

BIOLISA CMV IgM

REF **K123**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgM para Citomegalovírus (CMV) em soro ou plasma humano por enzimaímunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaímunoensaio ou imunoenzimático

O kit BIOLISA CMV IgM é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa indireta de Anticorpos IgM para CMV em soro ou plasma humano. Anticorpos IgM Anti-CMV, presentes na amostra se ligam aos Antígenos revestidos na microplaca formando complexos Antígeno-Anticorpos IgM. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Anticorpos Anti-IgM humano conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca que é então incubada. Os Anticorpos Anti-IgM humano conjugados a enzima ligam-se aos Anticorpos IgM 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 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.
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpo Anti-IgM humano ligado à Peroxidase 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 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- Calibrador Cut-Off** - Conservar enre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM Anti-CMV diluídos e conservantes. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM não reativos para CMV e conservantes. **Potencialmente infectante.**
- 9- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM Anti-CMV e conservantes. **Potencialmente infectante.**
- 10- Seladores de Placa**

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 11 mL	2 Frascos x 11 mL	5 Frascos x 11 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Calibrador Cut-Off	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
8- Controle Negativo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
9- Controle Positivo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
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, 50 e 100 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 100 µL e 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- Pipetas com volumes reguláveis (200 µL a 1000 µL) para diluição das amostras.
- 6- Tubos de ensaio ou microtubos para diluição das amostas.
- 7- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 8- Cronômetro ou relógio.
- 9- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluída.
- 10- Água destilada ou deionizada.
- 11- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 12- 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 em 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 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 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 à temperatura de -20°C (freezer).

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

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

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA

- 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: Calibrador Cut-Off, 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- Preparar uma diluição de 1:41 das Amostras, Controles e Calibrador Cut-Off em microtubos adicionando 5 µL mais 200 µL de Diluente de Amostra. Homogeneizar.
 - 4- Pipetar 100 µL de Amostras, Controles e Calibrador Cut-Off diluídos nas cavidades previamente determinadas.
 - 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, exceto 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 15 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 a 450 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco, Controles e Calibrador Cut-Off estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,150
Controle Negativo	< 0,5
Calibrador Cut-off	0,5 a 1,5
Controle Positivo	> Calibrador Cut-Off

As absorbâncias para os Controles e Calibrador Cut-Off foram obtidas após a diminuição da absorbância do Branco. Considerar limite de Branco < 0,150. 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 Calibrador Cut-Off.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Calibrador Cut-Off	0,845
	0,841
Absorbância média do Calibrador Cut-Off	(0,845 + 0,841) / 2 = 0,843

Calcular o índice dividindo a absorbância da Amostra pelo valor de Cut-Off.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,438
Valor de Cut-Off	0,843
Índice = Amostra / Valor de Cut-Off	1,438 / 0,843 = 1,71

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

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	≤ 0,9
Indeterminado*	Entre 0,9 e 1,5
Positivo	≥ 1,5

* Suspeita de IgM Residual para resultados entre 1,0 e 1,5.

Observação: Devido à alta sensibilidade do produto, é possível que ocorra a detecção de anticorpos IgM residuais (Vide Limitações do Processo). Em caso de resultados com índice entre 1,0 e 1,5, pode-se suspeitar de anticorpos IgM residuais, e, portanto, é recomendado a realização do teste de avidéz de IgG.

Em caso de resultados com índice entre 0,9 e 1,0, recomenda-se repetir o exame por outro método alternativo ou aguardar 2 semanas para nova análise.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Os anticorpos IgM ficam presentes no soro 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

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	1,762	1,500	1,227
Desvio Padrão	0,092	0,078	0,060
Coefficiente de Variação (%)	5,247	5,223	4,894

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	1,722	1,462	1,198
Desvio Padrão	0,087	0,073	0,062
Coefficiente de Variação (%)	5,060	5,009	5,183

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA CMV IgM analisou amostras clínicas em comparação com outro método de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA CMV IgM é 90,2% e a especificidade clínica é de 93,5%.

BIOLISA CMV IgM x EIA REFERÊNCIA				
MÉTODO		EIA REFERENCIA		Total
		Positivo	Negativo	
BIOLISA CMV IgM	Positivo	120	11	131
	Negativo	13	159	172
Resultado Total		133	170	303

Sensibilidade Clínica: 90,2% (120/133)
Especificidade Clínica: 93,5% (159/170)
Concordância Global: 92,1% (279/303)

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.

NÚMERO DE TESTES

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

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- 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 IgM na ANVISA: 10269360189

Revisão: Novembro/2017

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

CONTROL

CONTROLE

CONTROL +

CONTROLE POSITIVO

CONTROL -

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMAVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

BIOLISA CMV IgM

REF **K123**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

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

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimainmunoensayo o inmunoenzimatico
El kit BIOLISA Rubéola IgM es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de la detección cualitativa indirecta de Anticuerpos IgM para CMV en el suero o plasma humano. Anticuerpos IgM Anti-CMV, presentes en las muestras se ligan a los Antígenos revestidos en la microplaca formando complejos Antígeno-Anticuerpo IgM. Luego de la incubación inicial, la microplaca es lavada para remover los materiales no ligados. Anticuerpos Anti-IgM humana conjugados con Peroxidasa son adicionados a la microplaca y entonces incubado. Los Anticuerpos Anti-IgM humana conjugado se unen a los Anticuerpos IgM presentes, unidos a los antígenos. Nuevo lavado se realiza para remover los excedentes. Después de esta etapa, es adicionado el Sustrato y se incuba para producir un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos Anti-IgM de CMV presentes en las muestras. La Solución de Parada es adicionada para interrumpir la reacción, ocurriendo un cambio de color azul para amarillo, medida en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1 - Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C.
- 2- Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpo Anti-IgM humano ligado a Peroxidasa y conservante.
- 3- Solución de Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón, surfactante y conservante.
- 4- Diluyente de Muestra** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón y conservante.
- 5- Sustrato** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tapón conteniendo Peróxido de Urea, Tetrametilbenzidina (TMB) y conservante.
- 6- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorídrico 1M.
- 7- Calibrador Cut-Off** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgM Anti-CMV diluidos y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG no reactivos para CMV y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgM Anti-CMV y conservante. **Potencialmente infectante.**
- 10- Selladores de Placa**

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 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Solución de Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4- Diluyente de Muestra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
5- Sustrato	1 Frasco x 11 mL	2 Frascos x 11 mL	5 Frascos x 11 mL
6- Solución de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Calibrador Cut-Off	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
8- Control Negativo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
9- Control Positivo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
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, 50 y 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2- Repipetadores para pipetajes repetitivos de volúmenes de 100 µL y 300 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 absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Pipetas con volúmenes regulables (200 µL a 1000 µL) para diluición de las muestras.
- 6- Tubos de ensayo o microtubos para la diluición de las muestras.
- 7- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 8- Cronómetro o reloj.
- 9- Frasco para almacenar la Solución de Lavado luego de diluida.
- 10- Agua destilada o deionizada.
- 11- Herramientas de Control de calidad.
- 12- 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 un máximo de 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar 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 luego que alcancen la temperatura ambiente Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar entre 2 y 8°C.
- 4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
- 5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 6- La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto manosearlo con el debido cuidado.

- 7- Toda matéria prima del producto es analizada y debe ser no reactivo 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 manual 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 hayan 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 el 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 de máximo 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 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. 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 iniciar el ensayo, colocar todos los reactivos, muestras y controles para que se establezcan en temperatura ambiente (15 - 30°C) por lo mínimo 40 minutos.

- 1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Calibrador Cut-Off, Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retomar las tiras de la microplaca no utilizadas para el embalaje original sellado.
 - 2- Separar la primera cavidad para el de Blanco (OPCIONAL).
 - 3- Preparar una dilución de 1:41 Calibrador Cut-Off, Controles y Muestras en microtubos mediante la adición de 5 µL mais 200 µL Diluyente de Muestra. Homegeinizar.
 - 4- Se distribuyen 100 µL Muestras, Controles y Calibrador Cut-Off deben diluirse en cavidades predeterminadas.
 - 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 las cavidades.
 - 8- Descartar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (manual).
- Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada**, para efectuar un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía de secado de la placa, al final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente.
- Nota:** Lavado/ secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
- 9- Pipetear 100 µL de Conjugado en todas las cavidad excepto en la cavidad del Blanco (OPCIONAL).

- 10- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir 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.
- 15- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 16- Incubar durante 15 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.
- 19- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Leer a 450 nm dentro de los 15 minutos (como máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura de Blanco, Controles y Calibrador Cut-Off son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,150
Control Negativo	< 0,5
Calibrador Cut-Off	0,5 a 1,5
Control Positivo	> Calibrador Cut-Off

La absorbancia de los Controles y Calibrador Cut-Off fueron obtenidas después de la disminución de la absorbancia del Blanco. Considerar límite de Blanco < 0,150. Caso los valores se encuentren fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Considerar como Cut-Off la absorbancia promedio obtenida con el Calibrador Cut-Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Calibrador Cut-Off	0,845
	0,841
Absorbancia promedio del Calibrador Cut-Off	(0,845 + 0,841) / 2 = 0,843

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

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra:	1,438
Valor de Cut-Off	0,843
Índice = Muestra / Valor de Cut-Off	1,438 / 0,843 = 1,71

Nota: Os dados apresentados son ejemplos para la ilustración y no pueden ser utilizados para cálculos de resultados.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	≤ 0,9
Indeterminado*	Entre 0,9 e 1,5
Positivo	≥ 1,5

* Sospechosa de IgM Residual para resultados entre 1,0 y 1,5.

Observación: Debido a la alta sensibilidad del producto, es posible que se produzca la detección de anticuerpos IgM residuales (Véase Limitaciones del Proceso). En caso de resultados con un índice entre 1,0 y 1,5, se puede sospechar de anticuerpos IgM residuales, y por lo tanto se recomienda la realización de la prueba de aivez de IgG.

En caso de resultados con un índice entre 0,9 y 1,0, se recomienda repetir el examen por otro método alternativo o esperar 2 semanas para el nuevo análisis.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Los anticuerpos IgM quedan presentes en el suero 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 un 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 con base en un único ensayo. Se debven 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	1,762	1,500	1,227
Desvío Patrón	0,092	0,078	0,060
Coefficiente de Variación (%)	5,247	5,223	4,894

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	1,722	1,462	1,198
Desvío Patrón	0,087	0,073	0,062
Coefficiente de Variación (%)	5,060	5,009	5,183

Sensibilidad y Especificidad Clínica

El kit BIOLISA CMV IgM analizó muestras clínicas en comparación con otro método de EIA.Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA CMV IgM es 90,2% y la especificidad clínica es de 93,5%.

BIOLISA CMV IgM X EIA REFERENCIA				
MÉTODO		EIA REFERENCIA		Total
		Positivo	Negativo	
BIOLISA CMV IgM	Positivo	120	11	131
	Negativo	13	159	172
Resultado Total		133	170	303

Sensibilidad Clínica: 90,2% (120/133)
Especificidad Clínica: 93,5% (159/170)
Concordancia Global: 92,1% (279/303)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Citomegalovirus (CMV) es un miembro de la familia 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 órgano o transfusión de sangre. En la mayoría de los casos, la infección permanece asintomática. Sin embargo, la infección por el CMV puede causar dolencias graves en recién nacidos e individuos inmunodeprimidos, como pacientes con SIDA, cáncer o de pacientes que recibieron transplante de órganos. Durante la terapia inmunosupresora, frecuentemente ocurre una reactivación del virus latente o infección primaria. Las infecciones por CMV pueden ser adquiridas antes del nacimiento, durante el parto y más tarde en la vida. Pudiendo causar graves anomalías congénitas, tales como microcefalia, deficiencia motora y retardo mental. Por lo tanto, la determinación primaria de 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 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 - Indústria Brasileira

ATENIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Numero de Registro del kit BIOLISA CMV IgM en la ANVISA: 10269360189

Revisión: Noviembre/2017

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NÚMERO DEL CATÁLOGO		ELABORADO POR
	NÚMERO DE LOTE		CONTROL
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	ESTABLE HASTA (último día del mês)		CONTROL NEGATIVO
	TEMPERATURA LIMITE (conservar a)		RIESGO BIOLÓGICO
	CONTENIDO SUFICIENTE PARA <N> TESTES		INFLAMABLE
	CONSULTAR INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	EUROPEA REPRESENTANTE AUTORIZADO		MARCADO CE
	PROTEGER DEL LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA

BIOLISA CMV IgM

REF K123

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION
Test for the qualitative determination of IgM antibodies to Cytomegalovirus (CMV) in serum or human plasma by enzyme immunoassay microplate. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION
Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
The BIOLISA CMV IgM kit is a solid phase enzyme immunoassay based on the principle of indirect qualitative detection of IgM Antibodies to CMV in human serum or plasma. Anti-CMV IgM Antibodies, present in the samples bind to Antigens coated on the microplate forming complexes Antigen-Antibody IgM. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated human Anti-IgM Antibodies are added to the microplate and then incubated. The enzyme-conjugated Anti-Human IgM Antibodies bind to the antigen-bound IgM Antibodies present. A new wash is performed to remove the surplus. After this step, the Substrate is added and incubated, producing a blue color indicating the amount of Anti-CMV IgM Antibodies present in the samples. The Stop Solution is added to stop the reaction with a change in color from blue to yellow, measured on a microplate reader.

REAGENTS
1- Sensitized Plate - Store between 2 and 8°C.
2- Conjugate - Store between 2 and 8°C. Contains: Human Anti-IgM Antibody linked to Peroxidase and preservative.
3- Concentrated Washing Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
4- Sample Diluent - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution and preservative.
5- Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
6- Stop Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Chloridric Acid 1 M.
7- Cut-Off Calibrator - Store between 2 and 8°C. Contains: Diluted IgM Antibodies Anti-CMV and preservative. **Potentially infectious.**
8- Negative Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Non-reactive IgM Antibodies to CMV and preservative. **Potentially infectious.**
9- Positive Control - Store between 2 and 8°C. Contains: IgM Antibodies Anti-CMV and preservative. **Potentially infectious.**
10- Plate Sealers

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 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3- Concentrated Washing Solution	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
4- Sample Diluent	1 Flask x 42 mL	2 Flasks x 42 mL	5 Flasks x 42 mL
5- Substrate	1 Flask x 11 mL	2 Flasks x 11 mL	5 Flasks x 11 mL
6- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
7- Cut-Off Calibrator	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
8- Negative Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
9- Positive Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
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:

- Pipette capable of dispensing volumes of 5, 50 and 100 µL with lower coefficient of variation than 1,5%.
- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 100 µL and 300 µL, with lower coefficient of variation than 1,5% or multicontrol pipette (Optional).
- Microplate washer (optional).
- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- Adjustable volume pipettes (200 µL to 1000 µL) for sample dilution.
- Test tubes for preparation for sample dilution.
- Paper towel to dry cavities
- Stopwatch or watch.
- Flask to store the Washing Solution after diluted.
- Distilled or deionized water.
- Tools of Quality Control.
- 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

- For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused microcavities in the sachet, seal and store between 2 and 8°C.
- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- Deionized saturated columns release alkaline water several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- Stop Solution contains Hydrochloric Acid, which is a strong acid. Handle it with care.
- All the raw material of product is tested and should be non-reactive for HBsAg, HIV 1 & 2 and Anti HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manual manipulation of any product containing serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the biosafety of these products.

- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
- 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.
- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
- 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.
- 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.
- Do not use the product in case of damaged packaging.
- 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 N° 3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled 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, bring all reagents, samples, Standard References and Controls to stabilize at room temperature (15 - 30°C) for at least 40 minutes.
- Select the cavities to be used considering: Cut-Off Calibrator, Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the plate will not be used for the original sealed packaging.
 - Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
 - Prepare a 1:41 dilution of the Samples, Controls and Cut-Off Calibrator in microtubes adding 5 µL more 200 µL of the Sample Diluent. Homogenize.
 - Pipette 100 µL of diluted Samples and Controls and Cut-Off Calibrator into the previously determined wells.
 - Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer. Change occurs in color from green to blue in the cavities of the samples. Cover wells with plate sealer.
 - Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
 - Remove the plate sealers of cavities.
 - 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, beat the plate for a few seconds on absorbent paper.
 - Note:** Poor washing and drying can cause inadequate results.
 - Pipette 100 µL of Conjugate in all cavities except in the Blank cavity (if you made this option).
 - Mix gently for ± 30 seconds. Cover cavities with plate sealer.

- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
- Remove the sealer from plate cavities.
- Repeat item 8.
- Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
- Mix gently for ± 30 seconds. Cover wells with plate sealer.
- Incubate for 15 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
- Remove the plate sealer from cavities.
- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.
- Mix gently for ± 30 seconds.
- Read the 450 nm within 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Verify if the results obtained by the reading of the Blank, Controls and Cut-Off Calibrator are compatible to the values below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0,150
Negative Control	< 0,5
Cut-off Calibrator	0,5 to 1,5
Positive Control	> Cut-Off Calibrator

The absorbancies for the Controls and Cut-Off Calibrator were obtained after the reduction of the Blank absorbance. Consider a Blank limit of < 0,150. If the values are out of the expected values, technique must be repeated.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Cut-Off regarded as the mean absorbance obtained with the Cut-Off Calibrator.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Cut-Off Calibrator	0,845
	0,841
Average absorbance from Cut-Off Calibrator	(0,845 + 0,841) / 2 = 0,843

Calculate the index by dividing the sample absorbance by the Cut-Off value. Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,438
Cut-Off value	0,843
Index = Sample / Cut-Off value	1,438 / 0,843 = 1,71

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

RESULTS INTERPRETATION

ITEM	ABSORBANCE
	INDEX
Negative	≤ 0,9
Undetermined*	Between 0,9 and 1,5
Positive	≥ 1,5

* Suspicion of Residual IgM for results between 1,0 and 1,5.

Observación: Due to the high sensitivity of the product, detection of residual IgM antibodies may occur (See Procedure Limitations). In the case of results with an index between 1,0 and 1,5, residual IgM antibodies may be suspected, and therefore the IgG avidity test is recommended.

In case of results with index between 0,9 and 1,0, it is recommended to repeat the examination by another alternative method or to wait 2 weeks for a new analysis.

PROCEDURE LIMITATIONS

IgM antibodies are present in the serum 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, 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	1,762	1,500	1,227
Standard Deviation	0,092	0,078	0,060
Coefficient of Variation (%)	5,247	5,223	4,894

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	1,722	1,462	1,198
Standard Deviation	0,087	0,073	0,062
Coefficient of Variation (%)	5,060	5,009	5,183

Clinical Sensitivity and Specificity

BIOLISA CMV IgM analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the kit BIOLISA CMV IgM is 90,2% and clinical specificity is 93,5%

BIOLISA CMV IgM x EIA REFERENCE

METHOD		EIA REFERENCIA		Total
		Positive	Negative	
BIOLISA CMV IgM	Positive	120	11	131
	Negative	13	159	172
Total Results		133	170	303

Clinical Sensitivity: 90,2% (120/133)

Clinical Specificity: 93,5% (159/170)

Overall Agreement: 92,1% (279/303)

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 through saliva, sexual contact, perinatal, organ transplantation 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, often there is a reactivation of latent virus or primary infection. CMV infections can be acquired before birth, during delivery and later in life. Can cause severe congenital anomalies such as microcephaly, motor disabilities and mental retardation. Therefore, 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 IgG antibodies 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, 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. Bioclin – Dados de arquivos

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 IgM kit: 10269360189

Review: November/2017

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MANUFACTURED BY
	BATCH CODE		CONTROL
	DATE OF MANUFACTURE		POSITIVE CONTROL
	USED BY (last day of month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMITATION (store at)		BIOLOGICAL RISK
	CONTAINS SUFFICIENT FOR <N> TESTS		INFLAMMABLE
	CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE		POISON
	EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE		CE MARK
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED