTES

No se observaron interferencias para las concentraciones de Triglicéridos 1200 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Factor Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y Antiestreptolisina O 1023 UI/mL.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 100 muestras de suero y plasma negativas para la enfermedad de Chagas pero positivas para otras infecciones. Entre estas, 10 muestras fueron positivas para HIV, 10 para Zika, 10 para CMV, 10 para Sífilis, 10 para Toxoplasmosis, 10 para HBsAg, 10 para HCV, 10 para Chikungunya, 10 para Rubéola y 10 para Leishmaniasis Visceral Humana. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para HIV, Zika, CMV, Sífilis, Toxoplasmosis, HBsAg, HCV, Chikungunya, Rubéola y Leishmaniasis Visceral Humana. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa de control de calidad interno, donde se establezcan claramente los procedimientos, estándares, límites y tolerancias de variación. Es importante destacar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para ello, se recomienda utilizar controles que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con diferentes valores, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia.

Repetibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,780	1,810	0,116
Desviación Estándar	0,092	0,146	0,019
Coefficiente de Variación (%)	11,855	8,053	16,394

Reproductibilidad

La reproductibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con diferentes valores, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia.

Reproductibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,740	1,734	0,141
Desviación Estándar	0,074	0,142	0,014
Coefficiente de Variación (%)	9,910	8,140	10,703

Sensibilidad y Especificidad Clínicas

El kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE se utilizó para el análisis de muestras clínicas previamente caracterizadas y confirmadas mediante otro método de inmunoensayo enzimático de referencia. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE es >99,9% y la especificidad clínica es >99,9%.

MÉTODO		Biolisa Chagas Recombinante		TOTAL
		Positivo	Negativo	
Kit Referencia	Positivo	157	0	157
	Negativo	0	172	172
Resultado Total		157	172	329

Sensibilidad Clínica: >99,9% (157/157) - IC 95% (97,7 – 100%)

Especificidad Clínica: >99,9% (172/172) - IC 95% (97,9 – 100%)

SIGNIFICADO DIAGNOSTICO

La enfermedad de Chagas es una enfermedad crónica causada por la infección del parásito protozoario *T. cruzi*. Este parásito se transmite al ser humano a través de un grupo de insectos de la familia Roduvidae, siendo la vinchuca (*Triatoma infestans*) el principal vector. La infección también puede transmitirse por vía congénita, a través de transfusiones de sangre o trasplantes de órganos. Esta infección afecta a diversos órganos y sistemas en distintos grados, especialmente el corazón y el tracto gastrointestinal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
2. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
3. Burns Jr. JM, ET al. Identification and synthesis of a major conserved antigenic epitope of Trypanosoma cruzi. Proc Natl Acad Sci USA 89: 1239-1243, 1992.
4. Gruber, A. anda Zingales, B. Trypanosoma cruzi: Characterization of two recombinant antigens with potencial application in the diagnosis of Chagas Disease. Exp. Parasitol. 76:1-12, 1993.
5. Ibañez, C.F., Afranchino, J.I., Medina, R.A., Reyes, M.B., Leguizamón, S., Camargo, M.E., Aslund, L., Petteron, U. and Frascch, A.C.C. Multiple Trypanosoma Cruzi antigens containing tabdemly repeated amino acid sequence motifs. Mol. Biochem. Parasitol 30:27-34, 1998.
6. Peralta JM, et al. Serodiagnosis of Chagas' disease by enzyme-linked immunosorbent assay using two synthetic peptides as antigens. J Clin Microbiology 32(4): 971-974, 1994.
7. Spencer, H.C., Allain, D.S., Sulzer, A.J., Collins, W.E. Evaluation of the Micro Enzyme Lynked Immunosorbent Assay for Antibodies to Trypanosoma cruzi. Am. J. Trop. Med. Hyg., 29 (2): 179.182, 1980.
8. Umezawa ES, ET al. Evaluation of recombinant antigen for serodiagnosis of Chagas' disease in South and Central America, J Clin Microbiol 37(5): 1554-1560, 1999.
9. Bioclin - Datos de Archivo.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de su comercialización, todos los reactivos Bioclin son analizados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está garantizada hasta la fecha de caducidad indicada en el envase, siempre que se almacenen y transporten en condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 31 3439-5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel. : 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Registro del kit BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE em la ANVISA:
10269360489

Revisión: Abril/2026

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACION		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

Bioclin

BIOLISA CHAGAS RECOMBINANT

REF K365

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Test for the qualitative determination of IgG antibodies against *Trypanosoma cruzi*, the protozoan that causes Chagas disease, in biological samples (human serum and plasma) using an enzyme immunoassay. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic

The BIOLISA CHAGAS RECOMBINANT kit is a solid-phase enzyme immunoassay based on the principle of qualitative detection of IgG antibodies against *Trypanosoma cruzi* in human serum or plasma samples. Specific IgG antibodies for *T. cruzi*, present in the sample, bind to recombinant *T. cruzi* antigens coated on the microplate, forming antigen-antibody immune complexes. After initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated anti-IgG antibodies are added to the microplate, which is then incubated. The peroxidase-conjugated anti-IgG antibodies bind to the antigen-antibody complexes on the plate. A further wash is performed to remove excess material. After this step, the substrate is added and incubated, producing a blue color, which indicates the detection of anti-*T. cruzi* IgG antibodies present in the samples. The Stopping Solution is added to interrupt the reaction, resulting in a color change from blue to yellow, measured on a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** – Store between 2 and 8°C. Contains: Plate sensitized with recombinant *Trypanosoma cruzi* antigen and preservative.
- 2- Conjugate** – Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution containing anti-IgG bound to Peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3- Concentrated Wash** – Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution (Phosphate < 0.5 mol/L, Potassium Chloride < 100 mmol/L, Sodium Chloride < 5 mol/L), surfactant and preservative.
- 4- Sample Diluent** – Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution, stabilizers, surfactant, dye and preservative.
- 5- Substrate** – Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution containing urea peroxide, tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6- Stop Solution** – Store between 2 and 8°C. Contains: 1 M hydrochloric acid.
- 7- Negative Control** – Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution, stabilizer, surfactant and preservative. Potentially infectious.
- 8- Positive Control** – Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution, anti-*T. cruzi* IgG antibodies, dye, stabilizers, surfactant and preservative. Potentially infectious.

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
1- Sensitized Plate	1 units (96 cavities)	2 units (192 cavities)	5 units (480 cavities)
2- Conjugate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Concentrated Wash	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
4- Sample Diluent	1 Vial x 25 mL	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 110 mL
5- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Stop Solution	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
7- Negative Control	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
8- Positive Control	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the table above.

Required materials not contained in the kit:

- 1- Pipettes capable of dispensing volumes from 5 to 300 µL with a coefficient of variation lower than 1.5%.
- 2- Repipette for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with a coefficient of variation lower than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3- Microplate washer (optional).
- 4- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Absorbent paper to dry the microwells.
- 6- Stopwatch or clock.
- 7- Vial to store the Wash Solution after dilution.
- 8- Distilled or deionized water.
- 9- Quality Control Tools.
- 10- Incubator 37 °C ± 2 °C.

STORAGE AND TRANSPORTATION CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 and 8 °C. Transportation at temperatures up to 30 °C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

- 2- Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.
- 3- The sachet containing the microplate should only be opened after it has reached room temperature. Replace the unused microwell strips in the sachet, seal and store at 2 to 8 °C.
- 4- The water used to clean the material must be fresh and free of contaminants.
- 5- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- 6- The Stop Solution contains Hydrochloric Acid, which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.
- 7- All raw materials of the product are tested and found to be non-reactive for HBsAg, Anti-HIV and Anti-HCV. However, these tests do not offer complete assurance of the absence of infectious agents. Handling any product that contains a biological sample is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, it is necessary to take the appropriate biosafety precautions when handling these products.
- 8- Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microwells.
- 9- As a protective measure, the plate must be covered during the reaction.
- 10- Ensure that the bottom of the well is clean and dry and that there are no bubbles on the surface of the liquid before reading the plate. Do not allow the wells to dry out during the test.
- 11- Do not expose the reagents, especially the Substrate, to strong light or hypochlorite vapors during the storage or incubation stages.
- 12- We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that the disposal of reagents and biological material is done in accordance with current legislation.
- 13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or by requesting it through Quibasa's SAC (Customer Advisory Service).
- 14- Do not use the product if the packaging is damaged.
- 15- It is essential that the instruments and equipment.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin)

Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used. Samples can be stored under refrigeration, between 2 and 8° C, for a maximum period of 5 days. If the samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at a temperature of -20 °C. Plasma samples stored for periods longer than the recommended period (30 days) and samples collected with anticoagulants other than those mentioned should not be used.

TO OBTAIN THE INSTRUCTIONS FOR USE IN PRINTED FORMAT, AT NO ADDITIONAL COST, CONTACT CUSTOMER ADVISORY SERVICE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.100
Negative Control	< 0.100
Positive Control	> 1.000

If the values are outside the expected values, the technique must be repeated.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate the Cut-Off using the following formula:

Cut-Off = (Average Absorbance Obtained from the Positive Control x 0.100) + 0.200.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control	A1 = 2.051
	A2 = 2.034
Cut Off: (Average Absorbance Obtained with Positive Control x 0.100) + 0.200	((2.051 + 2.034) / 2) x 0.100 + 0.200 = 0.404

Calculate the Index by dividing the absorbance of the sample by the Cut-Off value.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.525
Cut-Off Value	0.404
Index = Sample / Cut-Off Value	1.525 / 0.404 = 3.78

Note:The data presented in the examples are for illustrative purposes only and cannot be used to calculate the results.

INTERPRETATION OF RESULTS

After calculating the sample index, consider the indices below to determine the results.

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative (Non-Reactive)	< 0.9
Indeterminate	Between 0.9 and 1.1
Positive (Reactive)	> 1.1

Samples with an index greater than 1.1 are considered positive, samples with an index less than 0.9 are considered negative, and samples with an index between 0.9 and 1.1 are considered indeterminate. Therefore, the sample cited in the example, with an absorbance of 1.525 and an index of 3.78, shows a positive result (index > 1.1).

Note: In the case of an indeterminate result, the sample should be reanalyzed. Samples that repeatedly obtain indeterminate results should be retested using an alternative method. If the results remain indeterminate, a new sample should be collected in two weeks. The result of the last sample collected should prevail. The interpretation of a diagnostic test should not be established based on a single assay. Other confirmatory tests should be included before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results should be interpreted in conjunction with

PROCESS DESCRIPTION

Stability After Opening

The results of the stability test show that the BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE kit is stable after opening for up to 30 days. This stability may vary depending on the test and environmental conditions. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using the kit's internal controls and the technique validation criteria.

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of Vial No. 3 (Concentrated Wash) in a ratio of 1:20 with distilled or deionized water; for example: 50 mL of Concentrated Washing Solution in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation, the solution can be stored at 2 to 30 °C for up to 30 days. If crystallization occurs, heat to 37 °C until dissolved.

All other reagents are ready for use.

TECHNIQUE

For use in automatic equipment, consult SAC (Customer Advisory Service).

Before starting the assay, allow all reagents, samples, and controls to stabilize at room temperature (15 – 30 °C) for at least 40 minutes.

- 1- Separate the wells to be used, considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return unused strips from the microplate to the original sealed packaging.
- 2- Separate the first well for the Blank (OPTIONAL).
- 3- Pipette 100 µL of Sample Diluent. Including into the well for the Blank.
- 4- Pipette 5 µL of Controls and Samples into the previously determined wells. Observe the color change of the diluent at the moment of sample addition. The color change indicates that the sample was added to the well correctly.
- 5- Gently homogenize for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
- 6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 7- Remove the sealer from the wells.
- 8- Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decantation (Manual). Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared, and perform a total of five (5) washing cycles with 5-second shaking. To ensure the plate is dry, at the end of the washing, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.
- Note: Inadequate washing/drying may cause inadequate results.
- 9- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, including the Blank well.
- 10- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
- 11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 12- Remove the plate sealer from the wells.
- 13- Repeat item 8.
- 14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells, including the Blank well.
- 15- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
- 16- Incubate for 15 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 17- Remove the plate sealer from the wells.
- 18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, including the Blank well.
- 19- Gently homogenize for ± 30 seconds.
- 20- Read using a dual filter: 450 nm / 630 nm for up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Check whether the results obtained for reading the Blank and Controls are compatible with the values presented below:

other available clinical information before a descriptive diagnosis of the disease.

The results provided by this kit should be interpreted by the responsible medical professional and should not be the sole criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

LIMITATIONS OF THE PROCESS

The interpretation of a diagnostic test should not be established based on a single assay. Other confirmatory tests should be included before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results should be interpreted in conjunction with other available clinical information before a descriptive diagnosis of the disease.

INTERFERENTS

No interference was observed for the concentrations of Triglycerides 1200 mg/dL, Acetylsalicylic Acid 20 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 2 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL, Oxalic Acid 60 mg/dL, Rheumatoid Factor 980 IU/mL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL and Anti-Streptolysin O 1023 IU/mL.

CROSS-REACTIVITY

A cross-reactivity study was conducted, evaluating 100 serum and plasma samples negative for Chagas disease but positive for other infections. Among them, 10 samples were positive for HIV, 10 samples positive for Zika, 10 samples positive for CMV, 10 samples positive for Syphilis, 10 samples positive for Toxoplasmosis, 10 samples positive for HBsAg, 10 samples positive for HCV, 10 samples positive for Chikungunya, 10 samples positive for Rubella, and 10 samples positive for Human Visceral Leishmaniasis. No cross-reactivity was observed with samples positive for HIV, Zika, CMV, Syphilis, Toxoplasmosis, HBsAg, HCV, Chikungunya, Rubella, and Human Visceral Leishmaniasis. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis should consider the patient's clinical data along with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits, and tolerances for variations are clearly established. It is important to emphasize that all measurement systems exhibit a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. Therefore, the use of controls is recommended, allowing for the evaluation of the precision and accuracy of dosages.

PRODUCT PERFORMANCE

Precision

REPEATABILITY

Repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

Repeatability	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0.780	1.810	0.116
Standard Deviation	0.092	0.146	0.019
Coefficient of Variation (%)	11.855	8.053	16.394

Reproducibility

Reproducibility was calculated from 10 successive determinations over 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

Reproducibility	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0.740	1.734	0.141
Standard Deviation	0.074	0.142	0.014
Coefficient of Variation (%)	9.910	8.140	10.703

Clinical Sensitivity and Specificity

The BIOLISA CHAGAS RECOMBINANT kit was used to analyze clinical samples previously characterized and confirmed by another reference enzyme immunoassay method. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA CHAGAS RECOMBINANT kit is >99.9% and the clinical specificity is >99.9%.

METHOD	Biolisa Chagas Recombinant		TOTAL	
	Positive	Negative		
Kit Reference	Positive	157	0	157
	Negative	0	172	172
Total Result		157	172	329

Clinical Sensitivity: >99.9% (157/157) - 95% CI (97.7 – 100%)

Clinical Specificity: >99.9% (172/172) - 95% CI (97.9 – 100%)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Chagas disease is a chronic disease caused by infection with the protozoan *T. cruzi*. The parasite is transmitted to humans by a group of insects of the family Roduvidae, with the kissing bug (*Triatoma infestans*) being the main vector. The infection can also be transmitted congenitally, through blood transfusion or organ transplants. This infection affects various organs and systems to varying degrees, especially the heart and gastrointestinal tract.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
2. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
3. Burns Jr. JM, ET al. Identification and synthesis of a major conserved antigenic epitope of Trypanosoma cruzi. Proc Natl Acad Sci USA 89: 1239-1243, 1992.
4. Gruber, A. anda Zingales, B. Trypanosoma cruzi: Characterization of two recombinant antigens with potencial application in the diagnosis of Chagas Disease. Exp. Parasitol. 76:1-12, 1993.
5. Ibañez, C.F., Afranchino, J.I., Medina, R.A., Reyes, M.B., Leguizamón, S., Camargo, M.E., Aslund, L., Petteron, U. and Frasc, A.C.C. Multiple Trypanosoma Cruzi antigens containing tabdelym repeated amino acid sequence motifs. Mol. Biochem. Parasitol 30:27-34, 1998.
6. Peralta JM, et al. Serodiagnosis of Chagas' disease by enzyme-linked immunosorbent assay using two synthetic peptides as antigens. J Clin Microbiology 32(4): 971-974, 1994.
7. Spencer, H.C., Allain, D.S., Sulzer, A.J., Collins, W.E. Evaluation of the Micro Enzyme Lynked Immunosorbent Assay for Antibodies to Trypanosoma cruzi. Am. J. Trop. Med. Hyg., 29 (2): 179.182, 1980
8. Umezawa ES, ET al. Evaluation of recombinant antigen for serodiagnosis of Chagas' disease in South and Central America, J Clin Microbiol 37(5): 1554-1560, 1999.
9. Bioclin - Dados de Arquivo.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for BIOLISA BIOLISA CHAGAS RECOMBINANTE:
10269360489

Review: April/2026

UNIVERSAL SYMBOLOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER