

Bioclin

BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE

REF **K254**
INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste imunocromatográfico rápido para a determinação qualitativa de Anticorpos IgM anti-*Mycobacterium leprae* em amostras biológicas (soro, plasma ou sangue total). Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Imunocromatografia
O kit BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE (anticorpos IgM anti-*Mycobacterium leprae*) é um ensaio imunocromatográfico (teste rápido) para determinação qualitativa de anticorpos IgM anti-*M. leprae* em amostras soro, plasma ou sangue total (venopunção ou punção digital). Neste kit, um antígeno específico de *M. leprae* (glicolípido I fenólico de *M. leprae* ou PGL-I) está imobilizado na linha teste. O conjugado é formado por anticorpo anti-IgM humano ligado a nanopartículas de ouro coloidal. Quando uma amostra positiva é adicionada no teste, os anticorpos IgM presentes na amostra são capturados pelos anticorpos anti-IgM conjugados ao ouro coloidal, formando o complexo: IgM – anticorpos anti-IgM. A amostra continua a migrar ao longo da tira-teste por capilaridade e ocorre a ligação dos anticorpos IgM anti-*M. leprae* com o antígeno PGL-I imobilizado na linha teste, formando o complexo: PGL-I – IgM anti-*M. leprae* – anticorpos anti-IgM. Com isso ocorre a formação de uma banda vermelha nesta região, indicando um resultado positivo (amostra reativa). Amostras negativas não possuem anticorpos IgM anti-*M. leprae*. Desta forma não ocorre ligação de anticorpos IgM ao antígeno PGL-I da linha teste e não ocorre a formação da linha vermelha, indicando resultado negativo (amostra não reativa). A linha controle é constituída de proteína A imobilizada. Nesta região o excesso de conjugado é capturado por esta proteína, independentemente se a amostra é positiva ou negativa, formando o complexo: anticorpos anti-IgM – proteína A. Com isso ocorre o surgimento de uma banda vermelha, indicando o perfeito funcionamento do teste.

REAGENTES

Número 1 (R1): Cassete - Conservar entre 2 e 30 °C. **Não congelar.** Contém:

- A)** 01 dispositivo plástico com 01 tira teste contendo:
- Região de Controle (C): Proteína A (>0,06 µg).
 - Região de Teste (T): Antígeno PGL-I (>0,3 µg).
 - Conjugado: Anticorpo anti-IgM humano conjugado com nanopartículas de ouro coloidal.

B) 01 sachê de sílica

Número 2 (R2): Diluente - Conservar entre 2 e 30°C. **Não congelar.** Contém: Solução Tampão pH 7,2, surfactante e conservante.

Acessórios para Coleta:

- Pipeta Plástica Descartável
- Lanceta Descartável* †
- Sachê álcool*

*Este item é encaminhado no kit conforme apresentação comercial
†O formato e a cor da lanceta podem variar e não interferem no desempenho do acessório e do kit.

APRESENTAÇÕES

Reagente	Número de Cassetes por Embalagem	Diluente
Cassete + Diluente (Inclui Pipeta)*	5	1,0 mL
	10	1,5 mL
	15	2,5 mL
	20	3,0 mL
	25	3,5 mL
	30	4,0 mL
	40	5,0 mL
	50	6,0 mL
Cassete + Diluente (Inclui Lanceta e Pipeta)**	100	2 x 6,0 mL
	5	1,0 mL
	10	1,5 mL
	15	2,5 mL
	20	3,0 mL
	25	3,5 mL
	30	4,0 mL
	40	5,0 mL
Cassete + Diluente (Inclui Lanceta e Pipeta e Sachê Alcoólico)***	50	6,0 mL
	100	2 x 6,0 mL
	5	5 x 0,25 mL
	10	10 x 0,25 mL
	15	15 x 0,25 mL
	20	20 x 0,25 mL
	25	25 x 0,25 mL
	30	30 x 0,25 mL
	40	40 x 0,25 mL
	50	50 x 0,25 mL
	100	100 x 0,25 mL

*Estas apresentações são acompanhadas de pipetas plásticas descartáveis, proporcionalmente ao número de cassetes.
**Estas apresentações são acompanhadas de lancetas e pipetas plásticas descartáveis, proporcionalmente ao número de cassetes.
***Estas apresentações são acompanhadas de lancetas, pipetas plásticas descartáveis e sachês alcoólicos, proporcionalmente ao número de cassetes.

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Pipetas, ponteiras, relógio ou cronômetro, álcool 70% (p/p), algodão e lixo para descarte. Estes itens são encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas. O kit permite a leitura visível sem o auxílio de equipamento.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser entre 2°C e 30°C. Manter ao abrigo de luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - **Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - Os cassetes (dispositivos de teste) não apresentam substâncias contaminantes, mas como as amostras são biológicas, as rotinas de segurança devem ser seguidas com rigor e o uso de luvas descartáveis é imprescindível.
- 4 - Trate todas as amostras como potencialmente infecciosas.
- 5 - Usar recipientes limpos e secos para acondicionar as amostras.
- 6 - Abrir o envelope de alumínio, para retirar o cassete (dispositivo de teste), somente no momento do uso.
- 7 - O kit não deve ser congelado ou exposto a altas temperaturas, pois isto causará deterioração do mesmo.
- 8 - Os reagentes, bem como a amostra, devem atingir a temperatura ambiente antes de iniciar o teste.
- 9 - Não misturar os reagentes (componentes) dos kits com mesmo lote ou com números de lotes diferentes.
- 10 - Não utilizar kit fora da data de validade. O prazo de validade está indicado no rótulo do produto.
- 11 - O cassete (dispositivo de teste), a pipeta e a lanceta são descartáveis e não podem ser reutilizados.
- 12 - Os materiais do kit que tiveram contato com o material biológico do paciente devem ter um destino especial. O descarte das lancetas e das pipetas devem ser feitos em lixo perfurocortante. Os cassetes (dispositivos de teste) e frascos de diluente devem ser descartados em lixo biológico.
- 13 - Caixas, Instrução de Uso, envelope de alumínio e sachê de sílica podem ser descartados em lixo comum.
- 14 - 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.
- 15 - 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.
- 16 - Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 17 - É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou Plasma: As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, pelo período máximo de 3 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 3 dias, podem ser estocadas por até 30 dias à temperatura de -20 °C (freezer). Para a obtenção do plasma realizar coleta utilizando como anticoagulante o EDTA, Heparina ou Citrato.

Sangue Total: Coletar o sangue total por venopunção utilizando o anticoagulante adequado (EDTA, Heparina ou Citrato) ou por punção digital com o auxílio de uma lanceta. O sangue total colhido por lanceta deve ser utilizado para testes imediatos. O sangue total colhido por venopunção com anticoagulante pode ser conservado sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, pelo período máximo de 3 dias. **Não congelar.**

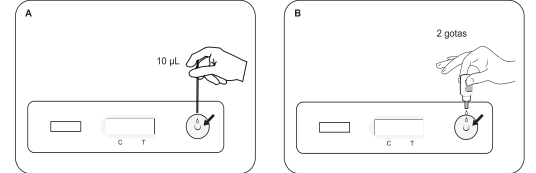
DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade tira reativa de Bioclin FAST ML FLOW HANSENÍASE (após a abertura do sachê aluminizado) é de 2 horas. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do ambiente após abertura do sachê aluminizado.

TÉCNICA - VENOPUNÇÃO

- 1 - A amostra deve estar em temperatura ambiente antes de iniciar o teste.
- 2 - Retirar o cassete (dispositivo de teste) da embalagem protetora, colocá-lo sobre uma superfície limpa e nivelada, e identificá-lo de forma adequada.
- 3 - **Para Sangue Total, soro ou plasma:** Transferir 10 µL da amostra para dentro do poço de amostra.

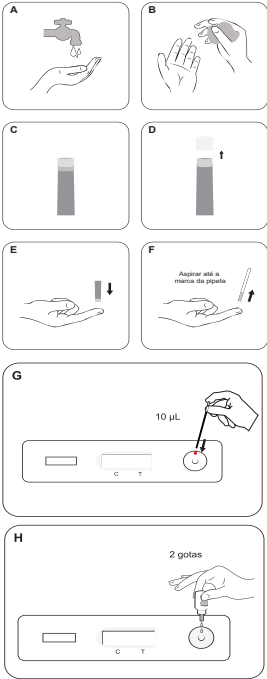
- 4 - Segurar o frasco verticalmente e aplicar 2 gotas (aproximadamente 70µL) de Diluente (Reagente Nº 2) no poço da amostra.



- 5 - Aguardar a formação das linhas. Interpretar os resultados entre 15 e 20 minutos. Não interpretar após 20 minutos.

TÉCNICA - PUNÇÃO DIGITAL / LANCETA

- 1 - Retirar o cassete (dispositivo de teste) da embalagem protetora, colocá-lo sobre uma superfície limpa e nivelada e identificá-lo de forma adequada.
- 2 - Lavar e secar as mãos do paciente. Passar álcool 70% (p/p) na ponta do dedo para assepsia da área utilizada.
- 3 - Pressionar a ponta do dedo que será perfurada pela lanceta para acúmulo de sangue nesta região.
- 4 - Remover a tampa de proteção da lanceta.
- 5 - Posicionar e pressionar a lanceta com firmeza sob a área a ser lancetada. Em seguida, o sangue sairá pela área perfurada.
- 6 - Pressione o capilar acima do traço e encoste na amostra. Alvie a pressão para que a amostra seja aspirada. Aspire até o traço para obter o volume de 10 µL.
- 7 - No poço de amostra, dispensar o sangue pressionando novamente a pipeta.
- 8 - Segurar o frasco de Diluente (Reagente Nº 2) verticalmente e aplicar 2 gotas (aproximadamente 70 µL) de Diluente no poço da amostra.
- 9 - Aguardar a formação das linhas. Interpretar os resultados entre 15 e 20 minutos. Não interpretar após 20 minutos.



INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

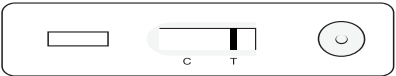
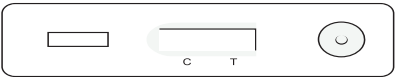
Teste Reagente: Formação de uma linha vermelha na região teste (T) e outra linha na região do controle (C) nos primeiros 15 a 20 minutos. Não interpretar após 20 minutos.



Teste Não Reagente: Formação de uma linha vermelha na região controle (C) e ausência completa de linha vermelha na região teste (T). Não interpretar após 20 minutos.



Resultado Inválido: Ausência completa de linha na região controle (C) com ou sem linha vermelha na região teste (T). Testar a amostra novamente.



Notas:

- 1) Resultados só devem ser lidos entre 15 e 20 minutos, e não antes ou depois desse tempo.
- 2) A linha na região controle pode aparecer antes dos 15 minutos de incubação do teste; mas isso não significa que resultados negativos possam ser interpretados antes do tempo.
- 3) Os resultados não devem ser interpretados após 20 minutos para evitar resultados incorretos.
- 4) Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional de saúde responsável, que deve levar em consideração os sinais clínicos e o resultado do teste para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

- 1- É importante o uso do volume correto de amostra, pois volumes inferiores ou superiores podem determinar resultados errôneos.
- 2- Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional de saúde responsável, que deve levar em consideração os sinais clínicos e o resultado do teste para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.
- 3- A presença de linha vermelha na região teste (T) em qualquer intensidade, fraca ou forte, quando estiver presente também a linha controle, identifica resultado reagente.
- 4- A intensidade da linha controle (C) pode variar de acordo com amostra utilizada no teste e não deve ser utilizada como critério para análise da linha teste.
- 5- Caso o teste apresente resultado não reagente, mesmo persistindo os sintomas clínicos, a investigação do diagnóstico deve ser mantida seguindo os critérios do Ministério da Saúde.
- 6- Não utilizar amostras de fase *post-mortem*.

INTERFERENTES

Hemólise com valores de hemoglobina até 1000 mg/dL não interferem na dosagem de anticorpos IgM anti-*M. leprae*. Não foram encontradas interferências significativas em amostras com até 20 mg/dL de ácido acetilsalicílico, 2 g/dL de ácido ascórbico, 200 mg/dL de creatina, 1 g/dL de bilirrubina, 2 g/dL de albumina, 60 mg/dL de ácido oxálico. Interferentes acima desses valores podem provocar resultados falso reagente ou falso não reagente. Não foi evidenciado interferência com Fator Reumatóide até 1000 UI/mL, Proteína C Reativa até 50 mg/dL e Anti Estreptolisina O até 1000 UI/mL.

EFEITO PRÓ-ZONA DE ALTA DOSE

Apesar de não ter sido observado efeito pró-zona em ensaios laboratoriais, testes em campo mostram que amostras de sangue, soro ou plasma de pacientes com sinais clínicos de hanseníase Virchowiana podem apresentar resultado falso negativo no teste ou banda teste com intensidade mais fraca. Neste caso, a realização de diluições seriadas da amostra em solução salina pode ser uma alternativa para evidenciar resultado reagente no teste imunocromatográfico.

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

EXATIDÃO

Comparação de Métodos

O kit BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE foi comparado com ELISA para identificação de anticorpos IgM anti-*M. leprae*. Foram realizadas 116 análises e os resultados foram avaliados. A concordância encontrada foi >99,1%. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

	Kit Referência	BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE
Amostra Reagente	51	52
Amostra Não Reagente	65	64
Total de Amostras	116	

Concordância: >99,1% (115/116)

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 dosagens sucessivas, utilizando 12 amostras diferentes, obtendo-se os seguintes resultados. Os resultados apresentaram 100% de correlação entre o resultado esperado e encontrado.

Amostras	Nº de Repetições	Resultado Esperado	Resultado Encontrado
Soro	10	Reagente	Reagente
Plasma EDTA	10	Reagente	Reagente
Sangue Total EDTA	10	Reagente	Reagente
Sangue Total Heparina	10	Reagente	Reagente
Plasma Heparina	10	Reagente	Reagente
Punção Digital	10	Reagente	Reagente
Soro	10	Não Reagente	Não Reagente
Plasma EDTA	10	Não Reagente	Não Reagente
Sangue Total EDTA	10	Não Reagente	Não Reagente
Sangue Total Heparina	10	Não Reagente	Não Reagente
Plasma Heparina	10	Não Reagente	Não Reagente
Punção Digital	10	Não Reagente	Não Reagente

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 5 dosagens sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 12 amostras diferentes, obtendo-se os seguintes resultados. Os resultados apresentaram 100% de correlação entre o resultado esperado e encontrado.

Amostra	Nº de Dias	Nº de Repetições	Resultado Esperado	Resultado Encontrado
Soro	3	5	Reagente	Reagente
Plasma EDTA	3	5	Reagente	Reagente
Sangue Total EDTA	3	5	Reagente	Reagente
Sangue Total Heparina	3	5	Reagente	Reagente
Plasma Heparina	3	5	Reagente	Reagente
Punção Digital	3	5	Reagente	Reagente
Soro	3	5	Não Reagente	Não Reagente
Plasma EDTA	3	5	Não Reagente	Não Reagente
Sangue Total EDTA	3	5	Não Reagente	Não Reagente
Sangue Total Heparina	3	5	Não Reagente	Não Reagente

Plasma Heparina	3	5	Não Reagente	Não Reagente
Punção Digital	3	5	Não Reagente	Não Reagente

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

O kit Bioclin Fast ML Flow Hanseníase foi testado utilizando-se amostras de pacientes clinicamente positivos para hanseníase e negativos (sem sinais clínicos) para a doença. As amostras foram provenientes de diferentes regiões do Brasil e não tinham distinção de idade, sexo ou raça étnica.

Os resultados estão apresentados abaixo:

	Resultado Esperado	BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE
Amostra Reagente	48	44
Amostra Não Reagente	60	54
Total de Amostras	108	

Os resultados encontrados sugerem os seguintes valores:

Sensibilidade Clínica: 91,7% (IC 84,15% - 99,18%)

Especificidade Clínica: 90,0% (IC 82,76% - 97,24%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A hanseníase é uma infecção causada pelo *Mycobacterium leprae*.

O Bioclin FAST ML FLOW HANSENÍASE é um teste simples para a detecção de anticorpos IgM específicos ao *Mycobacterium leprae* contra o componente sacarídico do glicolípido fenólico-I (PGL-I) no soro, plasma ou no sangue humano. O teste é útil para auxiliar no diagnóstico quando os resultados são analisados juntamente com informações clínicas do paciente.^{2, 5, 9, 10}. A presença de anticorpos sugere a presença de uma infecção multibacilar (MB) e, portanto, pode ser usada para discriminar pacientes multibacilares dos paucibacilares. O monitoramento da eficácia de terapia deve ser acompanhado por diminuição dos títulos de anticorpos circulantes obtidos por ELISA. Nas reações hansenícas o PGL-I também se mostrou útil como teste preditivo^{1, 6}.

No diagnóstico, a detecção de BAAR em esfregaço intradérmico confirma a doença ativa enquanto o teste sorológico BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE detecta anticorpos contra o *Mycobacterium leprae*; isso indica infecção que pode nunca evoluir para doença. O teste pode ser utilizado para ajudar a identificar diagnósticos diferenciais; reforçar a suspeição clínica de casos MB assintomáticos e confirmar a suspeição de casos de hanseníase ativa. O teste BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE deve ser utilizado como ferramenta auxiliar no diagnóstico de casos MB complexos (Virchowiano e Borderline Virchowiano), principalmente nos casos em que há dificuldades com o diagnóstico de hanseníase MB na ausência de sinais e sintomas cardinais ou quando eles não são reconhecidos nos serviços de saúde¹¹.

O teste BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE pode ser utilizado para investigar eritema nodoso hanseníco. A presença de nódulos eritematosos e dolorosos pode não ser Hanseníase e o teste BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE com resultado negativo deve direcionar a investigação para outras doenças infecciosas que poderiam explicar os sintomas clínicos, como por exemplo Hepatite C (HCV)¹¹. Nas áreas endêmicas em particular, a presença de um nível de anticorpos de baixa especificidade pode corresponder a uma exposição anterior, e por conseguinte deve ser observada como um resultado negativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Associação entre reação hanseníca após alta e a carga bacilar avaliada utilizando sorologia anti-PGL-I e baciloscopia. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 2008.
- 2) Association between anti-PGL-I IgM and clinical and demographic parameters in leprosy. *Leprosy Review* 77: 343-355, 2006.
- 3) Description of Leprosy Classification at Baseline among Patients Enrolled at the Uniform Multidrug Therapy Clinical Trial for Leprosy Patients in Brazil; *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 92(6), 2015, pp. 1280–1284.
- 4) Evaluation of a rapid serological test for leprosy classification using human serum albumin as the antigen carrier; *Journal of Immunological Methods* 412 (2014) 35–41.
- 5) IgM serum antibodies to phenolic glycolipid-I and clinical leprosy: two years' observation in a community with hyperendemic leprosy. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases* 58: 25-30, 1990.
- 6) Risk factors for type-1 reactions in borderline leprosy patients. *Lancet* 338: 654-657, 1991.
- 7) Simple and Fast Lateral Flow Test for Classification of Leprosy Patients and Identification of Contacts with High Risk of Developing Leprosy; *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, May 2003, p. 1991–1995.
- 8) The ML Flow test as a point of care test for leprosy control programmes: potential effects on classification of leprosy patients; *Lepr Rev* (2007) 78, 70–79.
- 9) The use of whole blood in a dipstick assay for detection of antibodies to *Mycobacterium leprae*: a field evaluation. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 21: 197-201, 1998.

- 10) Use of synthetic glycoconjugates containing the *Mycobacterium leprae* specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid I in the serology of leprosy. *Clinical and Experimental Immunology* 64: 476-483, 1986.
- 11) The use of serology as an additional tool to support diagnosis of difficult multibacillary leprosy cases: lessons from clinical care. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 41(Suplemento II):27-33, 2008)
- 12) QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DA QUALIDADE

Antes de serem liberados para o 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.: +55 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 BIOCLIN FAST ML FLOW HANSENÍASE na ANVISA:10269360345

Revisão: Maio/2023

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> TESTE		INFLÂMVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN

REF K254

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Test inmunocromatográfico rápido para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM anti-*Mycobacterium leprae* en muestras biológicas (suero, plasma o sangre total). Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Inmunocromatografía

El kit BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN (anticuerpos IgM anti-*Mycobacterium leprae*) es un ensayo inmunocromatográfico (test rápido) para la determinación cualitativa de IgM anti-*M. leprae* en muestras de suero, plasma o sangre total (venopunción o punción digital). En este kit, un antígeno específico de *M. leprae* (glucolípidio fenólico I o PGL-I de *M. leprae*) se inmoviliza en la línea de prueba. El conjugado está formado por anticuerpo IgM antihumano unido a nanopartículas de oro coloidal. Cuando se agrega una muestra positiva a la prueba, los anticuerpos IgM presentes en la muestra son capturados por los anticuerpos anti-IgM conjugados con el oro coloidal, formando el complejo: IgM – anticuerpos anti-IgM. La muestra continúa migrando a lo largo de la tira reactiva por capilaridad y se produce la unión de anticuerpos IgM anti-*M. leprae* con el antígeno PGL-I inmovilizado en la línea de prueba, formando el complejo: PGL-I – IgM anti-*M. leprae* - anticuerpos anti-IgM. Como resultado, se forma una banda roja en esta región, lo que indica un resultado positivo (muestra reactiva). Las muestras negativas no tienen anticuerpos IgM anti-*M. leprae*. De esta forma, no hay unión de anticuerpos IgM al antígeno PGL-I de la línea de prueba y no hay formación de la línea roja, lo que indica un resultado negativo (muestra no reactiva). La línea de control consta de proteína A inmovilizada. En esta región, el exceso de conjugado es capturado por esta proteína, independientemente de si la muestra es positiva o negativa, formando el complejo: anticuerpos anti IgM – proteína A. Con esto, aparece una banda roja que indica el perfecto funcionamiento de la prueba.

REACTIVOS

Número 1 (R1): Cassete - Conservar entre 2 y 30 °C. **No congelar.** Contiene:

A) 01 dispositivo plástico con 01 tira reactiva que contiene:

- Región Control (C): Proteína A (> 0,06 µg).

- Región de prueba (T): Antígeno PGL-I (> 0,3 µg).

- Conjugado: Anticuerpo IgM antihumano conjugado con nanopartículas de oro coloidal.

B) 01 sobre de sílice

Número 2 (R2): Diluyente - Conservar entre 2 y 30°C. **No congelar.** Contiene: Solución tampón pH 7,2, tensioactivo y conservante.

Accesorios de colección:

- Pipeta de plástico desechable

- Lanceta Desechable* +

- Bolsita de alcohol*

*Este artículo se envía en kit según presentación comercial.

+ La forma y el color de la lanceta pueden variar y no interfieren con el desempeño del accesorio y el kit.

PRESENTACIONES

Reactivo	Número de Casetes por Envasado	Diluyente
Cassete + Diluyente (Incluye Pipeta)*	5	1,0 mL
	10	1,5 mL
	15	2,5 mL
	20	3,0 mL
	25	3,5 mL
	30	4,0 mL
	40	5,0 mL
	50	6,0 mL
Cassete + Diluyente (Incluye Lanceta y Pipeta)**	100	2 x 6,0 mL
	5	1,0 mL
	10	1,5 mL
	15	2,5 mL
	20	3,0 mL
	25	3,5 mL
	30	4,0 mL
	40	5,0 mL
Casete + Diluyente (Incluye Lanceta y Pipeta y Saquito Alcohólico)***	50	6,0 mL
	100	2 x 6,0 mL
	5	5 x 0,25 mL
	10	10 x 0,25 mL
	15	15 x 0,25 mL
	20	20 x 0,25 mL
	25	25 x 0,25 mL
	30	30 x 0,25 mL
	40	40 x 0,25 mL
	50	50 x 0,25 mL
	100	100 x 0,25 mL

*Estas presentaciones van acompañadas de pipetas de plástico desechables, en proporción al número de casetes.

**Estas presentaciones van acompañadas de lancetas y pipetas de plástico desechables, en proporción al número de casetes.

***Estas presentaciones van acompañadas de lancetas, pipetas de plástico desechables y sobres con alcohol, en proporción al número de casetes.

EQUIPAMENTOS Y INSUMOS OPERACIONALES

Pipetas, puntas, reloj o cronómetro, alcohol al 70% (p/p), algodón y basura para desechar. Estos artículos se encuentran en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos. El kit permite la lectura visible sin la ayuda de equipos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte debe estar entre 2°C y 30°C. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1 - Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

2 - Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados exactos.

3 - Los casetes (dispositivos de prueba) no contienen sustancias contaminantes, pero como las muestras son biológicas, se deben seguir estrictamente las rutinas de seguridad y es imprescindible el uso de guantes desechables.

4 - Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas.

5 - Utilizar recipientes limpios y secos para almacenar las muestras.

6 - Abra el sobre de aluminio, para retirar el casete (dispositivo de prueba), sólo en el momento de su uso.

7 - El kit no debe congelarse ni exponerse a altas temperaturas, ya que esto provocará su deterioro.

8 - Los reactivos, así como la muestra, deben alcanzar la temperatura ambiente antes de iniciar la prueba.

9 - No mezcle los reactivos (componentes) de kits con el mismo lote o diferentes números de lote.

10 - No utilice el kit después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad se indica en la etiqueta del producto.

11 - El casete (dispositivo de prueba), la pipeta y la lanceta son desechables y no se pueden reutilizar.

12 - Los materiales del kit que tuvieron contacto con el material biológico del paciente deben tener un destino especial. La eliminación de lancetas y pipetas debe hacerse en objetos punzocortantes. Los casetes (dispositivos de prueba) y los viales de diluyente deben eliminarse con los residuos biológicos.

13 - Las cajas, las instrucciones de uso, el sobre de aluminio y la bolsita de sílice se pueden desechar en la basura común.

14 - Recomendamos aplicar las normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que los reactivos y el material biológico se eliminen de acuerdo con la legislación vigente.

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

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

17 - Es indispensable que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sujetos a mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Suero o Plasma: Las muestras pueden almacenarse en refrigeración, entre 2 y 8 °C, por un período máximo de 3 días. Si las muestras no se pueden analizar en 3 días, se pueden almacenar hasta 30 días a -20 °C (congelador). Para obtener el plasma, realizar la recolección utilizando EDTA, Heparina o Citrato como anticoagulante.

Sangre Total: Recoger sangre total por punción venosa utilizando el anticoagulante apropiado (EDTA, Heparina o Citrato) o por punción digital con la ayuda de una lanceta. La sangre entera recolectada por lanceta debe usarse para la prueba inmediata. La sangre total recolectada por venopunción con anticoagulante puede almacenarse en refrigeración, entre 2 y 8 °C, por un período máximo de 3 días.

No congelar.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de la tira reactiva Bioclin FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN (después de abrir el sobre aluminizado) es de 2 horas. Esta estabilidad puede variar según las condiciones ambientales después de abrir el sobre aluminizado.

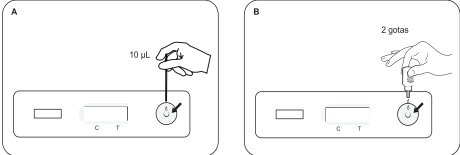
TÉCNICA - VENOPUNÇÃO

1 - La muestra debe estar a temperatura ambiente antes de iniciar la prueba.

2 - Retire el casete (dispositivo de prueba) del embalaje protector, colóquelo en una superficie limpia y nivelada e identifíquelo correctamente.

3 - Para Sangre Total, Suero o Plasma: Transfiera 10 µL de la muestra al pocillo de muestra.

4 - Sostenga la botella verticalmente y aplique 2 gotas (aproximadamente 70 µL) de Diluyente (Reactivo N° 2) en el pocillo de la muestra.



5 - Espere a que se formen las filas. Interpretar los resultados entre 15 y 20 minutos. No interprete después de 20 minutos.

TÉCNICA - PUNZÓN DIGITAL / LANCETA

1 - Retire el casete (dispositivo de prueba) del embalaje protector, colóquelo en una superficie limpia y nivelada e identifíquelo correctamente.

2 - Lavar y secar las manos del paciente. Pase alcohol al 70% (p/p) en la yema del dedo para asepsia del área utilizada.

3 - Presione la yema del dedo que será perforada por la lanceta para la acumulación de sangre en esta región.

4 - Retire la tapa protectora de la lanceta.

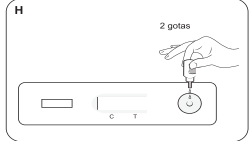
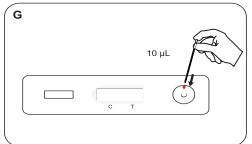
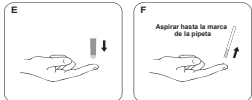
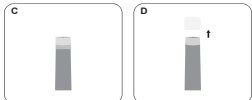
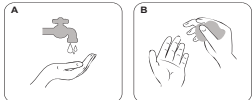
5 - Posicione y presione firmemente la lanceta debajo del área a ser lanzada. Luego saldrá sangre del área perforada.

6 - Presione el capilar sobre la traza y toque la muestra. relevar la presión a la que se aspira la muestra. Aspirar hasta la traza para obtener el volumen de 10 µL.

7 - En el pocillo de la muestra, dispense la sangre presionando otra vez la pipeta.

8 - Sostenga la botella de Diluyente (Reactivo N° 2) verticalmente y aplique 2 gotas (aproximadamente 70 µL) de Diluyente en el pocillo de la muestra.

9 - Espere a que se formen las filas. Interpretar los resultados entre 15 y 20 minutos. No interprete después de 20 minutos.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

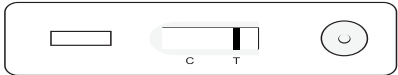
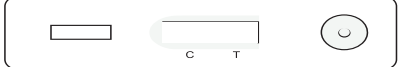
Prueba Reactiva: Formación de una línea roja en la región de prueba (T) y otra línea en la región de control (C) en los primeros 15 a 20 minutos. No interprete después de 20 minutos.



Prueba No Reactiva: Formación de una línea roja en la región de control (C) y ausencia total de una línea roja en la región de prueba (T). No interprete después de 20 minutos.



Resultado Inválido: Ausencia total de una línea en la región de control (C) con o sin una línea roja en la región de prueba (T). Pruebe la muestra de nuevo.



Notas:

- Los resultados solo deben leerse entre 15 y 20 minutos, ni antes ni después de ese tiempo.
- La línea en la región de control puede aparecer antes de los 15 minutos de incubación de la prueba; pero esto no significa que los resultados negativos puedan interpretarse antes de tiempo.
- Los resultados no deben interpretarse después de 20 minutos para evitar resultados incorrectos.
- Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional de la salud responsable, quien debe tener en cuenta los signos clínicos y el resultado de la prueba para la determinación del diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

- Es importante utilizar el volumen correcto de muestra, ya que volúmenes más bajos o más altos pueden determinar resultados erróneos.
- Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional de la salud responsable, quien debe tener en cuenta los signos clínicos y el resultado de la prueba para la determinación del diagnóstico y/o tratamiento del paciente.
- La presencia de una línea roja en la región de prueba (T) en cualquier intensidad, débil o fuerte, cuando la línea de control también está presente, identifica un resultado de reactivo.
- La intensidad de la línea de control (C) puede variar según la muestra utilizada en la prueba y no debe usarse como criterio para el análisis de la línea de prueba.
- Si la prueba arroja un resultado no reactivo, aunque persistan los síntomas clínicos, se debe mantener la investigación del diagnóstico siguiendo los criterios del Ministerio de Salud.
- No utilizar muestras *post-mortem*.

INTERFERENTES

La hemólisis con valores de hemoglobina hasta 1000 mg/dL no interfiere con la dosificación de anticuerpos IgM anti-M. lepra. No se encontró interferencia significativa en muestras con hasta 20 mg/dL de ácido acetilsalicílico, 2 g/dL de ácido ascórbico, 200 mg/dL de creatina, 1 g/dL de bilirrubina, 2 g/dL de albúmina, 60 mg/dL de dL de ácido oxálico. Las interferencias por encima de estos valores pueden causar resultados falsos de reactivos o no reactivos. No hubo evidencia de interferencia con factor reumatoideo hasta 1000 UI/mL, proteína C reactiva hasta 50 mg/dL y antistreptolisina O hasta 1000 UI/mL.

EFFECTO PROZONA DE ALTA DOSIS

Aunque no se observó efecto prozona en las pruebas de laboratorio, las pruebas de campo muestran que las muestras de sangre, suero o plasma de pacientes con signos clínicos de lepra de Virchowian pueden mostrar un resultado falso negativo en la prueba o en la banda de prueba con una intensidad más débil. En este caso, la realización de diluciones seriadas de la muestra en solución salina puede ser una alternativa para mostrar un resultado reactivo en la prueba inmunocromatográfica.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa interno de control de calidad, donde se establezcan claramente los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a las variaciones. Es importante recalcar que todo sistema de medición tiene una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Por lo tanto, se recomienda el uso de controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

RENDIMIENTO DEL PRODUCTO

PRECISIÓN

Comparación de métodos

El kit BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN se comparó con ELISA para la identificación de IgM anti-M. lepra. Se realizaron 116 análisis y se evaluaron los resultados. La concordancia encontrada fue > 99,1%. Con estos resultados, se puede concluir que el kit tiene una buena especificidad metodológica.

	Kit Referencia	BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN
Muestra Reactiva	51	52
Muestra No Reactiva	65	64
Muestras Totales	116	

Concordancia: > 99,1% (115/116)

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad se calculó a partir de 10 dosis sucesivas, utilizando 12 muestras diferentes, arrojando los siguientes resultados. Los resultados mostraron una correlación del 100% entre los resultados esperados y encontrados.

Amostras	Nº de Repetições	Resultado Esperado	Resultado Encontrado
Suero	10	Reactivo	Reactivo
Plasma EDTA	10	Reactivo	Reactivo
Sangre Total EDTA	10	Reactivo	Reactivo
Sangre Total Heparina	10	Reactivo	Reactivo
Plasma Heparina	10	Reactivo	Reactivo
Punción Digital	10	Reactivo	Reactivo
Suero	10	No Reactivo	No Reactivo
Plasma EDTA	10	No Reactivo	No Reactivo
Sangre Total EDTA	10	No Reactivo	No Reactivo
Sangre Total Heparina	10	No Reactivo	No Reactivo
Plasma Heparina	10	No Reactivo	No Reactivo
Punción Digital	10	No Reactivo	No Reactivo

Reproducibilidad

La reproducibilidad se calculó a partir de 5 dosis sucesivas durante 3 días consecutivos usando 12 muestras diferentes, arrojando los siguientes resultados. Los resultados mostraron una correlación del 100% entre los resultados esperados y encontrados.

Amostra	Nº de Dias	Nº de Repetições	Resultado Esperado	Resultado Encontrado
Soro	3	5	Reactivo	Reactivo
Plasma EDTA	3	5	Reactivo	Reactivo
Sangue Total EDTA	3	5	Reactivo	Reactivo
Sangue Total Heparina	3	5	Reactivo	Reactivo
Plasma Heparina	3	5	Reactivo	Reactivo
Punção Digital	3	5	Reactivo	Reactivo
Soro	3	5	No Reactivo	No Reactivo
Plasma EDTA	3	5	No Reactivo	No Reactivo
Sangue Total EDTA	3	5	No Reactivo	No Reactivo
Sangue Total Heparina	3	5	No Reactivo	No Reactivo

Plasma Heparina	3	5	No Reactivo	No Reactivo
Punção Digital	3	5	No Reactivo	No Reactivo

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

The Bioclin Fast ML Flow Hansen’s Disease kit was tested using samples from patients clinically positive for Hansen’s Disease and negative (without clinical signs) for the disease. The samples came from different regions of Brazil and had no distinction of age, sex or ethnic race.

	Resultado Esperado	BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN
Muestra Reactiva	48	44
Muestra No Reactiva	60	54
Muestras Totales	108	

Los resultados encontrados sugieren los siguientes valores:

Sensibilidad Clínica: 91,7% (IC 84,15% - 99,18%)

Especificidad Clínica: 90,0% (IC 82,76% - 97,24%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La lepra es una infección causada por *Mycobacterium leprae*. Bioclin FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN es una prueba sencilla para la detección de anticuerpos IgM específicos de *Mycobacterium leprae* frente al componente sacárido del glicolípido fenólico-I (PGL-I) en suero, plasma o sangre humana. La prueba es útil para ayudar en el diagnóstico cuando los resultados se analizan junto con la información clínica del paciente. 2, 5, 9, 10. La presencia de anticuerpos sugiere la presencia de una infección multibacilar (MB) y, por lo tanto, puede usarse para discriminar pacientes multibacilares de paucibacilares. El control de la eficacia de la terapia debe ir acompañado de una disminución de los títulos de anticuerpos circulantes obtenidos por ELISA. En reacciones de lepra, PGL-I también fue útil como prueba predictiva 1, 6. En el momento del diagnóstico, la detección de AFB en el frotis intradérmico confirma la enfermedad activa, mientras que la prueba serológica BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN detecta anticuerpos contra *Mycobacterium leprae*; esto indica una infección que tal vez nunca progrese a enfermedad. La prueba se puede utilizar para ayudar a identificar diagnósticos diferenciales; reforzar la sospecha clínica de los casos de MB asintomáticos y confirmar la sospecha de los casos de lepra activa. La prueba BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN debe utilizarse como herramienta auxiliar en el diagnóstico de casos MB complejos (virchowianos y borderline virchowianos), especialmente en los casos en los que existen dificultades para el diagnóstico de la lepra MB en ausencia de signos y síntomas cardinales o cuando no son reconocidos en los servicios de salud 11. La prueba BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN se puede utilizar para investigar el eritema nodoso leproso. La presencia de nódulos eritematosos y dolorosos puede no ser lepra y la prueba BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN con resultado negativo debe dirigir la investigación a otras enfermedades infecciosas que podrían explicar los síntomas clínicos, como la Hepatitis C (HCV) 11. En áreas endémicas en En particular, la presencia de un nivel bajo de anticuerpos específicos puede corresponder a una exposición previa y, por lo tanto, debe anotarse como un resultado negativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Associação entre reação hansênica após alta e a carga bacilar avaliada utilizando sorologia anti PGL-I e baciloscopia. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 2008.
- Association between anti-PGL-I IgM and clinical and demographic parameters in leprosy. Leprosy Review 77: 343-355, 2006.
- Description of Leprosy Classification at Baseline among Patients Enrolled at the Uniform Multidrug Therapy Clinical Trial for Leprosy Patients in Brazil; Am. J. Trop. Med. Hyg., 92(6), 2015, pp. 1280–1284.
- Evaluation of a rapid serological test for leprosy classification using human serum albumin as the antigen carrier; Journal of Immunological Methods 412 (2014) 35–41.
- IgM serum antibodies to phenolic glycolipid-I and clinical leprosy: two years' observation in a community with hyperendemic leprosy. International Journal of Leprosy and Other Mycobacteriology Diseases 58: 25-30, 1990.
- Risk factors for type-1 reactions in borderline leprosy patients. Lancet 338: 654-657, 1991.
- Simple and Fast Lateral Flow Test for Classification of Leprosy Patients and Identification of Contacts with High Risk of Developing Leprosy; JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, May 2003, p. 1991–1995.
- The ML Flow test as a point of care test for leprosy control programmes: potential effects on classification of leprosy patients; Lepr Rev (2007) 78, 70–79.
- The use of whole blood in a dipstick assay for detection of antibodies to Mycobacterium leprae: a field evaluation. FEMS Immunology and Medical Microbiology 21: 197-201, 1998.

- Use of synthetic glycoconjugates containing the Mycobacterium leprae specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid I in the serology of leprosy. Clinical and Experimental Immunology 64: 476-483, 1986.
- The use of serology as an additional tool to support diagnosis of difficult multibacillary leprosy cases: lessons from clinical care. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(Suplemento II):27-33, (2008)
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos de **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está garantizada hasta la fecha de caducidad mencionada en el envase de presentación, siempre que sean almacenados y transportados en 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

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit BIOCLIN FAST ML FLOW ENFERMEDAD DE HANSEN en ANVISA:10269360345

Revisión: Mayo/2023

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN’S DISEASE

REF K254

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Rapid immunochromatographic test for the qualitative determination of anti-*Mycobacterium leprae* IgM antibodies in biological samples (serum, plasma or whole blood). Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Immunochromatography
The BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN’S DISEASE kit is an immunochromatographic test that detects anti-*Mycobacterium leprae* IgM antibodies in serum, plasma and whole blood (venipuncture or finger puncture) samples, employing a specific antigen from *M. Leprae*: fenolic glicolipid I (PGL-I). The test line contains the PGL-I immobilized. The conjugate is formed by colloidal gold nanoparticles linked with human anti-IgM monoclonal antibodies. When a positive sample is added to the sample well, it migrates through the membranes by capillary action. When it achieves the conjugate, the IgM antibodies present on the sample are captured by the human anti-IgM monoclonal antibodies, conjugated to colloidal gold, forming the complex: human IgM – conjugate. The sample continues to migrate by the membrane until reaches the test line (T), where the IgM antibodies positive for PGL-I are captured by the PGL-I immobilized, forming the complex: PGL-I – human IgM – conjugate. This reaction leads to the formation of a reddish line, indicating the presence of positive IgM antibodies to PGL-I. Negative samples do not have IgM antibodies reactive to PGL-I. In this way there is no complex formation at the test Line. The non-formation of a reddish line in the T region indicates the absence of IgM antibodies to PGL-I in the sample. The sample continues the migration through the membrane until reach the control line (C), formed by protein A. In this line it is observed the formation of a reddish line, due to the capture of the excess of conjugate by the protein A. The signal on the control region should be present in positive and negative samples. The formation of the reddish line in the Control region demonstrates that the result is valid.

REAGENTS

Number 1 (R1) Cassette – Store at 2 to 30°C. **Do not freeze.** Contains:
A) 01 plastic device with 01 test strip containing:
- Control region (C): Protein A (> 0.06 µg).
- Test region (T): PGL-I antigen (> 0.3 µg).
- Conjugate: Anti-human IgM antibody conjugated to colloidal gold nanoparticles.

B) 01 silica sachet

Number 2 (R2) Sample Diluent - Diluent - Store between 2 and 30°C. Do not freeze. Contains: Buffer Solution pH 7.2, surfactant and preservative.

Accessories for Sample Collection:

- Plastic capillary tube
- Disposable lancet* +
- Alcohol sachet*

*Available in accord to the commercial presentation.
+ The format and color of the lancet may vary, but, without interfering in the performance of the product.

PRESENTATIONS

Reagent	Number of Cassettes of Packaging	Diluent
Cassette + Diluent (Includes Pipette)*	5	1.0 mL
	10	1.5 mL
	15	2.5 mL
	20	3.0 mL
	25	3.5 mL
	30	4.0 mL
	40	5.0 mL
	50	6.0 mL
Cassette + Diluent (Includes Lancet and Pipette)**	100	2 x 6.0 mL
	5	1.0 mL
	10	1.5 mL
	15	2.5 mL
	20	3.0 mL
	25	3.5 mL
	30	4.0 mL
	40	5.0 mL
Cassette + Diluent (Includes Lancet and Pipette and Alcoholic Sachet)***	50	6.0 mL
	100	2 x 6.0 mL
	5	5 x 0.25 mL
	10	10 x 0.25 mL
	15	15 x 0.25 mL
	20	20 x 0.25 mL
	25	25 x 0.25 mL
	30	30 x 0.25 mL
	40	40 x 0.25 mL
	50	50 x 0.25 mL
	100	100 x 0.25 mL

*These presentations are accompanied by disposable plastic pipettes, proportionally to the number of cassettes.
**These presentations are accompanied by disposable plastic lancets and pipettes, proportionally to the number of cassettes.
***These presentations are accompanied by lancets, disposable plastic pipettes and alcoholic sachets, proportionally to the number of cassettes.

INSTRUMENTS AND OPERACIONAL INPUTS

Pipettes, tips, watch or stopwatch, 70% alcohol (w/w), cotton and garbage for disposal. These items are found in the specialized market for articles for Clinical Analysis Laboratories. The kit allows visible reading without the aid of equipment.

CONDITIONS OF STORAGE AND TRANSPORTATION

The storage and transport temperature should be 2 to 30°C. Avoid moisture. **Do not freeze.**

WARNINGS

1 - For *in vitro* diagnostic use only.
2 - Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
3 - The cassettes (test devices) do not contain contaminating substances, but as the samples are biological, safety routines must be strictly followed and the use of disposable gloves is essential.
4 - Treat all samples as potentially infectious.
5 - Use clean and dry containers to store the samples.
6 - Open the aluminum envelope, to remove the cassette (test device), only at the moment of use.
7 - The kit must not be frozen or exposed to high temperatures, as this will cause deterioration.
8 - The reagents, as well as the sample, must reach room temperature before starting the test.
9 - Do not mix the reagents (components) of kits with the same lot or different lot numbers.
10 - Do not use the kit after the expiration date. The expiry date is indicated on the product label.
11 - The cassette (test device), pipette and lancet are disposable and cannot be reused.
12 - The kit materials that had contact with the patient’s biological material must have a special destination. Disposal of lancets and pipettes should be done in sharps. Cassettes (test devices) and diluent vials should be disposed of in biowaste.
13 - Boxes, Instructions for Use, aluminum envelope and silica sachet can be disposed of in regular trash.
14 - We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that reagents and biological material are disposed of in accordance with current legislation.
15 - To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the FISPQ (Safety Information Sheet for Chemical Products) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Safety Service Client Advisory) by Quibasa.
16 - Do not use the product in case of damage to the packaging.
17 - It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and subject to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma: Samples can be stored under refrigeration, between 2 and 8 °C, for a maximum period of 3 days. If samples cannot be analyzed within 3 days, they can be stored for up to 30 days at -20 °C (freezer). To obtain the plasma, perform collection using EDTA, Heparin or Citrate as an anticoagulant.

Whole Blood: Collect whole blood by venipuncture using the appropriate anticoagulant (EDTA, Heparin or Citrate) or by digital puncture with the aid of a lancet. Whole blood collected by lancet should be used for immediate testing. Whole blood collected by venipuncture with anticoagulant can be stored under refrigeration, between 2 and 8 °C, for a maximum period of 3 days. **Do not freeze.**

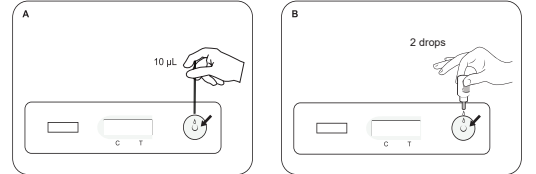
PROCESS DESCRIPTION

Bioclin FAST ML FLOW HANSEN’S DISEASE reactive strip stability (after opening the aluminized sachet) is 2 hours. This stability may vary according to the environmental conditions after opening the aluminized sachet.

TECHNIQUE - VENOPUNCTURE

1 - The sample must be at room temperature before starting the test.
2 - Remove the cassette from the protective packaging, place it on a clean and leveled surface. Clearly identify it.
3 - For Whole Blood, serum or plasma: Transfer 10 µL of the sample to the sample well

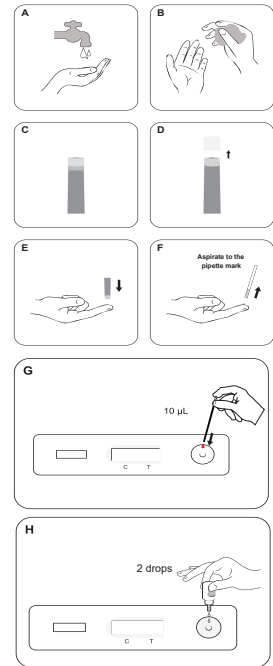
4 - Hold the bottle vertically and apply 2 drops (approximately 70µL) of Diluent (Reagent N° 2) in the sample well.



5 - Wait for the lines to form. Interpret the results between 15 and 20 minutes. Do not interpret after 20 minutes.

TECHNIQUE - DIGITAL PUNCH / LANCET

1 - Remove the cassette from the protective packaging, place it on a clean, level surface and clearly identify it.
2 - Wash and dry the patient’s hands. Apply 70% alcohol (w/w) on the tip of the finger for asepsis of the area used.
3 - Press the fingertip that will be pierced by the lancet to accumulation of blood in this region.
4 - Remove the protective cap from the lancet.
5 - Position and press the lancet firmly under the area to be lancet. Then blood will come out of the punctured area.
6 - Press the capillary above the trace and touch the sample. Relieve the pressure for which the sample is aspirated. Aspirate up to the dash to get the volume of 10 µL
7 - In the sample well, dispense the blood by pressing again the pipette.
8 - Hold the Diluent bottle (Reagent N° 2) vertically and apply 2 drops (approximately 70 µL) of Diluent into the sample well.
9 - Wait for the lines to form. Interpret the results between 15 and 20 minutes. Do not interpret after 20 minutes.



INTERPRETATION OF THE RESULT

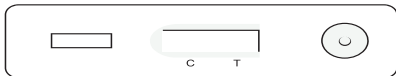
Reagent Test: Formation of a red line in the test region (T) and another line in the control region (C) in the first 15 to 20 minutes. Do not interpret after 20 minutes.



Non-Reagent Test: Formation of a reddish line in the control region (C) and complete absence of a red line in the test region (T). Do not interpret after 20 minutes.



Invalid Result: Complete absence of a line in the region control (C) with or without a red line at test region (T). Test the sample again.



Notes:

- Results should only be read between 15 and 20 minutes. Not before or after that time.
- The line in the control region can appear before 15 minutes. However, the reading of the results must be made between 15 and 20 minutes.
- The results should not be interpreted after 20 minutes to avoid incorrect results.
- The results provided by this kit must be interpreted by the responsible healthcare professional, who must take into account the clinical signs and the test result for the determination of the diagnosis and/or treatment of the patient.

LIMITATIONS OF THE PROCESS

- It is important to use the correct volume of sample, because lower volumes or higher may lead to erroneous results.
- The results provided by this kit must be interpreted by the responsible healthcare professional, who must take into account the clinical signs and the test result for the determination of the diagnosis and/or treatment of the patient.
- The presence of a red line in the test region (T) at any intensity, weak or strong, when the control line is also present, identifies a reagent result.
- The intensity of the control line (C) may vary according to the sample used in the test and should not be used as a criterion for analysis of the test line.
- If the test shows a non-reactive result, even if the clinical symptoms persist, the investigation of the diagnosis must be maintained following the criteria of the Ministry of Health.
- Do not use *post-mortem* samples.

INTERFERENT

Hemolysis with hemoglobin values up to 1000 mg/dL do not interfere with the dosage of IgM anti-M antibodies. leprae. No significant interference was found in samples with up to 20 mg/dL of acetylsalicylic acid, 2 g/dL of ascorbic acid, 200 mg/dL of creatine, 1 g/dL of bilirubin, 2 g/dL of albumin, 60 mg/dL of oxalic acid. Interferences above these values can cause false reagent or false non-reactive results. There was no evidence of interference with Rheumatoid Factor up to 1000 IU/mL, C-Reactive Protein up to 50 mg/dL and Anti Streptolysin O up to 1000 IU/mL.

HIGH DOSE PROZONE EFFECT

Although no prozone effect was observed in laboratory tests, field tests show that blood, serum or plasma samples from patients with clinical signs of Virchowian leprosy may show a false negative result in the test or test band with weaker intensity. In this case, carrying out serial dilutions of the sample in saline solution can be an alternative to show a reactive result in the immunochromatographic test.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality assurance program, in which all procedures and rules are previously established and clearly shared for all the organization and where every limits and tolerance values to variations are clearly established. It is also recommended that every lab have its own set of controls, in order to access the precision and accuracy of the dosages methods, considering that every dosage method has its own analytical variety.

PRODUCT PERFORMANCE ACCURACY

Methods comparison

The BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE kit was compared with ELISA for identification of IgM antibodies anti-*M. leprae*. 116 different samples were analyzed in both methods. The performed and results were evaluated. The total agreement found was > 99.1%, showing that the lateral flow test has good specificity methodological.

	Kit Reference	BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE
Reactive Samples	51	52
Non-Reactive Samples	65	64
TOTAL	116	

Total agreement found: > 99.1% (115/116)

PRECISION

Repeatability

The repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 12 different samples. On this test it was observed 100% of agreement between reference and found results, obtaining the following results:

Amostras	Nº de Repetições	Resultado Esperado	Resultado Encontrado
Serum	10	Reagent	Reagent
Plasma EDTA	10	Reagent	Reagent
Whole Blood EDTA	10	Reagent	Reagent
Whole Blood Heparin	10	Reagent	Reagent
Plasma Heparin	10	Reagent	Reagent
Digital Puncture	10	Reagent	Reagent
Serum	10	Non- Reagent	Non- Reagent
Plasma EDTA	10	Non- Reagent	Non- Reagent
Whole Blood EDTA	10	Non- Reagent	Non- Reagent
Whole Blood Heparin	10	Non- Reagent	Non- Reagent
Plasma Heparin	10	Non- Reagent	Non- Reagent
Digital Puncture	10	Non- Reagent	Non- Reagent

Reproducibility

The reproducibility was calculated from 5 successive determinations for 3 consecutive days, using 12 different samples. On this test it was observed 100% of agreement between reference and found results, obtaining the following results:

Amostra	Nº de Dias	Nº de Repetições	Resultado Esperado	Resultado Encontrado
Serum	3	5	Reagent	Reagent
Plasma EDTA	3	5	Reagent	Reagent
Whole Blood EDTA	3	5	Reagent	Reagent
Whole Blood Heparin	3	5	Reagent	Reagent
Plasma Heparin	3	5	Reagent	Reagent
Digital Puncture	3	5	Reagent	Reagent
Serum	3	5	Non- Reagent	Non- Reagent
Plasma EDTA	3	5	Non- Reagent	Non- Reagent
Whole Blood EDTA	3	5	Non- Reagent	Non- Reagent
Whole Blood Heparin	3	5	Non- Reagent	Non- Reagent

Plasma Heparin	3	5	Non- Reagent	Non- Reagent
Digital Puncture	3	5	Non- Reagent	Non- Reagent

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

The Bioclin Fast ML Flow Leprosy kit has been tested using samples from patients clinically positive for leprosy and negative (without clinical signs) for the disease. The samples came from different regions of Brazil and had no distinction of age, sex or ethnic race. The results are presented below:

	Kit Reference	BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE
Reactive Samples	48	44
Non-Reactive Samples	60	54
TOTAL	108	

The results found suggest the following values:

Clinical Sensitivity: 91.7% (IC 84.15% - 99.18%)

Clinical Specificity: 90.0% (IC 82.76% - 97.24%)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Leprosy is an infection caused by *Mycobacterium leprae*. Bioclin FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE is a simple test for the detection of specific IgM antibodies against the phenolic glycolipid-I (PGL-I) from *Mycobacterium leprae*, in human serum, plasma or whole blood (venipuncture or finger puncture).

The test is useful to aid in diagnosis when results are analyzed together with the patient's clinical information^{2, 5, 9, 10}. The presence of antibodies suggests the presence of a multibacillary infection (MB) and therefore the test can be used to discriminate multibacillary patients of the paucibacillary ones. Monitoring the effectiveness of therapy should be accompanied by a decrease in the titers of circulating antibodies obtained by ELISA. In leprosy reactions, PGL-I also proved to be useful as predictive test^{1, 6}. The BAAR detection method in intradermic smear indicates active disease for Leprosy. Differently of this, the BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE serological test detects antibodies against *Mycobacterium leprae*, which indicates infection that may progress or not into disease state. The test can be used to help identify differential diagnoses, reinforce clinical suspicion of cases asymptomatic MB. The BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE test should be used as auxiliary tool to assist in the diagnosis of complex MB cases (Virchowian and Borderline Virchowiano), mainly in cases where there are difficulties with the absence of cardinal signs and symptoms, or when they are not recognized in the health services¹¹.

The BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE test can be used to investigate erythema knotty leprosy. The presence of erythematous and painful nodules may not be Leprosy. In these cases, a negative result on the BIOCLIN FAST ML FLOW HANSEN'S DISEASE should be used to direct investigation to other infectious diseases that could explain the clinical symptoms, such as Hepatitis C (HCV)¹¹. In endemic areas, the presence of a low specificity antibodies may correspond to a previous exposure, and therefore should be viewed as a negative result.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Associação entre reação hansênica após alta e a carga bacilar avaliada utilizando sorologia anti PGL-I e baciloscopia. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 2008.
- Association between anti-PGL-I IgM and clinical and demographic parameters in leprosy. Leprosy Review 77: 343-355, 2006.
- Description of Leprosy Classification at Baseline among Patients Enrolled at the Uniform Multidrug Therapy Clinical Trial for Leprosy Patients in Brazil; Am. J. Trop. Med. Hyg., 92(6), 2015, pp. 1280–1284.
- Evaluation of a rapid serological test for leprosy classification using human serum albumin as the antigen carrier; Journal of Immunological Methods 412 (2014) 35–41.
- IgM serum antibodies to phenolic glycolipid-I and clinical leprosy: two years' observation in a community with hyperendemic leprosy. International Journal of Leprosy and Other Microbacteriology Diseases 58: 25-30, 1990.
- Risk factors for type-1 reactions in borderline leprosy patients. Lancet 338: 654-657, 1991.
- Simple and Fast Lateral Flow Test for Classification of Leprosy Patients and Identification of Contacts with High Risk of Developing Leprosy; JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, May 2003, p. 1991–1995.
- The ML Flow test as a point of care test for leprosy control programmes: potential effects on classification of leprosy patients; Lepr Rev (2007) 78, 70–79.
- The use of whole blood in a dipstick assay for detection of antibodies to *Mycobacterium leprae*: a field evaluation. FEMS Immunology and Medical Microbiology 21: 197-201, 1998.

10) Use of synthetic glycoconjugates containing the *Mycobacterium leprae* specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid I in the serology of leprosy. Clinical and Experimental Immunology 64: 476-483, 1986.

11) The use of serology as an additional tool to support diagnosis of difficult multibacillary leprosy cases: lessons from clinical care. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(Suplemento II):27-33, 2008)

12) QUIBASA: Development data from the Research and Development department.

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 the 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

Tel.: +55 31 3439 5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Brazilian Industry

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Bioclin Fast ML Flow Hansen's Disease kit:

10269360345

Review: May/2023

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER