

BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL

REF K236-1

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) para SARS-CoV-2 (vírus causador da doença COVID-19) em amostras biológicas (soro, plasma ou sangue total em papel de filtro) através de teste de enzaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzaimunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL é um ensaio imunoenzimático em fase sólida com base no princípio "sanduíche" para detecção de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) para SARS-CoV-2 em soro, plasma e sangue total humano em papel de filtro. Anticorpos IgG, IgM e IgA presentes na amostra se ligam aos antígenos recombinantes de SARS-COV-2 revestidos na microplaca formando imunocomplexos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Antígenos recombinantes conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca que é então incubada. Os antígenos conjugados a enzima ligam-se aos anticorpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 presentes, ligados à placa revestida com antígeno. Nova lavagem é realizada para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a quantidade de anticorpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 presentes na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplaca.

REAGENTES

- 1- Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa Sensibilizada com antígeno recombinante de SARS-CoV-2.
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão contendo antígeno recombinante de SARS-CoV-2 ligado à Peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
- 4- Diluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão, estabilizantes, surfactante e conservante.
- 5- Substrato** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido Clorídrico 1M.
- 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, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Seladores de Placa**
- 10- Tampão de Eluição de Papel de Filtro** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- 11- Controle Negativo de Extração** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Amostra não reativa para anticorpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 impregnada em papel de filtro. **Potencialmente infectante.**
- 12- Controle Positivo de Extração** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Amostra reativa para anticorpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 impregnada em papel de filtro. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

Reagentes	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 Unidade (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4- Diluente de Amostra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
5- Substrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
9- Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
10- Tampão de Eluição em Papel de Filtro	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
11- Controle Negativo de Extração	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
12- Controle Positivo de Extração	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior
- Instruções de uso (manual)

Materiais necessários não contidos no kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 500 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 absorbância 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 de 37 °C ± 2 °C.
- 11- Picotador de papel (diâmetro de 3 mm) para técnica de papel de filtro.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 2 e 8 °C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 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, íons 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 HBsAg, Anti-HIV 1&2 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 de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20 °C.

Sangue Total em Papel de Filtro (EDTA ou Punção)

As amostras secas em papel de filtro podem ser armazenadas a temperatura ambiente desde que fiquem protegidas de fonte de luz solar direta e baixa umidade. Para armazenamento de até 2 anos, as amostras devem permanecer sob refrigeração, entre 2 a 8 °C. Para o armazenamento por tempo superior a 2 anos, as amostras devem ser acondicionadas a temperatura de -20 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa COVID-19 Ac TOTAL é estável após aberto durante, pelo menos, 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) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30 °C durante, pelo menos, 30 dias. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA

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

Amostra de Soro ou Plasma

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 do Branco.
- 4- Pipetar 10 µL de Amostra e Controles 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 e 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. 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 (OPCIONAL).
- 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.
- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 16- Incubar por 10 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.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

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: Controle Positivo, Controle Negativo, Controle Positivo de Extração, Controle Negativo de Extração e Amostras de Sangue Total em Papel de Filtro (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- Adicionar um disco de 3 mm do Controle Positivo de Extração, Controle Negativo de Extração e Amostras de Sangue Total em Papel de Filtro, previamente picotados, nas cavidades determinadas.
- 4- Pipetar 100 µL do Tampão de Eluição em Papel de Filtro, inclusive na cavidade para o Branco.
- 5- Pipetar 10 µL de Controles nas cavidades previamente determinadas.
- 6- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
- 7- Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 8- Retirar o selador das cavidades.
- 9- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Retirar os discos de papel, caso necessário, com auxílio de uma agulha ou ponteira. Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. 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.
- 10- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco (OPCIONAL).
- 11- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 12- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 13- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 14- Repetir o item 9.

- 15- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades.
16- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
17- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
18- Retirar o selador de placa das cavidades.
19- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.
20- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
21- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro

Verifique se os resultados obtidos durante ± 30 segundos e dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	<0,250
Controle Negativo	<0,250
Controle Positivo	> 1,000
Controle Negativo de Extração	<0,250
Controle Positivo de Extração	> 1,000

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

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Amostra de Soro e Plasma

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:

Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,05) + 0,06

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente N° 8)	A1 = 2,453
	A2 = 2,470
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,05) + 0,06	((2,453 + 2,470) / 2) x 0,05 + 0,060 = 0,183

Calcular o Índice dividindo a absorbância da amostra pelo valor de Cut Off.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,245
Valor de Cut Off	0,183
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,245 / 0,183 = 6,80

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:

Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,05) + 0,040

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente N° 8)	A1 = 2,325
	A2 = 2,390
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,05) + 0,040	((2,235 + 2,390) / 2) x 0,05 + 0,040 = 0,156

Calcular o Índice dividindo a absorbância da amostra pelo valor de Cut Off.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	0,752
Valor de Cut Off	0,156
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	0,752 / 0,156 = 4,82

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

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro.

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

RESULTADOS	QUALITATIVO PARA AMOSTRA DE SORO, PLASMA E SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 1,1

Nota: 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 permanecem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. 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 por Triglicérides até 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico até 20 mg/dL, Ácido Ascórbico até 2 g/dL, Creatina até 200 mg/dL, Bilirrubina até 1 g/dL, Albumina até 2 g/dL, Hemoglobina até 1000 mg/dL, Ácido Oxálico até 60 mg/dL, Fator Reumatóide até 980 UI/mL, Proteína C Reativa até 41,2 mg/dL e Anti Estreptolisina O até 1023 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Reatividade Cruzada em Soro e Plasma

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 162 amostras negativas para SARS-CoV-2, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 12 amostras positivas para Influenza, 27 positivas para Rinovírus, 13 amostras positivas para Vírus Sincicial Respiratório, 14 amostras positivas para Citomegalovírus (CMV), 14 amostras positivas para Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), 10 amostras positivas para HBV, 12 amostras positivas para HCV, 10 amostras positivas para Zika, 14 amostras positivas para Dengue, 10 amostras positivas para Chikungunya, 13 amostras positivas para Toxoplasmose e 13 amostras positivas para Rubéola. Não foi observado reatividade cruzada com as amostras avaliadas. 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.

Reatividade Cruzada em Sangue Total em Papel de Filtro

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 81 amostras negativas para SARS-CoV-2, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 10 amostras positivas para Citomegalovírus (CMV), 5 amostras positivas para Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), 9 amostras positivas para HBV, 10 amostras positivas para HCV, 7 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para Toxoplasmose, 10 amostras positivas para Rubéola, 10 amostras positivas para Sífilis e 10 amostras positivas para Doença de Chagas. Não foi observado reatividade cruzada com as amostras avaliadas. 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	0,906	0,955	0,044
Desvio Padrão	0,079	0,153	0,006
Coefficiente de Variação (%)	8,75	16,07	14,37

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	1,021	1,013	0,043
Desvio Padrão	0,178	0,149	0,006
Coefficiente de Variação (%)	17,42	14,67	13,49

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Amostra de Soro e Plasma

O kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL foi utilizado para analisar amostras clínicas. Os resultados mostram que o kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL possui sensibilidade clínica de 96,89% e a especificidade clínica é de 97,63%.

	Resultado Esperado	BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL
Amostra Positiva	354	343
Amostra Negativa	295	288
Total de Amostras Testadas	649	631

Sensibilidade Clínica: 96,89% (343/354) - IC95%: 94,5% - 98,4%

Especificidade Clínica: 97,63 (288/295) - IC95%: 95,2% - 99,0%

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

O kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL foi utilizado para analisar amostras clínicas. Os resultados mostram que o kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL possui sensibilidade clínica de 93,62% e a especificidade clínica é de >99,9%.

	Resultado Esperado	BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL
Amostra Positiva	47	44
Amostra Negativa	162	162
Total de Amostras Testadas	209	206

Sensibilidade Clínica: 93,62% (44/47) - IC95%: 82,5% - 98,7%

Especificidade Clínica: >99,9% (162/162) - IC95%: 97,7% - 100,0%

SIGNIFICADO CLÍNICO

Os Coronavírus (CoV) pertencem a família Coronaviridae, e estão amplamente distribuídos infectando seres humanos e outros mamíferos. Em humanos, os sintomas mais comuns apresentados são: febre, tosse, dispneia, mialgia ou fadiga. Pode causar doenças que variam do resfriado comum a doenças mais graves, como a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV). Em dezembro de 2019, uma série de casos de pneumonia de causa desconhecida surgiu em Wuhan na China, com sintomatologia clínica muito semelhante à pneumonia viral, após sequenciamento completo das amostras respiratórias foi evidenciado ser infecção por Coronavírus, que foi chamado de novo coronavírus (2019-nCoV). Em aproximadamente 150 países em todos os continentes já foram notificados casos de infecção.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- 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.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Corman VM, Landt O, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
- Huang C, Wang Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- QUIBASA: Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

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 COVID-19 AC TOTAL na ANVISA: 10269360339

Revisão: Agosto/2024

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		INFLÂMVEL
	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

BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL

REF K236-1

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para determinación cualitativa de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) para SARS-CoV-2 (virus causante de la enfermedad COVID-19) en muestras biológicas (suero, plasma o sangre total en papel de filtro) mediante prueba de inmunoensayo. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: inmunoensayo enzimático o inmunoenzimático
El kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio “sándwich” para la detección de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) para el SARS-CoV-2 en suero, plasma y sangre total humana en filtro de papel. Los anticuerpos IgG, IgM e IgA presentes en la muestra se unen a los antígenos recombinantes del SARS-COV-2 que recubren la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Los antígenos recombinantes conjugados con Peroxidasa se añaden a la microplaca que luego se incuba. Los antígenos conjugados con enzimas se unen a los anticuerpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 presentes, unidos a la placa recubierta de antígeno. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el sobrante. Después de esta etapa, se agrega e incuba el Sustrato, produciendo un color azul que indica la cantidad de anticuerpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 presentes en la muestra. La Solución de Parada se agrega para detener la reacción con un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1- Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa Sensibilizada con antígeno recombinante del SARS-CoV-2.
- 2- Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón que contiene antígeno recombinante del SARS-CoV-2 ligado a Peroxidasa, surfactante, estabilizadores, colorante y conservante.
- 3- Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón, surfactante y conservante.
- 4- Diluyente de Muestra** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón, estabilizadores, surfactante y conservante.
- 5- Sustrato** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
- 6- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.
- 7- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón, estabilizante, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 8- Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón, anticuerpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2, colorante, estabilizadores, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 9- Selladores de Placa**
- 10- Tampón de Elución de Papel de Filtro** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, tensioactivo, estabilizador y conservante.
- 11- Control Negativo de Extracción** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Muestra no reactiva para anticuerpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 impregnada en papel de filtro. **Potencialmente infeccioso.**
- 12- Control Positivo de Extracción** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Muestra reactiva para anticuerpos IgG, IgM e IgA anti-SARS-CoV-2 impregnada en papel de filtro. **Potencialmente infeccioso.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1 – Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2 - Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3 – Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4 – Diluyente de Muestra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
5 - Sustrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6 – Solución de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7 – Control Negativo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
8 – Control Positivo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
9 – Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
10 – Tampón de Elución en Papel de Filtro	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
11 – Control de Extracción Negativo	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
12 – Control de Extracción Positivo	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el ítem anterior
- Instrucciones de uso (manual)

Materiais necesarios, mas no contenidos en el kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
- 2- Repetidor para pipeteo repetitivo de volúmenes de 500 µL con coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplacas (opcional).
- 4- Lector de ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Papel absorbente para secar los pozos.
- 6- Cronómetro o reloj.
- 7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de la dilución.
- 8- Agua destilada o desionizada.
- 9- Herramientas de control de calidad.
- 10- Incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 11- Trituradora de papel (3 mm de diámetro) para la técnica del papel de filtro.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte debe ser de 2 y 8 °C. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.**
- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados exactos.
- El sobre que contiene la microplaca debe abrirse solo después de alcanzar la temperatura ambiente. Vuelva a colocar las tiras de micropocillos no utilizadas en el sobre, ciérrelo y guárdelo entre 2 y 8 °C.
- El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.
- Las columnas desionizantes saturadas liberan agua alcalina, varios iones y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.
- La solución de parada contiene ácido clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manipúlelo con el debido cuidado.

- Toda la materia prima del producto está probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1 & 2 y Anti HCV. Sin embargo, estas pruebas no ofrecen una seguridad completa en ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga suero es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por tanto, es necesario cuidar la bioseguridad en el manejo de estos productos.
- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia en el tiempo de reacción entre los pocillos.
- Como medida de protección, la placa debe cubrirse durante la reacción.
- Asegúrese de que el fondo de la cavidad esté limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante la prueba.
- No exponga los reactivos, especialmente el sustrato, a luz fuerte o vapores de hipoclorito durante los pasos de almacenamiento o incubación.
- Recomendamos aplicar las normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que la eliminación de reactivos y material biológico se realice de acuerdo con la legislación vigente.
- Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consultar la HDS (Hoja de Datos de Seguridad) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o a solicitud del Cliente SAC (Servicio de Atención al Cliente) de Quibasa.
- No utilice el producto en caso de daños en el embalaje.
- Es fundamental que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

No se deben utilizar muestras hemolizadas o muy lipémicas. Las muestras pueden conservarse refrigeradas, entre 2 y 8 °C, durante un período máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a una temperatura de -20 °C.

Sangre Total en Papel de Filtro

Sangre Total (EDTA o Punción)

Las muestras secas en papel de filtro se pueden almacenar a temperatura ambiente siempre que estén protegidas de la luz solar directa y la baja humedad. Para un almacenamiento de hasta 2 años, las muestras deben permanecer refrigeradas, entre 2 y 8 °C. Para almacenamiento durante más de 2 años, las muestras deben almacenarse a una temperatura de -20 °C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de Abierto

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa COVID-19 Ac TOTAL es estable después de haber sido abierto durante al menos 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de prueba y el entorno. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando controles internos del kit y los criterios para validar la técnica.

Preparación de Reactivos de Trabajo

SOLUCION DE LAVADO

Diluir el contenido del vial N°3 (Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Una vez preparada, la solución puede almacenarse entre 2 y 30 °C durante al menos 30 días. Puede conservarse a temperatura ambiente. Si se produce la cristalización, calentar a 37°C hasta que se disuelva.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA

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

Muestras de Suero o Plasma

Antes de iniciar el ensayo, coloque todos los reactivos, muestras y controles para estabilizarlos a temperatura ambiente (15 - 30 °C) durante al menos 40 minutos.

- Separar las cavidades a utilizar considerando: Controles y Muestras (se recomienda probar por duplicado). Devuelva las tiras sin usar de la microplaca al sobre sellado original.
- Separe la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- Pipetear 100 µL de Diluyente de muestra, incluido en la cavidad blanca.
- Pipetear 10 µL de Muestra y Controles en los pocillos previamente determinados. Observe el cambio de color del diluyente al agregar la muestra. El cambio de color indica que la muestra se ha añadido correctamente al pocillo.
- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos y cubrir los pocillos con sellador de placas.
- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- Retirar el sellador de las cavidades.
- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavador) o por decantación (Manual).
- Utilice aproximadamente 300 µL de solución de lavado, previamente preparada, y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para garantizar el secado de la placa, al final del lavado, batir la placa durante unos segundos sobre papel absorbente.
- Nota:** Un lavado / secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
- Pipetear 100 µL de conjugado en todos los pocillos, incluido el pocillo blanco (OPCIONAL).
- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra las cavidades con el sellador de placas.
- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- Retirar el sellador de placas de las cavidades.
- Repetir el ítem 8.
- Pipetear 100 µL de sustrato en todos los pocillos.
- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra las cavidades con el sellador de placas.
- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- Retirar el sellador de placas de las cavidades.
- Pipetear 100 µL de solución de parada en todos los pocillos.
- Mezclar suavemente durante ± 30 segundos.
- Leer con doble filtro: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

Antes de iniciar el ensayo, coloque todos los reactivos, muestras y controles para estabilizarlos a temperatura ambiente (15 - 30 °C) durante al menos 40 minutos.

- Separe las cavidades a utilizar considerando: Control Positivo, Control Negativo, Control Positivo de Extracción, Control Negativo de Extracción y Muestras de Sangre Total en Papel Filtro (se recomienda analizar por duplicado). Devuelva las tiras sin usar de la microplaca al sobre sellado original.
- Separe la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- Agregar un disco de 3 mm de Control Positivo de Extracción, Control de Extracción Negativo y Muestras de Sangre Total sobre Papel Filtro, previamente perforado, en los pocillos determinados.
- Pipetear 100 µL de tampón de elución en papel de filtro, incluso en el pocillo para el blanco.
- Pipetear 10 µL de Controles en los pocillos previamente determinados.
- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos, cubrir los pocillos con sellador de placas.
- Incubar durante 60 minutos ± 2 minutos en incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- Retirar el sellador de las cavidades.
- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavador) o por decantación (Manual). Retire los discos de papel, si es necesario, con la ayuda de una aguja o punta. Utilice aproximadamente 300 µL de solución de lavado, previamente preparada, y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para garantizar el secado de la placa, al final del lavado, batir la placa durante unos segundos sobre papel absorbente.
- Nota:** Un lavado / secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
- Pipetear 100 µL de conjugado en todos los pocillos, incluido el pocillo blanco (OPCIONAL).
- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra las cavidades con el sellador de placas.
- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- Retirar el sellador de placas de las cavidades.
- Repetir el ítem 9.

- 15- Pipetear 100 µL de sustrato en todos los pocillos.
16- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra las cavidades con el sellador de placas.
17- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
18- Retirar el sellador de placas de las cavidades.
19- Pipetear 100 µL de solución de parada en todos los pocillos.
20- Mezclar suavemente durante ± 30 segundos.
21- Leer con doble filtro: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Para muestras de Suero, Plasma y Sangre Total en Papel de Filtro
Compruebe si los resultados obtenidos para la lectura del Blanco y los Controles son compatibles con los valores que se presentan abajo:

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,250
Control Negativo	< 0,250
Control Positivo	> 1,000
Control Negativo de Extracción	< 0,250
Control Positivo de Extracción	> 1,000

Si los valores están fuera de los valores esperados, la técnica debe repetirse.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Muestras de Suero o Plasma

Calcule el Cut-Off de acuerdo con la siguiente fórmula:

Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,05) + 0,060

Ejemplo

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N° 8)	A1 = 2,453 A2 = 2,470
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo * 0,05) x 0,060	((2,453 + 2,470) / 2) x 0,05 + 0,060 = 0,183

Calcule el índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,245
Valor del Cut Off	0,183
Índice = Muestra / Valor del Cut Off	1,245 / 0,183 = 6,80

Muestra de Sangre Total en Papel de Filtro

Calcule el Cut-Off de acuerdo con la siguiente fórmula:

Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,05) + 0,040

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N° 8)	A1 = 2,325 A2 = 2,390
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,05) + 0,040	((2,235 + 2,390) / 2) x 0,05 + 0,040 = 0,156

Calcule el índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCE
Muestra	0,752
Valor del Cut Off	0,156
Índice = Muestra / Valor del Cut Off	0,752 / 0,156 = 4,82

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no se pueden utilizar para calcular resultados.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Muestras de Suero, Plasma y Sangre Total en Papel de Filtro

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

RESULTADOS	CUALITATIVOS PARA MUESTRA DE SUERO, PLASMA Y SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO
	INDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 1,1

Nota: En el caso de un resultado indeterminado, la muestra debe volver a analizarse. Las muestras que obtienen resultados indeterminados repetidamente deben volver a analizarse utilizando un método alternativo. Si los resultados siguen siendo indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra en dos semanas. Debe prevalecer el resultado de la última muestra recolectada, los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, y no es el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La interpretación de una prueba de diagnóstico no debe establecerse sobre la base de una sola prueba. Se deben incluir otras pruebas de confirmación 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 del diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

INTERFERENTE

No se observaron interferencias para Triglicéridos hasta 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico hasta 20 mg/dL, Ácido Ascórbico hasta 2 g/dL, Creatina hasta 200mg/dL, Bilirrubina hasta 1 g/dL, Albúmina hasta 2 g/dL, Hemoglobina hasta 1000 mg/dL, Ácido Oxálico hasta 60 mg/dL, Factor Reumatoide hasta 980UI/mL, Proteína C Reactiva hasta 41,2 mg/dL y Antiestreptolisina O hasta 1023 UI/mL .

REACTIVIDAD CRUZADA

Reactividad Cruzada para Suero y Plasma

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 162 muestras negativas para SARS-CoV-2, pero positivas para otras infecciones. Entre ellas 12 muestras positivas para Influenza, 27 positivas para Rinovirus, 13 muestras positivas para Virus Respiratorio Sincitial, 14 muestras positivas para Citomegalovirus (CMV), 14 muestras positivas para Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV), 10 muestras positivas para HBV, 12 muestras positivas para HCV, 10 muestras positivas para Zika, 14 muestras positivas para Dengue, 10 muestras positivas para Chikungunya, 13 muestras positivas para Toxoplasmosis y 13 muestras positivas para Rubéola. No se observó reactividad cruzada con las muestras evaluadas. 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.

Reactividad Cruzada para Sangre Total en Papel de Filtro

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 81 muestras negativas para SARS-CoV-2, pero positivas para otras infecciones. Entre ellas, 10 muestras positivas para Citomegalovirus (CMV), 5 muestras positivas para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), 9 muestras positivas para el HBV, 10 muestras positivas para el HCV, 7 muestras positivas para el Zika, 10 muestras positivas para la Toxoplasmosis, 10 muestras positivas para Rubéola, 10 muestras positivas para Sífilis y 10 muestras positivas para Enfermedad de Chagas. No se observó reactividad cruzada con las muestras evaluadas. 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 tolerancia a variaciones. Es importante señalar que todos los sistemas de medición tienen una variabilidad analítica característica, que debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para eso, 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	0,906	0,955	0,044
Desvio Patrón	0,079	0,153	0,006
Coefficiente de Variación (%)	8,75	16,07	14,37

Reproducibilidad

La reproducibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con diferentes valores,obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

Reproducibilidad	Muestra		
	1	2	3
Promedio	1,021	1,013	0,043
Desvio Patrón	0,178	0,149	0,006
Coefficiente de Variación (%)	17,42	14,67	13,49

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Muestras de Suero y Plasma

Para el análisis de muestras clínicas se utilizó el kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL. Los resultados muestran que el kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL tiene una sensibilidad clínica del 96,89% y la especificidad clínica es del 97,63%.

	Resultado Esperado	BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL
Muestra Positiva	354	343
Muestra Negativa	295	288
Total de Muestras Testadas	649	631

Sensibilidad Clínica: 96,89% (343/354) - IC95%: 94,5% - 98,4%

Especificidad Clínica: 97,63 (288/295) - IC95%: 95,2% - 99,0%

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

Para el análisis de muestras clínicas se utilizó el kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL. Los resultados muestran que el kit BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL tiene una sensibilidad clínica del 93,62% y la especificidad clínica es del >99,9%.

	Resultado Esperado	BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL
Muestra Positiva	47	44
Muestra Negativa	162	162
Total de Muestras Testadas	209	206

Sensibilidad Clínica: 93,62% (44/47) - IC95%: 82,5% - 98,7%

Especificidad Clínica: >99,9% (162/162) - IC95%: 97,7% - 100,0%

SIGNIFICADO CLÍNICO

Los coronavirus (CoV) pertenecen a la familia Coronaviridae y se distribuyen ampliamente e infectan a humanos y otros mamíferos. En el ser humano, los síntomas que se presentan con mayor frecuencia son: fiebre, tos, disnea, mialgias o fatiga. Puede causar enfermedades que van desde el resfriado común hasta enfermedades más graves, como el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y el síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV). En diciembre de 2019, aparecieron una serie de casos de neumonía de causa desconocida en Wuhan en China, con síntomas clínicos muy similares a la neumonía viral, luego de la secuenciación completa de las muestras respiratorias se demostró que se trataba de una infección por Coronavirus, que se denominó el nuevo coronavirus (2019 -2019-nCoV). En aproximadamente 150 países de todos los continentes, ya se han notificado casos de infección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- 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.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods;approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Corman VM, Landt O, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
- Huang C, Wang Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- QUIBASA: Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de su liberación para el consumo, todos los reactivos de Bioclin son analizados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de losreactivos está asegurada hasta la fecha de caducidad mencionada en el empaque de presentación, siempre y cuando sean almacenados y transportados en las 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

Número de Registro del kit BIOLISA COVID-19 AC TOTAL en la ANVISA: 10269360339

Revisión: Agosto/2024

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		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

BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL

REF **K236-1**

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION
Test for qualitative determination of total antibodies (IgG, IgM and IgA) for SARS-CoV-2 (virus that causes COVID-19 disease) in biological samples (serum, plasma or whole blood on filter paper) through enzyme immunoassay test. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION
Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
The BIOLISA COVID-19 TOTAL Ac kit is an immunoenzymatic assay in solid phase based on the "sandwich" principle for the detection of total antibodies (IgG, IgM and IgA) for SARS-CoV-2 in serum, plasma and human whole blood on paper filter. IgG, IgM and IgA antibodies present in the sample bind to the recombinant SARS-COV-2 antigens coated on the microplate forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Recombinant antigens conjugated to peroxidase are added to the microplate which is then incubated. The enzyme-conjugated antigens bind to the anti-SARS-CoV-2 IgG, IgM and IgA antibodies present, attached to the antigen-coated plate. A new wash is performed to remove the surplus. After this stage, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the amount of IgG, IgM and IgA anti-SARS-CoV-2 antibodies present in the sample. The Stop Solution is added to stop the reaction with 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 SARS-CoV-2 antigen.
2- Conjugate - Store at 2 to 8 °C. Contains: Buffer Solution containing recombinant SARS-CoV-2 antigen linked to Peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
3- Concentrated Washing Solution - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
4- Sample Diluent - Store at 2 to 8 °C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant and preservative.
5- Substrate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
6- Stop Solution - Store at 2 to 8 °C. Contains: 1M Hydrochloric Acid.
7- Negative Control - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
8- Positive Control - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution, IgG, IgM and IgA anti-SARS-CoV-2 antibodies, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
9- Plate Sealers
10- Filter Paper Elution Buffer - Store at 2 to 8 °C. Contains: Buffer Solution, surfactant, stabilizer and preservative.
11- Negative Extraction Control - Store between 2 and 8 °C. Contains: Non-reactive sample for IgG, IgM and IgA anti-SARS-CoV-2 antibodies impregnated on filter paper. **Potentially infective.**
12- Positive Extraction Control - Store between 2 and 8 °C. Contains: Reactive sample for IgG, IgM and IgA anti-SARS-CoV-2 antibodies impregnated in filter paper. **Potentially infective.**

REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1 – Sensitized Plate	1 Unit (96 cavities)	2 Units (192 cavities)	5 Units (480 cavities)
2 – Conjugate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3 – Concentrated Washing	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
4 – Sample Diluent	1 Flask x 42 mL	2 Flasks x 42 mL	5 Flasks x 42 mL
5 - Substrate	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
9 – Stop Solution	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
7 –Negative Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
8 –Positive Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
9 – Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units
10 – Filter Paper Elution Buffer	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
11 – Negative Extraction Control	1 unit	2 units	5 units
12 – Positive Extraction Control	1 unit	2 units	5 units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS
Materials in the kit:
- Reagents described in the above table
- Instructions for use (manual)

Necessary materials not contained in the kit:
1- Pipettes capable of dispensing volumes of 5 to 500 µL with a variation coefficient of less than 1.5%.
2- Repipettor for repetitive pipetting of volumes of 500 µL with coefficient of variation less 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 wells.
6- Stopwatch or watch.
7- Bottle to store the Washing Solution after dilution.
8- Distilled or deionized water.
9- Quality Control Tools.
10- Incubator at 37 °C ± 2 °C.
11- Paper shredder (3 mm diameter) for filter paper technique.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS
The storage and transport temperature should be 2 and 8 °C. Keep out of the light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE
1- For *in vitro* diagnostic use only.
2- Strictly follow the proposed methodology to obtain exact results.
3- The sachet containing the microplate must be opened only after reaching 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 from 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 material of the product is tested and must be non-reactive for HBsAg, Anti-HIV 1 & 2 and Anti HCV. However, these tests do not offer complete security in the absence of infectious agents. The handling of any product that contains serum is potentially capable of transmitting disease. Therefore, it is necessary to take due care of biosafety in the handling of these products.
8- Pipette the reagents always in the same order to minimize the difference in reaction time between the wells.
9- As a protection measure, the plate must be covered during the reaction.
10- Make sure that the bottom of the cavity is clean and dry and that there are no bubbles on the liquid surface 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 storage or incubation steps.
12- We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that the disposal of reagents and biological material is carried out 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 upon request by the SAC (Service Customer Service) of Quibasa.
14- Do not use the product in case of damage to the packaging.
15- It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES
Serum or Plasma (EDTA or Heparin)
Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used.The samples can be kept refrigerated, 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.

Whole Blood on Filter Paper (EDTA or Puncture)
Dry samples on filter paper can be stored at room temperature as long as they are protected from direct sunlight and low humidity. For storage of up to 2 years, the samples must remain refrigerated, between 2 to 8 °C. For storage for more than 2 years, the samples must be stored at a temperature of -20 °C.

PROCESS DESCRIPTION
Stability After Open
The results of the stability test show that the BIOLISA COVID-19 TOTAL Ac kit is stable after being opened for at least 30 days. This stability may vary according to the test conditions and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using internal controls of the kit and the criteria for validating the technique.

Preparation of Work Reagents
Washing Solution
Dilute the contents of vial N° 3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation, the solution can be stored at 2 to 30 °C for at least 30 days. It can be stored at room temperature. If crystallization occurs, heat to 37 °C until dissolved.

Substrate
The Substrate is ready for use.

TECHNIQUE
For use in automatic equipment, consult the Customer Service Department (SAC)

Serum or Plasma samples
Before starting the assay, place all reagents, samples and controls to stabilize at room temperature (15 - 30 °C) for at least 40 minutes.
1- Separate the cavities to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the unused strips of the microplate to the original sealed package.
2- Separate the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3- Pipette 100 µL of Sample Diluent, including in the Blank cavity.
4- Pipette 10 µL of Sample and Controls into the previously determined wells. Observe the color change of the diluent when adding the sample. The color change indicates that the sample has been added to the well correctly.
5- Homogenize gently for ± 30 seconds and 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 cavities.
8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decantation (Manual).
Use approximately 300 µL of Wash Solution, previously prepared, and perform a total of five (5) wash cycles. To guarantee the drying of the plate, at the end of the washing, beat the plate for a few seconds on absorbent paper.
Note: Poor washing / drying can cause inadequate results.
9- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, including the Blank cavity (OPTIONAL).
10- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities 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 cavities.
13- Repeat item 8.
14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
15- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
16- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
17- Remove the plate sealer from the cavities.
18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.
19- Gently mix for ± 30 seconds.
20- Read using a double filter: 450 nm / 630 nm in up to 15 minutes (maximum).

Samples of Whole Blood on Filter Paper
Before starting the test, place all reagents, samples and controls to stabilize at room temperature (15 - 30 °C) for at least 40 minutes.
1- Separate the cavities to be used considering: Positive Control, Negative Control, Positive Extraction Control, Negative Extraction Control and Whole Blood Samples on Filter Paper (it is recommended to test in duplicate). Return the unused strips of the microplate to the original sealed package.
2- Separate the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3- Add a 3 mm disc of Positive Extraction Control, Negative Extraction Control and Whole Blood Samples on Filter Paper, previously perforated, in the determined wells.
4- Pipette 100 µL of the Filter Paper Elution Buffer, including in the well for the Blank.
5- Pipette 10 µL of Controls into the previously determined wells.
6- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
7- Incubate for 60 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
8- Remove the sealer from the cavities.
9- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decantation (Manual). Remove the paper discs, if necessary, with the aid of a needle or tip. Use approximately 300 µL of Wash Solution, previously prepared, and perform a total of five (5) wash cycles. To guarantee the drying of the plate, at the end of the washing, beat the plate for a few seconds on absorbent paper.
Note: Poor washing / drying can cause inadequate results.
10- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, including the Blank cavity (OPTIONAL).
11- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
12- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
13- Remove the plate sealer from the cavities.
14- Repeat item 9.

- 15- Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
16- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
17- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
18- Remove the plate sealer from the cavities.
19- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.
20- Gently mix for ± 30 seconds.
21- Read using a double filter: 450 nm / 630 nm in up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Serum, Plasma and Whole Blood on Filter Paper samples

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

ITEM	ABSORBANCE
Blank	<0.250
Negative Control	<0.250
Positive Control	> 1.000
Negative Extraction Control	<0.250
Positive Extraction Control	> 1.000

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Serum and Plasma samples

Calculate Cut Off according to the following formula:
Cut Off = (Average Positive Control Absorbance x 0.05) + 0.060

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N° 8)	A1 = 2.453 A2 = 2.470
Cut Off = (Average Positive Control Absorbance x 0.05) + 0.060	((2.453 + 2.470) / 2) x 0.05 + 0.060 = 0.183

Calculate the Index by dividing the Sample's absorbance by the Cut Off value.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.245
Cut Off Value	0.183
Index = Sample / Cut Off Value	1.245 / 0.183 = 6.70

Whole blood on filter paper samples

Calculate Cut Off according to the following formula:
Cut Off = (Average Positive Control Absorbance x 0.05) + 0.040

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N° 8)	A1 = 2.325 A2 = 2.390
Cut Off = (Average Positive Control Absorbance x 0.05) + 0.040	((2.235 + 2.390) / 2) x 0.05 + 0.040 = 0.156

Calculate the Index by dividing the Sample's absorbance by the Cut Off value.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	0.752
Cut Off Value	0.156
Index = Sample / Cut Off Value	0.752 / 0.156 = 4.82

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

INTERPRETATION OF RESULTS

Serum, Plasma and Whole Blood on Filter Paper Samples

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

RESULTS	QUALITATIVE FOR SERUM SAMPLE, PLASMA AND TOTAL BLOOD ON FILTER PAPER
	INDEX
Negative	< 0.9
Positive	> 1.1
Undetermined	0.9 – 1.1

Note: In the case of an undetermined result, the sample must be re-analyzed. Samples that obtain repeatedly 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 collected sample must prevail. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, and it is not the only criterion for determining the diagnosis and / or treatment of the patient.

PROCESS LIMITATIONS

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

INTERFERENT

No interference was observed for Triglycerides up to 1500 mg/dL, Acetylsalicylic Acid up to 20 mg/dL, Ascorbic Acid up to 2 g/dL, Creatine up to 200 mg/dL, Bilirubin up to 1 g/dL, Albumin up to 2 g/dL, Hemoglobin up to 1000 mg/dL, Oxalic Acid up to 60 mg/dL, Rheumatoid Factor up to 980 IU/mL, C Reactive Protein up to 41.2 mg/dL and Anti Streptolysin O up to 1023 IU/mL.

CROSS REACTIVITY

Serum and Plasma Cross Reactivity

A cross-reactivity study was carried out, evaluating 162 samples negative for SARS-CoV-2, but positive for other infections. Among them 12 positive samples for Influenza, 27 positive for Rhinovirus, 13 positive samples for Respiratory Syncytial Virus, 14 positive samples for Cytomegalovirus (CMV), 14 positive samples for Human Immunodeficiency Virus (HIV), 10 positive samples for HBV, 12 samples positive for HCV, 10 positive samples for Zika, 14 positive samples for Dengue, 10 positive samples for Chikungunya, 13 positive samples for Toxoplasmosis and 13 positive samples for Rubella. No crossreactivity was observed with the samples evaluated. 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.

Whole Blood on Filter Paper Cross Reactivity

A cross-reactivity study was carried out, evaluating 81 samples negative for SARS-CoV-2, but positive for other infections. Among them 10 positive samples for Cytomegalovirus (CMV), 5 positive samples for Human Immunodeficiency Virus (HIV), 9 positive samples for HBV, 10 positive samples for HCV, 7 positive samples for Zika, 10 positive samples for Toxoplasmosis, 10 positive samples for Rubella, 10 positive samples for Syphilis and 10 positive samples for Chagas Disease. No cross reactivity was observed with the samples evaluated. 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 tolerance for variations are clearly established. It is important to note that all measurement systems have a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. For that, it is recommended to use controls, which allow to evaluate the precision and accuracy of the dosages.

PRUDCT PERFORMANCE

ACCURACY

Repeitbility

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

Repeitbility	Sample		
	1	2	3
Average	0.906	0.955	0.044
Standard Deviation	0.079	0.153	0.006
Coefficient of Variation (%)	8.75	16.07	14.37

Reproducibility

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

Reproducibility	Sample		
	1	2	3
Average	1.021	1.013	0.043
Standard Deviation	0.178	0.149	0.006
Coefficient of Variation (%)	17.42	14.67	13.49

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

Serum and Plasma samples

The BIOLISA COVID-19 TOTAL Ac kit was used to analyze clinical samples. The results show that the BIOLISA COVID-19 TOTAL Ac kit has a clinical sensitivity of 96.89% and a clinical specificity of 97.63%.

	Expected Result	BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL
Positive Sample	354	343
Negative Sample	295	288
Total Tested Sample	649	631

Clinical Sensitivity: 96.89% (343/354) - IC95%: 94.5% - 98.4%
Clinical Specificity: 97.63 (288/295) - IC95%: 95.2% - 99.0%

Whole blood on filter paper samples

The BIOLISA COVID-19 TOTAL Ac kit was used to analyze clinical samples. The results show that the BIOLISA COVID-19 TOTAL Ac kit has a clinical sensitivity of 93.62% and a clinical specificity of >99.9%.

	Expected Result	BIOLISA COVID-19 Ac TOTAL
Positive Sample	47	44
Negative Sample	162	162
Total Tested Sample	209	206

Clinical Sensitivity: 93.62% (44/47) - IC95%: 82.5% - 98.7%
Clinical Specificity: >99.9% (162/162) - IC95%: 97.7% - 100.0%

CLINICAL SIGNIFICANCE

Coronaviruses (CoV) belong to the Coronaviridae family, and are widely distributed infecting humans and other mammals. In humans, the most common symptoms presented are: fever, cough, dyspnoea, myalgia or fatigue. It can cause diseases ranging from the common cold to more serious illnesses, such as the Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV) and the Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV). In December 2019, a series of pneumonia cases of unknown cause appeared in Wuhan in China, with clinical symptoms very similar to viral pneumonia, after complete sequencing of the respiratory samples it was shown to be Coronavirus infection, which was called the new coronavirus (2019 -nCoV). In approximately 150 countries on all continents, cases of infection have already been reported.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- 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.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods;approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Corman VM, Landt O, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019- nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
- Huang C, Wang Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497- 506.
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- QUIBASA: Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all Bioclin reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is ensured until the expiration date mentioned on the presentation packaging, as long as they are stored and transported under the 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 number for BIOLISA COVID-19 Ac Total kit: 10269360339

Review: August/2024

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	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