

BIOLISA CMV IgG

REF K122

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação quantitativa e qualitativa de anticorpos IgG para Citomegalovírus (CMV) em soro ou plasma humano por enzimaímunoenensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *In vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaímunoenensaio 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 soro ou plasma humano. 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 - D)** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Quatro (4) frascos (A - D) de Padrões Referência contendo Anticorpos IgG Anti-CMV em diferentes concentrações em Solução Tampão e conservante. **Potencialmente infectante.**
- As concentrações dos Padrões Referência (A - D) variam a cada lote. Vide rótulo dos frascos.**
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpo Anti-IgG humano ligado à Peroxidase 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 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: Anticorpos IgG não reativos para CMV e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgG Anti-CMV e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 10- Seladores de Placa**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 cavidades	192 cavidades	480 cavidades
1- Padrões Referência (A - D)	1 Frasco (A - D) x 100 µL	2 Frascos (A - D) x 100 µL	5 Frascos (A - D) x 100 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 (96 Cavidades)	5 Unidades (96 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 11 mL	2 Frascos x 11 mL	5 Frascos x 11 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 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

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

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

Materiais necessários não contidos no kit:

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

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte pode ser feito sob temperatura ambiente (até 30°C) por até 72 (setenta e duas) horas. 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

Utilizar 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 (freezer).

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N° 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. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA

- Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Padrões Referência (A - D), 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 - D), 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 em todas as cavidades.
- 4- Pipetar 5 µL de Padrões Referência (A - D), Controles e Amostras 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 de placas 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 (OPCIONAL).
- 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.

- 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.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
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	>1,4
Controle Positivo	> 1,0
Controle Negativo	< 0,100

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

CÁLCULOS

QUALITATIVO

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) / 2 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

Uma curva de calibração é usada para determinar a concentração de anticorpos Anti-CMV em amostras desconhecidas.

Preparo da Curva de Calibração

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 em papel milimetrado (antes de plotá-las no gráfico). Traçar a curva.

Exemplo 1

PADRÕES	ABSORBÂNCIA	ABSORBÂNCIA MÉDIA	CONCENTRAÇÃO
A	0,006	0,006	0,0
	0,007		
B	0,448	0,447	1,2
	0,445		
C	1,069	1,067	4,5
	1,066		
D	1,910	1,916	18,0
	1,922		

As amostras que tenham absorbância acima do Padrão Referência D, 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

RESULTADOS	QUALITATIVO	QUANTITATIVO
	ÍNDICE	CONCENTRAÇÃO
Negativo	≤ 0,90	≤ 1,08
Positivo	≥ 1,1	≥ 1,32
Indeterminado	0,91 – 1,09	1,09 - 1,31

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

CONTROLE DE QUALIDADE

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	0,054	0,043	0,009
Coefficiente de variação (%)	2,511	2,009	5,767

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

BIOLISA CMV IgG X EIA REFERÊNCIA		
REPRODUTIBILIDADE	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: > 99,99% (50/50)

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, 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 congênitais, 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.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1 - 96 Testes
Apresentação 2 - 192 Testes
Apresentação 3 - 480 Testes

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.
- Bioclin – Dados de arquivos

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 - Fax: (31) 3439.5455
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: Maio/2019

Português 2/2

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

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> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

IVD

PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC REP

REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA
LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROLE

CONTROLE POSITIVO

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMAVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

BIOLISA CMV IgG

REF **K122**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Test para determinación cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgG para Citomegalovirus (CMV) en suero o plasma humano por enzaimainmunoensayo en microplaca. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimainmunoensayo o inmunoenzimático
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 el suero o plasma humano. 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 un cambio de color de azul para amarillo, medida en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1- Patrones Referencia (A - D)** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Cuatro (4) frascos (A - D) de Patrones Referencia conteniendo Anticuerpos IgG Anti-CMV en diferentes concentraciones en Solución Tapón y conservante. **Potencialmente infectante.**
- Las concentraciones de los Patrones Referencia (A - D) varían la cada lote. Ved las etiquetas de los frascos.**
- 2- Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpo Anti-IgG humano ligado a Peroxidasis y conservante.
- 3- Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C
- 4- Solución de Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón, surfactante y conservante.
- 5- Diluyente de Muestra** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón y conservante.
- 6- Sustrato** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón conteniendo Peróxido de Urea, Tetrametilbenzidina (TMB) y conservante.
- 7- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG no reactivos para CMV y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG Anti-CMV y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorídrico 1 M.
- 10- Selladores de Placa**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Patrones Referencia (A - D)	1 Frasco (A - D) x 100 µL	2 Frascos (A - D) x 100 µL	5 Frascos (A - D) x 100 µL
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (96 cavidades)	5 Unidades (96 cavidades)
4- Solución de Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
5- Diluyente de Muestra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
6- Sustrato	1 Frasco x 11 mL	2 Frascos x 11 mL	5 Frascos x 11 mL
7- Control Negativo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
8- Control Positivo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
9- Solución de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
10- Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

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

Materiales necesarios, no contenidos en los Kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 y 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Lectora de ELISA con capacidad de absorber 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.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) durante 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo 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 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, 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 y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Utilizar suero o plasma (EDTA o Heparina).
Muestras hemolizadas o altamente lipémicas no deben ser usadas.
Las muestras pueden ser conservadas bajo refrigeración, entre 2 y 8°C , por el período máximo de 5 días. Si las muestras no pudieran ser analizadas dentro de 5 días, pueden ser almacenadas por hasta 30 días a temperatura de -20°C (freezer).

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del frasco Nº 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 validez impresa en el frasco original. Puede ser almacenada a temperatura ambiente. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA

- Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Patrones Referencia (A - D), 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 Referencia (A - D), Controles y Muestras (se recomienda probar en duplicado). Regresar las tiras no utilizadas de la microplaca al embalaje original sellado.
 - 2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
 - 3- Pipetear 100 µl de Diluyente de Muestra en todas las cavidades.
 - 4- Pipetear 5 µL de Patrones Referencia (A - D), Controles y Muestras en las cavidades previamente determinadas. Observar el cambio de color del diluyente en el momento de la adición de la muestra. El cambio de color indica que la muestra se ha agregado al pocillo correctamente.
 - 5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos, cubrir las cavidades con sellador de placas.
 - 6- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
 - 7- Retirar el sellador de las cavidades.
 - 8- Descartar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual). Utilizar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada**, y efectuar un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, golpear la placa por unos segundos en papel absorbente.
 - Nota:** Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
 - 9- Pipetear 100 µl de Conjugado en todas las cavidades, incluso en la cavidad del Blanco (OPCIONAL).
 - 10- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
 - 11- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
 - 12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
 - 13- Repetir el ítem 8.
 - 14- Pipetear 100 µl de Sustrato en todas las cavidades.

- 15- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 16- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
- 17- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 18- Pipetear 100 µL de Solución de Parada en todas las cavidades.
- 19- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.
- 20- Leer utilizando filtro doble: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura de Blanco, Patrones Referencia y Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Blanco	< 0,100
Padrón Referencia A	< 0,100
Padrón Referencia B	> 0,2 e < 0,6
Padrón Referencia C	> B e < D
Padrón Referencia D	>1,4
Control Positivo	> 1,0
Control Negativo	< 0,100

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

CÁLCULOS

CUALITATIVO

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

Una curva de calibración es usada para determinar la concentración de anticuerpos Anti-CMV en muestras desconocidas.

Preparo de la Curva de Calibración

Registrar las absorbancias obtenidas en la Lectora de microplaca, como presentado en el ejemplo 1. Calcular los promedios de los duplicados, caso sean realizados duplicados.

Plotear las absorbancias promedios de cada Patrón Referencia *versus* a la concentración correspondiente en UI/mL en papel milimetrado (antes de plotearlas en el gráfico). Trazar la curva.

Ejemplo 1

PATRONES	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA PROMEDIO	CONCENTRACIÓN
A	0,006	0,006	0,0
	0,007		
B	0,448	0,447	1,2
	0,445		
C	1,069	1,067	4,5
	1,066		
D	1,910	1,916	18,0
	1,922		

Las muestras que tengan absorbancia encima del Patrón Referencia D 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

RESULTADOS	CUALITATIVO	CUANTITATIVO
	ÍNDICE	CONCENTRACIÓN
Negativo	≤ 0,90	≤ 1,08
Positivo	≥ 1,1	≥ 1,32
Indeterminado	0,91 – 1,09	1,09 - 1,31

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

CONTROL DE CALIDAD

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
Desvío 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
Desvío Patrón	0,054	0,043	0,009
Coefficiente de Variación (%)	2,511	2,009	5,767

Sensibilidad y Especificidad Clínica

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

BIOLISA CMV IgG X EIA REFERENCIA		
REPRODUCTIBILIDAD	RESULTADO ESPERADO	BIOLISA CMV IGG
Muestra Positiva	205	202
Muestra Negativa	50	50
Total de Muestras Probadas	255	

Sensibilidad Clínica: 98,5% (202/205)

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

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 retardamiento 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.

NÚMERO DE PRUEBAS

Presentación 1 - 96 Pruebas

Presentación 2 - 192 Pruebas

Presentación 3 - 480 Pruebas

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 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.
- Bioclin – Datos de archivos

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 – Fax: +55 (31) 3439-5455

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENCIÓN 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: Mayo/2019

REF

NÚMERO DEL CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DE LOTE

FECHA DE FABRICACIÓN

ESTABLE HASTA
(último día del mês)

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO

PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL

CONTROL +

CONTROL POSITIVO

CONTROL -

CONTROL NEGATIVO

RIESGO BIOLÓGICO

INFLAMABLE

CORROSIVO

TÓXICO

MARCADO CE

NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

ESPAÑOL 2/2

BIOLISA CMV IgG

REF K122

USAGE INSTRUCTIONS

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 or plasma. 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 - D)** - Store between 2 and 8°C. Contains: Four (4) flasks (A - D) of Reference Standards containing IgG Antibodies Anti-CMV in different concentrations in Buffer Solution and a preservative. **Potentially infectious.**
Reference Standard (A - D) concentration varies with the lot. See bottle label.
2- Conjugate - Store between 2 and 8°C. Contains: Human anti-IgG Antibody linked to Peroxidase and preservative.
3- Sensitized Plate - Store between 2 and 8°C.
4- Concentrated Washing Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
5- Sample Diluent - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution and preservative.
6- Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
7- Negative Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Non-reactive IgG Antibodies to CMV and preservative. **Potentially infectious.**
8- Positive Control - Store between 2 and 8°C. Contains: IgG Antibodies Anti-CMV and preservative. **Potentially infectious.**
9- Stop Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Chloridric Acid 1 M.
10- Plate Sealers

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 CAVITIES	192 CAVITIES	480 CAVITIES
1- Reference Standards (A - D)	1 Flask (A - D) x 100 µL	2 Flasks (A - D) x 100 µL	5 Flasks (A - D) x 100 µL
2- Conjugate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3- Sensitized Plate	1 unit (96 cavities)	2 units (96 cavities)	5 units (96 cavities)
4- Concentrated Washing Solution	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
5- Sample Diluent	1 Flask x 42 mL	2 Flasks x 42 mL	5 Flasks x 42 mL
6- Substrate	1 Flask x 11 mL	2 Flasks x 11 mL	5 Flasks x 11 mL
7- Negative Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
8- Positive Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
9- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
10- Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table
- Usage instructions (manual)

Required materials not contained in the kit:

- 1- Pipette capable of dispensing volumes of 5 and 100 µL with lower coefficient of variation than 1,5%.
2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 100 µL, with lower coefficient of variation than 1,5% or multichannel pipette (optional).
3- Microplate washer (optional).
4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
5- Paper towel to dry cavities
6- Stopwatch or watch.
7- Flask to store the washing solution after diluted.
8- Distilled water.
9- Tools of Quality Control.
10- Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. The transport can be done under ambient temperature (up to 30°C) for up to 72 (seventy two) hours. Keep away from light and avoid moisture. **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 to 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

Use serum or plasma (EDTA or Heparin). Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used. Samples may be refrigerated at between 2 and 8°C for a maximum of 5 days. If samples can not be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C (freezer).

PROCESS DESCRIPTION

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of the Flask Nº 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

- Before starting the assay, place all reagents, Reference Standards (A - D), Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.
1- Separate the cavities to be used considering: Reference Standards (A - D), Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the unused strips from the microplate to the original sealed packaging.
2- Separate the first cavity to the White (OPTIONAL).
3- Pipette 100 µL of Sample Diluent into all cavities.
4- Pipette 5 µL of Reference Standards (A - D), Controls and Samples into the previously determined cavities. Observe the color change of the diluent at the time of sample addition. The color change indicates that the sample was added to the cavities correctly.
5- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the cavities with plate sealer.
6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
7- Remove the plate sealer from the cavities.
8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decanting (Manual). Use approximately 300 µL of Washing Solution, **previously prepared**, to perform a total of five (5) washing cycles. To ensure drying of the plate at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper. **Note:** Poor washing/drying can cause inadequate results.
9- Pipette 100 µL of Conjugate into each cavities, even in the Blank cavity (OPTIONAL).
10- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
12- Remove the plate sealer from the cavities.
13- Repeat item 8.
14- Pipette 100 µL of Substrate into all cavities.

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

TECHNIQUE VERIFICATION

Verify if the results obtained by the reading of the Blank, Reference Standards and Controls are compatible to the values below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0,100
Reference Standard A	< 0,100
Reference Standard B	> 0,2 e < 0,6
Reference Standard C	> B e < D
Reference Standard D	> 1,4
Positive Control	> 1,0
Negative Control	< 0,100

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Cut Off regarded as the mean absorbance obtained with the Standard Reference B.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Reference Standard B	0,418
	0,416
Cut Off = Average Absorbance from Reference Standard B	Cut Off = (0,418 + 0,416) / 2 Cut Off = 0,417

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

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,456
Cut Off Value	0,417
Index = Sample / Cut Off Value	Índice = 1,456 / 0,417 Índice = 3,50

QUANTITATIVE

A calibration curve is used to determine the concentration of Anti-CMV antibodies in unknown samples.

Preparation of Calibration Curve

Record the absorbance obtained in the microplate Reader as outlined in example 1. Calculate the averages of duplicates if they are carried duplicates. Plot the absorbances of each Reference Standard *versus* the corresponding concentration in U/mL on graph paper (before you plot them on the graph.) Plot the curve.

Example 1

STANDARDS	ABSORBANCE	AVERAGE ABSORBANCE	CONCENTRATION
A	0,006	0,006	0,0
	0,007		
B	0,448	0,447	1,2
	0,445		
C	1,069	1,067	4,5
	1,066		
D	1,910	1,916	18,0
	1,922		

Samples that have absorbance above the Reference Standard D, must be pre-diluted using Sample Diluent and should be retested. The concentration must be multiplied by the dilution factor. Automatic reading and calculation can be performed on the linear regression function in appropriate programs of computer.

Note: The data presented in the examples are for illustration only and may not be used in replacement the calibration curve, which must be constructed in the laboratory.

INTERPRETATION OF RESULTS

RESULTS	QUALITATIVE	QUANTITATIVE
	INDEX	CONCENTRATION
Negative	≤ 0,90	≤ 1,08
Positive	≥ 1,1	≥ 1,32
Undetermined	0,91 – 1,09	1,09 - 1,31

Note: In case of indeterminate results, the sample must be retested. Samples that results have been obtained repeatedly indeterminate should be retested using an alternative method. If the results remain uncertain, one must collect a new sample in two weeks. Should prevail the result of the last sample collected. The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and / or treatment of the patient.

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

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test, there should not be based on a single run. This should include confirmation of other tests before 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.

PRODUCT PERFORMANCE
QUALITY CONTROL

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	2,035	2,059	0,145
Standard Deviation	0,098	0,220	0,015
Coefficient of Variation (%)	4,807	10,662	10,225

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	2,140	2,152	0,157
Standard Deviation	0,054	0,043	0,009
Coefficient of Variation (%)	2,511	2,009	5,767

Clinical Sensitivity and Specificity
BIOLISA CMV IgG analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA CMV IgG kit is 98,6% and clinical specificity is > 99,9%.

BIOLISA CMV IgG X EIA REFERENCE		
REPRODUCIBILITY	EXPECTED RESULT	BIOLISA CMV IGG
Positive Sample	205	202
Negative Sample	50	50
Total Tested Samples	255	

Clinical Sensitivity: 98,5% (202/205)
Clinical Specificity: > 99,99% (50/50)

Linearity

The reaction is able to detect concentrations until the concentration of the highest point on the curve. For samples with higher values, dilute the same with Sample Diluent, repeat the dosage and multiply the results by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Cytomegalovirus (CMV) is a member of the Herpes Virus family which includes Herpes Simplex virus (HSV) 1 and 2, Varicella Zoster virus (VZV) and Epstein-Barr virus (EBV). It is a human pathogen transmitted by saliva, sexual contact, perinatal, organ transplant or blood transfusion. In most cases, the infection remains asymptomatic. However, CMV infection can cause severe illness in newborns and immunocompromised individuals such as AIDS patients, cancer or patients who received organ transplants. During immunosuppressive therapy, there is often a reactivation of latent virus or infection primary. CMV infections can be acquired before birth, during delivery and later in life. Can cause severe birth defects such as microcephaly, motor disability and mental retardation. Therefore, the determination of primary maternal infection and its distinction of latent infection are of great importance. The presence of IgM antibodies indicates the presence of primary infection, while the presence IgG indicates the immune status of patients.

NUMBER OF TESTS

Presentation 1 - 96 Tests
Presentation 2 - 192 Tests
Presentation 3 - 480 Tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES
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, Scheiner and 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 Cytomegalovurus. N. Engl. J. Med (1974) 790:291-296.
4. Stern, H. Cytomegalovirus Vaccine: justificationis and Problems. In: Waterson AP (ed.) Recent Advances in Clinical Virology (1977) 117-134.
5. Bioclin - file data

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 - Fax: +55 (31) 3439.5455
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 IgG kit: 10269360188

Review: May/2019

English 2/2

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



BATCH CODE



DATE OF MANUFACTURE



USED BY
(last day of month)



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



MANUFACTURED BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



INFLAMMABLE



CORROSIVE



POISON



CE MARK



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED