

Bioclin

BIOLISA HBsAg

REF **K120**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE
O kit BIOLISA HBsAg é um teste de terceira geração para a detecção qualitativa da presença do antígeno de superfície do vírus da Hepatite B no soro ou plasma (EDTA ou Heparina) humano. O teste utiliza anticorpos monoclonais para detectar vários subtipos do HBsAg no soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO
Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA HBsAg é um ensaio imunoenzimático em fase sólida com base no princípio “sanduíche” para a detecção do HBsAg no soro ou plasma humano. A microplaca é revestida com anticorpos monoclonais específicos para vários subtipos do HBsAg. Durante o teste, amostra e conjugado são adicionadas à microplaca revestida com anticorpo e então incubadas. Se a amostra contiver HBsAg, este se ligará aos anticorpos que revestem a microplaca e, simultaneamente, se ligarão ao conjugado para formar complexos Anticorpo-HBsAg-Conjugado. Após a incubação a microplaca é lavada para remoção dos materiais não ligados. Após esta etapa, os Substratos A e B são adicionados e incubados, produzindo uma cor azul que indica a quantidade de antígeno de Hepatite B presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação, havendo uma mudança de cor para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

- REAGENTES**
1- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8°C. Microplaca revestida com Anticorpos Anti-HBs.
2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8°C. Anticorpos Anti-HBs ligados à Peroxidase, estabilizante e conservante.
3- Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8°C. Solução Tampão, surfactante e conservante.
4- Substrato A - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo Tetrametilbenzidina (TMB).
5- Substrato B - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo Peróxido de Uréia.
6- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8°C. Ácido Sulfúrico 1N.
7- Controle Negativo - Conservar entre 2 e 8°C. Solução não reativa para HBsAg, HCV, HIV-1 e HIV-2, estabilizante e conservante. **Potencialmente infectante.**
8- Controle Positivo - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo HBsAg e negativo para HCV, HIV-1 e HIV-2, estabilizante e conservante. **Potencialmente infectante.**
9- Seladores de Placa

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 Unidade (96 cavidades)	2 Unidades (96 cavidades)	5 Unidades (96 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	4 Frascos x 50 mL
4- Substrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
5- Substrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 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 1 mL	2 Frascos x 1 mL	5 Frascos x 1 mL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	5 Frascos x 1 mL
9- Seladores de Placa	3 Unidades	5 Unidades	10 Unidades

- EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS**
Materiais contidos no kit:
- Reagentes descritos no quadro anterior
- Instruções de Uso (manual)
Materiais necessários, não contidos nos kit:
1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 50 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
2- Repipetadores para pipetagens repetitivas de volumes de 100 µL e 300 µL, com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
5- Pipetas com volumes reguláveis (200 µL a 1000 µL) para preparação do Substrato.
6- Tubos de ensaio para a preparação dos Substratos A e B.
7- Papel absorvente para secar as microcavidades.
8- Cronômetro ou relógio.
9- Frasco para estocar a Solução de Lavagem, após diluída.
10- Água destilada ou deionizada.
11- Ferramentas de Controle de Qualidade.
12- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE
A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte pode ser feito sob temperatura ambiente (até 30°C) por até 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

- CUIDADOS ESPECIAIS**
1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
3- O envelope contendo as tiras deve ser aberto somente após atingirem a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no invólucro de alumínio, 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- Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para Anti-HIV 1&2 e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação manual 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.
7- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
8- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
9- 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.
10- Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante armazenamento ou etapas de incubação.
11- A Solução de Parada contém Ácido Sulfúrico, que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
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
Utilizar 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 à temperatura de -20°C (freezer).

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

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 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 – Solução de Trabalho
Determinar a quantidade de cavidades que serão utilizadas para preparo de um volume adequado. Preparar a solução misturando partes iguais de Substrato A e Substrato B, 15 minutos antes de sua utilização. Mantenha-o protegido da luz até ser utilizado.
Para cada microcavidade (teste), utilizar:
50 µL de Substrato A + 50 µL de Substrato B
Por exemplo: misture 1 mL de Substrato A e 1 mL de Substrato B para duas tiras de 8 microcavidades (16 testes). Ocorre sobra de reagente.
Usar no máximo até uma (1) hora após preparo.

ESTABILIDADE APÓS ABERTO
Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa HBsAg 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.

- TÉCNICA**
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. Retornar as tiras da microplaca que não serão utilizadas para a embalagem original selada.
1- Separar as microcavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (Podendo ser testados em duplicata).
2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
3- Pipetar 50 µL de Controle Negativo, Controle Positivo e Amostras nas cavidades previamente determinadas.
4- Pipetar 50 µL de Conjugado em todas as cavidades inclusive na cavidade do Branco.
5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
6- Incubar por 80 minutos ± 2 minutos a 37°C ± 2°C.
7- Retirar o selador de placa das cavidades.
8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (manual);
Usar 350 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparada***, para um total de oito (8) ciclos de lavagem.
Ou
Usar 500 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparada***, para um total de seis (6) ciclos de lavagem (exclusivo para equipamentos automáticos).
Nota: Avaliar a capacidade de aspiração e dispensação do equipamento. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.

- 9- ATENÇÃO** Siga um dos seguintes procedimentos:
A) Pipetar 100 µL de Substrato **previamente preparado*** - Solução de Trabalho (A + B) em todas as cavidades.
***Vide PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO**
Ou
B) Pipetar 50 µL de Substrato A em todas as cavidades.
Pipetar 50 µL de Substrato B em todas as cavidades.
10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placa.
11- Incubar por 30 minutos ± 1 minuto em temperatura ambiente (15 - 30°C) ao abrigo da luz.
12- Retirar o selador de placa das cavidades.
13- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.
14- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
15- Ler a 450 nm (filtro primário) / 630nm (filtro secundário) até 30 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA
Verifique se os resultados obtidos para leitura dos controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	REQUISITOS DE VALIDAÇÃO
Branco	< 0,050
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo	> 1,000

As absorbâncias para os Controles acima foram obtidas após a diminuição da absorbância do Branco. Para leitura em filtro único (450 nm) considerar limite de Branco < 0,100. Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS

QUALITATIVO
Calcular a absorbância média do Controle Negativo.
Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Controle Negativo	A1= 0,023
	A2= 0,021
Absorbância média do Controle Negativo	(0,023 + 0,021) / 2 = 0,022

Se os resultados dos Controles forem válidos, calcule o Cut-Off com a seguinte fórmula. Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Cut-Off = Absorbância média do Controle Negativo + 0,025	0,022 + 0,025 = 0,047

Calcular o índice dividindo a absorbância da Amostra pelo valor de Cut-Off. Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Amostra	0,900
Valor de Cut-Off	0,047
Índice: Amostra / Valor de Cut-Off	0,900 / 0,047 = 19,15

RESULTADOS

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 - 1,1

NÃO REATIVA

Amostra com absorbância menor que o Cut-Off é considerada não reativa para antígeno da Hepatite B e pode ser considerada negativa.

REATIVA

Amostra com absorbância superior ao Cut-Off é considerada inicialmente reativa para antígeno da Hepatite B. A amostra deve ser reanalisada em duplicata antes do final da interpretação. A amostra que for reativa em pelo menos uma das reanálises, se presume ser reativa, e deve ser confirmada através de método confirmatório.

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. 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 usados para cálculo dos resultados.

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. Enfim, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis.

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.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

A sensibilidade analítica do kit BIOLISA HBsAg foi determinada utilizando o padrão internacional WHO NISBC 80/549 para HBsAg. A sensibilidade analítica encontrada foi de 0,05 UI/mL que equivale a 0,2 ng/mL.

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

O kit BIOLISA HBsAg analisou amostras clínicas (soro-conversão) em comparação com outro método de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA HBsAg é 100% e a especificidade clínica é de 99,58%.

	TOTAL ESPERADO	BIOLISA HBsAg
Amostra Negativa	5714	5690
Amostra Positiva	400	400

Especificidade: 99,58%

Sensibilidade:100%

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,7541	2,2766	1,3159
Desvio Padrão	0,0857	0,1571	0,1168
Coefficiente de Variação (%)	11,36	6,90	8,88

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,8960	2,5393	1,5161
Desvio Padrão	0,1229	0,2358	0,1767
Coefficiente de Variação (%)	13,72	9,28	11,65

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

HBsAg é um dos primeiros marcadores que aparecem no sangue após a infecção com o vírus da Hepatite B (HBV). Esta infecção do fígado é transmitida através do contato sexual, exposição pelo sangue, pela transmissão de mãe para filho durante o parto ou compartilhamento de objetos perfuro cortantes. Os principais subtipos de HBsAg inclui ad e ay, todos compartilhando o determinante comum 'a'. A infecção pelo HBV provoca uma grande variedade de danos no fígado, como infecção aguda auto - limitante, hepatite fulminante, hepatite crônica com progressão para cirrose e insuficiência hepática, e estado de portador crônico assintomáticos. O vírus HBV em pessoas infectadas, persiste para o resto de suas vidas e pode ser transmitido para outras pessoas. Assim, a Hepatite B se tornou um problema de saúde pública. A infecção pelo HBV resulta em um número aparente de marcadores sorológicos e um dos primeiros desses marcadores é o Antígeno de Superfície de Hepatite B (HBsAg). O HBsAg aparece de 1 - 10 semanas após a exposição e antes das evidências bioquímicas da doença hepática ou icterícia. Três semanas após o início da hepatite aguda quase metade dos pacientes ainda será positivo para o HBsAg. No estado de portador crônico, o HBsAg persiste por 6 - 12 meses, sem soro-conversão para os anticorpos correspondentes. Portanto, a triagem para HBsAg é altamente recomendado para todos os doadores, as mulheres grávidas e pessoas em grupos de alto risco.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1 - 96 testes

Apresentação 2 - 192 testes

Apresentação 3 - 480 testes

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blumberg, B.S. The Discovery of Australian Antigen and its Relation to Viral Hepatitis. Vitro. 1971;7:223.
- Krugman, S. Glies J.P. Viral Hepatitis, Type B (MS-2-Strain). Further Observations on Natural History and Prevention. New England Journal of Medicine. 288, 755.
- Krugman, S. Overby L.R, et al. Viral Hepatitis Type B Studies On Natural History and Prevention Re- examined. New England Journal of Medicine. 300, 101.
- 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 HBsAg na ANVISA: 10269360288

Revisão: Setembro/2020

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> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO

REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA
LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROLE

CONTROLE POSITIVO

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÁMVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

Bioclin

BIOLISA HBsAg

REF **K120**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

El kit BIOLISA HBsAg es un test de tercera generación para la detección cualitativa de la presencia del antígeno de superficie del virus de Hepatitis B en el suero o plasma (EDTA o Heparina) humano. El test utiliza anticuerpos monoclonales para detectar varios subtipos de HBsAg en el suero o plasma. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimainmunoensayo o inmunoenzimático
O kit BIOLISA HBsAg es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida con base en el principio “sándwich” para la detección de HBsAg en el suero o plasma humano. La microplaca es revestida con anticuerpos monoclonales específicos para varios subtipos de HBsAg. Durante el test, muestra y conjugado son adicionadas a la microplaca revestida con anticuerpo y entonces incubadas. Si la muestra se convierte HBsAg, este se ligará a los anticuerpos que revisten la microplaca y, simultáneamente, se ligarán al conjugado para formar complejos Anticuerpo-HBsAg-Conjugado. Luego de la incubación la microplaca es lavada para la remoción de los materiales no ligados. Después de esta etapa, los Sustratos A y B son adicionados e incubados, produciendo un color azul que indica la cantidad de antígeno de Hepatitis B presentes en las muestras. La Solución de Parada es adicionada para interrumpir la reacción, habiendo un cambio de color para amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1- Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Microplaca revestida con Anticuerpos Anti-HBs.
- 2- Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Anticuerpos Anti-HBs ligados la Peroxidasa, estabilizador y conservante.
- 3- Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución Tapón, surfactante y conservante.
- 4- Sustrato A** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo Tetrametilbenzidina (TMB).
- 5- Sustrato B** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo Peróxido de Urea.
- 6- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Ácido Sulfúrico 1N.
- 7- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución no reactiva para HBsAg, HCV, HIV-1 y HIV-2, estabilizador y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Control Positivo** - Almacenar entre 2, y 8°C. Solución conteniendo HBsAg y negativo para HCV, HIV-1 y HIV-2, estabilizador y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Selladores de Placa**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (96 cavidades)	5 Unidades (96 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
3- Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	4 Frascos x 50 mL
4- Sustrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
5- Sustrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 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 1 mL	2 Frascos x 1 mL	5 Frascos x 1 mL
8- Control Positivo	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	5 Frascos x 1 mL
9- Selladores de Placa	3 Unidades	5 Unidades	10 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior
- Instrucciones de Uso (manual)

Materiales necesarios, no contenidos en los kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 50 a 500 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2- Repipetadores para pipetajes repetitivos de volúmenes de 100 µL y 300 µL, con 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- Pipetas con volúmenes regulables (200 µL a 1000 µL) para preparación del Sustrato.
- 6- Tubos de ensayo para la preparación de los Sustratos A y B.
- 7- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 8- Cronómetro o reloj.
- 9- Frasco para almacenar la Solución de Lavado, luego de diluída.
- 10- Agua destilada o deionizada.
- 11- Herramientas de Control de calidad.
- 12- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) durante un máximo de 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- 3- El sobre conteniendo las tiras debe ser abierto solamente luego que alcancen la temperatura ambiente Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en la envoltura de aluminio, sellar y almacenar a 2-8°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- Toda materia prima del producto es analizada y debe ser no reactivo para, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo, esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación manual 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.
- 7- Pipetar los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
- 8- Por medida de protección, debe cubrir la placa durante la reacción.
- 9- Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco y que no hayan burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.
- 10- No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante el almacenamiento o etapas de incubación.
- 11- La Solución de Parada contiene Ácido Sulfúrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.
- 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 a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- 14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- 15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Utilizar suero o plasma (EDTA o Heparina). Muestras hemolizadas o altamente lipémicas no deben ser usadas. Las muestras pueden ser almacenadas bajo refrigeración, entre 2 y 8°C, por el período de máximo 5 días. Si las muestras no pudieran ser analizadas dentro de 5 días, pueden ser almacenadas por hasta 30 días a temperatura de -20°C (freezer).

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado
Diluir el contenido del frasco N°3 (Solución de 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 validad impresa en el frasco original. Puede ser almacenada a temperatura ambiente. **Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.**

Sustrato – Solución de Trabajo

Determinar la cantidad de cavidades a ser utilizadas para el preparo de un volumen adecuado. Preparar la solución mezclando partes iguales del Sustrato A y Sustrato B, 15 minutos antes de su utilización. Manténgalo protegido de la luz hasta ser utilizado. Para cada microcavidad (test), utilizar:
50 µL de Sustrato A + 50 µL de Sustrato B
Por ejemplo: mezcle 1 mL de Sustrato A y 1mL de Sustrato B para dos tiras de 8 microcavidades (16 tests). Ocurre sobra de reactivo. **Usar dentro de una (1) hora después del preparo.**

ESTABILIDAD DESPUÉS DE ABRIR

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa HBsAg es estable después de abrir durant al menos 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.

TÉCNICA

- Antes de iniciar el ensayo, colocar todos los Reactivos, Muestras y Controles para que se establezcan en temperatura ambiente (15 - 30°C) por lo mínimo 40 minutos. Retornar las tiras de la microplaca no serán utilizadas para el embalaje original sellado.
- 1- Separar las microcavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (Pudiendo ser probados en duplicado).
- 2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- 3- Pipetear 50 µL de Control Negativo, Control Positivo y Muestras en las cavidades previamente determinadas.
- 4- Pipetear 50 µL de conjugado en todas las cavidades incluso en la cavidad del Blanco.
- 5- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 6-Incubar por 80 minutos ± 2 minutos a 37°C ± 2°C.
- 7- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 8- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (manual).
- Usar 350 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada***, para efectuar un total de ocho (8) ciclos de lavado. O
- Utilizar 500 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada***, para un total de seis (6) ciclos de lavado (exclusivo para equipos automáticos).
- Nota:** Evaluar la capacidad de aspiración y dispensación del equipo. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente.

9- ATENCIÓN Siga uno de los siguientes procedimientos:

- A)** Pipetear 100 µL de Sustrato **previamente preparado*** - Solución de Trabajo (A + B) en todas las cavidades.
- *Ved PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO**
O
- B)** Pipetear 50 µL de Sustrato A en todas las cavidades
Pipetear 50 µL de Substrato B en todas las cavidades.
- 10- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con sellador de placa.
- 11- Incubar por 30 minutos ± 1 minuto en temperatura ambiente (15 - 30°C) al abrigo de la luz.
- 12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 13- Pipetear 100 µL de Solución de Parada en todas las cavidades.
- 14- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 15- Leer a 450 nm (filtro primario) / 630 nm (filtro secundario) hasta 30 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura de los controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	REQUISITOS DE VALIDACIÓN
Blanco	< 0,050
Control Negativo	< 0,100
Control Positivo	> 1,000

La absorbancia para los Controles encima fueron obtenidas después de la disminución de la absorbancia del Blanco. Para lectura en un solo filtro (450nm) considerar límite de Blanco <0,100. En caso de que los valores se encuentren fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcular la absorbancia promedio del Control Negativo.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Controle Negativo	A1= 0,023
	A2= 0,021
Absorbancia promedio del Control Negativo	(0,023 + 0,021) / 2 = 0,022

Si los resultados de los controles fueran válidos, calcule o Cut-Off con la siguiente fórmula. Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Cut - Off = Absorbancia promedio del Control Negativo + 0,025	0,022 + 0,025 = 0,047

Calcular el índice dividiendo la absorbancia de la Muestra por el valor de Cut-Off. Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	0,900
Valor de Cut-Off	0,047
Índice: Muestra / Valor de Cut-Off	0,900 / 0,047 = 19,15

RESULTADOS

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 - 1,1

NO REACTIVA

Muestra con absorbancia menor que el Cut-Off es considerada no reactiva para antígeno de la Hepatitis B y puede ser considerada negativa.

REACTIVA

Muestra con absorbancia superior al Cut-Off es considerada inicialmente reactiva para antígeno de la Hepatitis B. La muestra debe ser reanalizada en duplicado antes del final de la interpretación. La muestra que sea reactiva por lo menos en uno de los análisis, se presume sea reactiva, y debe ser confirmada a través del método confirmatorio.

Observación: En el caso de resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizada. Las muestras que obtuvieran resultados repetidamente indeterminados deben ser reanalizados utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecieran indeterminados, se debe colectar una nueva muestra en dos semanas. Deve prevalecer el resultado de la ultima muestra recogida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son sólo para ilustración y no se pueden utilizar para calcular o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de un test diagnóstico, no debe ser establecida con base en un único ensayo. Se deben incluir otros tests de confirmación, antes que una muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. En última instancia, todos los resultados deben ser interpretados en conjunto con otras informaciones clínicas disponibles.

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.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica del kit BIOLISA HBsAg fue determinada utilizando el patrón internacional WHO NISBC 80/549 para HBsAg. La sensibilidad analítica encontrada fue de 0,05 UI/mL que es igual a 0,2 ng/mL.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

El kit BIOLISA HBsAg analizó muestras clínicas (suero-conversión) en comparación con otro método de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA HBsAg es 100% y la especificidad clínica es de 99,58%.

	TOTAL ESPERADO	BIOLISA HBsAg
Muestra Negativa	5714	5690
Muestra Positiva	400	400

Especificidad: 99,58%
Sensibilidad: 100%

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,7541	2,2766	1,3159
Desvío Patrón	0,0857	0,1571	0,1168
Coefficiente de Variación (%)	11,36	6,90	8,88

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,8960	2,5393	1,5161
Desvío Patrón	0,1229	0,2358	0,1767
Coefficiente de Variación (%)	13,72	9,28	11,65

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

HBsAg es uno de los primeros marcadores que aparecen en la sangre después de la infección con el virus de la Hepatitis B (HBV). Esta infección del hígado es transmitida a través del contacto sexual, exposición por la sangre, por la transmisión de la madre para el hijo durante el parto o compartir objetos punzo cortantes. Los principales subtipos de HBsAg incluye ad y ay, todos compartiendo el determinante común 'a'. La infección por el HBV provoca una grande variedad de daños en el hígado, como infección aguda auto - limitante, hepatitis fulminante, hepatitis crónica con progresión para cirrosis e insuficiencia hepática, y estado de portador crónico asintomáticos. El virus HBV en personas infectadas, persiste para el resto de sus vidas y puede ser transmitido para otras personas. Así, la hepatitis B se tornó un problema de salud pública. La infección por el HBV resulta en un número aparente de marcadores serológicos y uno de esos primeros marcadores es el Antígeno de Superficie de Hepatitis B (HBsAg). O HBsAg aparece de 1 - 10 semanas después de la exposición y antes de las evidencias bioquímicas de la dolencia hepática o ictericia. Tres semanas después del inicio de la hepatitis aguda casi mitad de los pacientes aún serán positivos para el HBsAg. En el estado de portador crónico, el HBsAg persiste por 6 - 12 meses, sin suero-conversión para los anticuerpos correspondientes. Por lo tanto, la selección para HBsAg es altamente recomendado para todos los donadores, las mujeres embarazadas y personas en grupos de alto riesgo.

NÚMERO DE PRUEBAS

Presentación 1 - 96 pruebas
Presentación 2 - 192 pruebas
Presentación 3 - 480 pruebas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blumberg, B.S. The Discovery of Australian Antigen and its Relation to Viral Hepatitis. Vitro. 1971;7:223.
2. Krugman, S. Glies J.P. Viral Hepatitis, Type B (MS-2-Strain). Further Observations on Natural History and Prevention. New England Journal of Medicine. 288, 755.
3. Krugman, S. Overby L.R, et al. Viral Hepatitis Type B Studies On Natural History and Prevention Reexamined.New England Journal of Medicine. 300, 101.
4. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e 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.: +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 HBsAg en la ANVISA: 10269360288

Revisión: Septiembre/2020

REF

NÚMERO DEL CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DE LOTE

FECHA DE FABRICACIÓN

ESTABLE HASTA
(último día del mês)

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

IVD

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC REP

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO

PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL

CONTROL +

CONTROL POSITIVO

CONTROL -

CONTROL NEGATIVO

RIESGO BIOLÓGICO

INFLAMABLE

CORROSIVO

TÓXICO

CE

MARCADO CE

NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

BIOLISA HBsAg

REF K120

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

BIOLISA HBsAg kit is a third generation test for the qualitative detection of the presence of antigen surface of Hepatitis B virus in human serum or plasma (EDTA or Heparin). The test uses monoclonal antibodies to detect various subtypes of HBsAg in serum or plasma. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
BIOLISA HBsAg kit assay is a solid phase immunoassay based on the principle of "sandwich" for the detection of HBsAg in human serum or plasma. The microplate is coated with monoclonal antibodies specific for several subtypes of HBsAg. During the test, sample and conjugated are added to the microplate coated with antibody and then incubated. If the sample contains HBsAg, this will bind to antibodies that coat the microplate and simultaneously be linked to the conjugate to form complex-conjugate-HBsAg antibody. After incubation the microplate is washed to remove the unbound materials. After this step, the Substrates A and B are added and incubated, producing a blue color indicates that the amount of antigen of Hepatitis B in the samples. The Stop Solution is added to stop the reaction, with a color change to yellow, measured in a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8°C. Microplate coated with Anti-Hbs antibodies.
- 2- Conjugated** - Store between 2 and 8°C. Anti-HBs antibodies bound to Peroxidase, stabilizer and preservative.
- 3- Concentrated Washing** - Store between 2 and 8°C. Buffer Solution, surfactant and preservative.
- 4- Substrate A** - Store between 2 and 8°C. Solution containing Tetramethylbenzidine (TMB).
- 5- Substrate B** - Store between 2 and 8°C. Solution containing Urea Peroxide.
- 6- Stop Solution** - Store between 2 and 8°C. Sulfuric Acid 1N.
- 7- Negative Control** - Store between 2 and 8°C. Solution non-reactive for HBsAg, HCV, HIV-1 and HIV-2, stabilizer and preservative. **Potentially infectious.**
- 8- Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Solution containing HbsAg and negative for HCV, HIV-1 and HIV-2, stabilizer and preservative. **Potentially infectious.**
- 9- Plate Sealers**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1- Sensitized Plate	1 Unit (96 Cavities)	2 Units (96 Cavities)	5 Units (96 Cavities)
2- Conjugate	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
3- Concentrated Washing	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	4 Flasks x 50 mL
4- Substrate A	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
5- Substrate B	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
6- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
7- Negative Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	5 Flasks x 1 mL
8- Positive Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	5 Flasks x 1 mL
9- Plate Sealers	3 Units	5 Units	10 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table
- Usage Instructions (manual)

Required materials not contained in the kit:

- 1- Pipette capable of dispensing volumes of 50 to 500 µL with a lower coefficient of variation than 1,5%.
- 2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 100 µL and 300 µL, with lower coefficient of variation than 1,5% or multicontrol pipette (optional).
- 3- Microplate washer (optional).
- 4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Adjustable volume pipettes (200 µL to 1000 µL) for preparation of the Substrate.
- 6- Test tubes for preparation of the Substrates A and B.
- 7- Paper towel to dry cavities
- 8- Stopwatch or watch.
- 9- Flask to store the Washing Solution, after diluted.
- 10- Distilled or deionized water.
- 11- Tools of Quality Control.
- 12- Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. The transport can be done in under ambient temperature (up to 30°C) for up to 72 (seventy two) hours. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only

- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- 3- The envelope containing the strips should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused microcavities in the aluminum bag, seal and store at 2 - 8°C.
- 4- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 5- Deionized saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents, that can significantly alter the results.
- 6- All the raw material of product is tested and should be non-reactive for Anti HIV 1 & 2 and Anti HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manual manipulation of any product containing serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the biosafety of these products.
- 7- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microcavities.
- 8- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
- 9- 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.
- 10- Do not expose reagents, especially the substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
- 11- Stop Solution contains Sulfuric Acid, which is a strong acid. Handle it with care.
- 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

Use serum or plasma (EDTA or Heparin).
Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used.
Samples may be refrigerated at between 2 and 8°C for a maximum of 5 days. If samples can not be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C (freezer).

PROCESS DESCRIPTION

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of the Flask Nº 3 (Concentrated Washing Solution) 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. Can be stored at room temperature. **In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.**

Substrate - Working Solution

Determine the amount of cavities to be used for preparation of an appropriate volume. Prepare the solution by mixing equal parts of Substrate A and Substrate B, 15 minutes before use. Keep it protected from light until used.

To each microcavity (test), use:

50 µL of substrate A + 50 µL of substrate B

For example, mix 1 mL of Substrate A and 1 mL of Substrate B to two strips with 8 cavities (16 tests). Leftover reagent occurs.

Use no later than one(1) hour after preparation.

STABILITY AFTER OPEN

The results of the stability test show that the Biolisa kit HBsAg is stable after opening for at least 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.

TECHNIQUE

Before starting the assay, bring all Reagents, Samples, and Controls to stabilize at room temperature (15 - 30°C) for at least 40 minutes. Return the strips of the microplate that will not be used to the original sealed packaging.

- 1- Select the microcavities to be used considering: Controls and Samples (They can be tested in duplicate).
- 2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
- 3- Pipette 50 µL Negative Control, Positive Control and Samples in the cavities previously determined.
- 4- Pipette 50 µL of Conjugate into all cavities included in the Blank cavity.
- 5- Homogenize it gently for ± 30 seconds. Cover cavities with plate sealer.
- 6- Incubate for 80 minutes ± 2 minutes at 37°C ± 2°C.
- 7- Remove the plate sealers from cavities
- 8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decanting (manual).
- Use approximately 350 µL of Washing Solution, **previously prepared***, to perform a total of eight (8) wash cycles.

Or

Use approximately 500 µL of Wash Solution, **previously prepared***, for a total of six (6) wash cycles (exclusive to automatic equipment).

Note: Evaluate the aspiration and dispensing capacity of the equipment.
To ensure the drying of the plate, at the end of washing, beat it for a few seconds on absorbent paper.

9- ATTENTION Follow one of the following procedures:

A) Pipette 100 µL of **previously prepared*** Substrate - Working Solution (A + B) in all cavities.

*** See PREPARATION OF REAGENTS**

Or

B) Pipette 50 µL of substrate A in all cavities

Pipette 50 µL of substrate B in all cavities.

10- Homogenize it gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with plate sealer.

11- Incubate for 30 minutes ± 1 minute in room temperature (15 - 30°C) and protected from light.

12- Remove the plate sealer from cavities.

13- Pipette 100 µL of Stop Solution in all cavities.

14- Homogenize gently for ± 30 seconds.

15- Read at 450 nm (primary filter) / 630 nm (secondary filter) 30 minutes maximum.

TECHNIQUE VERIFICATION

Make sure to read the results of Reference Standards are consistent with the figures below:

ITEM	VALIDATION REQUISITES
Blank	< 0,050
Negative Control	< 0,100
Positive Control	> 1,000

The absorbances for the above mentioned Controls were obtained after the reduction of the Blank absorbance. For single filter reading (450 nm) to consider the Blank limit < 0,100. If the values are out of the expected values, you must repeat the technique.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate the average absorbance from Negative Control.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Negative Control	A1 = 0,023
	A2 = 0,021
Average absorbance from Negative Control	(0,023 + 0,021) / 2 = 0,022

If the results from Controls are valid, calculate the Cut-Off using the following formula:
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Cut - Off = Average absorbance from Negative Control + 0,025	0,022 + 0,025 = 0,047

Calculate the index by dividing the sample absorbance by the value of the Cut-Off.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	0,900
Cut-Off Value	0,047
Index: Sample / Cut-Off Value	0,900 / 0,047 = 19,15

RESULTS

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative	< 0,9
Positive	> 1,1
Undetermined	0,9 - 1,1

NON-REACTIVE

Sample with absorbance lower than the Cut - Off is considered non-reactive to Hepatitis B antigen and can be considerate negative.

REACTIVE

Sample with absorbance higher than the Cut - Off is initially considered reactive to Hepatitis B antigen. The sample must be retested in duplicate before the final interpretation. The sample who is considered reactive in at least one of the retests is supposed to be reactive and must be confirmed through the confirmatory method.

Note: In case of undetermined results, the sample must be retested. Samples that results have been obtained repeatedly undetermined should be retested using an alternative method. If the results remain uncertain, one must collect a new sample in two weeks. The result of the last sample collected should prevail.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

Note: The data presented in the examples are for ilustration only and can be used for calculation of the results.

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test, there should not be based on a single run. This should include confirmation of other tests before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. Finally, all results should be interpreted in conjunction with other clinical information available.

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.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
QUALITY CONTROL

Accuracy

ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of the BIOLISA HBsAg kit was determined using the international standard WHO NISBC 80/549 for HBsAg. The analytical sensitivity was 0,05 UI/mL and it is equivalent to 0,2 ng/mL.

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

BIOLISA HBsAg kit analyzed clinical samples (seroconversion) compared with other methods EIA. The results show that the clinical sensitivity of the kit BIOLISA HBsAg is 100% and specificty clinic is 99,58%.

	TOTAL EXPECTED	BIOLISA HBsAg
Negative Sample	5714	5690
Positive Sample	400	400

Specificity: 99,58%
Sensitivity:100%

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,7541	2,2766	1,3159
Standard Deviation	0,0857	0,1571	0,1168
Coefficient of Variation (%)	11,36	6,90	8,88

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

REPRODUCIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,8960	2,5393	1,5161
Standard Deviation	0,1229	0,2358	0,1767
Coefficient of Variation (%)	13,72	9,28	11,65

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

HBsAg is an early marker that appears in the blood after infection with the Hepatitis B (HBV). This liver infection is transmitted through sexual contact, blood exposure, the transmission from mother to child during birth or sharing objects cutting perforation. The main HBsAg subtypes ad and includes ad and ay, all sharing the common determinant 'a'. HBV infection causes a variety of liver damage, such as acute self - limiting, fulminate hepatitis, chronic hepatitis with progression to cirrhosis and liver failure, and chronic carrier state asymptomatic. The HBV virus in infected people, persists for the rest of their lives and can be transmitted to others. Thus, Hepatitis B has become a public health problem. Infection HBV results in an apparent number of serological markers and one of the first of these markers is the Surface Antigen of Hepatitis B (HBsAg). HBsAg appears 1-10 weeks after exposure and before biochemical evidence of liver disease or jaundice. Three weeks after the onset of acute hepatitis almost half of patients will still be positive for HBsAg. At the chronic carrier state, the HBsAg persists for 6-12 months without serum conversion to the corresponding antibodies. Therefore, screening for HBsAg is highly recommended for all donors, pregnant women and people in high risk groups.

NUMBER OF TESTS

Presentation 1 - 96 tests
Presentation 2 - 192 tests
Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Blumberg, B.S. The Discovery of Australian Antigen and its Relation to Viral Hepatitis. Vitro. 1971;7:223.
2. Krugman, S. Glies J.P. Viral Hepatitis, Type B (MS-2-Strain). Further Observations on Natural History and Prevention. New England Journal of Medicine. 288, 755.
3. Krugman, S. Overby L.R, et al. Viral Hepatitis Type B Studies On Natural History and Prevention Reexamined. New England Journal of Medicine. 300, 101.
4. 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: +55 (31) 3439.5454

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for BIOLISA HBsAg kit: 10269360288

Review: September/2020

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



BATCH CODE



DATE OF MANUFACTURE



USED BY
(last day of month)



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



MANUFACTURED BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



INFLAMMABLE



CORROSIVE



POISON



CE MARK



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED