

BIOLISA HCV

REF K128

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos totais para Vírus da Hepatite C (HCV) em soro ou plasma humano, por enzaimunoensaio, em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzaimunoensaio ou imunoenzimático
O Kit BIOLISA HCV é um ensaio imunoenzimático direto de quarta geração, em fase sólida, baseado na detecção qualitativa de anticorpos para o vírus da Hepatite C em soro ou plasma humano.
A microplaca é revestida com antígenos recombinantes de HCV da região do Core, antígenos NS5 e NS3.
Durante os testes, as amostras são adicionadas na microplaca e depois incubadas.
Se as amostras contiverem anticorpos anti-HCV, estes se ligarão aos antígenos que revestem a microplaca para formar complexos antígeno-anticorpo imobilizados.
Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados.
O conjugado previamente preparado é adicionado às cavidades resultando na formação do complexo Antígeno HCV – Anticorpo anti-HCV - Conjugado. Em seguida, a microplaca é novamente incubada.
Após a segunda incubação, a microplaca é lavada para remoção dos materiais não ligados.
Os Substratos A e B são então adicionados e a microplaca é novamente incubada para produzir uma cor azul, que indica a quantidade de anticorpos HCV presente na amostra.
Uma Solução de Parada é adicionada à microplaca para interromper a reação produzindo uma alteração de cor de azul para amarelo. A intensidade da cor, que corresponde à quantidade de anticorpos HCV presente na amostra, é medida com um leitor de microplacas.

REAGENTES

1- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8°C. Microplaca revestida com antígenos recombinantes HCV.
2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8°C. Solução de antígeno de HCV ligado à Peroxidase, em tampão, conservante e estabilizante.
3- Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão, surfactante e conservante.
4- Diluente de Conjugado - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
5- Substrato A - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo Tetrametilbenzidina (TMB).
6- Substrato B - Conservar entre 2 e 8°C. Solução Ácida contendo Peróxido de Uréia.
7- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8°C. Solução de Ácido Sulfúrico 1N.
8- Controle Negativo - Conservar entre 2 e 8°C. Plasma não reativo para anticorpo anti-HCV e conservante. **Potencialmente infectante.**
9- Controle Positivo - Conservar entre 2 e 8°C. Plasma inativado contendo anticorpos anti-HCV e conservante. **Potencialmente infectante.**
10- 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 1,8 mL	2 Frascos x 1,8 mL	5 Frascos x 1,8 mL
3 - Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4 - Diluente de Conjugado	1 Frasco x 24 mL	2 Frascos x 24 mL	5 Frascos x 24 mL
5 - Substrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
6 - Substrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
7 - Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
8 - Controle Negativo	1 Frasco x 1,5 mL	2 Frascos x 1,5 mL	5 Frascos x 1,5 mL
9 - Controle positivo	1 Frasco x 1,5 mL	2 Frascos x 1,5 mL	5 Frascos x 1,5 mL
10 - 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, mas não contidos nos kit:

1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 10, 50 e 100 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 HBsAg e Anti-HIV 1 & 2. 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 o 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 a 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 e 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.

Conjugado

Determinar a quantidade de cavidades que serão utilizadas para preparo de um volume adequado do conjugado.
A preparação do conjugado diluído deve ocorrer 15 minutos antes do uso. Utilize apenas recipiente limpo para evitar a contaminação.
Preparar o conjugado diluindo o Reagente n° 2 (Conjugado) na proporção 1:21 utilizando o Reagente n°4 (Diluente de Conjugado), conforme tabela abaixo.
Homogeneizar a solução, evitando a formação de espuma.
Após o uso, descartar o excesso de solução de Conjugado diluído.

Segue abaixo a tabela de diluições:

Número de cavidades	Volume de R4 necessário (Diluente de Conjugado)	Volume de R2 (Conjugado)
8	1 mL	50 µL
16	2 mL	100 µL
24	3 mL	150 µL
32	4 mL	200 µL
40	5 mL	250 µL
48	6 mL	300 µL
56	7 mL	350 µL
64	8 mL	400 µL
72 - 80	9 mL	450 µL
81 - 96	10 mL	500 µL

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 não utilizadas para a embalagem original selada.
1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles, Amostras e o Branco (se houver), podendo ser testados em duplicata.
2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
3- Pipetar 100 µL de Controle Negativo, Controle Positivo e Amostra nas cavidades previamente determinadas.
4- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
Cobrir as cavidades com o selador de placa.
5- Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 1°C.
6- Retirar o selador de placa das cavidades.
7- 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.
8- Pipetar 100 µL de Conjugado, **previamente preparado***, em cada cavidade exceto na cavidade do Branco (caso tenha feito a opção).
9- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
10- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 1°C.
11- Retirar o selador de placa das cavidades.
12- Repetir o item 7.
13- 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 e 50 µL de Substrato B em todas as cavidades.
14- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
15- Incubar por 15 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 1°C.
16- Retirar o selador de placa das cavidades.
17- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em cada cavidade.
18- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
19- Leia a 450 nm (filtro primário) / 630 nm (filtro secundário) até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Cavidade Branco	< 0,100
Controle Negativo	≤ 0,200
Controle Positivo	≥ 0,600

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

Para cálculo do Cut-Off, calcular a absorbância média do Controle Negativo. Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Controle Negativo	A1 = 0,050
	A2 = 0,060
Absorbância média do Controle Negativo	(0,050 + 0,060) / 2 = 0,055

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

ITEM	ABSORBÂNCIA
Cut-Off = Absorbância média do Controle Negativo + 0,100	0,055 + 0,100 = 0,155

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

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	1,100
Valor de Cut-Off	0,155
Índice: Amostra / Valor de Cut-Off	1,100 / 0,155 = 7,096

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

Não Reativa: Amostra com absorbância menor ou igual ao Cut-Off é considerada não reativa para anticorpos da hepatite C e pode ser considerada negativa.

Reativa: Amostra com absorbância maior que o Cut-Off é considerada reativa para anticorpos da hepatite C, pode ser considerada positiva e deve ser confirmada usando testes de confirmação.

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.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Precisão

REPETIBILIDADE

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

REPETIBILIDADE	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
Média	4,49	9,01	21,79
Desvio padrão	0,32	0,54	1,07
Coefficiente de variação (%)	7,22	5,94	4,91

REPRODUTIBILIDADE

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

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
Média	4,57	9,40	21,63
Desvio padrão	0,46	1,10	0,20
Coefficiente de variação (%)	10,07	11,73	0,94

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA HCV analisou amostras clínicas em comparação com outro método de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA HCV é > 99,9%, e a especificidade clínica é de 99,74%.

BIOLISA HCV x EIA REFERÊNCIA

	TOTAL ESPERADO	BIOLISA HCV
Amostra Positiva	421	421
Amostra Negativa	5169	5156

Sensibilidade: > 99,9% (421/421)

Especificidade: 99,74% (5156/5169)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O vírus da Hepatite C possui um pequeno envelope e é a principal causa da transmissão parenteral de hepatite não-A e não-B. A infecção por HCV provoca uma grande variedade de doença hepática crônica, cirrose e câncer hepático. A principal via de transmissão do vírus é através de transfusão de sangue e hemoderivados, transplante de órgãos, e compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas. Anticorpos contra o HCV são encontrados em mais de 80% dos pacientes com hepatite não-A e não-B. Clonagem do genoma viral tornou possível o desenvolvimento de testes sorológicos que utilizam antígenos recombinantes. O kit BIOLISA HCV é um imunoensaio de terceira geração para a detecção qualitativa da presença de anticorpos anti-HCV IgG em soro ou plasma. O teste utiliza antígenos recombinantes de HCV codificado pelos genes estruturais para ambos (nucleocapsídeo) e proteínas não-estruturais para detectar seletivamente anticorpos contra o HCV em soro ou plasma.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1 - 96 testes

Apresentação 2 - 192 testes

Apresentação 3 - 480 testes

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Choo, Q.L., G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley, and M. Houghton. Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome. Science. 1989;244:359.
- Kuo, G., Q.L. Choo, H.J. Alter, and M. Houghton. An Assay for Circulating Antibodies to a Major Etiologic Virus of Human Non-A, Non-B Hepatitis. Science. 1989;244:362.
- Van der Poel, C. L., H.T.M. Cuyper, H.W. Reesink, and P.N.Lelie. Confirmation of Hepatitis C Virus Infection by New Four-antigen Recombinant Immunoblot Assay. Lancet. 1991;337:317.
- Wilber, J.C. Development and Use of Laboratory Tests for Hepatitis C Infection: A Review. J. Clinical Immunoassay. 1993;16:204.
- Bioclin – Dados de arquivos

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 - Fax: (31) 3439.5455
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 HCV na ANVISA: 10269360304

Revisão: Agosto/2019

REF

NÚMERO DE CATÁLOGO

LOT

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
DIAGNOSTICO IN VITRO

REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA
LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROLE

CONTROLE POSITIVO

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMAVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

BIOLISA HCV

REF K128

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Test para determinación cualitativa de anticuerpos totales para Virus da Hepatitis C (HCV) en suero o plasma humano, por enzimmunoen ensayo, en microplaca. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimmunoen ensayo o inmunoenzimático
El kit BIOLISA HCV es un immunoensayo directo de cuarta generación, en la fase sólida, basada en la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus de la Hepatitis C en suero o plasma humano. La microplaca es revestida con antígenos HCV recombinantes de la región del Core, NS5 y NS3. Durante los tests, las muestras son adicionados en la microplaca y luego incubados.

Si las muestras contuvieran anticuerpos anti-HCV, estos se ligarán a los antígenos que revisten la microplaca para formar complejos antígeno – anticuerpo inmovilizados.

Después de la incubación inicial, la microplaca es lavada para remover los materiales no ligados.

El conjugado previamente preparado es adicionado a las cavidades dando como resultado la formación del complejo Antígeno HCV - Anticuerpo anti-HCV - Conjugado. A continuación se incuba de nuevo la placa.

Luego de la segunda incubación, la microplaca es lavada para la remoción de los materiales no ligados.

Los Sustratos A y B son adicionados y la microplaca es novamente incubada para producir un color azul, que indica la cantidad de anticuerpos HCV presentes en la muestra.

Una Solución de Parada es adicionada a la microplaca para interrumpir la reacción produciendo una alteración de color de azul para amarillo. La intensidad del color, que corresponde a la cantidad de anticuerpos HCV presente en la muestra, es medido con um lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1- Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Microplaca revestida con antígenos recombinante HCV.
- 2- Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución de antígeno de HCV ligado a Peroxidasa, em tampón, conservante e estabilizador.
- 3- Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución Tapón, surfactante y conservante.
- 4- Diluyente de Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución tapón, surfactante, estabilizador y conservante.
- 5- Sustrato A** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo Tetrametilbenzidina (TMB).
- 6- Sustrato B** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución Ácida conteniendo Peróxido de Urea.
- 7- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución de Ácido Sulfúrico 1N.
- 8- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Plasma no reactivo para los anticuerpos anti-HCV y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Plasma inactivado que contiene anticuerpos anti-HCV y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 10- 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 1,8 mL	2 Frascos x 1,8 mL	5 Frascos x 1,8 mL
3 - Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4 - Diluyente de Conjugado	1 Frasco x 24 mL	2 Frascos x 24 mL	5 Frascos x 24 mL
5 - Sustrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
6 - Sustrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
7 - Solución de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
8 - Control Negativo	1 Frasco x 1,5 mL	2 Frascos x 1,5 mL	5 Frascos x 1,5 mL
9 - Control Positivo	1 Frasco x 1,5 mL	2 Frascos x 1,5 mL	5 Frascos x 1,5 mL
10 - 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, pero no contenidos en los kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 10, 50 y 100 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 absorbancia 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 después de diluida.
- 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 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-** Toda materia prima del producto es analizada y debe ser no reactivo para HBsAg, Anti-HIV 1&2. 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-** Pipetear 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 Acido 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 conservadas 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 desionizada. Después de la preparación de la solución se puede almacenar a 2 y 30°C hasta la fecha de validez impresa en el frasco original. Puede ser almacenada a temperatura ambiente. En 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 máximo hasta una (1) hora luego del preparo.**

Conjugado

Determinar la cantidad de cavidades que se utilizarán para la preparación de una cantidad apropiada del conjugado. La preparación del conjugado diluido debe ocurrir 15 minutos antes de su uso. Use solamente recipiente limpio para evitar la contaminación. Preparar el conjugado diluyendo el Reactivo n° 2 (Conjugado) en la proporción 1:21 utilizando Reactivo N° 4 (Diluyente de Conjugado), como se muestra a tabla abajo. Homogeneizar la solución, evitando la formación de espuma. Después de su uso, desechar el exceso de solución de Conjugado diluido.

Vea debajo la tabla de dilución:

Número de Cavidades	Volumen de R4 Necesario (Diluyente de Conjugado)	Volumen de R2 (Conjugado)
8	1 mL	50 µL
16	2 mL	100 µL
24	3 mL	150 µL
32	4 mL	200 µL
40	5 mL	250 µL
48	6 mL	300 µL
56	7 mL	350 µL
64	8 mL	400 µL
72 - 80	9 mL	450 µL
81 - 96	10 mL	500 µL

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 utilizadas para el embalaje original sellado.
- 1-** Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles, Muestras y el Blanco (si hubiera) pudiendo ser probados en duplicado.
- 2-** Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- 3-** Pipetear 100 µL de Control Negativo, Control Positivo y Muestra en las cavidades previamente determinadas.
- 4-** Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 5-** Incubar por 60 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 1°C.
- 6-** Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 7-** Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (manual).
- Usar 350 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada***, para un total de oito (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.
- 8-** Pipetear 100 µL de Conjugado, **previamente preparado***, en cada cavidad excepto en la cavidad del Blanco (caso haya hecho la opción).
- 9-** Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 10-** Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 1°C.
- 11-** Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 12-** Repetir el item 7.
- 13- 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 y 50 µL de Sustrato B en todas las cavidades.
- 14-** Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con o sellador de placa.
- 15-** Incubar por 15 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 1°C.
- 16-** Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 17-** Pipetear 100 µL de Solución de Parada en cada cavidad.
- 18-** Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 19-** Lea a 450 nm (filtro primario) / 630 nm (filtro secundario) hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBANCIA
Cavidad Blanco	< 0,100
Control Negativo	≤ 0,200
Control Positivo	≥ 0,600

Las absorbancias para los controles encima fueron obtenidas después de la disminnución de la absorbancia del Blanco. Para lectura en un solo filtro (450 nm) 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

Para Cálculo de Cut-Off, calcular la absorbancias promedio de Control Negativo.
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo	A1 = 0,050
	A2 = 0,060
Absorbancia promedio de Control Negativo	(0,050 + 0,060) / 2 = 0,055

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

ITEM	ABSORBANCIA
Cut-Off = Absorbancia promedio de Control Negativo + 0,100	0,055 + 0,100 = 0,155

Calcular o Índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut-Off.
Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,100
Valor de Cut-Off	0,155
Índice: Muestra / Valor de Cut-Off	1,100 / 0,155 = 7,096

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

No Reactiva: Muestra con absorbancia menor o igual al Cut-Off es considerada no reactiva para anticuerpos de la hepatitis C y puede ser considerada negativa.

Reactiva: Muestra con absorbancia mayor al Cut-Off es considerada reactiva para anticuerpos de la hepatitis C, puede ser considerada positiva, y debe ser confirmada usando tests de confirmación.

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 regoger 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.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

Precisión

REPETIBILIDAD

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

REPETIBILIDAD	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
Promedio	4,49	9,01	21,79
Desvio patrón	0,32	0,54	1,07
Coefficiente de variación (%)	7,22	5,94	4,91

REPRODUCTIBILIDAD

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

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
Promedio	4,57	9,40	21,63
Desvio patrón	0,46	1,10	0,20
Coefficiente de variación (%)	10,07	11,73	0,94

Sensibilidad y Especificidad Clínica

El kit BIOLISA HCV analizó muestras clínicas en comparación con otro método de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA HCV es > 99,9%, y la especificidad clínica es de 99,74%.

BIOLISA HCV x EIA REFERENCIA		
	TOTAL ESPERADO	BIOLISA HCV
Muestra Positiva	421	421
Muestra Negativa	5169	5156

Sensibilidad: > 99,9% (421/421)
Especificidad: 99,74% (5156/5169)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El virus de la Hepatitis C posee un pequeño sobre y es la principal causa de la transmisión parenteral de hepatitis no-A y no-B. La infección por HCV provoca una grande variedad de dolencia hepática crónica, cirrosis y cáncer hepático. La principal via de transmisión del virus es a través de la transfusión de sangre y hemoderivados, transplante de órganos, y compartir las agujas y jeringas contaminadas. Anticuerpos contra el HCV son encontrados en más de 80% de los pacientes con hepatitis no-A y no-B. Clonage de genoma viral tornó posible el desenvolvimiento de tests sorológicos que utilizan antígenos recombinantes. El kit Biolisa HCV es un immunoensayo de tercera generación para la detección cualitativa de la presencia de anticuerpos anti-HCV IgG en suero o plasma. El test utiliza antígenos recombinantes de HCV codificado por los genes estructurales para ambos (nucleocapsídeo) y proteínas no-estruturales para detectar selectivamente anticuerpos contra el HCV en suero o plasma.

NÚMERO DE PRUEBAS

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

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Choo, Q.L., G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley, and M. Houghton. Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome. Science. 1989;244:359.
2. Kuo, G., Q.L. Choo, H.J. Alter, and M. Houghton. An Assay for Circulating Antibodies to a Major Etiologic Virus of Human Non-A, Non-B Hepatitis. Science. 1989;244:362.
3. Van der Poel, C. L., H.T.M. Cuypers, H.W. Reesink, and P.N.Lelie. Confirmation of Hepatitis C Virus Infection by New Four-antigen Recombinant Immunoblot Assay. Lancet. 1991;337:317.
4. Wilber, J.C. Development and Use of Laboratory Tests for Hepatitis C Infection: A Review. J. Clinical Immunoassay. 1993;16:204.
5. Bioclin – Datos de archivos

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 - Fax: +55 (31) 3439.5455
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 HCV en la ANVISA: 10269360304

Revisión: Agosto/2019

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 INTRUCCIONES
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

MARCADO CE

NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

BIOLISA HCV

[REF] K128

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Test for the qualitative determination of total antibodies to Hepatitis C Virus (HCV) in serum or human plasma, for immunoassay, in microplate. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
BIOLISA HCV kit is an direct enzyme immunoassay fourth generation in solid-phase based on the qualitative detection of antibodies to Hepatitis C virus in human serum or plasma.
The microplate is coated with HCV recombinant antigens of the Core region, NS5 and NS3.
During testing, samples are added and then incubated in the microplate.
If the samples contains anti-HCV antibodies, these will bind to the antigen coating the microplate to form immobilized antibody-antigen complex.
After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials.
The conjugate prepared previously is added to the wells resulting in the formation of the HCV Antigen - anti-HCV Antibody – Conjugate complex.
Then the plate is again incubated.
After the second incubation, the microplate is washed to remove the unbound materials.
The Substrates A and B are then added and the microplate is again incubated to produce a blue color, indicating the amount of HCV antibodies present in the sample.
The Stop Solution is added to microplate to stop the reaction producing a color change from blue to yellow. The color intensity, which is the amount of HCV antibodies in the sample is measured with a microplates reader.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8°C. Microplates coated with recombinant HCV antigens.
- 2- Conjugate** - Store between 2 and 8°C. Solution HCV antigen linked to Peroxidase in buffer, preservative and stabilizer.
- 3- Concentrated Washing** - Store between 2 and 8°C. Buffer solution, surfactant and preservative.
- 4- Conjugate Diluent** - Store between 2 and 8°C. Buffer solution, surfactant, stabilizer and preservative.
- 5- Substrate A** - Store between 2 and 8°C. Solution containing Tetramethylbenzidine (TMB).
- 6- Substrate B** - Store between 2 and 8°C. Acid solution containing Urea Peroxide.
- 7- Stop Solution** - Store between 2 and 8°C. Sulfuric Acid solution 1N.
- 8- Negative Control** - Store between 2 and 8°C. Plasma non-reactive for anti-HCV antibody and preservative. **Potentially infectious.**
- 9- Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Inactivated plasma containing anti-HCV antibodies and preservative. **Potentially infectious.**
- 10- 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 1,8 mL	2 Flasks x 1,8 mL	5 Flasks x 1,8 mL
3- Concentrated Washing	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
4- Conjugate Diluent	1 Flask x 24 mL	2 Flasks x 24 mL	5 Flasks x 24 mL
5- Substrato A	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
6- Substrato B	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
7- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
8- Negative Control	1 Flask x 1,5 mL	2 Flasks x 1,5 mL	5 Flasks x 1,5 mL
9- Positive Control	1 Flask x 1,5 mL	2 Flasks x 1,5 mL	5 Flasks x 1,5 mL
10- Plate Sealers	3 Units	5 Units	10 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 (s) capable of dispensing 10, 50 and 100 µL volumes with a lower coefficient of variation than 1,5%.
- 2- Re-pipettor (s) for repetitive dispensing of volumes of 100 µL and 300 µL, with a lower coefficient of variation than 1,5% or multichannel pipette (optional).
- 3- Micro plate washer (optional).
- 4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Adjustable volume pipettes (200 µL to 1000 µL) for dilution of the substrate.
- 6- Test tubes for dilution of the substrate A and B.
- 7- Paper towel to dry cavities.
- 8- Plastic wrap or micro plate cover for incubation steps.
- 9- Stopwatches or watch.
- 10- Container to store washing solution.
- 11- Distilled or deionized water.
- 12- Tools of Quality Control.
- 13- Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. The transport can be 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 cavities in the aluminum bag, seal and store between 2 and 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- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg and HIV 1 & 2. 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 bio safety of these products.
- 7- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
- 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 (Advisory Service Customer) 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).

DESCRIPTION OF PROCESS

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of the Flask N° 3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled water 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 cavity (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.

Conjugate

Determine the amount of cavities that will be used for the preparation of an appropriate amount of the conjugate.
The preparation of the diluted conjugate should occur 15 minutes before use. Use only clean container to prevent contamination.
To prepare the conjugate by diluting Reagent N°2 (Conjugate) in the ratio 1:21 using Reagent N° 4 (Conjugate Diluent), as shown below.
Homogenize the solution, avoiding the formation of foam.
After use, discard the excess diluted Conjugate solution.

Below the dilution table:

Cavities Number	Volume of R4 Required (Conjugate Diluent)	Volume of R2 (Conjugate)
8	1 mL	50 µL
16	2 mL	100 µL
24	3 mL	150 µL
32	4 mL	200 µL
40	5 mL	250 µL
48	6 mL	300 µL
56	7 mL	350 µL
64	8 mL	400 µL
72 - 80	9 mL	450 µL
81 - 96	10 mL	500 µL

TECHNIQUE

Before starting the assay, bring all Reagents, Samples and Controls to stabilize temperature (15 - 30°C) for at least 40 minutes.
Return unused strips to the original sealed packaging.
1- Select the cavities to be used considering: Controls, Samples and Blank (if there is). They can be tested in duplicates.
2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3- Pipette 100 µL of Negative Controls, Positive Controls and Samples in the cavities previously determined.
4- Homogenize gently for ± 30 seconds.
Cover the cavities with sealer.
5- Incubate for 60 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 1°C.
6- Remove the sealing of the cavities.
7- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decanting (manual);
Use approximately 350 µL of Washing Solution, **previously prepared***, in advance to make a total of eight (8) washing 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.
8- Pipette 100 µL of Conjugate, **previously prepared***, into each cavity except in the Blank (If you have made this choice).
9- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealers.
10- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 1°C.
11- Remove the plate sealer.
12- Repeat item 7.
13- **ATTENTION: follow one of the following procedures:**
A) Pipette 100 µL of the **previously prepared*** Substrate - Working Solution (A + B) in all cavities.
*** See PREPARATION OF WORKING REAGENTS.**
Or
B) Pipette 50 µL of Substrate A and 50 µL Substrate B in all cavities.
14- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with sealer.
15- Incubate for 15 minutes ± 2 minute in an incubator at 37°C ± 1°C.
16- Remove the plate sealer.
17- Pipette 100 µL of Stop Solution to each cavity.
18- Homogenize gently for ± 30 seconds.
19- Perform reading at 450nm (primary filter) / 630 nm (secondary filter) up to 15 minutes maximum.

TECHNIQUE VERIFICATION

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

ITEM	ABSORBANCE
Blank Cavity	< 0,100
Negative Control	≤ 0,200
Positive Control	≥ 0,600

The absorbance for each control were obtained after the Blank absorbance. For a Single Filter reading (450 nm) to consider the Blank limit of < 0,100. If the values are out of the expected values, you must repeat the technique.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

For Cut-Off calculation, calculate the Negative Control average absorbance.

ITEM	ABSORBANCE
Negative Control	A1 = 0,050
	A2 = 0,060
Average Absorbance from Negative Control	(0,050 + 0,060) / 2 = 0,055

If the results obtained from the Control are valid, calculate the Cut-Off according to the formula:
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Cut-Off = Average Absorbance of the Negative Control + 0,100	0,055 + 0,100 = 0,155

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,100
Cut-Off Value	0,155
Index: Sample / Cut-Off Value	1,100 / 0,155 = 7,096

INTERPRETATION OF RESULTS

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

Non-Reactive: Sample with absorbance lower or equal to the Cut-Off is considered non-reactive to Hepatitis C antibodies and can be considerate negative.

Reactive: Sample with absorbance higher than the Cut-Off is considered reactive to Hepatitis C antibodies and can be considerate positive, and must be confirmed using confirmation tests.

Note: In case of indeterminate results, the sample must be retested. Samples that obtain repeatedly indeterminate result 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 date 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.

PRODUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

Accuracy

REPEATABILITY

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

REPEATABILITY	SAMPLE 1	SAMPLE 2	SAMPLE 3
Average	4,49	9,01	21,79
Standard Deviation	0,32	0,54	1,07
Coefficient of Variation (%)	7,22	5,94	4,91

REPRODUCIBILITY

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

REPRODUCIBILITY	SAMPLE 1	SAMPLE 2	SAMPLE 3
Average	4,57	9,40	21,63
Standard Deviation	0,46	1,10	0,20
Coefficient of Variation (%)	10,07	11,73	0,94

Sensitivity and Clinical Specificity

BIOLISA HCV kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA HCV kit is > 99,9% and clinical specificity is 99,74%.

BIOLISA HCV X REFERENCE EIA

	EXPECTED TOTAL	BIOLISA HCV
Sample Positive	421	421
Sample Negative	5169	5156

Sensitivity: > 99,9% (421/421)

Specificity: 99,74% (5156/5169)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The Hepatitis C virus has a small envelope and is the main cause of parenteral transmission of hepatitis non-A, non-B. HCV infection causes a wide variety of chronic liver disease, cirrhosis and liver cancer. The major route of transmission is through blood transfusion and hemoderivatives, organ transplantation, and sharing of contaminated needles and syringes. Antibodies against HCV are found in more than 80% of patients with hepatitis non-A, non-B. Cloning viral genome has made possible the development of serological tests using recombinant antigens. The BIOLISA HCV kit is a third generation immunoassay for the qualitative detection of the presence of anti-HCV IgG in serum or plasma. The test uses recombinant antigens of HCV encoded by the genes for both structural (nucleocapsid) and non-structural proteins to selectively detect HCV antibodies in serum or plasma.

NUMBER OF TESTS

Presentation 1 - 96 tests

Presentation 2 - 192 tests

Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Choo, Q.L., G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley, and M. Houghton. Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome. Science. 1989;244:359.
2. Kuo, G., Q.L. Choo, H.J. Alter, and M. Houghton. An Assay for Circulating Antibodies to a Major Etiologic Virus of Human Non-A, Non-B Hepatitis. Science. 1989;244:362.
3. Van der Poel, C. L., H.T.M. Cuypers, H.W. Reesink, and P.N.Lelie. Confirmation of Hepatitis C Virus Infection by New Four-antigen Recombinant Immunoblot Assay. Lancet. 1991;337:317.
4. Wilber, J.C. Development and Use of Laboratory Tests for Hepatitis C Infection: A Review. J. Clinical Immunoassay. 1993;16:204.
5. Bioclin – Dados de arquivos.

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 - Fax: +55 (31) 3439.5455
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 HCV kit:10269360304

Review: August/2019

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



BATCH CODE



CONTROL



DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



CE MARK



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED