Anti Chagas SYM

96 testes
(Cód. VYT010807805EN)

KIT IMUNOENZIMÁTICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS IgG CONTRA O *Trypanosoma cruzi* EM SORO OU PLASMA HUMANO

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "*IN VITRO*"
ANVISA: 81692610150

Fabricante:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 – Uberaba
Bragança Paulista – SP – CEP: 12.908-829
SAC 0800 703 4043
CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnico: Patrícia Yamaguti - CRF – SP: 32622

1. Finalidade e modo de uso

O kit **Anti Chagas** SYM é um ensaio imunoenzimático (ELISA) para a detecção qualitativa de anticorpos IgG contra o *Trypanosoma cruzi* em amostras de soro ou plasma humanos. Para uso Diagnóstico "*In Vitro*". Para uso por profissionais da saúde treinados e em ambientes laboratoriais e/ou hospitalares.

2. Condições de armazenamento e manuseio

O kit deve ser armazenado entre 2 e 8ºC.
O kit deve ser manuseado usando luvas descartáveis e proteção aos olhos, principalmente ao manipular as amostras.
Lavar as mãos ao término do procedimento.

3. Princípio de funcionamento do teste

Nas cavidades das microplacas sensibilizadas com antígeno recombinante de *Trypanosoma cruzi*, adicionam-se as amostras. Durante a primeira incubação os anticorpos eventualmente presentes na amostra formam um complexo com os antígenos da microplaca.
Após aspiração e lavagem outros componentes da amostra não ligados são removidos.
Em uma segunda incubação o complexo antígeno anticorpo formado é detectado pela adição do conjugado (anticorpos anti-IgG conjugadas com peroxidase de rábano).
Após incubação os componentes do conjugado que ligaram de forma não específica são aspirados e removidos durante a lavagem da placa. A atividade enzimática fixada na fase sólida, agindo com a solução cromógeno substrato, gera um sinal ótico que é proporcional a quantidade de anticorpos anti *Trypanosoma cruzi* presentes na amostra.
A intensidade da cor desenvolvida é medida por meio da leitura espectrofotométrica a 450 nm com referência em 620/630 nm.

4. Amostras

Somente amostras de soro ou plasma humano podem ser utilizadas neste kit.

5. Condições para coleta, manuseio, preparo e preservação das amostras

As amostras de soro ou plasma devem ser coletadas em acordo com as normas de coleta por venopunção. Devem ser manuseadas com luvas descartáveis e demais EPI pertinentes ao laboratório.
As amostras podem ser conservadas entre 2 e 8ºC por um período de 1 a 5 dias, caso seja necessário períodos de tempo maiores, conservá-las a - 20ºC.
Aconselha-se a não congelar e descongelar várias vezes a amostra.
Evitar o uso de conservantes na amostra, especialmente a azida sódica, que inibe a reação enzimática.

6. Descrição do produto e de seus reagentes

Os reagentes são suficientes para 96 determinações com duas possíveis configurações.

Configuração	**96**	**96**
Microplacas	1	1
Controle Negativo	1 frasco 0,3 mL	1 frasco 0,3 mL
Controle Positivo	1 frasco 0,3 mL	1 frasco 0,3 mL
Conjugado	1 frasco 12 mL	1 frasco 12 mL
Diluente de Amostras	1 frasco 30 mL	1 frasco 30 mL
Solução lavagem	2 frascos 30 mL	1 frasco 60 mL
Cromógeno Substrato	1 frasco 12 mL	1 frasco 12 mL
Solução Bloqueadora	1 frasco 12 mL	1 frasco 12 mL

- Microplaca Sensibilizada: Microplacas de 12 tiras com 8 cavidades sensibilizadas com antígeno recombinante do *Trypanosoma cruzi*. Cada microplaca vem dentro de um envelope lacrado e com dessecante. Deixar que as microplacas atinjam a temperatura ambiente antes de abrir o envelope; fechar as tiras não usadas no envelope com o dessecante e armazenar entre 2 e 8° C.
- Controle Negativo: Soro humano, bactericida e conservante. **Pronto para uso**.
- Controle Positivo: Soro humano, anticorpos, bactericida e conservante. **Pronto para uso**.
- Conjugado: Anticorpos marcados com enzimas, tampão, proteína bovina bactericida, conservante e água deionizada. **Pronto para uso**.
- Diluente de Amostras: Tampão, proteína bovina, conservante e água deionizada. **Pronto para uso**.
- Solução de Lavagem: Tampão PBS, surfactante, conservante e água deionizada, concentrada 20x. **Diluir o conteúdo do frasco antes do uso** (Ver item Preparo de Reagentes).
- Cromógeno Substrato: TMB, agente clareador e água deionizada. **Pronto para uso**. Nota: conservar protegido da luz.
- Solução bloqueadora: Ácido Sulfúrico, água deionizada. **Pronto para uso**.
- Etiqueta adesiva para a microplaca.
- Instruções de Uso.
- Certificado de Análise.

7. Materiais, artigos, acessórios, insumos ou equipamentos necessários e não fornecidos:

- Micropipetas automáticas e ponteiras descartáveis com volumes variáveis de 10, 50, 100, 200 e 1000µL.
- Vidraria graduada.
- Timer (Temporizador).
- Estufa regulável a 37°C ± 1°C.
- Bomba aspiradora ou lavadora automático para lavagem das microplacas.
- Espectrofotômetro de precisão para microplacas, com possibilidade de medida em absorbância no intervalo 0-3.0 A e com comprimento de onda de 450 e 620-630nm.
- H2O destilada.

8. Estabilidade em uso do produto

O kit deve ser mantido entre 2 e 8°C.
Manter as tiras não utilizadas entre 2 e 8°C no envelope da microplaca, seguramente fechado, dessa forma as tiras são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.
Fechar adequadamente os reagentes após o uso e mantê-los entre 2 e 8°C, dessa forma os reagentes que compõem o kit são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.
As datas do vencimento de cada reagente são indicadas nos respectivos rótulos.
Evitar a exposição do cromógeno substrato à luz.
A solução de lavagem já diluída, ou seja, para pronto uso é estável por 1 mês entre 2 e 8°C.

9. Manuseio e preparo dos reagentes

Solução de Lavagem: O frasco contendo a solução de lavagem concentrada 20x deverá ser diluído antes do uso. Diluir o conteúdo do frasco com água destilada até o volume final de 1200 mL. Se o conteúdo do frasco apresentar cristais não dissolvidos, dissolvê-los colocando o frasco a 37°C por alguns minutos antes da diluição. A solução diluída permanece estável por 1 mês entre 2 e 8°C.

10. Instruções para a etapa de lavagem da microplaca

Um bom procedimento de lavagem é essencial para obtenção de resultados corretos e confiáveis. Recomendamos o uso de uma lavadora de microplacas, com parâmetros padronizados de dispensação e aspiração.
Geralmente são realizados 5 a 6 ciclos de aspiração e dispensação da solução de lavagem, sendo que se utiliza um volume de aproximadamente 300 µL para cada cavidade por ciclo de lavagem. Depois da dispensação, aguardar por 30 segundos antes de aspirar a solução de lavagem.
Este procedimento realizado corretamente evita resultados falso positivos devido a lavagens inadequadas.
Usando-se este tipo de equipamento, recomendamos realizar um ciclo inicial com água destilada antes de começar a lavagem da placa com a Solução de Lavagem.
Se após todos os ciclos houver sobra de solução nas cavidades, verter a placa sobre um papel absorvente e batê-la contra o papel para retirar o excesso do líquido.
Em caso de procedimento manual realizar o procedimento como descrito acima, porém tomando cuidado com as dispensações e aspirações para que estas sejam as mais homogêneas possíveis.
Verifique se o pente de lavagem e aspiração toca o fundo da placa, não permita que isto aconteça pois pode alterar a reação.

11. Procedimento do Teste

- Esperar até que os reagentes e as amostras cheguem à temperatura ambiente.
- Agitar as amostras por meio de inversão antes de usar.

- Preparar o número de cavidades necessárias para a dosagem de amostras, de controles em duplicata e do Branco.
· Dispensar **200 µL de Diluente de Amostras** em todas as cavidades, exceto a cavidade reservada para o Branco.
· Adicionar **10 µL** de cada **amostra** em simplicata e **10 µL** de cada controle **positivo e negativo** em duplicata em suas respectivas cavidades. Homogeneizar a placa delicadamente.
· Cobrir a microplaca com a etiqueta adesiva.
· Incubar por **30 minutos a 37°±1°C**.
· Retirar a cobertura adesiva e lavar as cavidades 5 vezes com 350 µL de solução de lavagem diluída (**Ver item Instruções de Lavagem**).
· Adicionar **100 µL** de **Conjugado** em todas as cavidades, exceto na reservada para o branco.
· Cobrir a microplaca com a etiqueta adesiva.
· Incubar por **30 minutos a 37°±1°C**.
· Retirar a cobertura adesiva e lavar as cavidades 5 vezes com 350 µL de solução de lavagem diluída (**Ver item Instruções de Lavagem**).
· Dispensar **100 µL** de **Cromógeno Substrato** em todas as cavidades, incluindo aquela do Branco.
· Incubar por **30 minutos** em **temperatura ambiente**, longe da luz muito intensa.
· Adicionar **100 µL** de **Solução Bloqueadora** em todas as cavidades, usando a mesma sequência de dispensação do cromógeno.
· Ler a densidade óptica das soluções a 450 nm em um espectrofotômetro de preferência bicromático, com comprimento de onda de referência a 620-630 nm (zerar o instrumento com o Branco). A leitura deve ser realizada dentro de **20 minutos** do fim da dosagem.

12. Controle de qualidade, cálculos e obtenção dos resultados

Especificações de controle de qualidade
Controles de validação do teste devem ser feitos cada vez que o kit é usado, para qualificar os resultados.
Respeitar os seguintes critérios de validação (descontando a DO do Branco):

Critério	DO 450 nm
Branco	< 0,150
Controle Negativo	< 0,200 descontando a DO do Branco
Controle Positivo	> 1,000 descontando a DO do Branco

Se apenas uma das replicatas estiver dentro dos critérios de validação, descartar a outra para realização dos cálculos.

Cálculos
Se todos os critérios acima foram aceitos, calcular o valor limite (cut off) multiplicando a somatória das médias dos Controles Negativos e Positivos por 0,22.

Cut off = (Média CN + Média CP) x 0,22

Interpretação dos resultados

Em Densidade Ótica
Amostras com valores de DO (450 nm) abaixo do valor de "cut off" menos 10% ou acima do valor de "cut off" mais 10% são consideradas como zona cinza e, portanto, o teste deve ser repetido e o paciente acompanhado.
Amostras com valores de DO (450nm) menores do que o limite inferior da zona cinza são classificadas como Não Reagente para anticorpos anti *Trypanosoma cruzi*.
Amostras com valores de DO (450 nm) maiores que o limite superior da zona cinza devem ser consideradas reagente para anticorpos anti *Trypanosoma cruzi*.

Controle Negativo (média DO450 nm)	0,028
Controle Positivo (média DO450 nm)	1,637
Cut off = (CP + CN) x 0,22	0,366
Zona Cinza	0,329 – 0,402
Amostra 1	0,078 **NÃO REAGENTE**
Amostra 2	1,314 **REAGENTE**

Em índice (S/CO)
Os resultados são interpretados com relação ao valor de DO das amostras e o valor de cut-off (S/CO) de acordo com a seguinte tabela:

S/CO	Interpretação
< 0,9	Não Reagente
0,9 - 1,1	Indeterminado
> 1,1	Reagente

13. Limitações e interferentes no uso do produto

- Não misturar reagentes de lotes ou produtos diferentes.
- Não usar os reagentes depois da data do vencimento.
- Para o preparo dos regentes usar vidraria perfeitamente limpa e isenta de contaminações de íons metálicos ou substâncias oxidantes.
- Para o preparo dos reagentes usar água destilada, recém coletada em recipientes perfeitamente limpos.
- Evitar contaminações entre amostras e reagentes; para tal fim é aconselhável usar pipetas com ponteiras descartáveis para cada amostra e para cada reagente. Evitar o contato das ponteiras com as bordas das cavidades das microplacas para não ocorrer contaminação cruzada.
- Evitar a formação de bolhas ao dispensar os reagentes nas cavidades da microplaca.
- Realizar todas as etapas do procedimento do teste cuidadosamente, a fim de obter resultados confiáveis. Respeitar os tempos de incubação dispensando o cromógeno e a solução bloqueadora em um tempo não superior aos 3-4 minutos; dispensar os dois reagentes na mesma sequência.
- Caso a solução do substrato apresente cor azulada, antes do uso, descarte-a. Mudança de cor inespecífica do substrato pode às vezes acontecer devido à contaminação durante o manuseio.
A etapa de lavagem da microplaca é extremamente crítica, realize-a de acordo com as instruções, lavagem inadequada da microplaca pode apresentar resultados falso positivos.
As amostras fortemente lipêmicas, ictéricas ou hemolizadas não dever ser testadas, podem apresentar resultados errôneos.

14. Características do produto

Sensibilidade
A sensibilidade do teste foi determinada testando painéis de 63 amostras positivas, comparando com um kit aprovado. Os resultados indicaram uma sensibilidade de 100%.

Especificidade
A especificidade foi determinada testando painéis de 456 amostras negativas em paralelo com testes disponíveis no mercado. Os resultados obtidos mostraram uma especificidade de 99,6% em plasma ou soro.

		Anti Chagas SYM		
		positivo	negativo	total
Teste de referência	positivo	63	0	63
	negativo	2	454	456
	total	65	454	519

Repetitividade
A repetitividade foi calculada testando uma amostra positiva e um controle positivo em 10 replicatas. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os resultados estão expressos na tabela abaixo:

	AP	CP
Média	2,627	1,833
D.P.	0,1298	0,0521
CV%	4,94	2,84

Reprodutibilidade
A reprodutibilidade foi calculada testando uma amostra positiva e um controle positivo em duplicata e em 5 ensaios diferentes. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Os resultados estão expressos na tabela abaixo:

	AP	CP
Média	2,874	1,759
D.P.	0,3961	0,2021
CV%	13,78	11,49

15. Riscos residuais

Este kit possui reagentes fabricados a partir de material de origem humana e devido a isto deve ser tratado como potencialmente infectante e manipulado de acordo com as boas práticas de laboratório e com o uso de EPI disponibilizados para o usuário em seu local de trabalho.

16. Precauções com o uso do produto

- Não pipetar com a boca.
- Não comer, beber ou fumar no laboratório.
- Usar luvas descartáveis e proteger os olhos quando manusear amostras durante o teste.
- Lavar as mãos quando terminar o procedimento.
- A solução bloqueadora contém ácido sulfúrico, irritante para os olhos e pele, em caso de contato, lavar abundantemente com água.

17. Alertas e precauções para descarte do produto

Todos os reagentes e todas as amostras de soro humano devem ser considerados potencialmente infectantes; portanto os descartes da dosagem devem ser descontaminados e eliminados conforme oportunas regras de segurança.
- Orientações para o descarte dos reagentes: ANVISA RDC N° 222 de 28/03/2018 Resíduos de Serviço de Saúde - D.O.U. nº 61 de 29/03/2018.
- Todo reagente e material descartável que for desprezado deve ser encaminhado em seu conteúdo íntegro para coleta de lixo especializado de materiais potencialmente infectantes.
- Todos os resíduos de reagentes e materiais reutilizáveis, provenientes da reação devem ser imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por no mínimo 4 horas e enxaguando com água em abundância.

18. Condições de Garantia

Este produto tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Controle de Qualidade da Vyttra Diagnósticos S.A. de que não houve falhas técnicas na execução, manuseio do teste e na conservação do produto.