

BIOLISA CMV IgM

REF K123

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgM para Citomegalovírus (CMV) em amostras humanas de soro, plasma e sangue total em papel de filtro por enzimaimunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático

O kit BIOLISA CMV IgM é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa por captura de Anticorpos IgM para CMV em amostras humanas de soro, plasma e sangue total em papel de filtro. Anticorpos IgM presentes na amostra se ligam aos Anticorpos anti IgM revestidos na microplaca formando imunocomplexos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Antígenos de CMV conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca que é então incubada. Os Antígenos conjugados a enzima ligam-se aos Anticorpos IgM Anti-CMV presentes, ligados à placa revestida com Anticorpos Anti IgM. 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 IgM Anti-CMV presentes na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplaca.

REAGENTES

- 1 - Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Placa sensibilizada com anticorpos Anti-IgM.
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, Antígeno de CMV conjugado à Peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
- 4- Dilluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizantes, surfactante e conservante.
- 5- Substrato** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 7- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizante, surfactante e conservante.
- 8- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM Anti-CMV, Solução Tampão, corante, estabilizantes, surfactante e conservante.
- Potencialmente infectante.**
- 9- Seladores de Placa**
- 10- Tampão de Eluição em Papel de Filtro** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- 11- Controle Negativo de Extração** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra não reativa para anticorpos IgM Anti-CMV impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**
- 12- Controle Positivo de Extração** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra reativa para anticorpos IgM Anti-CMV impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Placa Sensibilizada	1 Unidade (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2 - Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4 - Diluente de Amostra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
5 - Substrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
8 - Controle Positivo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
9 - Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
10 - Tampão de Eluição em Papel Filtro	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	5 Frascos x 20 mL
11 - Controle Negativo de Extração	1 unidade	2 unidades	5 unidades
12- Controle Positivo de Extração	1 unidade	2 unidades	5 unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

- Reagentes descritos no item 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 capacidade de 37°C ± 2°C.
- 11- Picotador de papel (diâmetro de 3mm) 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- Segure 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 o 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 manual 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 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 FDS (Ficha com Dados de Segurança) 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 a 8°C. Para armazenamento superior a 2 anos, as amostras devem ser acondicionadas a temperatura de -20°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

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

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

ESTABILIDADE APÓS ABERTO

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa CMV IgM é estável após aberto por até 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.

TÉCNICA

Amostra de Soro e Plasma

- Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Amostras e Controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.
- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
- 2 - Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- 3- Pipetar 100 µL de Diluente de Amostra. Inclusive na cavidade para o Branco.
- 4- Pipetar 5 µL de Amostra e Controles nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do diluente no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao poço corretamente.
- 5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
- 6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 7- Retirar o selador das cavidades.
- 8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparada**, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.
- Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
- 9- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
- 10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 12- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 13- Repetir o item 8.
- 14- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 16- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 17- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 18- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

- Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.
- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
- 2 - Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- 3- 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 de Papel de Filtro, inclusive na cavidade para o Branco.
- 5- Pipetar 5 µL de 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 aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Retirar os discos de papel, caso necessário, com auxílio de uma agulha ou ponteira. Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparada**, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.
- Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
- 10- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
- 11- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 12- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 13- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 14- Repetir o item 9.

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

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA
Para amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro
Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco e dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,150
Controle Negativo	< 0,150
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.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

QUALITATIVO
Amostra de Soro e Plasma
Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,1) + 0,300
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente Nº 8)	A1 = 1,964
	A2= 1,960
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,1) + 0,300	Cut Off = ((1,964 + 1,960)/2 x 0,1) + 0,300 Cut Off = 0,496

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,279
Valor de Cut Off	0,496
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,279 / 0,496 = 2,579

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro
Calcular o Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Abs. Média do Controle Positivo x 0,05) + 0,120
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente Nº 8)	A1 = 1,964
	A2 = 1,960
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,05) + 0,120	Cut Off = ((1,964 + 1,960)/2 x 0,05) + 0,120 Cut Off = 0,218

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,279
Valor de Cut Off	0,218
Índice: Amostra/ Valor de Cut Off	1,279 / 0,218 = 5,867

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS
Para amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro
Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para determinação dos resultados.

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (Não Reagente)	< 0,9
Indeterminado	0,9 – 1,1
Positivo (Reagente)	> 1,1

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO
Os Anticorpos IgM ficam presentes no soro, plasma e sangue total em papel de filtro por período curto de tempo, desaparecendo até seis meses após a infecção, enquanto os anticorpos IgG permanecem presentes por longo período de tempo. Entretanto, a alta sensibilidade das novas metodologias de diagnóstico, em alguns casos, permite encontrar níveis muito baixos de Anticorpos IgM, denominados IgM residuais, por um maior período de tempo. A detecção destes Anticorpos IgM residuais dificulta a interpretação clínica sobre o período de infecção. Nestes casos, para confirmação do resultado, é recomendado a realização de teste de avidéz de IgG. 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 definitivo 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
Foram realizadas 10 dosagens sucessivas com três amostras, utilizando o mesmo lote, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	4,067	1,267	0,083
Desvio Padrão	0,015	0,025	0,011
Coefficiente de Variação (%)	0,360	2,013	13,426

Reprodutibilidade
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 dosagens sucessivas, com 3 amostras diferentes durante 3 dias consecutivos, utilizando o mesmo lote, obtendo-se os seguintes resultados.

Reprodutibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	3,943	1,259	0,073
Desvio Padrão	0,160	0,005	0,001
Coefficiente de Variação (%)	4,069	0,377	1,821

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA
Amostra de Soro e Plasma
O kit BIOLISA CMV IgM analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA CMV IgM é > 99,99% e a especificidade clínica é > 99,99%.

	Resultado Esperado	Biolisa CMV IgM
Amostra Positiva	53	53
Amostra Negativa	94	94
Total de Amostras Testadas	147	

Sensibilidade Clínica: > 99,99% (94/94)
Especificidade Clínica: > 99,99% (53/53)

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro
O kit BIOLISA CMV IgM analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA CMV IgM é > 99,99% e a especificidade clínica é > 99,99%.

	Resultado Esperado	Biolisa CMV IgM
Amostra Positiva	50	50
Amostra Negativa	52	52
Total de Amostras Testadas	102	

Sensibilidade Clínica: >99,99% (50/50)
Especificidade Clínica: >99,99% (52/52)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
Citomegalovírus (CMV) é um membro da família 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, transplantação 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 pacientes que receberam transplante de órgãos. Durante a terapia imunossupressora, frequentemente 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 congênitas, 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.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
1. Hodinka, RL, and Friedman, HM. Human Cytomegalovirus. In: Manual of Clinical Microbiology 6th Edition (1995) 884-894.
2. 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.
3. 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.
4. Stern, H. Cytomegalovirus Vaccine: Justification and Problems. In: Waterson AP (ed.) Recent Advances in Clinical Virology (1977) 117-134.
5. TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e Monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
6. 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 IgM na ANVISA: 10269360189

Revisão: Agosto/2024

**REF**

NÚMERO DE CATÁLOGO

**LOT**

NÚMERO DO LOTE

**DATA DE FABRICAÇÃO**

**DATA DE VALIDADE (último dia do mês)**

**LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)**

**O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE**

**CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO**

**IVD**

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

**PROTEGER DA LUZ E CALOR**

**NÃO REUTILIZE**

**CUIDADO**

**FABRICADO POR**

**CONTROLE**

**CONTROLE POSITIVO**

**CONTROLE NEGATIVO**

**RISCO BIOLÓGICO**

**INFLÂMÁVEL**

**CORROSIVO**

**TÓXICO**

**NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA**

**PRODUTO ESTERILIZADO**

**PERIGO**

BIOLISA CMV IgM

REF **K123**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM contra citomegalovirus (CMV) en muestras humanas de suero, plasma y sangre completa en papel de filtro de inmunoensayo enzimático de microplacas. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimaimmunoensayo o inmunoenzimático
El kit BIOLISA CMV IgM es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de detección cualitativa mediante la captura de anticuerpos IgM contra CMV en muestras humanas de suero, plasma y sangre completa en papel de filtro. Los anticuerpos IgM presentes en la muestra se unen a los anticuerpos anti IgM recubiertos en la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Los antígenos CMV conjugados con peroxidasa se añaden a la microplaca que luego se incuba. Los antígenos conjugados con enzimas se unen a los anticuerpos IgM Anti-CMV presentes, unidos a la placa recubierta con anticuerpos Anti IgM. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el excedente. Después de esta etapa, el sustrato se agrega e incuba, produciendo un color azul que indica la cantidad de anticuerpos IgM anti-CMV presentes en la muestra. La solución de parada se agrega para detener la reacción con un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1 - Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Placa Sensibilizada con Anticuerpos Anti-IgM.
2- Conjugado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, Antígeno CMV conjugado con Peroxidasa, tensioactivo, estabilizadores, colorante y conservante.
3- Lavado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo y conservante.
4- Diluyente de Muestra - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizadores, tensioactivos y conservantes.
5- Sustrato - Almacenar de 2 a 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
6- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.
7- Control Negativo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizante, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
8- Control Positivo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: anticuerpos IgM Anti-CMV, Solución Tampón, colorante, estabilizadores, tensioactivo y preservativo. **Potencialmente infeccioso.**
9- Selladores de Placa
10- Tampón de Elución en Papel de Filtro - Almacenar a una temperatura de 2 a 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo, estabilizante y conservante.
11- Control de Extracción Negativa - Almacenar a una temperatura de 2 a 8°C. Contiene: Muestra no reactiva para anticuerpos Anti-CMV IgM impregnados en Papel de Filtro. **Potencialmente infeccioso.**
12- Control de Extracción Positiva: Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Muestra reactiva para anticuerpos Anti-CMV IgM impregnados en Papel de Filtro. **Potencialmente infeccioso.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1 – Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2 - Conjugado	1 Frasco x 12mL	2 Frascos x 12mL	5 Frascos x 12mL
3 – Lavado Concentrado	1 Frasco x 50mL	2 Frascos x 50mL	5 Frascos x 50mL
4 – Diluynte de Muestra	1 Frasco x 42mL	2 Frascos x 42mL	5 Frascos x 42mL
5 - Sustrato	1 Frasco x 12mL	2 Frascos x 12mL	5 Frascos x 12mL
6 – Solución de Parada	1 Frasco x 12mL	2 Frascos x 12mL	5 Frascos x 12mL
7 – Control Negativo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
8 – Control Positivo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
9 – Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
10 – Tampón de Elución en Papel de Filtro	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	5 Frascos x 20 mL
11 – Control de Extracción Negativo	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
12 – 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 coeficiente de variación menor que 1,5%.
2- Repipetadores para pipetajes repetitivos de volúmenes de 300 µL con coeficiente de variación menor que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia 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 luego 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 de 2 a 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 signifi cativa los resultados.
6- La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.
7- Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.
8- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
9- Por medida de protección, debe cubrir la placa durante la reacción.
10- Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequem 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 HDS (Hoja de Datos de Seguridad) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

No se deben utilizar muestras hemolizadas o altamente lipémicas. Las muestras pueden mantenerse refrigeradas, entre 2 y 8°C, durante 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 fi ltro 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

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del Reactivo N°3 (Solución de Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Después de la preparación de la solución 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.

ESTABILIDAD DESPUÉS DE ABRIR

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa CMV IgM es estable después de abrir por hasta 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.

TÉCNICA

Muestras de Suero o Plasma

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

- 1-** Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retomar 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 Controles y Muestras 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 há 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 defi ciente 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 ítem 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 em 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, Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 40 minutos.

- 1-** Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retomar 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 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 ítem 9.

15- Adicionar 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- Adicionar 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	< 0,150
Control Negativo	< 0,150
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.

DESCRIPCIÓN DE CÁLCULOS

CUALITATIVO

Muestrs de Suero o Plasma
Calcule el corte según la siguiente fórmula:
Corte = (Absorbancia Control Positivo Promedio x 0,1) + 0,300
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N°8)	A1 = 1,964
	A2= 1,960
Cut Off = (Absorbancia Promédio del Control Positivo x 0,1) + 0,300	Cut Off = ((1,964 + 1,960)/2 x 0,1) + 0,300 Cut Off = 0,496

Calcular el Indice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,279
Valor de Cut Off	0,496
Indice = Muestra / Valor de Cut Off	1,279 / 0,496 = 2,579

Muestra de Sangre Total en Papel de Filtro

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Absorbancia Média do Controle Positivo x 0,05) + 0,120
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N°8)	A1 = 1,964
	A2 = 1,960
Cut Off = (Absorbancia Promédio del Control Positivo x 0,05) + 0,120	Cut Off = ((1,964 + 1,960)/2 x 0,05) + 0,120 Cut Off = 0,218

Calcular el Indice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,279
Valor del Cut off	0,218
Indice: Muestra / Valor del Cut Off	1,279 / 0,218 = 5,867

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Para muestras de Suero, Plasma y Sangre Total en Papel de Filtro
Después del cálculo del índice de las muestras, considerar los índices abajo para la determinación de los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVO
	INDICE
Negativo (No reactivo)	< 0,9
Indeterminado	0,9 - 1,1
Positivo (Reactivo)	> 1,1

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para la determinación del diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Los anticuerpos IgM quedan presentes en el suero, plasma y sangre total por un período corto de tiempo, desapareciendo hasta seis meses después de la infección, mientras que los anticuerpos IgG permanecen presentes durante un largo período de tiempo. Sin embargo, la alta sensibilidad de las nuevas metodologías de diagnóstico, en algunos casos, permite encontrar niveles muy bajos de anticuerpos IgM, denominados IgM residuales, por um mayor período de tiempo. La detección de estos anticuerpos IgM residuales dificulta la interpretación clínica sobre el período de infección. En estos casos, para confirmación del resultado, se recomienda la realización de prueba de avidez de IgG.
La interpretación de un test diagnóstico, no debe ser establecida com base en un sólo 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	4,067	1,267	0,083
Desvio Patrón	0,015	0,025	0,011
Coefficiente de Variación (%)	0,360	2,013	13,426

Reproducibilidad

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

Reproducibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	3,943	1,259	0,073
Desvio Patrón	0,160	0,005	0,001
Coefficiente de Variación (%)	4,069	0,377	1,821

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Muestras de Suero y Plasma

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

	Resultado Esperado	Biolisa CMV IgM
Muestra Positiva	53	53
Muestra Negativa	94	94
Total de Muestras Testadas	147	

Sensibilidad Clínica: > 99,99% (53/53)
Especificidad Clínica: > 99,99% (94/94)

Muestra de Sangre Total en Papel de Filtro

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

	Resultado Esperado	Biolisa CMV IgM
Muestra Positiva	50	50
Muestra Negativa	52	52
Total de Muestras Testadas	102	

Sensibilidad Clínica: > 99,99% (50/50)
Especificidad Clínica: > 99,99% (52/52)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El citomegalovirus (CMV) es un miembro de la familia del virus del herpes que incluye los virus Herpes Simplex (HSV) 1 y 2, el virus Varicella Zoster (VZV) y el virus Epstein-Barr (EBV). Es un patógeno humano transmitido a través de saliva, contacto sexual, perinatal, trasplante de órganos o transfusión de sangre. En la mayoría de los casos, la infección permanece asintomática.
Sin embargo, la infección por CMV puede causar enfermedades graves en recién nacidos e individuos inmunocomprometidos, como pacientes con SIDA, cáncer o pacientes que han recibido trasplantes de órganos. Durante la terapia inmunosupresora, a menudo ocurre la reactivación viral latente o infección primaria. Las infecciones por CMV se pueden adquirir antes del nacimiento, durante el parto y más adelante en la vida. Puede causar anomalías congénitas graves, como microcefalia, discapacidad motora y retraso mental. Por lo tanto, la determinación primaria de la infección materna y su distinción de la infección latente son de gran importancia. La presencia de anticuerpos IgM indica la presencia de infección primaria, mientras que la presencia de anticuerpos IgG indica el estado inmune 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 Cytomegalovurus. 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 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

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

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

Número de Registro do kit BIOLISA CMV IgM en la ANVISA: 10269360189

Revisión: Agosto/2024

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

BIOLISA CMV IgM

REF **K123**

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Test for qualitative determination of IgM antibodies to Cytomegalovirus (CMV) in human samples of serum, plasma and whole blood on microplate enzyme immunoassay filter paper. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
The BIOLISA CMV IgM kit is a solid phase immunoenzymatic assay based on the principle of qualitative detection by capture of IgM antibodies to CMV in human serum, plasma and whole blood samples on filter paper. IgM antibodies present in the sample bind to the anti IgM antibodies coated on the microplate forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated CMV antigens are added to the microplate which is then incubated. The enzyme-conjugated antigens bind to the IgM Anti-CMV antibodies present, attached to the plate coated with Anti IgM antibodies. A new wash is performed to remove the surplus.
After this stage, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the amount of IgM Anti-CMV Antibodies present in the sample. The Stop Solution is added to stop the reaction with a color change from blue to yellow, measured on a microplate reader.

REAGENTS

- 1 - Sensitized Plate** - Store at 2 and 8°C. Contains: Plate sensitized with Anti-IgM antibodies.
2- Conjugate - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, Peroxidase-conjugated CMV antigen, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
3- Concentrated Washing - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
4- Sample Diluent - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant and preservative.
5- Substrate - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
6- Stop Solution - Store at 2 and 8°C. Contains: Hydrochloric Acid 1 M.
7- Negative Control - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**
8- Positive Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Antibodies IgM Anti-CMV, Buffer Solution, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**
9- Plate Sealers.
10- Filter Paper Elution Buffer - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant, stabilizer and preservative.
11- Negative Extraction Control - Store at 2 and 8°C. Contains: Non-reactive sample for Anti-CMV IgM antibodies impregnated in Filter Paper. **Potentially infectious.**
12- Positive Extraction Control - Store at 2 and 8°C. Contains: Reactive sample for Anti-CMV IgM antibodies impregnated in filter paper. **Potentially infectious.**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 CAVITIES	192 CAVITIES	480 CAVITIES
1 – Sensitized Plate	1 Unit (96 Cavities)	2 Units (192 Cavities)	5 Units (480 Cavities)
2 - Conjugate	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
3 –Concentrate Washing	1 Flask x 50mL	2 Flasks x 50mL	5 Flasks x 50mL
4 – Sample Diluent	1 Flask x 42mL	2 Flasks x 42mL	5 Flasks x 42mL
5 – Substrate	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
6 – Stop Solution	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
7 –Negative Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
8 –Positive Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
9 – Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units
10 – Filter Paper Elution Buffer	1 Flask x 20 mL	2 Flasks x 20 mL	5 Flasks x 20 mL
11 – Negative Extraction Control	1 unit	2 units	5 units
12 – Positive Extraction Control	1 unit	2 units	5 units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table

Required materials not contained in the Kit:

- 1-** Pipette capable of dispensing volumes from 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 multicontrol pipette (Optional).
3- Microplate washer (optional).
4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
5- Paper towel to dry cavities
6- Stopwatch or watch.
7- Flask to store the Washing Solution after diluted.
8- Distilled or deionized water.
9- Tools of Quality Control.
10- Incubator 37°C ± 2°C.
11- Paper shredder (3 mm diameter) for filter paper technique.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. Transport at temperatures up to 30°C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For professional *in vitro* diagnostic use only.**
2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
3- The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store at 2 to 8°C.
4- The water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.

- 5-** Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can signifi cantly alter the results.
6- Stop Solution contains Chloridric Acid, which is a strong acid. Handle it with care.
7- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, 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 fl uid 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 he product, consult the SDS (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.

DESCRIPTION OF PROCESS

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution

Dilute the contents of the Reagent No3 (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. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready for use.

STABILITY AFTER OPEN

The results of the stability test show that the Biolisa kit CMV IgM is stable after opening for up to 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.

TECHNIQUE

Samples of Serum or Plasma

Before starting the assay, place all reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.

- 1-** Select the 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, 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 Controls and Samples 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 (if you made this option).
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, included in the Blank cavity.
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, included in the Blank cavity.
19- Mix gently for ± 30 seconds.
20- Read using double filter: 450nm/630nm within up to 15 minutes (maximum).

Whole Blood Sample on Filter Paper

Before starting the assay, place all reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.

- 1-** Select the wells to be used considering: 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 Buff er in Filter Paper, included in the Blank cavity.
5- Pipette 5 µL of Controls into previously determined wells.
6- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
7- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
8- Remove the sealing of wells.
9- Discard the contents of the 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, included in the Blank cavity.
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, included in the Blank cavity.
20- Mix gently for ± 30 seconds.
21- Read using double filter: 450nm/630nm within up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Samples of Serum, Plasma and Filter Paper Whole Blood
Verify if the results obtained by the reading of the Blank and Controls are compatible to the values below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.150
Negative Control	< 0.150
Positive Control	> 1.000
Negative Extraction Control	< 0.300
Positive Extraction Control	> 1.000

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

DESCRIPTION OF CALCULATIONS

QUALITATIVE

Sample of Serum or Plasma

Calculate Cut Off according to the formula below:

Cut Off = (Positive Control Mean Abs. x 0.1) + 0.300

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N°8)	A1 = 1.964
	A2= 1.960
Cut Off = (Positive Control Mean Absorbance x 0.1) + 0.300	Cut Off = ((1.964 + 1.960)/2 x 0.1) + 0.300 Cut Off = 0.496

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

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.279
Cut Off Value	0.496
Index = Sample/ Cut Off Value	1.279 / 0.496 = 2.579

Filter Paper Whole Blood Sample

Calculate Cut Off according to the formula below:

Cut Off = (Positive Control Mean Absorbance x 0.05) + 0.120

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N°8)	A1 = 1.964
	A2 = 1.960
Cut Off = (Positive Control Mean Absorbance x 0.05) + 0.120	Cut Off = ((1.964 + 1.960)/2 x 0.05) + 0.120 Cut Off = 0.218

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

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.279
Cut Off Value	0.218
Index = Sample/ Cut Off Value	1.279 / 0.218 = 5.867

INTERPRETATION OF RESULTS

Samples of Serum, Plasma and Filter Paper Whole Blood

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

RESULTS	ABSORBANCE
	INDEX
Negative (No Reagent)	< 0.9
Undetermined	0.9 – 1.1
Positive (Regent)	> 1.1

The results provided by this kit should be interpreted by the responsible medical professional and not the only criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

PROCEDURE LIMITATIONS

IgM antibodies are present in the serum, plasma and whole blood for a short period of time, disappearing up to six months after infection, while IgG antibodies remain present for a long period of time. However, the high sensitivity of the new diagnostic methodologies, in some cases, allows to find very low levels of IgM antibodies, called residual IgM, for a longer period of time. Detection of these residual IgM antibodies hinders clinical interpretation over the period of infection. In these cases, to confirm the result, an IgG avidity test is recommended. The interpretation of a diagnostic test, should not be based on a single run. This should include confirmation of other tests before that a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results should be interpreted in conjunction with other clinical information available before the descriptive diagnosis of the disease.

INTERNAL QUALITY CONTROL

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

PRUDUCT PERFORMANCE

ACCURACY

Repeatability

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

Repeatability	SAMPLE		
	1	2	3
Average	4.067	1.267	0.083
Standard Deviation	0.015	0.025	0.011
Coefficient of Variation (%)	0.360	2.013	13.426

Reproducibility

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

Reproducibility	SAMPLE		
	1	2	3
Average	3.943	1.259	0.073
Standard Deviation	0.160	0.005	0.001
Coefficient of Variation (%)	4.069	0.377	1.821

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

Serum and Plasma Sample

BIOLISA CMV IgM Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA CMV IgM kit is > 99.99% and clinical specificity is > 99.99%.

	Expected Result	Biolisa CMV IgM
Positive Sample	53	53
Negative Sample	94	94
Total Tested Sample	147	

Clinical sensitivity: > 99.99% (53/53)

Clinical specificity: > 99.99% (94/94)

Whole Blood Samples on Filter Paper

BIOLISA CMV IgM Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA CMV IgM kit is > 99.99% and clinical specificity is > 99.99%.

	Expected Result	Biolisa CMV IgM
Positive Sample	50	50
Negative Sample	52	52
Total Tested Samples	102	

Clinical sensitivity: > 99.99% (50/50)

Clinical specificity: > 99.99% (52/52)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Cytomegalovirus (CMV) is a member of the Herpes Virus family that includes Herpes Simplex viruses (HSV) 1 and 2, Varicella Zoster virus (VZV) and Epstein-Barr virus (EBV). It is a human pathogen transmitted through saliva, sexual contact, perinatal, organ transplantation or blood transfusion. In most cases, the infection remains asymptomatic.

However, CMV infection can cause serious illness in newborns and immunocompromised individuals, such as patients with AIDS, cancer or patients who have received organ transplants. During immunosuppressive therapy, latent virus reactivation or primary infection often occurs. CMV infections can be acquired before birth, during childbirth and later in life. It can cause serious congenital abnormalities, such as microcephaly, motor disability and mental retardation. Therefore, the primary determination of maternal infection and its distinction from latent infection are of great importance.

The presence of IgM antibodies indicates the presence of primary infection, while the presence of IgG antibodies indicates the patients' immune status.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 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.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all Bioclin reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Phone: +55 (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

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

ANVISA registration for BIOLISA CMV IgM kit: 10269360189

Review: August/2024

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



LOT NUMBER



MANUFACTURING DATE



VALIDITY DATE
(last day of the month)



TEMPERATURE LIMIT
(store)



CONTENT IS SUFFICIENT
FOR <N> TEST



SEE INSTRUCTIONS
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC
PRODUCT



KEEP AWAY
FROM SIGHT



DO NOT REUSE



CAUTION



MADE BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



FLAMMABLE



CORROSIVE



TOXIC



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED



PRODUCT
STERILIZED



DANGER