

BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL

REF **K240**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) para *Treponema pallidum*, bactéria causadora da Sífilis, em amostras biológicas (soro, plasma ou sangue total em papel de filtro) através de teste enzimaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou Imunoenzimático
O BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL é um ensaio imunoenzimático em fase sólida com base no princípio “sanduíche” para detecção de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) para *Treponema pallidum* em amostras humanas de soro, plasma ou sangue total em papel de filtro. Anticorpos IgG, IgM e IgA presentes na amostra se ligam aos antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* revestidos na microplaca formando imunocomplexos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Antígenos recombinantes conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca, que é então incubada. Os antígenos conjugados à enzima ligam-se aos anticorpos IgG, IgM e IgA anti-*Treponema pallidum* presentes, ligados à placa revestida com antígeno. 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 quantidade de anticorpos IgG, IgM e IgA anti-*Treponema pallidum* presentes na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplaca.

REAGENTES

1 - Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa sensibilizada com antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* e conservante.
2 - Conjugado - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão contendo antígeno recombinante de *Treponema pallidum* ligado à Peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
3 - Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
4 - Diluente de Amostra - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão, estabilizantes, surfactante, 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 IgG, IgM e IgA anti-*Treponema pallidum*, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
9 - Seladores de Placa.
10 - Tampão de Eluição em Papel de Filtro - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
11 - Controle Negativo de Extração - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Amostra não reativa para anticorpos IgG, IgM e IgA anti-*Treponema pallidum* impregnada em papel de filtro. **Potencialmente infectante.**
12 - Controle Positivo de Extração – Conservar ente 2 e 8 °C. Contém: Amostra reativa para anticorpos IgG, IgM e IgA anti-*Treponema pallidum* impregnada em papel de filtro. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

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

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

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

Materiais necessários não contidos no kit:

1 - Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 100 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
2 - Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 100 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
3 - Lavadora de microplaca (opcional).
4 - Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
5 - Papel absorvente para secar as microcavidades.
6 - Cronômetro ou relógio.
7 - Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
8 - Água destilada ou deionizada.
9 - Ferramentas de Controle de Qualidade.
10 - Incubadora de 37 °C ± 2 °C.
11 - Picotador de papel (diâmetro de 3 mm) para técnica de papel de filtro.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas 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 estocar de 2 e 8 °C.
4 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
5 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
6 - A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
7 - Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBsAg, Anti-HIV 1&2 e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.
8 - Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.

9 - Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
10 - Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco, e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.
11 - Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.
12 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
13 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as 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.

Sangue Total em Papel de Filtro

Sangue Total (EDTA ou Punção)

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

DESCRIÇÃO NO PROCESSO

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

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco Nº 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30 °C até a data de validade impressa no frasco original. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

SUBSTRATO

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA PARA USO EM EQUIPAMENTO

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

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Amostras e Controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.
1 - Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
2 - Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
3 - Pipetar 100 µL de Diluente de Amostra, inclusive na cavidade para o Branco.
4 - Pipetar 5 µL de Amostra e Controles nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do diluente no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao poço corretamente.
5 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
6 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
7 - Retirar o selador das cavidades.
8 - Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente. Nota: Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
9 - Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.

10 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
11 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
12 - Retirar o selador de placa das cavidades.
13 - Repetir o item 8.
14 - Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
15 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
16 - Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
17 - Retirar o selador de placa das cavidades.
18 - Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
19 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
20 - Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras e controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.
1 - Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controle Positivo, Controle Negativo, Controle Positivo de Extração, Controle Negativo de Extração e Amostras de Sangue Total em Papel de Filtro (recomenda-se testar em duplicata). Retomar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
2 - Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
3 - Adicionar um disco de 3mm do Controle Positivo de Extração, Controle Negativo de Extração e Amostras de Sangue Total em Papel de Filtro, previamente picotados, nas cavidades determinadas.
4 - Pipetar 100 µL do Tampão de Eluição em Papel de Filtro, inclusive na cavidade para o Branco.
5 - Pipetar 5 µL de Controles Positivo e Negativo nas cavidades previamente determinadas.
6 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
7 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
8 - Retirar o selador das cavidades.
9 - Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Retirar os discos de papel, caso necessário, com auxílio de uma agulha ou ponteira. Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente. Nota: Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
10 - Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
11 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
12 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
13 - Retirar o selador de placa das cavidades.
14 - Repetir o item 9.
15 - Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
16 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
17 - Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
18 - Retirar o selador de placa das cavidades.
19 - Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
20 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
21 - Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,200
Controle Negativo	< 0,200
Controle Positivo	> 1,000
Controle Negativo de Extração	< 0,200
Controle Positivo de Extração	> 0,500

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

CÁLCULOS
QUALITATIVO
Amostra de Soro e Plasma

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,01) + 0,100
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente N° 8)	A1 = 1,944
	A2 = 1,945
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,01) + 0,100	Cut Off = ((1,944 + 1,945) /2 x 0,01) + 0,100
	Cut Off = 0,119

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,41
Valor de Cut Off	0,119
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	Índice = 1,41 / 0,119
	Índice = 11,84

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

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,01) + 0,100
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente N° 8)	A1 = 1,944
	A2 = 1,945
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,01) + 0,100	Cut Off = ((1,944 + 1,945) / 2 x 0,01) + 0,100
	Cut Off = 0,119

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	0,965
Valor de Cut Off	0,119
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	0,965 / 0,119
	Índice = 8,11

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

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

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

RESULTADOS	QUALITATIVO PARA AMOSTRAS DE SORO, PLASMA E SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO
	ÍNDICE
Negativo	< 0,90
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 1,1

Observação: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados 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 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatóide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL..

REATIVIDADE CRUZADA
Amostra de Soro e Plasma

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 100 amostras negativas para sífilis, mas positivas para outras infecções. Foras testadas 10 amostras positivas para cada uma das seguintes infecções: Citomegalovirus, HIV, Zika, HBV, HCV, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmose, Malária e Leptospirose. Não foi observado reatividade cruzada com nenhuma das amostras. 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.

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 82 amostras negativas, de sangue total em papel filtro, para sífilis, mas positivas para outras infecções. Dentre elas, 9 eram positivas para Zika, 11 para Toxoplasmose, 13 para Rubéola, 8 para Chagas, 5 para HIV, 10 para HCV, 7 para Citomegalovírus, 9 para HBV, 7 para Malária e 3 para Leptospirose. Não foi observado reatividade cruzada com nenhuma das amostras. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnostico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

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

DESEMPENHO DO PRODUTO
Precisão

REPETIBILIDADE

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

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,678	1,082	0,055
Desvio padrão	0,098	0,087	0,011
Coefficiente de variação (%)	14,475	8,041	19,861

REPRODUTIBILIDADE

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

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,519	1,125	0,060
Desvio padrão	0,082	0,110	0,010
Coefficiente de variação (%)	11,849	9,659	17,089

Sensibilidade e Especificidade Clínica
Amostra de Soro e Plasma

O kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL é >99,9% e a especificidade clínica é > 99,9%.

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA	Resultado Esperado	BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL
Amostra Positiva	165	165
Amostra Negativa	101	101
Total de Amostras Testadas	266	

Sensibilidade Clínica: >99,9% (165/165) - IC 95%: 97,8% - 100%
Especificidade Clínica: >99,9% (101/101) - IC 95%: 96,4% - 100%

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

O kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL é 98,21% e a especificidade clínica é > 99,9%.

	Resultado Esperado	BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL
Amostra Positiva	56	55
Amostra Negativa	51	51
Total de Amostras Testadas	107	

Sensibilidade Clínica: 98,21% (56/55) IC 95%: 90,4% - 100%
Especificidade Clínica: >99,9% (51/51) IC 95%: 93,0% - 100%

SIGNIFICADO CLÍNICO

A Sífilis é uma doença infectocontagiosa sistêmica, de evolução crônica, causada pelo *Treponema pallidum*, que evolui lentamente em três estágios, caracterizada por lesões da pele e mucosas. Pode ser transmitida por contato sexual, configurando-se assim como uma doença sexualmente transmissível e, mais raramente, por contaminação feto-placentária (sífilis congênita). As primeiras manifestações ocorrem após um período de incubação de duração média de 21 dias, podendo variar de 3 até 90 dias. A doença apresenta três fases distintas, com manifestações características em cada uma e um período de latência (sem sintomas) entre a segunda e a terceira fase. Na fase primária, ocorre a lesão clássica nos genitais, porta de entrada do Treponema, chamada de cancro. O cancro leva em média 3 a 6 semanas para se curar, podendo não deixar marca alguma. A fase secundária ocorre após 4 a 8 semanas do surgimento do cancro, podendo inclusive esta lesão, ainda, estar presente. Nesta fase, ocorre a maior quantidade de treponemas no organismo. A fase terciária é a fase de inflamação progressiva e lenta (crônica) com sintomas relacionados aos órgãos predominantemente comprometidos, é destrutiva e incapacitante. O diagnóstico pode-se realizar: por métodos de detecção de anticorpos não- específicos (que utilizam antígenos não-treponêmicos) cuja interpretação é visual, e por métodos imunoenzimáticos (ELISA) que detectam a presença de anticorpos específicos contra o *Treponema pallidum* em amostras de pacientes que se encontram em diferentes estágios da doença.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- Avelleira JCR, Bottino G. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. An Bras Dermatol. 2006;81(2):111-26.
- Testes para diagnósticos da Sífilis. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Testes para diagnósticos da Sífilis – Conitec, N° 159 Maio 2015.
- Montiel, Milagros; Arias, Julia; Pozo, Elieth y Mogollón, Adrian. Importancia de las pruebas específicas e inespecíficas para el diagnóstico de sífilis en donantes de sangre. Rev. Kasmera 36(2): 169 - 176, 2008
- BRASIL. Ministerio da Saude. Secretaria de Vigilancia em Saude. Guia de Vigilancia em Saude/Ministerio da Saude, Secretaria de Vigilancia em Saude. Brasilia: Ministerio da Saude, 2014a.812 p. Disponível em: www. saude.gov.br/bvs.
- HORVATH, A. Biology and natural history of syphilis. In: GROSS, G. Sexually transmitted infections and sexually transmitted diseases. [S.l.]: Springer, 2011. p.
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- 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 SÍFILIS Ac TOTAL na ANVISA: 10269360343

Revisão: Outubro/2021

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMAVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNOSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

Bioclin

BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL

REF **K240**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) para *Treponema pallidum*, bacteria causante de la Sífilis, en muestras biológicas (suero, plasma o sangre completa en papel de filtro) mediante prueba de inmunoensayo enzimático. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Inmunoensayo enzimático o Inmunoenzimático
El kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio "sándwich" para la detección de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) para *Treponema pallidum* en suero, plasma y sangre completa en papel de filtro humano. Los anticuerpos IgG, IgM e IgA presentes en la muestra se unen a los antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* que recubren la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Los antígenos recombinantes conjugados con Peroxidasa se agregan a la microplaca, que luego se incuba. Los antígenos conjugados con enzimas se unen a los anticuerpos anti-*Treponema pallidum* IgG, IgM e IgA presentes, unidos a la placa recubierta de antígeno. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el sobrante. Luego de esta etapa, se agrega e incuba el Sustrato, produciendo un color azul que indica la cantidad de anticuerpos IgG, IgM e IgA anti-*Treponema pallidum* presentes en la muestra. Se agrega la Solución de Parada para detener la reacción con un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

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

PRESENTACIÓN

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

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

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

Materiais necesarios, mas no contenidos en el kit:

- 1 - Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2 - Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3 - Lavadora de microplaca (opcional).
- 4 - Lectora de ELISA con capacidad de absorbencia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5 - Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 6 - Cronómetro o reloj.
- 7 - Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluirla.
- 8 - Agua destilada o deionizada.
- 9 - Herramientas de Control de Calidad
- 10 - Incubadora de 37 °C ± 2 °C.
- 11 - Picotador de papel (diámetro de 3 mm) para la técnica de papel de filtro.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 a 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 diagnóstico *in vitro* profesional.**
- 2 - Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- 3 - El sobre de aluminio conteniendo las microplacas debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar entre 2 y 8 °C.
- 4 - El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
- 5 - Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 6 - La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.
- 7 - Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo, esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.

- 8 - Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
- 9 - Por medida de protección, debe cubrir la placa durante la reacción.
- 10 - Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco, y que no haya burbujas en la superfi cie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.
- 11 - No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante el almacenamiento o etapas de incubación.
- 12 - Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- 13 - Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando 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

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

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

Sangre Total en Papel de Filtro

Sangre Total (EDTA o Punción)

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

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa SÍFILIS Ac TOTAL es estable después de abrir durante al menos 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba y el medio ambiente. Por lo tanto, se sugiere controlar el rendimiento del producto, utilizando controles internos del kit y criterios de validación técnica.

Preparo de los reactivos del trabajo

Solución de Lavado

Diluir el contenido del Reactivo Nº 3 (Lavado Concentrado) em 1000 mL de agua destilada o deionizada. Después de la preparación de la solución se puede almacenar a 2 a 30 °C hasta la fecha de validad impresa en el frasco original. Caso ocurra cristalización, calentar a 37 °C hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA PARA USO EN EQUIPOS

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

Muestras de Suero o Plasma

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

- 1 - Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retornar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.
- 2 - Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- 3 - Pipetear 100 uL de Diluyente de Muestra, incluso en la cavidad para el Blanco.
- 4 - Pipetear 5 uL de Muestra y Controles en las cavidades previamente determinadas. Observe el cambio de color del diluyente al agregar la muestra. Un El cambio de color indica que la muestra se agregó correctamente al microtubo.
- 5 - Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.
- 6 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 7 - Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 8 - Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, previamente preparada, para un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía del secado de la placa, al fi nal del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente. Nota: Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.

- 9 - Pipetear 100 µL de Conjugado en todas las cavidades.
- 10 - Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
- 11 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora 37 °C ± 2 °C.
- 12 - Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 13 - Repetir el ítem 8.
- 14 - Pipetear 100 µL Sustrato en todas las cavidades.
- 15 - Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 16 - Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 17 - Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 18 - Pipetear 100 µL de Solución de Parada en todas las cavidades.
- 19 - Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20 - Leer utilizando filtro doble: 450nm / 630nm en hasta 15 minutos (no máximo).

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

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

- 1 - Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Control de Extracción Positiva, Control de Extracción Negativa y Muestras de Sangre Total en Papel Filtro (recomiendo testar en duplicado). Retornar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.
- 2 - Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- 3 - Agregar un círculo de 3mm de Control Positivo de Extracción, Control Negativo de Extracción y Muestras de Sangre Total en Papel Filtro previamente pictados, en las cavidades determinadas.
- 4 - Pipetear 100 µL Tampón de Elución en Papel de Filtro. Incluso en la cavidad para el Blanco.
- 5 - Pipetear 5 µl de Control en las cavidades previamente determinado.
- 6 - Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.
- 7 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 8 - Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 9 - Deseche el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual). Retire los discos de papel, si es necesario, con la ayuda de una aguja o punta. Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, previamente preparada, para un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía del secado de la placa, al fi nal del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente. Nota: Lavado/secado defi ciente puede causar resultados inadecuados.
- 10 - Pipetee 100 µL de Conjugado en todas las cavidades.
- 11 - Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
- 12 - Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora 37 °C ± 2 °C.
- 13 - Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 14 - Repetir el ítem 9.
- 15 - Pipetear 100 µL Sustrato en todas las cavidades.
- 16 - Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 17 - Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 18 - Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 19 - Pipetear 100 µL de Solución de Parada a todas las cavidades.
- 20 - Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 21 - Leer utilizando filtro doble: 450nm/630nm en hasta 15 minutos (no máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,200
Control Negativo	< 0,200
Control Positivo	> 1,000
Control Negativo de Extracción	< 0,200
Control Positivo de Extracción	> 0,500

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

CÁLCULOS
CUALITATIVO
Muestras de Suero o Plasma

Calcule el Cut Off según la siguiente fórmula:
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,01) + 0,100
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N° 8)	A1 = 1,944
	A2 = 1,945
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,01) + 0,100	Cut Off = ((1,944 + 1,945) / 2 x 0,01) + 0,100
	Cut Off = 0,119

Calcule el Índice dividiendo la absorbancia de la Muestra por el valor de Cut Off.
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,41
Valor del Cut Off	0,119
Índice = Muestra / Valor del Cut Off	Índice = 1,41 / 0,119
	Índice = 11,84

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

Muestra de Sangre Total en Papel de Filtro

Calcule el Cut Off según la siguiente fórmula:
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,01) + 0,100
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N° 8)	A1 = 1,944
	A2 = 1,945
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,01) + 0,100	Cut Off = ((1,944 + 1,945) / 2 x 0,01) + 0,100
	Cut Off = 0,119

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

ITEM	ABSORBANCE
Muestra	0,965
Valor del Cut Off	0,119
Índice = Muestra / Valor del Cut Off	Índice= 0,965 / 0,119
	Índice = 8,11

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

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

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

RESULTADOS	CUALITATIVOS PARA MUESTRA DE SUERO, PLASMA Y SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO
	INDICE
Negativo	< 0,90
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 1,1

Observación: En el caso de un resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizado. Las muestras que obtienen resultados indeterminados repetidamente se deben volver a analizar utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecen indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra en dos semanas. El resultado de la última muestra recolectada debe prevalecer. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, y no es el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente. Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no pueden utilizarse para calcular los resultados.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La interpretación de una prueba de diagnóstico no debe establecerse con base en un solo ensayo. Deben incluirse otras pruebas confirmatorias, antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible. antes del diagnóstico definitivo de la enfermedad.

INTERFERENTE

No se observó interferencia para el Triglicéridos 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Factor Rematoide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y Anti Estreptolisina O 1023 UI/mL.

REACTIVIDAD CRUZADA

Muestra de Suero o Plasma

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 100 muestras negativas para sífilis, pero positivas para otras infecciones. Entre ellos, 10 muestras positivas para cada una de las siguientes infecciones: Citomegalovirus, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Malaria y Leptospirosis. No se observó reactividad cruzada con ninguna de las muestras. Apesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 82 muestras de sangre total en papel de filtro, que resultaron negativas para sífilis, pero positivas para otras infecciones. Entre ellos, 9 muestras positivos para Zika, 11 para Toxoplasmosis, 13 para Rubéola, 8 para Chagas, 5 para Malaria y 3 para Leptospirosis. No se observó reactividad cruzada con ninguna de las muestras. Apesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

Precisión

REPETIBILIDAD

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

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,678	1,082	0,055
Desvio Patrón	0,098	0,087	0,011
Coefficiente de Variación (%)	14,475	8,041	19,861

REPRODUCTIBILIDAD

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

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,519	1,125	0,060
Desvio Patrón	0,082	0,110	0,010
Coefficiente de Variación (%)	11,849	9,659	17,089

Sensibilidad e Especificidad Clínica

Muestras de Suero y Plasma

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

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA	Resultado Esperado	BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL
Muestra Positiva	165	165
Muestra Negativa	101	101
Total de Muestras Testadas	266	

Sensibilidad Clínica: >99,9% (165/165) - IC 95%: 97,8% - 100%
Especificidad Clínica: >99,9% (101/101) - IC 95%: 96,4% - 100%

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

El kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL es 98,21% y la especificidad clínica de > 99,9%.

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA	Resultado Esperado	BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL
Muestra Positiva	56	55
Muestra Negativa	51	51
Total de Muestras Testadas	107	

Sensibilidad Clínica: 98,21% (56/55) IC 95%: 90,4% - 100%
Especificidad Clínica: >99,9% (51/51) IC 95%: 93,0% - 100%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La sífilis es una enfermedad infecciosa sistémica, de evolución crónica, causada por *Treponema pallidum*, que evoluciona lentamente en tres etapas, caracterizada por lesiones de la piel y mucosas. Puede transmitirse por contacto sexual, convirtiéndose así en una enfermedad de transmisión sexual y, más raramente, por contaminación fetal-placentaria (sífilis congénita). Las primeras manifestaciones ocurren después de un período de incubación promedio de 21 días, que puede variar de 3 a 90 días. La enfermedad tiene tres fases distintas, con manifestaciones características en cada una y un período de latencia (sin síntomas) entre la segunda y la tercera fase. En la fase primaria, hay una lesión clásica en los genitales, la puerta de entrada al Treponema, llamada chancro. El chancro tarda un promedio de 3 a 6 semanas en sanar y es posible que no deje marcas. La fase secundaria ocurre después de 4 a 8 semanas del inicio del chancro, e incluso esta lesión puede estar presente. En esta etapa, la mayor cantidad de treponemas ocurre en el cuerpo. La fase terciaria es la fase de inflamación progresiva y lenta (crónica) con síntomas relacionados con Órganos predominantemente órganos comprometidos, es destructiva e invalidante. El diagnóstico se puede realizar: mediante métodos de detección de anticuerpos inespecíficos (utilizando antígenos no treponémicos) cuya interpretación es visual, y mediante métodos inmunoenzimáticos (ELISA) que detectan la presencia de anticuerpos específicos frente a *Treponema pallidum* en muestras de pacientes que se encuentran en diferentes etapas de la enfermedad.

- 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. Avelleira JCR, Bottino G. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. An Bras Dermatol. 2006;81(2):111-26.

4. Testes para diagnósticos da Sífilis. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Testes para diagnósticos da Sífilis – Conitec, N° 159 Maio 2015.

5. Montiel, Milagros; Arias, Julia; Pozo, Elieth y Mogollón, Adrian. Importancia de las pruebas específicas e inespecíficas para el diagnóstico de sífilis en donantes de sangre. Rev. Kasmera 36(2): 169 - 176, 2008

6. BRASIL. Ministerio da Saude. Secretaria de Vigilância em Saude. Guia de Vigilância em Saude/Ministerio da Saude, Secretaria de Vigilância em Saude. Brasília: Ministerio da Saude, 2014a.812 p. Disponivel em: www. saude.gov.br/bvs.

7. HORVATH, A. Biology and natural history of syphilis. In: GROSS, G. Sexually transmitted infections and sexually transmitted diseases. [S.I.]: Springer, 2011. p.

8. TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.

9. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos Bioclin son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.

 QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 (31) 3439-5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br
Número de Registro do kit BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL en la ANVISA: 10269360343

Revisión: Octubre/2021

Simbología Universal

REF

NÚMERO DEL CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DE LOTE



FECHA DE FABRICACIÓN



ESTABLE HASTA
(último día del mês)



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

IVD

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



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 SÍFILIS Ac TOTAL

REF K240

USE INSTRUCTIONS

FUNCTION
Test for qualitative determination of total antibodies (IgG, IgM and IgA) for *Treponema pallidum*, bacteria that causes Syphilis, in biological samples (serum, plasma or whole blood on filter paper) through enzyme immunoassay. Only for *in vitro* diagnostic use.

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

REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1 - Sensitized Plate	1 Unit (96 cavities)	2 Units (192 cavities)	5 Units (480 cavities)
2 - Conjugate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3 - Concentrate Washing	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
4 - Sample Diluent	1 Flask x 42 mL	2 Flasks x 42 mL	5 Flasks x 42 mL
5 - Substrate	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
9 - Stop Solution	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
7 - Negative Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
8 - Positive Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
9 - Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units
10 - Filter Paper Elution Buffer	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
11 - Negative Extraction Control	1 unit	2 units	5 units
12 - Positive Extraction Control	1 unit	2 units	5 units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS
Materials in the kit:
- Reagents described in the above table
- Operating instructions (manual)

- Required materials not contained in the kit:**
1 - Pipette capable of dispensing volumes of 5 to 100 µL with lower coefficient of variation than 1.5%.
2 - Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 100 µL, with lower coefficient of variation than 1.5% or multichannel pipette (optional).
3 - Microplate washer (optional).
4 - ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
5 - Paper towel to dry cavities
6 - Stopwatch or watch.
7 - Flask to store the washing solution after diluted.
8 - Distilled or deionized water.
9 - Tools of Quality Control.
10 - Incubator 37°C ± 2°C.
11 - Paper shredder (3 mm diameter) for filter paper technique.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS
The storage temperature should be 2 to 8 °C. Transport at temperatures up to 30 °C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **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 sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store be 2 to 8 °C.
4 - The water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.
5 - Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
6 - Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Handle it with care.
7 - All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti-HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the bio safety of these products.
8 - Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
9 - As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.

- 10 - You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry, and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test.
11 - Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
12 - We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
13 - To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
14 - Do not use the product in case of damaged packaging.
15 - It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES
Serum or Plasma (EDTA or Heparin)
Hemolysed or highly lipemic samples should not be used. The samples can be kept refrigerated, between 2 and 8°C, for a maximum period of 5 days. If samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20 °C.

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

PROCESS DESCRIPTION
The results of the stability test show that the Biolisa kit SÍFILIS Ac TOTAL is stable after opening for at least 30 days. This stability may vary according to the conditions of the test and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using internal kit controls and technique validation criteria.

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

Substrate
The Substrate is ready for use.

TECHNIQUE FOR USE ON EQUIPMENT
For use in automatic equipment, consult the SAC (Customer Service Department).
Samples of Serum or Plasma
Before starting the assay, place all reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30 °C) for at least 40 minutes.
1 - Select the cavities to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the microplate will not be used, for the original sealed packaging.
2 - Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3 - Pipette 100 µL of Sample Diluent, included in the cavity for Blank.
4 - Pipette 5 µL of Sample and Controls into the previously determined wells. Observe the color change of the diluent when adding the sample. A Color change indicates that the sample was successfully added to the well.
5 - Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
6 - Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
7 - Remove the sealing of wells.

- 8 - Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decanting (manual). Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared to perform a total of five (5) washing cycles. To ensure drying of the plate, at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper. Note: Poor washing/drying can cause inadequate results.
9 - Pipette 100 µL of Conjugate into each well.
10 - Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
11 - Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
12 - Remove the sealer from plate cavities.
13 - Repeat item 8.
14 - Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
15 - Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.

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

Whole Blood Sample on Filter Paper
Before starting the assay, place all reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30 °C) for at least 40 minutes.
1 - Select the wells to be used considering Positive Extraction Control, Negative Extraction Control and Whole Blood Samples on Filter Paper (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the microplate will not be used for the original sealed packaging.
2 - Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3 - Add a 3 mm disk of Positive Extraction Control, Negative Extraction Control and Whole Blood Sample on Filter Paper, previously perforated, in the determined wells.
4 - Pipette 100 µL of Filter Paper Elution Buffer into each well. Included in the Blank cavity.
5 - Pipette 5 µL of Controls into previously determined wells.
6 - Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
7 - Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
8 - Remove the sealing of wells.
9 - Discard the contents of the cavities by aspiration (Washing machine) or by decanting (Manual). Remove the paper discs, if necessary, with the aid of a needle or tip. Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared to perform a total of five (5) washing cycles. To ensure drying of the plate, at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper. Note: Poor washing/drying can cause inadequate results.
10 - Pipette 100 µL of Conjugate into all wells.
11 - Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
12 - Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
13 - Remove the sealer from plate cavities.
14 - Repeat item 9.
15 - Pipette 100 µL of Substrate into each well.
16 - Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
17 - Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
18 - Remove the sealer from plate cavities.
19 - Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.
20 - Mix gently for ± 30 seconds.
21 - Read using double filter: 450nm / 630nm within up to 15 minutes (maximum).

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

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.200
Negative Control	< 0.200
Positive Control	> 1.000
Negative Extraction Control	< 0.200
Positive Extraction Control	> 0.500

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Samples of Serum or Plasma

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = (Average Absorbance Positive Control x 0,01) + 0,100

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N° 8)	A1 = 1.944
	A2 = 1.945
Cut Off = (Average Absorbance Positive Control x 0,01) + 0,100	Cut Off = ((1.944 + 1.945) / 2 x 0,01) + 0,100
	Cut Off = 0,119

Calculate the Index by dividing the absorbance of the Sample by the Cut Off value.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,41
Cut Off Value	0,119
Index = Sample / Cut Off Value	Index = 1.41 / 0.119
	Index = 11,84

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

Whole Blood Sample on Filter Paper

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = (Average Absorbance of Positive Control x 0,01) + 0,100

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N° 8)	A1 = 1.944
	A2 = 1.945
Cut Off = (Average Absorbance of Positive Control x 0,01) + 0,100	Cut Off = ((1.944 + 1.945) / 2 x 0,01) + 0,100
	Cut Off = 0,119

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	0,965
Cut Off Value	0,119
Index = Sample / Cut Off Value	Index = 0,965 / 0,119
	Index = 8,11

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

INTERPRETATION OF RESULTS

Samples of Serum, Plasma and Filter Paper Whole Blood

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

RESULTS	QUALITATIVE FOR SERUM SAMPLE, PLASMA AND TOTAL BLOOD ON FILTER PAPER
	INDEX
Negative	< 0.90
Positive	> 1.1
Undetermined	0.9 - 1.1

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

PROCEDURE LIMITATIONS

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

INTERFERENT

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

CROSS REACTIVITY

Samples of Serum or Plasma

A cross-reactivity study was carried out, evaluating 100 samples negative for syphilis, but positive for other infections. Among them, 10 positive samples for each of the following infections: Cytomegalovirus, HIV, Zika, HBV, HCV, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Malaria and Leptospirosis. No cross reactivity was observed with any of the samples. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis should consider the patient's clinical data together with other laboratory data.

Whole Blood Sample on Filter Paper

A cross-reactivity study was carried out, evaluating 82 samples of whole blood on filter paper, which were negative for syphilis, but positive for other infections. Among them, 9 were positive for Zika, 11 for Toxoplasmosis, 13 for Rubella, 8 for Chagas, 5 for HIV, 10 for HCV, 7 for Cytomegalovirus, 9 for HBV, 7 for Malaria and 3 for Leptospirosis. No cross reactivity was observed with any of the samples. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis should consider the patient's clinical data along with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

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

PRUDUCT PERFORMANCE

Accuracy

REPETIBILITY

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

REPETIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0.678	1.082	0.055
Standard Deviation	0.098	0.087	0.011
Coefficient of Variation (%)	14.475	8.041	19.861

REPRODUCIBILITY

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

REPRODUCIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0.519	1.125	0.060
Standard Deviation	0.082	0.110	0.010
Coefficient of Variation (%)	11.849	9.659	17.089

Clinical Sensitivity and Specificity

Serum and Plasma Sample

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

	Expected Result	BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL
Positive Sample	165	165
Negative Sample	101	101
Total Tested Sample	266	

Clinical Sensitivity: >99,9% (165/165) - IC 95%: 97,8% - 100%

Clinical Specificity: >99,9% (101/101) - IC 95%: 96,4% - 100%

Whole Blood Samples on Filter Paper

BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL kit is 98,21% and clinical specificity is > 99,9%.

	Expected Result	BIOLISA SÍFILIS Ac TOTAL
Positive Sample	56	55
Negative Sample	51	51
Total Tested Sample	107	

Clinical Sensitivity: 98,21% (56/55) IC 95%: 90,4% - 100%

Clinical Specificity: >99,9% (51/51) IC 95%: 93,0% - 100%

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Syphilis is a systemic infectious disease, of chronic evolution, caused by *Treponema pallidum*, which evolves slowly in three stages, characterized by lesions of the skin and mucous membranes. It can be transmitted by sexual contact, thus becoming a sexually transmitted disease and, more rarely, by fetal-placental contamination (congenital syphilis). The first manifestations occur after an average incubation period of 21 days, ranging from 3 to 90 days. The disease has three distinct phases, with characteristic manifestations in each one and a latency period (without symptoms) between the second and third phases. In the primary phase, there is a classic lesion on the genitals, the gateway to Treponema, called chancre. Chancretakes an average of 3 to 6 weeks to heal, and may leave no marks. The secondary phase occurs after 4 to 8 weeks of the chance onset, and this lesion may even be present. At this stage, the largest amount of treponemas occurs in the body. The tertiary phase is the phase of progressive and slow (chronic) inflammation with symptoms related to Organs predominantly compromised organs, it is destructive and disabling. The diagnosis can be made: by methods of detecting non-specific antibodies (using non-treponemic antigens) whose interpretation is visual, and by immunoenzymatic methods (ELISA) that detect the presence of specific antibodies against *Treponema pallidum* in samples of patients who are at different stages of the disease.

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. Avelleira JCR, Bottino G. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. An Bras Dermatol. 2006;81(2):111-26.
4. Testes para diagnósticos da Sífilis. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Testes para diagnósticos da Sífilis – Conitec, N° 159 Maio 2015.
5. Montiel, Milagros; Arias, Julia; Pozo, Elieth y Mogollón, Adrian. Importancia de las pruebas específicas e inespecíficas para el diagnóstico de sífilis en donantes de sangre. Rev. Kasmera 36(2): 169 - 176, 2008
6. BRASIL. Ministerio da Saude. Secretaria de Vigilancia em Saude. Guia de Vigilancia em Saude/Ministerio da Saude, Secretaria de Vigilancia em Saude. Brasília: Ministerio da Saude, 2014a.812 p. Disponivel em: www. saude.gov.br/bvs.
7. HORVATH, A. Biology and natural history of syphilis. In: GROSS, G. Sexually transmitted infections and sexually transmitted diseases. [S.l]: Springer, 2011. p.
8. TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
9. 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 SÍFILIS Ac TOTAL kit: 10269360343

Review: October/2021

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