

BIOLISA SARS-CoV-2 IgG

REF K234-1

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG para SARS-CoV-2 (vírus causador da doença COVID-19) em amostras biológicas (soro ou plasma) através de teste enzimaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático. O kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgG é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa indireta de Anticorpos IgG para SARS-CoV-2 em soro ou plasma humano. Anticorpos IgG 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. Anticorpos Anti-IgG conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca que é então incubada. Os anticorpos conjugados a enzima ligam-se aos Anticorpos IgG 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 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 e conservante.
- 2 - Conjugado** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão contendo Anticorpo Anti-IgG humano ligado à Peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 3 - Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: SoluçãoTampão, surfactante e conservante.
- 4 - Diluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: SoluçãoTampão, 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 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-SARS-CoV-2, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9 - Seladores de Placa**

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	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 100 mL	2 Frascos x 100 mL	5 Frascos x 100 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

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.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 2 a 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 deresultados 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 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 FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) 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.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO ESTABILIDADE APÓS ABERTO

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa SARS-CoV-2 IgG 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 Nº 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30°C até a data de validade impressa no frasco original. 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).

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Controles e Amostras 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- Preparar uma diluição de 1:101 das Amostras e Controles em microtubos adicionando 5 µL mais 500 µL de Diluente de Amostra. Homogeneizar.

Observar a mudança de cor do diluente no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao microtubo corretamente.

4- Pipetar 100 µL de Amostra e Controles diluídos nas cavidades previamente determinadas. **Na cavidade do Branco, pipetar 100 µL de Diluente de Amostra.**

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.

Exceto 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 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. **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 dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,200
Controle Negativo	< 0,200
Controle Positivo	> 1,200

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

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS QUALITATIVO

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,360
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente N° 8)	A1 = 1,990 A2 = 2,020
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,360	((((1,990 + 2,020) / 2) x 0,02) + 0,360= 0,400

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,456
Valor de Cut Off	0,400
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,456 / 0,400 = 3,064

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

RESULTADOS	QUALITATIVO ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 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. Para uma avaliação mais completa do diagnóstico e correlação clínica, sugere-se que cada amostra seja testada para IgG e IgM. 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.
Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usadas para cálculo dos resultados.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnostico, 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 definitivo da doença.

INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada por Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Remátoide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti Estreptolisina O 1023 UI/mL. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado por essa instrução de uso (30 dias) podem apresentar fibrina e precipitação de fibronectina que podem interferir no teste. Essas amostras não devem ser utilizadas. Amostras coletadas com outros anticoagulantes, diferentes dos citados por essa instrução de uso (EDTA e Heparina), não devem ser utilizadas.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 132 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, 10 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para Dengue, 10 amostras positivas para Chikungunya, 10 amostras positivas para Toxoplasmose, 10 amostras positivas para Rubéola, 10 amostras positivas para HIV, 10 amostras positivas para HBV e 10 amostras positivas para HCV. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para Influenza, Rinovírus, Vírus sincicial respiratório, Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmose, Rubéola, HIV, HBV e HCV. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnostico 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	2,039	1,164	0,233
Desvio Padrão	0,032	0,029	0,015
Coefficiente de Variação (%)	1,59	2,49	6,40

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 absorbancia:

Reprodutibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	2,050	1,148	0,230
Desvio Padrão	0,032	0,030	0,014
Coefficiente de Variação (%)	1,54	2,61	6,21

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

O kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgG analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgG é 92,6% e a especificidade clínica é 92,0%.

	Resultado Esperado	BIOLISA SARS-CoV-2 IgG
Amostra Positiva	54	50
Amostra Negativa	50	46

Sensibilidade Clínica: (50/54)= 92,6% (IC 95%: 85,8% - 99,3%)
Especificidade Clínica: (46/50)= 92,0% (IC 95%: 84,7% - 99,2%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

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 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.
- QUIBASA: Dados do 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 SARS-CoV-2 IgG na ANVISA: 10269360330

Revisão: Março/2023



NÚMERO DE CATÁLOGO



NÚMERO DO LOTE



DATA DE FABRICAÇÃO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTE



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO REUTILIZE



CUIDADO



FABRICADO POR



CONTROLE



CONTROLE POSITIVO



CONTROLE NEGATIVO



RISCO BIOLÓGICO



INFLÂMVEL



CORROSIVO



TÓXICO



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA



PRODUTO
ESTERELIZADO



PERIGO

BIOLISA SARS-CoV-2 IgG

REF K234-1

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2 (virus que causa la nfermedad COVID-19) en muestras biológicas (suero o plasma) mediante prueba de inmunoensayo enzimático. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: inmunoensayo enzimático o inmunoenzimático.

El kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgG es un ensayo inmunoenzimático en fase basado en el principio de detección cualitativa indirecta de anticuerpos IgG para SARS-CoV-2 en suero o plasma humano. Los anticuerpos IgG presentes en la muestra se unen a los antígenos recombinantes de SARS-CoV-2 recubiertos en la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava hasta eliminar materiales no unidos. Anticuerpos Anti-IgG conjugados con la Peroxidasa se agrega a la microplaca que luego se incubaba. El anticuerpos conjugados con enzimas se unen a IgG Anti-SARS-CoV-2 presentes, conectados a la placa recubierta de antígeno. Nuevo lavado se realiza para eliminar el excedente. Después de esta etapa, el Sustrato es agregado e incubado, produciendo un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 presentes en la muestra. La Solución de Parada se agrega para detener la reacción si hay un cambio en 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 SARS-CoV-2 y conservante.
2 - Conjugado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Anticuerpo humano anti-IgG ligado a peroxidasa, tensioactivo, estabilizadores, colorante y conservante.
3 - Lavado Concentrado - Almacenar de 2 a 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo y conservante.
4 - Diluyente de Muestra - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizantes, tensioactivos y conservantes.
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-SARS-CoV-2, tinte, estabilizantes, tensioactivos y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
9 - Selladores de Placas

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
1- Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2- Conjugado	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
3- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	2 Viales x 50 mL	5 Viales x 50 mL
4- Diluyente de Muestra	1 Vial x 100 mL	2 Viales x 100 mL	5 Viales x 100 mL
5- Sustrato	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
6- Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
7- Control Negativo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
8- Control Positivo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
9- Selladores de Placas	3 Unidades	6 Unidades	15 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 500µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
2- Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 500 µL com menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbencia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
5- Papel absorbente para secar las microcavidades.
6- Cronómetro o reloj.
7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de la dilución.
8- Agua destilada o deionizada.
9- Herramientas de Control de Calidad.
10- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

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

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.
2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
3- El sobre de aluminio conteniendo las microplacas 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 Clorídrico 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 1&2 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, 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 el 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 FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando através 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.

MUESTRA

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

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

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

ESTABILIDAD DESPUÉS DE ABRIR

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa SARS-CoV-2 IgG es estable después de abrir hasta 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba y el medio ambiente. Por lo tanto, se sugiere controlar el rendimiento del producto, utilizando controles internos del kit y criterios de validación técnica.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del Reactivo N°3 (Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o deionizada. Después de la preparación de la solución se puede almacenar a 2 a 30°C hasta la fecha de validez impresa en el frasco original. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA

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

Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 40 minutos.

1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retomar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.

2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).

3- Prepare una dilución 1:101 de Muestras y Controles en microtubos adicionando 5 µL más 500 µL de Diluyente de Muestra. Homogeneizar. Observe el cambio de color del diluyente al agregar la muestra. El cambio de color indica que la muestra se agregó correctamente al microtubo.

4- Pipetear 100 µL de Muestra y Controles diluidos en las cavidades previamente determinadas. **En la cavidad para el Blanco, pipetear 100 µL del Diluyente de Muestra.**

5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.

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

7- Retirar el sellador de placa de las cavidades.

8- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) por decantación (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada**, para un total de cinco (5) ciclos de lavado, con agitación durante 5 segundos. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente. **Nota:** Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.

9- Pipetear 100 µL de Conjugado en todas las cavidade.

Excepto en la cavidad para el Blanco.

10- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.

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

12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.

13- Repetir el ítem 8.

14- Adicionar 100 µL Sustrato en todas las cavidades. **Incluso en la cavidad para el Blanco.**

15- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.

16- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.

17- Retirar el sellador de placa de las cavidades.

18- Adccionar 100 µL de Solución de Parada en todos cavidades. **Incluso en la cavidad para el Blanco.**

19- Homogenizar suavement durante 30 segundos.

20- Lectura con doble filtro: 450nm / 630 nm en hasta 15 minutos (no máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura de Blanco y dos Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBANCIAS
Blanco	< 0,200
Control Negativo	< 0,200
Control Positivo	> 1,200

Caso los valores se encuentren fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS CUALITATIVO

Calcule el Cut Off según la siguiente fórmula:
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,02) + 0,360
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N° 8)	A1 = 1,990 A2 = 2,020
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,02) + 0,360	$\frac{((1,990 + 2,020) / 2) \times 0,02}{0,360} + 0,400$

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

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,456
Valor del Cut Off	0,400
Índice = Muestra / Valor del Cut Off	$\frac{1,456}{0,400} = 3,664$

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Después de calcular el índice de las muestras, considere los índices a continuación para determinar los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVOS
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 1,1

Observación: En el caso de un resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizado. Las muestras que obtienen resultados indeterminados repetidamente se deben volver a analizar utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecen indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra en dos semanas. El resultado de la última muestra recolectada debe prevalecer. Para una evaluación más completa del diagnóstico y la correlación clínica, se sugiere analizar cada muestra para detectar IgG e IgM. 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. **Nota:** Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no pueden utilizarse para calcular los resultados.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La interpretación de una prueba de diagnóstico no debe establecerse con base en un solo ensayo. Deben incluirse 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 del diagnóstico definitivo de la enfermedad.

INTERFERENTE

No se observó interferencia para el Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Factor Rematoide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y Anti Estreptolisina O 1023 UI/mL. Las muestras de plasma almacenadas durante periodos más largos que los recomendados por estas instrucciones de uso (30 días) pueden mostrar precipitación de fibrina y fibronectina que puede interferir con la prueba. Estas muestras no deben utilizarse. No deben utilizarse muestras recogidas con anticoagulantes distintos de los mencionados en estas instrucciones de uso (EDTA y Heparina).

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 132 muestras negativas para SARS-CoV-2, pero positivas para otras infecciones. Entre ellos 12 muestras positivas para Influenza, 27 positivas para Rhinovirus, 13 muestras positivas para Virus sincitial respiratorio, 10 muestras positivas para Zika, 10 muestras positivas para Dengue, 10 muestras positivas para Chikungunya, 10 muestras positivas para toxoplasmosis, 10 muestras positivas para rubéola, 10 muestras positivas para VIH, 10 muestras positivas para VHB y 10 muestras positivas para VHC. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para Influenza, Rhinovirus, Virus sincitial respiratorio, Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Rubéola, HIV, HBV e HCV. Apesar 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 poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

Repetibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	2,039	1,164	0,233
Desvio Patrón	0,032	0,029	0,015
Coefficiente de Variación (%)	1,59	2,49	6,40

Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

Reproducibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	2,050	1,148	0,230
Desvio Patrón	0,032	0,030	0,014
Coefficiente de Variación (%)	1,54	2,61	6,21

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA

El kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgG analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgG es 92,6% y la especificidad clínica 92,0%.

	Resultado Esperado	BIOLISA SARS-CoV-2 IgG
Muestra Positiva	54	50
Muestra Negativa	50	46

Sensibilidad Clínica: (50/54)= 92,6% (IC 95%: 85,8% - 99,3%)
Especificidad Clínica: (46/50)= 92,0% (IC 95%: 84,7% - 99,2%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Los coronavirus (CoV) pertenecen a la familia Coronaviridae y son ampliamente distribuido infectando humanos y otros mamíferos. En humanos, los síntomas más comunes presentados son: fiebre, tos, disnea, mialgia o fatiga. Puede causar enfermedades que van desde el resfriado común a las enfermedades más graves, como el síndrome respiratorio oriental (MERS-CoV) y Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV). En diciembre de 2019, una serie de casos de neumonía causaron la enfermedad apareció en Wuhan en China, con síntomas clínicos muy similar a la neumonía viral, después de la secuenciación completa de las muestras respiratorias se demostró que era una infección por Coronavirus, que se llamó el nuevo coronavirus (2019-nCoV). En aproximadamente 150 países en todos los continentes, ya se han informado casos de infección.

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 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.
- QUIBASA: Datos do Departamento de Pesquisa Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos Bioclin son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentacion, desde que 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.: +55313439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

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

Número de Registro del kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgG en ANVISA: 10269360330

Revisión: Marzo/2023

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

REF

NUMERO DE CATALOGO

LOT

NUMERO DE LOTE



FECHA DE FABRICACIÓN



FECHA DE VALIDEZ
(último día del mes)



LÍMITE DE TEMPERATURA
(tienda)



EL CONTENIDO ES SUFICIENTE
PARA <N> PRUEBA



VER INSTRUCCIONES
DE USO

IVD

PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO
IN VITRO



PROTEGER DE
LUZ Y CALOR



NO REUTILIZA



PRECAUCIÓN



FABRICADO POR

CONTROL

CONTROLAR

CONTROL +

CONTROL POSITIVO

CONTROL -

CONTROL NEGATIVO



RIESGO BIOLÓGICO



INFLAMABLE



CORROSIVO



TÓXICO



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTÁ
DAÑADA

STERILE R

PRODUCTO
ESTERILIZADO



PELIGRO

Bioclin

BIOLISA SARS-CoV-2 IgG

REF **K234-1**

USE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Test for qualitative determination of IgG antibodies to SARS- CoV-2 (virus that causes COVID-19 disease) in biological samples (serum or plasma) through enzyme immunoassay test. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic.

The BIOLISA SARS-CoV-2 IgG kit is an immunoenzymatic assay in phase based on the principle of indirect qualitative detection of antibodies IgG for SARS-CoV-2 in human serum or plasma. IgG antibodies present in the sample bind to antigens recombinants of SARS-CoV-2 coated on the microplate forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Anti-IgG Antibodies conjugated to Peroxidase is added to the microplate which is then incubated. The enzyme-conjugated Antibodies bind to IgG Anti-SARS-CoV-2 present, connected to the antigen-coated plate. New wash is performed to remove surplus. After this stage, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the amount of IgG Anti-SARS-CoV-2 Antibodies present in the sample. The Solution Stop is added to stop the reaction if there is a change in color from blue to yellow, measured in a microplate reader.

REAGENTS

- 1 - Sensitized Plate** - Store between 2 to 8°C. Contains: Sensitized Plate with recombinant SARS-CoV-2 antigen and preservative.
- 2 - Conjugate** - Store between 2 to 8°C. Contains: Buffer Solution containing Peroxidase-linked human Anti-IgG antibody, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3 - Concentrated Washing** - Store between 2 to 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
- 4 - Sample Diluent** - Store between 2 to 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant and preservative.
- 5 - Substrate** - Store between 2 to 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6 Stop Solution** - Store at 2 to 8°C. Contains: Hydrochloric Acid 1 M.
- 7 - Negative Control** - Store between 2 to 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
- 8 - Positive Control** - Store between 2 to 8°C. Contains: Buffer Solution, IgG Anti-SARS-CoV-2 Antibodies, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
- 9 - Plate Sealers**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
1 - Sensitized Plate	1 Unit (96 cavities)	2 Units (192 cavities)	5 Units (480 cavities)
2 - Conjugate	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
3 - Concentrate Washing	1 Vial x 50 mL	2 Vials x 50 mL	5 Vials x 50 mL
4 - Sample Diluent	1 Vial x 100 mL	2 Vials x 100 mL	5 Vials x 100 mL
5 - Substrate	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
6 - Stop Solution	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
7 - Negative Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
8 - Positive Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
9 - Plate Sealers	3 Unit	6 Units	15 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table
- Operating instructions (manual)

Required materials not contained in the kit:

- 1-** Pipette capable of dispensing volumes of 5 to 500 µL with lower coefficient of variation than 1.5%.
- 2-** Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 500 µL, with lower coefficient of variation than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3-** Microplate washer (optional).
- 4-** ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- 5-** Paper towel to dry cavities.
- 6-** Stopwatch or watch.
- 7-** Flask to store the washing solution after dilution.
- 8-** Distilled or deionized water.
- 9-** Tools of Quality Control.
- 10-** Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature and transport should be 2 to 8°C. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For *in vitro* diagnostic use only.**
- 2-** Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- 3-** The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store be 2 to 8°C.
- 4-** The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 5-** Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.

- 6-** Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Handle it with care.
- 7-** All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti-HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the bio safety of these products.
- 8-** Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
- 9-** As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
- 10-** You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry, and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test.
- 11-** Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
- 12-** We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
- 13-** To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
- 14-** Do not use the product in case of damaged packaging.
- 15-** It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin)

Hemolysed 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 samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

STABILITY AFTER OPEN

The results of the stability test show that the Biolisa kit SARS-CoV-2 IgG is stable after opening for up to 30 days. This stability may vary according to the conditions of the test and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using internal kit controls and technique validation criteria.

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution

Dilute the contents of the Reagent N° 3 (Concentrate Washing) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation the solution may be stored at 2 to 30°C until expiration date printed on the original bottle. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready for use.

TECHNIQUE

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

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

- 1-** Select the cavities to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the microplate will not be used, for the original sealed packaging.
- 2-** Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
- 3-** Prepare a 1:101 dilution of Samples and Controls in microtube by adding 5 µL plus 500 µL of sample diluent. Homogenize. Observe the color change of the diluent when adding the sample. A color change indicates that the sample was successfully added to the microtube.
- 4-** Pipette 100 µL of Diluted Sample and controls into the previously determined wells. **In the Blank cavity, pipette 100µL of Sample Diluent.**
- 5-** Homogenize gently 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 sealing of wells.
- 8-** Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decanting (Manual). Use approximately 300 µL of Washing Solution, **previously prepared** to perform a total of five (5) washing cycles, with shaking for 5 seconds. To ensure drying of the plate, at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper.
- Note:** Poor washing/drying can cause inadequate results.
- 9-** Pipette 100 µL of Conjugate into all wells. **Except in the Blank cavity.**
- 10-** Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
- 11-** Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
- 12-** Remove the sealer from plate cavities.
- 13-** Repeat item 8.
- 14-** Pipette 100 µL of Substrate into all wells. **Included in the cavity for Blank.**
- 15-** Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
- 16-** Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
- 17-** Remove the sealer from plate cavities.
- 18-** Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells. **Included in the cavity for Blank.**
- 19-** Mix gently for ± 30 seconds.
- 20-** Read using double filter: 450nm / 630nm within up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Verify if the results obtained by the reading of the Blank and Controls are compatible to the values below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.200
Negative Control	< 0.200
Positive Control	> 1.200

If the values are out the expected values, you must repeat the technique.

CALCULATIONS QUALITATIVE

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = (Average Absorbance Positive Control x 0.02) + 0.360
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Postive Control (Reagent N° 8)	A1 = 1.990
	A2 = 2.020
Cut Off = (Average Absorbance Positive Control x 0.02) + 0.360	$((1.990 + 2.020) / 2) \times 0.02 + 0.360 = 0.400$

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

Example:

ITEM	ABSORBANCIA
Sample	1.456
Cut Off Value	0.400
Index = Sample / Cut Off Value	$1.456 / 0.400 = 3.064$

INTERPRETATION OF RESULTS

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

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative	< 0.90
Positive	> 1.1
Undetermined	0.9 – 1.1

Observation: In the case of an undetermined result, the sample must be reanalyzed. Samples that obtain results repeatedly indeterminate conditions must be retested using an alternative method. If results remain indeterminate, a new sample in two weeks. The result of the last sample must prevail collected. For a more complete assessment of the diagnosis and clinical correlation, it is suggested that each sample be tested for IgG and IgM. The results provided by this kit must be interpreted responsible medical professional, and it is not the only criterion for the determining the diagnosis and / or treatment of the patient.

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

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test should not be established with basis of a single trial. Other confirmatory tests should 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 definitive diagnosis of the disease.

INTERFERENT

No interference was observed for 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, Rematoid Factor 980 IU/mL, C Reactive Protein 41.2 mg/dL and Anti Streptolysin O 1023 IU/mL. Plasma samples stored for periods longer than those recommended by this instruction for use (30 days) may show fibrin and fibronectin precipitation that may interfere with the test. These samples must not be used. Samples collected with anticoagulants other than those mentioned in this instruction for use (EDTA and Heparin) should not be used.

CROSS REACTIVITY

A cross-reactivity study was carried out, evaluating 132 samples negative for SARS-CoV-2, but positive for other infections. Among they 12 samples positive for Influenza, 27 positive for Rhinovirus, 13 positive samples for Respiratory Syncytial Virus, 10 positive samples for Zika, 10 positive samples for Dengue, 10 positive samples for Chikungunya, 10 samples positive for Toxoplasmosis, 10 samples positive for Rubella, 10 HIV positive samples, 10 samples positive for HBV and 10 positive samples for HCV. It was not observed cross-reactivity with positive samples for Influenza, Rhinovirus, Respiratory syncytial virus, Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Rubella, HIV, HBV and HCV. Despite the results found, it is not can completely rule out the possibility of cross-reactivity. The final diagnosis should consider the patient's clinical data together with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

PRUDUCT PERFORMANCE ACCURACY

Repetibility

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

Repetibility	SAMPLE		
	1	2	3
Average	2.039	1.164	0.233
Standard Deviation	0.032	0.029	0.015
Coefficient of Variation (%)	1.59	2.49	6.40

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	2.050	1.148	0.230
Standard Deviation	0.032	0.030	0.014
Coefficient of Variation (%)	1.54	2.61	6.21

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

BIOLISA SARS-CoV-2 IgG Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA SARS-CoV-2 IgG kit is 92.6% and clinical specificity is 92.0%.

	Expected Result	BIOLISA SARS-CoV-2 IgG
Positive Sample	54	50
Negative Sample	50	46

Clinical Sensitivity: (50/54)= 92.6% (IC 95%: 85.8% - 99.3%)

Clinical Specificity: (46/50)= 92.0% (IC 95%: 84.7% - 99.2%)

DIAGNOSTIC 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 cold common to more serious diseases, such as the Eastern Respiratory Syndrome (MERS-CoV) and Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV). In December 2019, a series of cases of pneumonia caused disease appeared in Wuhan in China, with clinical symptoms very similar to viral pneumonia, after complete sequencing of the respiratory samples was found to be Coronavirus infection, which it was called the new coronavirus (2019-nCoV). In approximately 150 countries on all continents have already been reported cases of infection.

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 sérum samples. WHO/DIL/ LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
3. CLINICALAND 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.
4. Corman VM, Landt O, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019- nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
5. 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.
6. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

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: +55313439.5454 | 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 SARS-CoV-2 IgG kit: 10269360330

Review: March/2023

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