

Bioclin

BIOLISA CMV IgG

REF K122

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE
Teste para determinação quantitativa e qualitativa de anticorpos IgG para Citomegalovírus (CMV) em soro, plasma ou sangue total em papel de filtro por enzimaímunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO
Metodologia: Enzimaímunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA CMV IgG é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa e quantitativa indireta de Anticorpos IgG para CMV em amostras humanas de soro, plasma e sangue total em papel de filtro. Anticorpos IgG Anti- CMV, presentes na amostra, se ligam aos Antígenos revestidos na microplaca formando Complexos Antígeno-Anticorpos IgG. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Anticorpos Anti-IgG humano conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca, que é então incubada. Os Anticorpos Anti-IgG humano conjugados a enzima ligam-se aos Anticorpos IgG presentes, ligados aos Antígenos. 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 Anti-CMV presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

REAGENTES
1- Padrões Referência (A - E) - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Cinco (5) frascos (A - E) de Padrões Referência contendo Anticorpos IgG Anti-CMV em diferentes concentrações em Solução Tampão, surfactante, estabilizantes, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**
As concentrações dos Padrões Referência (A - E) variam a cada lote. Vide rótulo dos frascos.
2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, Anticorpo Anti-IgG humano ligado à Peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
3- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8°C.
4- Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
5- Diluente de Amostra - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizantes, surfactante, quelante e conservante.
6- Substrato - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
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 Anti-CMV, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
9- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
10- Seladores de Placa.
11- Tampão de Eluição em Papel de Filtro - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
12- Controle Negativo de Extração - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra não reativa para anticorpos IgG anti-CMV impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**
13- Controle Positivo de Extração - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra reativa para anticorpos IgG anti-CMV impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**

Reagentes	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1 – Padrões Referência (A – E)	1 Frasco (A – E) x 300 µL	2 Frasco (A – E) x 300 µL	5 Frasco (A – E) x 300 µL
2 - Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3 – Placa Sensibilizada	1 Unidade (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
4 – Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
5 – Diluente de Amostra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
6 - Substrato	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 – Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
10 – Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
11 – Tampão de Eluição em Papel de Filtro	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	5 Frascos x 20 mL
12 – Controle Negativo de Extração	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
13 – Controle Positivo de Extração	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:
- Reagentes descritos no quadro anterior

Materiais necessários não contidos no kit:
1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
6- Cronômetro ou relógio.
7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluída.
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 temperatura até 30°C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8°C.
4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
6- A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.

7- Toda matéria prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBsAg, 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 (Punção ou EDTA)
As amostras secas em papel de filtro podem ser armazenadas a temperatura ambiente desde que, fiquem protegidas de fonte de luz solar direta e baixa umidade. Para armazenamento de até 2 anos, as amostras devem permanecer sob refrigeração, entre 2 e 8°C. Para armazenamento superior a 2 anos, as amostras devem ser acondicionadas a temperatura de -20°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO
Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa CMV IgG 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 Reagente Nº 4 (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. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

Substrato
O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA
Amostras de Soro e Plasma
Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Padrões Referência (A - E), Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.
1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Padrões Referência (A – E), 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 dos Padrões referência (A – E), 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, Padrões Referência (A - E), Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.
1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Padrões Referência (A – E), 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- 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 dos Padrões Referência (A – E) e Controles 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 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

Para amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco, Padrões Referência (A – E) e dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Branco	< 0,100
Padrão Referência A	< 0,100
Padrão Referência B	> 0,2 e < 0,6
Padrão Referência C	> B e < D
Padrão Referência D	> C e < E
Padrão Referência E	> 1,400
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo	> 1,000
Controle Negativo de Extração	< 0,300
Controle Positivo de Extração	> 1,000

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

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Para amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro

Considerar como Cut Off a absorbância média obtida com o Padrão Referência B. Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Padrão Referência B	0,418
	0,416
Cut Off = Absorbância Média do Padrão Referência B	Cut Off = (0,418 + 0,416) Cut Off = 0,417

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,456
Valor de Cut Off	0,417
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	Índice = 1,456 / 0,417 Índice = 3,50

QUANTITATIVO

Preparo da Curva de Calibração

Técnica de Soro e Plasma

Registrar as absorbâncias obtidas na leitora de microplaca, como apresentado no exemplo 1. Calcular as médias das duplicatas (caso sejam realizadas duplicatas).

Plotar as absorbâncias médias de cada Padrão Referência versus a concentração correspondente em UI/mL (descrita no rótulo) em papel milimetrado (antes de plotá-las no gráfico) traçar a curva.

Nota: A concentração dos Padrões Referência pode variar lote a lote.

Técnica de Sangue Total em Papel de Filtro

Registrar as absorbâncias obtidas na leitora de microplaca, como apresentado no exemplo 1. Calcular as médias das duplicatas (caso sejam realizadas duplicatas).

Definir os novos valores de concentrações para técnica de papel de filtro multiplicando a concentração de cada Padrão Referência (descrita no rótulo) pelo fator de 2,5.

Plotar as absorbâncias médias de cada Padrão Referência versus a concentração correspondente em UI/mL em papel milimetrado (antes de plotá-las no gráfico) traçar a curva.

Exemplo 1

PADRÕES	ABSORBÂNCIA	ABSORBÂNCIA MÉDIA	CONCENTRAÇÃO PARA TÉCNICA DE SORO E PLASMA	CONCENTRAÇÃO PARA A TÉCNICA DE SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO
A	0,060	0,060	0,0	0 x 2,5 = 0,0
	0,059			
B	0,448	0,447	1,2	1,2 x 2,5 = 3,0
	0,445			
C	1,069	1,070	4,5	4,5 x 2,5 = 11,3
	1,066			
D	1,666	1,670	9,0	9,0 x 2,5 = 22,5
	1,671			
E	1,910	1,920	18,0	18,0 x 2,5 = 45,0
	1,922			

As amostras que tenham absorbância acima do Padrão Referência E, devem ser pré-diluídas utilizando Diluente de Amostra e devem ser testadas novamente. A concentração deve ser multiplicada pelo fator de diluição. Leitura automática e cálculo podem ser realizados através da função de regressão linear em programas adequados de computador.

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usados em substituição à curva de calibração, que deve ser construída no laboratório.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Amostras da Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro

RESULTADOS	QUALITATIVO PARA AMOSTRAS DE SORO, PLASMA E SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO	QUANTITATIVO PARA AMOSTRAS DE SORO OU PLASMA	QUANTITATIVO PARA AMOSTRAR DE SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO
	ÍNDICE	CONCENTRAÇÃO	CONCENTRAÇÃO
Negativo	≤ 0,90	≤ 1,08	≤ 2,7
Positivo	≥ 1,1	≥ 1,32	≥ 3,3
Indeterminado	0,91 – 1,09	1,09 – 1,31	2,71 – 3,29

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

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

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

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

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	2,035	2,059	0,145
Desvio padrão	0,098	0,220	0,015
Coefficiente de variação (%)	4,807	10,662	10,225

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	2,140	2,152	0,157
Desvio padrão	0,092	0,081	0,011
Coefficiente de variação (%)	4,284	3,752	6,929

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Amostra de Soro e Plasma

O kit BIOLISA CMV IgG analisou amostras clínicas em comparação com outro kit de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA CMV IgG é de 98,5% e a especificidade clínica é de > 99,9%.

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA	Resultado Esperado	BIOLISA CMV IgG
Amostra Positiva	205	202
Amostra Negativa	50	50
Total de Amostras Testadas	255	

Sensibilidade Clínica: 98,5% (202/205)

Especificidade Clínica: > 99,9% (50/50)

Amostras de Sangue Total em Papel de Filtro

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

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA	Resultado Esperado	BIOLISA CMV IgG
Amostra Positiva	54	54
Amostra Negativa	52	52
Total de Amostras Testadas	106	

Sensibilidade Clínica: > 99,9% (54/54)

Especificidade Clínica: > 99,9% (52/52)

LINEARIDADE

A reação é capaz de detectar concentrações até a concentração do ponto mais alto da curva de calibração. Para amostras com valores superiores, diluir a mesma com Diluente de Amostra, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Citomegalovírus (CMV) é um membro da família do Herpes Vírus que inclui os vírus Herpes Simplex (HSV) 1 e 2, vírus da Varicela Zoster (VZV) e o vírus Epstein-Barr (EBV). É um patógeno humano transmitido através da saliva, contato sexual, perinatal, transplante de órgão ou transfusão de sangue. Na maioria dos casos, a infecção permanece assintomática. No entanto, a infecção pelo CMV pode causar doenças graves em recém-nascidos e indivíduos imunodeprimidos, como pacientes com AIDS, câncer ou de pacientes que receberam transplante de órgãos.

Durante a terapia imunossupressora, freqüentemente ocorre uma reativação do vírus latente ou infecção primária. As infecções por CMV podem ser adquiridas antes do nascimento, durante o parto e mais tarde na vida. Podendo causar graves anomalias congênicas, tais como microcefalia, deficiência motora e retardamento mental.

Portanto, a determinação primária de infecção materna e sua distinção da infecção latente são de grande importância. A presença de anticorpos IgM indica a presença de infecção primária, enquanto a presença de anticorpos IgG indica o estado imunológico dos pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hodinka, RL, and Friedman, HM. Human Cytomegalovirus. In: Manual of Clinical Microbiology 6th Edition (1995) 884-894.
- Hanshaw, JB, Scheiner, AP, Moxley, AW, Gaev, L, Abel, V, and Scheiner, B. School Failure and Deafness after "Silent" Congenital Cytomegalovirus Infection. N. Engl. J. Med. (1976) 295:468-470.
- Reynolds, DW, Stagno, S, Stubbs, KG, Dabte, AJ, Livingston, NM, Saxon, SS, Alford, CA. Inapparent Congenital Cytomegalovirus. N. Engl. J. Med. (1974) 790:291-296.
- Stern, H. Cytomegalovirus Vaccine: Justification and Problems. In: Waterson AP (ed.) Recent Advances in Clinical Virology (1977) 117-134.
- 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 CMV IgG na ANVISA: 10269360188

Revisão: Outubro/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		INFLÂMÁVEL
	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 ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

Bioclin

BIOLISA CMV IgG

REF **K122**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Test para determinación cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgG para Citomegalovirus (CMV) en suero, plasma o sangre total em papel de filtro por enzaimnunoensayo en microplaca. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimnunoensayo o inmunoenzimatico

El Kit BIOLISA CMV IgG es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de detección cualitativa y cuantitativa indirecta de Anticuerpos IgG para CMV en suero humano, plasma y muestras de sangre total en papel de filtro. Anticuerpos IgG Anti- CMV, presentes en la muestra, se ligan a los Antígenos revestidos en la microplaca formando Complejos Antígeno- Anticuerpos IgG. Luego a la incubación inicial, la microplaca es lavada para remover los materiales no ligados. Anticuerpos Anti-IgG humano conjugados a la Peroxidasa son adicionados a la microplaca, que entonces es incubada. Los Anticuerpos Anti-IgG humano conjugados a la enzima se ligan a los Anticuerpos IgG presentes, ligados a los Antígenos. Nuevo lavado se realiza para remover los excedentes. Después de esta etapa, lo Sustrato es adicionado y incubado, produciendo un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos IgG Anti- CMV presentes en las muestras. La Solución de Parada es adicionada para interrumpir la reacción, teniendo um cambio de color de azul para amarillo, medida en un lector de microplacas.

REACTIVOS

1- Patrones Referencia (A - E) - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: cinco (5) frascos (A - E) de Patrones Referencia que contienen anticuerpos IgG anti-CMV en diferentes concentraciones en Solución Tampón, tensioactivo, estabilizadores, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

Las concentraciones de los patrones de referencia (A - E) varían con cada lote. Ver etiqueta del vial.

2- Conjugado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, Anticuerpo humano anti-IgG ligado a Peroxidasa, tensioactivo, estabilizantes, colorante y conservante.

3- Placa Sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8°C.

4- Lavado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo y conservante.

5- Diluyente de Muestra - Almacenar de 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizadores, tensioactivo, quelante y conservante.

6- Sustrato - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.

7- Control Negativo: Almacenar a una temperatura de 2 a 8 ° C. Contiene: Solución Tampón, estabilizador, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

8- Control Positivo - Almacenar entre 2 y 8 ° C. Contiene: Solución Tampón, Anticuerpos IgG anti-CMV, colorante, estabilizadores, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

9- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.

10- Selladores de Placas.

11- Tampón de Elución de Papel de Filtro - Almacenar a una temperatura de 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo, estabilizante y conservante.

12- Control de Extracción Negativa - Almacenar a una temperatura de 2 y 8°C. Contiene: Muestra no reactiva para Anticuerpos IgG anti-CMV impregnados en papel de filtro. **Potencialmente infeccioso.**

13- Control de Extracción Positiva: Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Muestra reactiva para Anticuerpos IgG anti-CMV impregnados en papel de filtro. **Potencialmente infeccioso.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1 – Patrones Referéncia (A – E)	1 Vial (A – E) x 300 µL	2 Viales (A – E) x 300 µL	5 Viales (A – E) x 300 µL
2 - Conjugado	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
3 – Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
4 – Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	2 Viales x 50 mL	5 Viales x 50 mL
5 – Diluynte de Muestra	1 Vial x 42 mL	2 Viales x 42 mL	5 Viales x 42 mL
6 - Substrato	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
7 – Control Negativo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
8 – Control Positivo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
9 – Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
10 – Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
11 – Tampón de Elución en Papel de Filtro	1 Vial x 20 mL	2 Viales x 20 mL	5 Viales x 20 mL
12 – Control de Extracción Negativo	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
13 – Control de Extracción Positivo	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.

Materiales necesarios, no contenidos en los Kit:

1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.

2- Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 300 µL com 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 diluida.

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 la microplaca 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 matéria 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, se 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 superficie 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 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 o 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 un 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 (Punción o EDTA)

Las muestras secadas en papel de filtro se pueden almacenar a temperatura ambiente siempre que estén protegidas de la luz solar directa y de baja humedad. Para el almacenamiento de hasta 2 años, las muestras deben permanecer refrigeradas, entre 2 y 8°C.

Para un almacenamiento superior a 2 años, las muestras deben almacenarse a una temperatura de -20°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa CMV IgG 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 DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del Reactivo N° 4 (Solución de Lavado Concentrado) en 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

Muestras de Suero o Plasma

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

1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Patrones Referência (A – E), 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 µl de Diluyente de Muestra. Incluso en la cavidad para el Blanco.

4- Pipetear 5 µl de Patrones Referência (A – E), Muestra y Controles en las cavidades previamente determinadas. Observar el cambio de color del diluyente en el momento de la adición de la muestra. La el cambio de color indica que la muestra se ha agregado al pocillo correctamente.

5- Homogeneizar suavemente 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 final 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 cada cavidade, incluso en la cavidad para el Blanco.

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 item 8.

14- Adicionar 100 µl Sustrato en todas las cavidades, incluso en la cavidad para el Blanco.

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- Adcionar 100 µl de Solución de Parada a todos los pocillos, incluso en la cavidad para el Blanco.

19- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.

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

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

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

1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Patrones Referência (A – E), 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- Agregar un círculo de 3mm de Control de Extracción Positiva, Control de Extracción Negativa y Muestras de Sangre Total en Papel Filtro previamente pictados, en las cavidades determinadas.

4- Pipetear 100 µl de Tampón de Elución en Papel de Filtro, incluso en la cavidad para el Blanco.

5- Pipetear 5 µl de los Patrones Referência (A – E) y Controles en las cavidades previamente determinadas.

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- Desechar el contenido de las cavidades 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 final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente.

Nota: Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.

10- Pipetear 100 µl de Conjugado en cada cavidade, incluso en la cavidad para el Blanco.

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 item 9.

15- Adcionar 100 µl Sustrato en todas las cavidades, incluso en la cavidad para el Blanco.

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- Adcionar 100 µl de Solución de Parada a todos los pocillos, incluso en la cavidad para el Blanco.

20- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.

21- Leer utilizando filtro doble: 450nm/630nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Para muestras de Suero, Plasma y Sangre Total en Papel de Filtro

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

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,100
Patrone Referencia A	< 0,100
Patrone Referencia B	> 0,2 e < 0,6
Patrone Referencia C	> B e < D
Patrone Referencia D	> C e < E
Patrone Referencia E	> 1,400
Control Negativo	< 0,100
Control Positivo	> 1,000
Control Negativo de Extracción	< 0,300
Control Positivo de Extracción	> 1,000

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

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Para Muestras de Suero, Plasma y Sangue Total en Papel de Filtro

Considerar como Cut Off la absorbancia promedio obtenido con el Patrón Referencia B.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Padrón Referencia B	0,418
	0,416
Cut Off = Absorbância Promedio del Patrón Referencia B	Cut Off = (0,418 + 0,416) Cut Off = 0,417

Calcular el Índice dividiendo la absorbancia de la Muestra por el valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,456
Valor de Cut Off	0,417
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	Índice = 1,456 / 0,417 Índice = 3,50

CUANTITATIVO

Preparación de la Curva de Calibración

Técnica de Suero o Plasma

Registre las absorbancias obtenidas en el lector de microplacas, como se muestra en el ejemplo 1. Calcule los promedios de los duplicados (si se realizan duplicados).

Grafique las absorbancias promedio de cada Estándar de referencia versus la concentración correspondiente en UI/mL (descrita en la etiqueta) en papel cuadrículado (antes de graficarlos en el gráfico) grafique la curva.

Nota: La concentración de los estándares de referencia puede variar de un lote a otro.

Técnica de Sangre Total en Papel de Filtro

Registre las absorbancias obtenidas en el lector de microplacas, como se muestra en el ejemplo 1. Calcule los promedios de los duplicados (si se realizan duplicados).

Defina los nuevos valores de concentración para la técnica de papel de filtro multiplicando la concentración de cada Estándar de referencia (descrito en la etiqueta) por un factor de 2,5.

Grafique las absorbancias promedio de cada Estándar de referencia versus la concentración correspondiente en UI/mL en papel cuadrículado (antes de graficarlos en el gráfico) grafique la curva.

Ejemplo 1

PATRONES	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA PROMEDIO	CONCENTRACIÓN PARA LA TÉCNICA DE SUERO Y PLASMA	CONCENTRACIÓN PARA LA TÉCNICA DE SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO
A	0,060	0,060	0,0	0 x 2,5 = 0,0
	0,059			
B	0,448	0,447	1,2	1,2 x 2,5 = 3,0
	0,445			
C	1,069	1,070	4,5	4,5 x 2,5 = 11,3
	1,066			
D	1,666	1,670	9,0	9,0 x 2,5 = 22,5
	1,671			
E	1,910	1,920	18,0	18,0 x 2,5 = 45,0
	1,922			

Las muestras que tengan absorbancia encima del Patrón Referencia E deben ser pre diluidas utilizando Diluyente de Muestra y deben ser probadas nuevamente. La concentración debe ser multiplicada por el factor de dilución. Lectura automática y cálculo pueden ser realizados a través de la función de regresión linear en programas adecuados de computador.

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son apenas para ilustración y no pueden ser usados en substitución a la curva de calibración, que debe ser construída en el laboratorio.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

RESULTADOS	CUALITATIVO PARA MUESTRAS DE SUERO, PLASMA E SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO	CUANTITATIVO PARA MUESTRAS DE SUERO O PLASMA	CUANTITATIVO PARA MUESTRAS DE SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO
	INDICE	CONCENTRACIÓN	CONCENTRACIÓN
Negativo	≤ 0,90	≤ 1,08	≤ 2,7
Positivo	≥ 1,1	≥ 1,32	≥ 3,3
Indeterminado	0,91 – 1,09	1,09 – 1,31	2,71 – 3,29

Observación: En el caso de resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizada. Las muestras que obtuvieran resultados repetidamente indeterminados deben ser reanalizados utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecieran indeterminados, se debe coleccionar una nueva muestra en dos semanas. Deve prevalecer el resultado de la última muestra recogida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

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

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de un test diagnóstico, no debe ser establecida con base en un único ensayo. Se deben incluir otros tests de confirmación, antes que una muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben ser interpretados en conjunto con otras informaciones clínicas disponibles antes del diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

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	2.035	2.059	0.145
Desvio Patrón	0.098	0.220	0.015
Coefficiente de Variación (%)	4.807	10.662	10.225

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	2.140	2.152	0.157
Desvio Patrón	0.092	0.081	0.011
Coefficiente de Variación (%)	4.284	3.752	6.929

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Muestras de Suero o Plasma

El kit BIOLISA CMV IgG analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA CMV IgG es 98,5% y la especificidad clínica > 99,9%.

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA	Resultado esperado	BIOLISA CMV IgG
Muestra Positiva	205	202
Muestra Negativa	50	50
Total de Muestras Testadas	255	

Sensibilidad Clínica: 98,5% (202/205)

Especificidad Clínica: > 99,9% (50/50)

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

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

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA	Resultado esperado	BIOLISA CMV IgG
Muestra Positiva	54	54
Muestra Negativa	52	52
Total de Muestras Testadas	106	

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (54/54)

Especificidad Clínica: > 99,9% (52/52)

LINEARIDAD

La reacción es capaz de detectar concentraciones hasta la concentración del punto más alto de la curva de calibración. Para muestras con valores superiores, diluir la misma con Diluyente de Muestra, repetir la dosis y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNOSTICO

Citomegalovirus (CMV) es un miembro de la familia del Herpes Virus que incluye los virus Herpes Simplex (HSV) 1 y 2, virus de la Varicela Zoster (VZV) y el virus Epstein-Barr (EBV). Es un patógeno humano transmitido a través de la saliva, contacto sexual, perinatal, transplante de organo o transfusión de sangre. En la mayoría de los casos, la infección permanece asintomática. Sin embargo, la infección por el CMV puede causar dolencias graves en recién nacidos e individuos inmunodeprimidos, como pacientes con SIDA, cáncer o de pacientes que recibieron transplante de órganos.

Durante la terapia inmunosupresora, frecuentemente ocurre una reactivación del virus latente o infección primaria. Las infecciones por CMV pueden ser adquiridas antes del nacimiento, durante el parto y más tarde en la vida. Pudiendo causar graves anomalías congénitas, tales como microcefalia, deficiencia motora y retardo- miento mental.

Por lo tanto, la determinación primaria de infección materna y su distinción de la infección latente son de grande importancia. La presencia de anticuerpos IgM indica la presencia de infección primaria, mientras que la presencia de anticuerpos IgG indica el estado inmunológico de los pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hodinka, RL, and Friedman, HM. Human Cytomegalovirus. In: Manual of Clinical Microbiology 6th Edition (1995) 884-894.
- Hanshaw, JB, Scheiner, AP, Moxley, AW, Gaev, L, Abel, V, and Scheiner, B. *School Failure and Deafness after "Silent" Congenital Cytomegalovirus Infection*. N. Engl. J. Med. (1976) 295:468-470.
- Reynolds, DW, Stagno, S, Stubbs, KG, Dabte, AJ, Livingston, NM, Saxon, SS, Alford, CA. *Inapparent Congenital Cytomegalovovrus*. N. Engl. J. Med. (1974) 790:291-296.
- Stern, H. Cytomegalovirus Vaccine: Justification and Problems. In: Waterson AP (ed.) Recent Advances in Clinical Virology (1977) 117-134.
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e Monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- 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

Registro del kit BIOLISA CMV IgG en la ANVISA: 10269360188

Revisión: Octubre/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

BIOLISA CMV IgG

REF **K122**

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Test for quantitative and qualitative of IgG antibodies for Cytomegalovirus (CMV) in human serum or plasma by enzyme immunoassay in microplate. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic

BIOLISA CMV IgG kit is a solid phase enzyme immunoassay based on the principle of indirect qualitative and quantitative detection of IgG Antibodies to CMV in human serum, plasma and whole blood samples on filter paper. IgG Antibodies to CMV, in the sample bind to Antigen coated on the microplate forming Complexes Antigen-Antibodies IgG. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Antihuman IgG Antibodies conjugated to Peroxidase are added to the microplate, which is then incubated. The Anti-human IgG Antibodies conjugated enzyme bind to IgG Antibodies present, linked to antigens. Further washing is performed to remove excess. After this step, the Substrate is added and incubated producing a blue color, which indicates the amount of IgG Antibodies to CMV in the samples. Stop Solution is added to stop the reaction having a color change from blue to yellow, measured in a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Reference Standards (A - E)** - Store between 2 and 8°C. Contains: Five (5) flasks (A - E) of Reference Standards containing IgG Anti-CMV Antibodies in different concentrations in Buffer Solution, surfactant, stabilizers, dye and preservative. **Potentially infective.**
- The concentrations of the Reference Standards (A - E) vary with each batch. See vial label.**
- 2- Conjugate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, Human Anti-IgG Antibody linked to Peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3- Sensitized Plate** - Store at 2 to 8°C.
- 4- Concentrated Washing** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution surfactant and preservative.
- 5- Sample Diluent** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant, chelator and preservative.
- 6- Substrate** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 7- Negative Control** - Store at 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 Anti-CMV Antibodies, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
- 9- Stop Solution** - Store at 2 and 8°C. Contains: Hydrochloric Acid 1 M.
- 10- Plate Sealers.**
- 11- Filter Paper Elution Buffer** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant, stabilizer and preservative.
- 12- Negative Extraction Control** - Store at 2 and 8°C. Contains: Non-reactive sample for anti-CMV IgG antibodies impregnated on Filter Paper. **Potentially infective.**
- 13- Positive Extraction Control** - Store at 2 and 8°C. Contains: Reactive sample for anti-CMV IgG antibodies impregnated in filter paper. **Potentially infective.**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1 – Reference Standards (A – E)	1 Vial (A – E) x 300 µL	2 Vials (A – E) x 300 µL	5 Vials (A – E) x 300 µL
2 - Conjugate	1 Vial x 12mL	2 Vials x 12mL	5 Vials x 12mL
3 – Sensitized Plate	1 Unit (96 cavities)	2 Units (192 cavities)	5 Units (480 cavities)
4 –Concentrated Washing	1 Vial x 50mL	2 Vials x 50mL	5 Vials x 50mL
5 – Sample Diluent	1 Vial x 42mL	2 Vials x 42mL	5 Vials x 42mL
6 - Substrate	1 Vial x 12mL	2 Vials x 12mL	5 Vials x 12mL
7 –Negative Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
8 –Positive Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
9 – Stop Solution	1 Vial x 12mL	2 Vials x 12mL	5 Vials x 12mL
10 – Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units
11 – Filter Paper Elution Buffer	1 Vial x 20 mL	2 Vials x 20 mL	5 Vials x 20 mL
12 – Negative Extraction Control	1 unit	2 units	5 units
13 – Positive Extraction Control	1 unit	2 units	5 units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table

Required materials not contained in the kit:

- 1- Pipette capable of dispensing volumes of 5 to 300 µL with lower coefficient of variation than 1,5%.
- 2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 300 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 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 between 2 and 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 non-reactive 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 biosafety 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 (Puncture or EDTA)

Samples dried on filter paper can be stored at room temperature as long as they are protected from direct sunlight and low humidity. For storage of up to 2 years, the samples must remain refrigerated, between 2 and 8°C.

For storage longer than 2 years, samples must be stored at a temperature of -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

The results of the stability test show that the kit Biolisa CMV IgG 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.

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of the Reagent N° 4 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled water or deionized water. After preparation the solution may be stored at 2 to 30°C until expiration date printed on the original bottle. Can be stored at room temperature. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready for use.

TECHNIQUE

Samples of Serum or Plasma

- Before starting the assay, place all reagents, Reference Standards (A - E), Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.
- 1- Select the wells to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the microplate will not be used Reference Standards (A – E), for the original sealed packaging.
 - 2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
 - 3- Pipette 100 µL of Sample Diluent, included in the Blank cavity.
 - 4- Pipette 5 µL of Reference Standards (A – E), Sample and Controls into previously determined wells. Observe the color change of the diluent at the time of sample addition. The color change indicates that the sample was added to the well correctly.

- 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 and drying can cause inadequate results.
- 9- Pipette 100 µl of Conjugate into each well except in the Blank cavity.
- 10- Mix gently for ± 30 seconds. Cover cavities 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, even in the cavity for White.
- 15- Shake gently for ± 30 seconds. Cover 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, even in the cavity for White.
- 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, Reference Standards (A - E), Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.
- 1- Select the wells to be used considering: Reference Standards (A – E), 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- 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 Elution Buffer in Filter Paper, included in the Blank cavity.
 - 5- Pipette 5 µL of Reference Standards (A – E) and 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 wells 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 and drying can cause inadequate results.
 - 10- Pipette 100 µl of Conjugate into each well, included in the Blank cavity.
 - 11- Mix gently for ± 30 seconds. Cover cavities 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 all wells, even in the cavity for White.
 - 16- Shake gently for ± 30 seconds. Cover 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, even in the cavity for White.
 - 20- Mix gently for ± 30 seconds.
 - 21- Read using double filter: 450nm/630nm within up to 15 minutes (maximum).

