

BIOLISA HCV

[REF] K128

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos totais contra o Vírus da Hepatite C (HCV), em amostras biológicas (soro ou plasma) através de teste de enzimaímunoensaio de quarta geração. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaímunoensaio ou imunoenzimático O BIOLISA HCV é um ensaio imunoenzimático de quarta geração, em fase sólida, baseado no princípio “sanduíche” para a detecção qualitativa de anticorpos totais contra o Vírus da Hepatite C (HCV) em amostras humanas de soro e plasma. A microplaca é revestida com antígenos recombinantes de HCV (Core, NS3, NS4 e NS5). No primeiro momento, a amostra é incubada junto ao Conjugado 1, constituído de antígenos recombinantes de HCV conjugados à biotina. Anticorpos anti-HCV presentes na amostra se ligam aos antígenos de HCV imobilizados na microplaca e aos antígenos biotinilados presentes no Conjugado 1, formando o imunocomplexo antígeno-anticorpo-antígeno biotinilado. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. O Conjugado 2, constituído de estreptavidina conjugada à Peroxidase, é adicionado à microplaca, que é então incubada. A Estreptavidina se liga aos antígenos biotinilados ligados aos anticorpos anti-HCV. Uma nova lavagem é realizada para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a detecção de anticorpos anti-HCV presentes na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação, havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medido em um leitor de microplaca.

REAGENTES

- 1- Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa sensibilizada com antígenos recombinantes de HCV.
- 2- Conjugado 1** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo antígenos recombinantes de HCV ligados à biotina, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, surfactante e conservante.
- 4- Conjugado 2** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo estreptavidina ligada à peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 5- Substrato** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo Peróxido de Ureia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 7- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, estabilizante, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, anticorpos totais anti-HCV, corante, estabilizantes, surfactante 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 (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2 - Conjugado 1	1 Frasco x 6 mL	2 Frascos x 6 mL	5 Frascos x 6 mL
3 - Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4 - Conjugado 2	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
5 - Substrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6 - Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7 - Controle Negativo	1 Frasco x 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	6 Unidades	15 Unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no item anterior.
- Instruções de uso (manual).

Materiais necessários, mas não contidos nos kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- 5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 6- Cronômetro ou relógio.
- 7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
- 8- Água destilada ou deionizada.
- 9- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10- Incubadora de 37 °C ± 2 °C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

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

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.**
- 3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 °C.**
- 4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.**
- 5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.**
- 6- A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.**
- 7- Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBsAg e Anti-HIV 1&2. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.**

- 8- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.**
- 9- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.**
- 10- Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.**
- 11- Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.**
- 12- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.**
- 13- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.**
- 14- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.**
- 15- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.**

AMOSTRAS

Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina)

Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

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

Preparo dos Reagentes de Trabalho

SOLUÇÃO DE LAVAGEM

Diluir o conteúdo do frasco N° 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30 °C durante, pelo menos, 30 dias. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

SUBSTRATO

O Substrato é pronto para o uso.

Técnica

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

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

- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.**
- 2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).**
- 3- Pipetar 50 µL das Amostras, Controle Positivo e Controle Negativo nas cavidades previamente determinadas.**
- 4- Pipetar 50 µL do Conjugado 1, inclusive na cavidade do Branco.**
- 5- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placas.**
- 6- Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.**
- 7- Retirar o selador das cavidades.**

- 8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.**
- Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
- 9- Pipetar 100 µL do Conjugado 2 em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.**
- 10- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.**
- 11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.**
- 12- Retirar o selador de placa das cavidades.**
- 13- Repetir o item 8.**
- 14- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.**
- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.**
- 16- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.**
- 17- Retirar o selador de placa das cavidades.**
- 18- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.**
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.**
- 20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).**

Verificação da Técnica

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	<0,120
Controle Negativo	<0,120
Controle Positivo	>1,200

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

Cálculos

Qualitativo

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:

Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,080

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo	A1 = 2,045
	A2 = 2,033
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,080	((2,045 + 2,033) / 2) x 0,02 + 0,080 = 0,121

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	2,038
Valor de Cut Off	0,121
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	2,038 / 0,121 = 16,84

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

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

RESULTADOS	QUALITATIVO PARA AMOSTRAS DE SORO E PLASMA
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	Entre 0,9 - 1,1

Observação: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados permanecem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

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

INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada por Triglicérides até 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico até 20 mg/dL, Ácido Ascórbico até 2 g/dL, Creatina até 200 mg/dL, Bilirrubina até 1 g/dL, Albumina até 2 g/dL, Hemoglobina até 1000 mg/dL, Ácido Oxálico até 60 mg/dL, Fator Reumatóide até 980 UI/mL, Proteína C Reativa até 41,2 mg/dL e Anti Estreptolisina O até 1023 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 124 amostras negativas para HCV, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 10 amostras positivas para HIV, 10 amostras positivas para HTLV, 10 amostras positivas para HBsAg, 10 amostras positivas para anti-HBs, 10 amostras positivas para Sífilis, 10 amostras positivas para Dengue, 10 amostras positivas para Zika, 4 amostras positivas para Chikungunya, 10 amostras positivas para Doença de Chagas, 10 amostras positivas para CMV, 10 amostras positivas para Rubéola, 10 amostras positivas para Toxoplasmose e 10 amostras positivas para H1N1. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para HIV, HTLV, HBsAg, anti-HBs, Sífilis, Dengue, Zika, Chikungunya, Doença de Chagas, CMV, Rubéola, Toxoplasmose e H1N1. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnostico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

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

DESEMPENHO DO PRODUTO

Precisão

REPETIBILIDADE

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

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	2
Média	1,709	1,500	0,019
Desvio Padrão	0,075	0,119	0,002
Coefficiente de Variação (%)	4,40	7,94	11,66

REPRODUTIBILIDADE

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

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	2
Média	1,575	1,679	0,041
Desvio Padrão	0,057	0,105	0,005
Coefficiente de Variação (%)	3,55	6,34	13,21

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA HCV foi utilizado para a análise de amostras clínicas previamente caracterizadas e confirmadas através de outro método de enzimaimunoensaio de referência. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA HCV é de >99,9% e a especificidade clínica é de >99, 9%.

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA	RESULTADO ESPERADO	BIOLISA HCV
Amostra Positiva	85	85
Amostra Negativa	152	152
Total de Amostras Testadas	237	237

Sensibilidade Clínica: >99,9% (85/85) - IC 95%: 95,8% - 100,0%

Especificidade Clínica: >99,9% (152/152) - IC 95%: 97,6% - 100,0%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Hepatite C, anteriormente chamada de Hepatite não-A e não-B, é uma doença causada pela transmissão parenteral do Vírus da Hepatite C (HCV). O HCV é um vírus envelopado constituído com apenas uma molécula de RNA no seu genoma, que codifica 3 proteínas estruturais (uma proteína do capsídeo ou core e duas proteínas de envelope, E1 e E2) e 7 proteínas não-estruturais (NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B). As principais vias de transmissão do vírus são através de transfusão de sangue e hemoderivados, transplante de órgãos e compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas. A maioria dos casos de infecção por HCV é assintomática e cerca de 15 a 20% possuem sintomas inespecíficos como fadiga, perda de apetite, perda de peso, febre e dor abdominal. Cerca de 50 a 80% dos casos de infecção por HCV se cronicam e podem evoluir para fibrose hepática, cirrose e carcinoma hepatocelular. O diagnóstico sorológico da Hepatite C é o primeiro passo para a identificação dos indivíduos infectados, sendo o diagnóstico precoce o principal meio de reduzir a morbimortalidade causada pelo HCV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- 2- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 3- Warkad, S. D. et al. Developments in the HCV Screening Technologies Based on the Detection of Antigens and Antibodies. Sensors. 2019;19:4257.
- 4- Ministério da Saúde. Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelas Hepatites Virais. 2018.
- 5- 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.
- 6- Wilber, J.C. Development and Use of Laboratory Tests for Hepatitis C Infection: A Review. J. Clinical Immunoassay. 1993;16:204.
- 7- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- 8- 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 HCV na ANVISA: 10269360304

Revisão: Novembro/2021

Português 2/2

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

IVD

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

BIOLISA HCV

[REF] K128

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos totales frente al Virus de la Hepatitis C (HCV) en muestras biológicas (suero o plasma) mediante prueba de inmunoensayo enzimático de cuarta generación. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Inmunoensayo enzimático o inmunoenzimático
El BIOLISA HCV es un ensayo inmunoenzimático de cuarta generación, en fase sólida, basado en el principio "sándwich" para la detección cualitativa de anticuerpos totales frente al virus de la hepatitis C (VHC) en muestras de suero y plasma humanos. La microplaca está recubierta con antígenos recombinantes del HCV (Core, NS3, NS4 y NS5). Al principio, la muestra se incuba con el Conjugado 1, que consiste en antígenos recombinantes del HCV conjugados con biotina. Los anticuerpos anti-HCV presentes en la muestra se unen a los antígenos del HCV inmovilizados en la microplaca y a los antígenos biotinilados presentes en el Conjugado 1, formando el complejo antígeno-anticuerpo-antígeno biotinilado. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. El Conjugado 2, que consiste en estreptavidina conjugada con Peroxidasa, se agrega a la microplaca, que luego se incuba. La Estreptavidina se une a los antígenos biotinilados ligados a los anticuerpos anti-HCV. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el exceso. Después de este paso, se agrega e incuba el sustrato, produciendo un color azul que indica la detección de anticuerpos anti-HCV presentes en la muestra. Se agrega solución de parada para detener la reacción y hay un cambio de color de azul a amarillo medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

1- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa sensibilizada con antígenos recombinantes del HCV.
2- Conjugado 1 - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene antígenos del HCV recombinantes ligados a biotina, tensioactivo, estabilizadores, colorante y conservante.
3- Lavado Concentrado - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, tensioactivo y conservante.
4- Conjugado 2 - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene estreptavidina ligada a peroxidasa, tensioactivo, estabilizadores, colorante y conservante.
5- Sustrato - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene peróxido de urea, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
6- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: ácido clorhídrico 1 M.
7- Control Negativo - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, estabilizador, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
8- Control Positivo - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, anticuerpos totales anti-HCV, colorante, estabilizadores, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
9- Selladores de Placas

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1 - Placa Sensibilizada	1 Unidades (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2 - Conjugado1	1 Vial x 6 mL	2 Viales x 6 mL	5 Viales x 6 mL
3 - Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	2 Viales x 50 mL	5 Viales x 50 mL
4 - Conjugado 2	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
5 - Sustrato	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
6 - Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
7 - Control Negativo	1 Vial x 1 mL	2 Viales x 1 mL	5 Viales x 1 mL
8 - Control Positivo	1 Vial x 1 mL	2 Viales x 1 mL	5 Viales x 1 mL
9 - Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 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 el kit:

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

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

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

CUIDADOS ESPECIALES

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

2- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados exactos.
3- El sobre que contiene la microplaca debe abrirse solo después de alcanzar la temperatura ambiente. Vuelva a colocar las tiras de micropocillos no utilizadas en el sobre, ciérrelo y guárdelo entre 2 y 8 °C.
4- El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.
5- Las columnas desionizantes saturadas liberan agua alcalina, varios iones y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.
6- La solución de parada contiene ácido clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manipúlelo con el debido cuidado.
7- Toda la materia prima del producto está probada y debe ser no reactiva para HBsAg y Anti-HIV 1 & 2. Sin embargo, estas pruebas no ofrecen una seguridad completa en ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga suero es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por tanto, es necesario cuidar la bioseguridad en el manejo de estos productos.

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

9- Como medida de protección, la placa debe cubrirse durante la reacción.

10- Asegúrese de que el fondo de la cavidad esté limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante la prueba.

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

12- Recomendamos aplicar las normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que la eliminación de reactivos y material biológico se realice de acuerdo con la legislación vigente.

13- Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Información de Seguridad de Productos Químicos) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o a solicitud del Cliente SAC (Servicio de Químicos) Servicio) de Quibasa.

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

15- Es fundamental que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

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

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de Abierto

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

Preparación de Reactivos de Trabajo

SOLUCION DE LAVADO

Diluir el contenido del vial No. 3 (Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Una vez preparada, la solución puede almacenarse entre 2 y 30 °C durante al menos 30 días. Puede conservarse a temperatura ambiente. Si se produce la cristalización, calentar a 37 °C hasta que se disuelva.

SUSTRATO

El sustrato está listo para su uso.

Técnica

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

Antes de iniciar el ensayo, deje que todos los reactivos, Controles y Muestras se estabilicen a temperatura ambiente (15 - 30 °C) durante al menos 40 minutos.

1- Separe los pocillos a utilizar considerando: Controles y Muestras (se recomienda probar por duplicado). Devuelva las tiras de microplacas sin usar a su empaque original sellado.

2- Separe la primera cavidad para Blanco (OPCIONAL).

3- Pipetear 50 µL de las Muestras, Control Positivo y Control Negativo en los pocillos previamente determinados.

4- Pipetee 50 µL de Conjugado 1, incluido en la cavidad del blanco.

5- Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubra los pocillos con sellador de placas.

6- Incubar durante 60 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ±2 °C.

7- Retirar el sellador de las cavidades.

8- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavador) o por decantación (Manual). Utilice aproximadamente 300 µL de solución de lavado previamente preparada y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para garantizar el secado de la placa, al final del lavado, golpe la placa durante unos segundos sobre papel absorbente.

Nota: Un lavado / secado deficiente puede causar resultados inapropiados.

9- Pipetee 100 µL de Conjugado 2 en todos los pocillos, incluido el pozo blanco.

10- Mezclar suavemente durante ± 10 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.

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

12- Retire el sellador de placas de los pocillos.

13- Repetir el ítem 8.

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

15- Mezclar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.

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

17- Retirar el sellador de placas de las cavidades.

18- Pipetee 100 µL de Solución de Parada en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.

19- Mezclar suavemente durante ± 30 segundos.

20- Leer con doble filtro: 450 nm / 630 nm en 15 minutos (máximo).

Verificación de la Técnica

Compruebe si los resultados obtenidos para la lectura del Blanco y los Controles son compatibles con los valores que se presentan abajo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Blanco	<0,120
Control Negativo	<0,120
Control Positivo	>1,200

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

Cálculos

Cualitativo

Calcule el Cut Off de acuerdo con la siguiente fórmula:
Cut Off = (Absorbancia de Control Positivo Promedio x 0,02) + 0,080

Ejemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Control Positivo	A1 = 2,045
	A2 = 2,033
Cut Off = (Absorbancia de Control Positivo Promedio x 0,02) + 0,080	((2,045 + 2,033) / 2) x 0,02 + 0,080 = 0,121

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

Ejemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Muestra	2,038
Valor de Cut Off	0,121
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	2,038 / 0,121 = 16,84

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

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

RESULTADOS	CUALITATIVO PARA MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	Entre 0,9 - 1,1

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La interpretación de una prueba de diagnóstico no debe establecerse sobre la base de una sola prueba. Se deben incluir otras pruebas de confirmación antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible, antes del diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

INTERFERENTES

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

INTERFERENTES

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 124 muestras negativas para HCV pero positivas para otras infecciones. Entre ellos 10 muestras positivas para HIV, 10 muestras positivas para HTLV, 10 muestras positivas para HBsAg, 10 muestras positivas para anti-HBs, 10 muestras positivas para Sifilis, 10 muestras positivas para Dengue, 10 muestras positivas para Zika, 4 muestras positivas para Chikungunya, 10 muestras positivas para Enfermedad de Chagas, 10 muestras positivas para CMV, 10 muestras positivas para Rubéola, 10 muestras positivas para Toxoplasmosis y 10 muestras positivas para H1N1. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para HIV, HTLV, HBsAg, anti-HBs, Sifilis, Dengue, Zika, Chikungunya, Enfermedad de Chagas, CMV, Rubéola, Toxoplasmosis y H1N1. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

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

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

Precisión

REPETIBILIDAD

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

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	2
Promedio	1,709	1,500	0,019
Desvio Patrón	0,075	0,119	0,002
Coefficiente de Variación (%)	4,40	7,94	11,66

REPRODUTIBILIDAD

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

REPRODUTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	2
Promedio	1,575	1,679	0,041
Desvio Patrón	0,057	0,105	0,005
Coefficiente de Variación (%)	3,55	6,34	13,21

Sensibilidad y Especificidad Clínica

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

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA	RESULTADO ESPERADO	BIOLISA HCV
Muestra Positiva	85	85
Mustra Negativa	152	152
Total de Muestra Testadas	237	237

Sensibilidad Clínica: >99,9% (85/85) - IC 95%: 95,8% - 100,0%

Especificidad Clínica: >99,9% (152/152) - IC 95%: 97,6% - 100,0%

SIGNIFICADO CLÍNICO

La Hepatitis C, anteriormente llamada hepatitis no A y no B, es una enfermedad causada por la transmisión parenteral del virus de la hepatitis C (HCV). El HCV es un virus envuelto que consta de una sola molécula de RNA en su genoma, que codifica 3 proteínas estructurales (una cápside o proteína central y dos proteínas de la envoltura, E1 y E2) y 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B). Las principales vías de transmisión del virus son la transfusión de sangre y productos sanguíneos, el trasplante de órganos y el intercambio de agujas y jeringas contaminadas. La mayoría de los casos de infección por HCV son asintomáticos y alrededor del 15 al 20% presentan síntomas inespecíficos como fatiga, pérdida de apetito, pérdida de peso, fiebre y dolor abdominal. Aproximadamente del 50 al 80% de los casos de infección por HCV son crónicos y pueden progresar a fibrosis hepática, cirrosis y carcinoma hepatocelular. El diagnóstico serológico de la hepatitis C es el primer paso para identificar a las personas infectadas, siendo el diagnóstico precoz el principal medio para reducir la morbilidad y la mortalidad causadas por el HCV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- 2- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 3- Warkad, S. D. et al. Developments in the HCV Screening Technologies Based on the Detection of Antigens and Antibodies. Sensors. 2019;19;4257.
- 4- Ministério da Saúde. Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelas Hepatites Virais. 2018.
- 5- 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.
- 6- Wilber, J.C. Development and Use of Laboratory Tests for Hepatitis C Infection: A Review. J. Clinical Immunoassay. 1993;16:204.
- 7- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- 8- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

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



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENDIMENTO 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: Noviembre/2021

NÚMERO DEL CATÁLOGO

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

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO

PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL POSITIVO

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 qualitative determination of total antibodies against Hepatitis C Virus (HCV) in biological samples (serum or plasma) through fourth-generation enzyme immunoassay test. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
The BIOLISA HCV is a fourth-generation solid-phase enzyme immunoassay based on the "sandwich" principle for the qualitative detection of total antibodies against Hepatitis C Virus (HCV) in human serum and plasma samples. The microplate is coated with recombinant HCV antigens (Core, NS3, NS4 and NS5). At first, the sample is incubated with Conjugate 1, consisting of recombinant HCV antigens conjugated to biotin. Anti-HCV antibodies present in the sample bind to the HCV antigens immobilized on the microplate and to the biotinylated antigens present in Conjugate 1, forming the antigen-antibody-biotinylated antigen immune complex. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Conjugate 2, consisting of Streptavidin conjugated to Peroxidase, is added to the microplate, which is then incubated. Streptavidin binds to biotinylated antigens bound to anti-HCV antibodies. A new wash is carried out to remove the excess. After this step, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the detection of anti-HCV antibodies present in the sample. The Stop Solution is added to stop the reaction, with a color change from blue to yellow, measured in a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Plate sensitized with recombinant HCV antigens.
- 2- Conjugate 1** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution containing recombinant HCV antigens linked to biotin, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3- Concentrated Washing Solution** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, surfactant and preservative.
- 4- Conjugate 2** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution containing streptavidin linked to peroxidase, surfactant, stabilizers, colorant and preservative.
- 5- Substrate** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6- Stop Solution** - Store at 2 to 8 °C. Contains: 1 M Hydrochloric Acid.
- 7- Negative Control** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**
- 8- Positive Control** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, total anti-HCV antibodies, colorant, stabilizers, surfactant 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	1 Vial x 6 mL	2 Vials x 6 mL	5 Vials x 6 mL
3 - Concentrated Washing Solution	1 Vial x 50 mL	2 Vials x 50 mL	5 Vials x 50 mL
4- Conjugate 2	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
6- Substrate	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
7- Stop Solution	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
8- Negative Control	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	5 Vials x 1 mL
9- Positive Control	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	5 Vials x 1 mL
10- Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the previous item.
- Usage Instructions (manual).

Necessary materials not contained in the kit:

- 1- Pipettes capable of dispensing volumes of 5 to 500 µL with a variation coefficient of less than 1.5%.
- 2- Repipetor for repetitive pipetting of volumes of 500 µL with coefficient of variation less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3- Microplate washer (optional).
- 4- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Absorbent paper to dry the wells.
- 6- Stopwatch or watch.
- 7- Bottle to store the Washing Solution after dilution.
- 8- Distilled or deionized water.
- 9- Quality Control Tools.
- 10- Incubator at 37 °C ± 2 °C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

Storage temperature should be between 2 and 8 °C. Transport at temperatures up to 30°C should not exceed 5 days. Keep out of the light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- **For professional in vitro diagnostic use only.**
- 2- Strictly follow the proposed methodology to obtain exact results.
- 3- The sachet containing the microplate must be opened only after reaching room temperature. Replace the unused microwell strips in the sachet, seal and store at 2 to 8 °C.
- 4- The water used to clean the material must be fresh and free from contaminants.
- 5- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- 6- The Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.
- 7- All raw material of the product is tested and must be non-reactive for HBsAg and Anti-HIV 1 & 2. However, these tests do not offer complete security in the absence of infectious agents. The handling of any product that contains serum is potentially capable of transmitting disease. Therefore, it is necessary to take due care of biosafety in the handling of these products.

- 8- Pipette the reagents always in the same order to minimize the difference in reaction time between the wells.
- 9- As a protection measure, the plate must be covered during the reaction.
- 10- Make sure that the bottom of the cavity is clean and dry and that there are no bubbles on the liquid surface before reading the plate. Do not allow the wells to dry out during the test.
- 11- Do not expose the reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite vapors during storage or incubation steps.
- 12- We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that the disposal of reagents and biological material is carried out in accordance with current legislation.
- 13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Safety Information Sheet for Chemical Products) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Service of Chemicals) Customer Service) of Quibasa.
- 14- Do not use the product in case of damage to the packaging.
- 15- It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin)

Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used. The samples can be kept refrigerated, between 2 and 8 °C, for a maximum period of 5 days. If the samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at a temperature of -20 °C.

PROCESSS DESCRIPTION

Stability After Open

The results of the stability test show that the BIOLISA HCV kit is stable after being opened for at least 30 days. This stability may vary according to the test conditions and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using internal controls of the kit and the criteria for validating the technique.

Preparation of Work Reagents

WASHING SOLUTION

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

SUBSTRATE

The Substrate is ready for use.

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

- Before starting the assay, allow all reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.
- 1- Separate the wells to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return unused microplate strips to the original sealed packaging.
 - 2- Separate the first cavity for Blank (OPTIONAL).
 - 3- Pipette 50 µL of the Samples, Positive Control and Negative Control in the previously determined wells.
 - 4- Pipette 50 µL of Conjugate 1, including in the Blank cavity.
 - 5- Homogenize gently for ± 10 seconds. Cover wells with plate sealer.
 - 6- Incubate for 60 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

- 7- Remove the sealant from the cavities.
- 8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decantation (Manual). Use approximately 300 µL of previously prepared Wash Solution and perform a total of five (5) wash cycles. To guarantee the plate drying, at the end of washing, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.
- Note:** Poor washing/drying may cause inappropriate results.
- 9- Pipette 100 µL of Conjugate 2 into all wells, including the Blank well.
- 10- Mix gently for ± 10 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
- 11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 12- Remove the plate sealer from the wells.
- 13- Repeat item 8.
- 14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells, including the Blank well.
- 15- Mix gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
- 16- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 17- Remove the plate sealer from the wells.
- 18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, including the Blank well.
- 19- Mix gently for ± 30 seconds.
- 20- Read using a double filter: 450 nm / 630 nm within 15 minutes (maximum).

Technique Verification

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

ITEM	ABSORBANCES
Blank	<0.120
Negative Control	<0.120
Positive Control	>1.200

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

Calculations

Qualitative

Calculate Cut Off according to the following formula: Cut Off = (Average Positive Control Absorbance x 0.02) + 0.080
Example:

ITEM	ABSORBANCES
Positive Control	A1 = 2.045
	A2 = 2.033
Cut Off = (Average Positive Control Absorbance x 0.02) + 0.080	((2.045 + 2.033) / 2) x 0.02 + 0.080 = 0.121

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

Example:

ITEM	ABSORBANCES
Sample	2.038
Cut Off Value	0.121
Index = Samples / Cut Off Value	2.038 / 0.121 = 16.84

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

INTERPRETATION OF RESULTS

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

RESULTS	QUALITATITE FOR SERUM AND PLASMA SAMPLES
	INDEX
Negative	< 0.9
Positive	> 1.1
Undetermined	Between 0.9 - 1.1

Note: In the case of an undetermined result, the sample must be reanalyzed. Samples that obtain repeatedly indeterminate results should be retested using an alternative method. If the results remain indeterminate, a new sample should be collected in two weeks. The result of the last collected sample must prevail. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, and it is not the only criterion for determining the diagnosis and / or treatment of the patient.

PROCESS LIMITATIONS

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

INTERFERENTS

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

CROSS REACTIVITY

A cross-reactivity study was carried out, evaluating 124 samples negative for HCV, but positive for other infections. Among them 10 HIV positive samples, 10 HTLV positive samples, 10 HBsAg positive samples, 10 anti-HBs positive samples, 10 Syphilis positive samples, 10 Dengue positive samples, 10 Zika positive samples, 4 positive samples for Chikungunya, 10 samples positive for Chagas Disease, 10 samples positive for CMV, 10 samples positive for Rubella, 10 samples positive for Toxoplasmosis and 10 samples positive for H1N1. No cross-reactivity was observed with positive samples for HIV, HTLV, HBsAg, anti-HBs, Syphilis, Dengue, Zika, Chikungunya, Chagas Disease, CMV, Rubella, Toxoplasmosis and H1N1. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis must consider the patient's clinical data along with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

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

PRODUCT PERFORMANCE

Accuracy

REPEATABILITY

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

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	2
Average	1.709	1.500	0.019
Standard Deviation	0.075	0.119	0.002
Coefficient of Variation (%)	4.40	7.94	11.66

REPRODUTIBILITY

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

REPRODUTIBILITY	SAMPLE		
	1	2	2
Average	1.575	1.679	0.041
Standard Deviation	0.057	0.105	0.005
Coefficient of Variation (%)	3.55	6.34	13.21

Clinical Sensitivity and Specificity

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

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY	EXPECTED RESULT	BIOLISA HCV
Positive Sample	85	85
Negative Sample	152	152
Total Tested Samples	237	237

Clinical Sensitivity: >99.9% (85/85) - IC 95%: 95.8% - 100.0%
Clinical Specificity: >99.9% (152/152) - IC 95%: 97.6% - 100.0%

CLINICAL SIGNIFICANCE

Hepatitis C, formerly called non-A and non-B hepatitis, is a disease caused by the parenteral transmission of Hepatitis C Virus (HCV). HCV is an enveloped virus consisting of only one RNA molecule in its genome, which encodes 3 structural proteins (a capsid or core protein and two envelope proteins, E1 and E2) and 7 non-structural proteins (NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A and NS5B). The main routes of transmission of the virus are through transfusion of blood and blood products, organ transplantation and sharing of contaminated needles and syringes. Most cases of HCV infection are asymptomatic and about 15 to 20% have nonspecific symptoms such as fatigue, loss of appetite, weight loss, fever and abdominal pain. About 50 to 80% of cases of HCV infection become chronic and can progress to liver fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Serological diagnosis of Hepatitis C is the first step in identifying infected individuals, with early diagnosis being the main means of reducing morbidity and mortality caused by HCV.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
 - 2- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002: 31.
 - 3- Warkad, S. D. et al. Developments in the HCV Screening Technologies Based on the Detection of Antigens and Antibodies. Sensors. 2019;19;4257.
 - 4- Ministério da Saúde. Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelas Hepatites Virais. 2018.
 - 5- 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.
 - 6- Wilber, J.C. Development and Use of Laboratory Tests for Hepatitis C Infection: A Review. J. Clinical Immunoassay. 1993;16:204.
 - 7- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
 - 8- 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 HCV kit:.10269360304

Review: November/2021

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