BIOLISA LEISHMANIOSE VISCERAL

REF K210

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG anti-*Leishmania infantum chagasi* em soro ou plasma humano por enzimaimunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático

O kit BIOLISA Leishmaniose Visceral é um ensaio imunoenzimático em fase sólida, baseado no princípio de detecção qualitativa de anticorpos IgG contra *Leishmania infantum chagasi* em soro ou plasma humano. Anticorpos específicos para *L. infantum chagasi*, presentes na amostra, se ligam aos antígenos recombinantes imobilizados na microplaca, formando complexos antígeno-anticorpo. 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 novamente incubada. Os anticorpos conjugados ligam-se aos complexos de antígeno-anticorpo. É realizada nova lavagem para remover os não ligados. Após esta etapa, o substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul, caso anticorpos IgG anti-*L. infantum chagasi* estejam presentes na amostra. A solução de parada é adicionada para interromper a reação, ocorrendo uma mudança de cor de azul para amarelo. A cor formada deve ser medida em um leitor de microplacas, em 450 nm / 630 nm.

REAGENTES

1- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8ºC.
2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Anticorpo Anti-IgG humano ligado à Peroxidase e conservante.
3- Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
4- Dilluente de Amostra - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Solução Tampão, conservante e estabilizantes.
5- Substrato - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Hidrogênio, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
6- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Ácido Sulfúrico < 1 M.
7- Controle Negativo - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgG não reativos para *L. infantum chagasi*, estabilizantes e conservante. **Potencialmente infectante.**
8- Controle Positivo - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgG Anti-*L. infantum chagasi,* estabilizantes e conservante. **Potencialmente infectante.**
9- 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 100 mL	2 Frascos x 100 mL	5 Frascos x 100 mL
4- Diluente de Amostra	1 Frasco x 100 mL	2 Frascos x 100 mL	5 Frascos x 100 mL
5- Substrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 300 μL	2 Frascos x 300 μL	5 Frascos x 300 μL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 300 μL	2 Frascos x 300 μL	5 Frascos x 300 μL
9- Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades

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 10 e 100 μL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 100 μL e 350 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 (100 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 37ºC ± 2ºC.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8ºC. O transporte pode ser feito em temperatura ambiente (até 30ºC) por até 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8ºC.
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 Sulfúrico 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 (Heparina).
Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas.
As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8ºC, 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 -20ºC (freezer).

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco Nº3 (Lavagem Concentrada) em 1000mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 8ºC por 30 dias ou 10 dias à 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, Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30ºC) por no mínimo 40 minutos.
1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
3- Preparar uma diluição de 1:101 dos Controles e Amostras em microtubos adicionando 10 μL mais 1000 μL de Diluente de Amostra. Homogeneizar.
4- Pipetar 100 μL de Amostras e Controles diluídos nas cavidades previamente determinadas.
5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
6- Incubar por 45 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37ºC ± 2ºC.
7- Retirar o selador das cavidades.
8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 350 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 37ºC ± 2ºC.
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 à temperatura ambiente, sob proteção da luz.
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 / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,100
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo	> 1,000

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

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Abs. Média do Controle Positivo x 0,1) + 0,050
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo	A1 = 1,870
	A2= 1,874
Cut Off = (Abs. Média do Controle Positivo x 0,1) + 0,050	Cut Off = ((1,870 + 1,874/2) x 0,1) + 0,050 Cut Off = 0,237

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	0,615
Valor de Cut Off	0,237
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	Índice = 0,615 / 0,237 Índice = 2,595

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	≤ 0,8
Indeterminado	Entre 0,8 e 1,2
Positivo	≥ 1,2

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 definitivo da doença.

INTERFERENTES
Nenhuma interferência foi observada por Triglicérides até 2000 mg/dL Hemoglobina até 5 g/L, Bilirrubina até 30 mg/dL, e Fator Reumatóide até 1500 UI/mL.

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 8 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,064	0,092	0,527
Desvio Padrão	0,009	0,007	0,017
Coeficiente de Variação (%)	14,869	7,355	3,193

REPRODUTIBILIDADE
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 8 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	0,064	0,090	0,540
Desvio Padrão	0,0004	0,006	0,043
Coeficiente de Variação (%)	0,601	7,077	7,967

Sensibilidade e Especificidade Clínica
O kit BIOLISA Leishmaniose Visceral analisou amostras clínicas em comparação com outro método de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA Leishmaniose Visceral é 97,9% e a especificidade clínica é > 99,9%.

Biolisa Leishmaniose Visceral x EIA Referência

MÉTODO		EIA REFERENCIA		Total
		Positivo	Negativo	
BIOLISA Leishmaniose Visceral	Positivo	48	0	48
	Negativo	1	51	52
Resultado Total		49	51	100

Sensibilidade Clínica: 97,9% (48/49)
Especificidade Clínica: > 99,9% (51/51)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
A Leishmaniose Visceral, também conhecida como calazar, é uma doença infecciosa parasitária sistêmica, não contagiosa, causada pelo protozoário *Leishmania infantum chagasi*. É transmitida através da picada de flebótomos, sendo o *Lutzomyia longipalpis* a principal espécie do vetor no Brasil. A doença se caracteriza por uma evolução progressiva que pode levar a óbito se não for tratada. Seus principais sintomas são: perda de peso, febre irregular, anemia, fraqueza (redução da força muscular), inchaço abdominal, aumento do fígado e do baço.
Um paciente é considerado clinicamente suspeito quando apresenta um histórico prolongado de febre (mais de duas semanas) com um quadro de esplenomegalia e perda de peso.
Segundo a Organização mundial da Saúde, apenas 50 a 60% dos pacientes com os achados clínicos citados, apresentam Leihmaniose Visceral. Portanto, um diagnóstico diferencial laboratorial é fundamental. As principais doenças com sintomas semelhantes ao calazar são: malária, esquistossomose, brucelose, febre tifóide, abcesso esplênico, doenças mieloproliferativas, leucemias, linfomas e anemia hemolítica crônica.
Os principais métodos de diagnóstico laboratorial para Leishmaniose Visceral são os sorológicos, incluindo teste de aglutinação direta, ELISA e teste rápido (imunocromatografia), e os testes parasitológicos como análise microscópica de aspirado de linfonodo, aspirado esplênico e aspirado de medula óssea.

NÚMERO DE TESTES
Apresentação 1 - 96 testes
Apresentação 2 - 192 testes
Apresentação 3 - 480 testes

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
1. Ritmeijer K. et al. Evaluation of a new recombinant K39 rapid diagnostic test. Am. J. Trop. Med. Hyg., 74(1), pp. 76–80, 2006.
2. Costa MM, Penido M, dos Santos MS, Doro D, de Freitas E, et al. Improved Canine and Human Visceral Leishmaniasis Immunodiagnosis Using Combinations of Synthetic Peptides in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. PLoS Negl Trop Dis 6(5): e1622, 2012.
3. Om Prakash Singh and Shyam Sundar. Developments in Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in the Elimination Era. Journal of Parasitology Research. Volume 2015, Article ID 239469, 2015.
4. Srivastava et al. Diagnosis of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. January; 105(1): 1–6, 2011.
5. Pearson, R. et al. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 84 (2): 157-166, 1989.
6. 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 Leishmaniose Visceral na ANVISA: 10269360317

Revisão: Fevereiro/2019

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

BIOLISA LEISHMANIASIS VISCERAL

REF K210

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG anti-*Leishmania infantum chagasi* infusión en suero o plasma humano por enzimainmunoensayo em microplaca. Sólo para uso diagnóstico *in vitro.*

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimainmunoensayo o inmunoenzimatico

El kit BIOLISA Leishmaniosis Visceral es un ensayo inmunoenzimático em fase sólida, basada en el principio de detección cualitativa de anticuerpos IgG contra *Leishmania infantum chagasi* en suero o plasma humano. Anticuerpos específicos para *L. infantum chagasi*, presentes en la muestra, si se une a los antígenos recombinantes inmovilizados en la microplaca, formando complejos antígeno-anticuerpo. Después de la incubación inicial, la microplaca es lavado para quitar los materiales no conectados. Anticuerpos anti-IgG humano conjugados a la peroxidasa se adicionados a la microplaca, que es de nuevo incubada. Los anticuerpos conjugados se unen a los complejos de antígenoanticuerpo. Se realiza un nuevo lavado para eliminar los no conectados. Después este paso, el sustrato es adicionado y incubado, produciendo un color azul, en el caso de anticuerpos IgG anti-*L. infantum chagasi* estén presentes en la muestra. La solución de parada se agrega para interrumpir la reacción, ocurriendo un cambio de color de azul a amarillo. El color formado debe medirse en un lector de microplacas, en 450 nm / 630 nm.

REACTIVOS

1 - Placa Sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8ºC.
2- Conjugado - Conservar entre 2 y 8ºC. Contiene: Anticuerpo Anti-IgG humano ligado a la peroxidasa y conservante.
3- Solución de Lavado Concentrado - Conservar entre 2 y 8ºC. Contiene: Solución Tampón, surfactante y conservante.
4- Diluyente de Muestra - Conservar entre 2 y 8ºC. Contiene: Solución Tampón, conservante y estabilizantes.
5- Sustrato - Conservar entre 2 y 8ºC. Contiene: Solución tampón que contiene Peróxido de hidrógeno, Tetrametilbenzidina (TMB) y conservante.
6- Solución de Parada - Conservar entre 2 y 8ºC. Contiene: Ácido Sulfúrico < 1 M.
7- Control Negativo - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG no reactivos para *L. infantum chagasi*, estabilizantes y conservante. **Potencialmente infectante.**
8- Control Positivo - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG Anti-*L. infantum chagasi*, estabilizantes y conservante. **Potencialmente infectante.**
9- Selladores de Placa

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	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- Solución de Lavado Concentrado	1 Frasco x 100 mL	2 Frascos x 100 mL	5 Frascos x 100 mL
4- Diluyente de Muestra	1 Frasco x 100 mL	2 Frascos x 100 mL	5 Frascos x 100 mL
5- Sustrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6- Solución de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Control Negativo	1 Frasco x 300 μL	2 Frascos x 300 μL	5 Frascos x 300 μL
8- Control Positivo	1 Frasco x 300 μL	2 Frascos x 300 μL	5 Frascos x 300 μL
9- Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades

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 10 y 100 μL con coeficiente de variación inferior al 1,5%.
2- Repipetador para pipeteaciones repetitivas de volúmenes de 100 μL y 350 μL, con coeficiente de variación menor que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
5- Pipetas con volúmenes regulables (100 μL a 1000 μL) para diluición de las muestras.
6- Tubos de ensayo o microtubos para la diluición de las muestras.
7- Papel absorvente para secar las microcavidades.
8- Cronómetro o reloj.
9- Frasco para almacenar la Solución de Lavado luego de diluída.
10- Agua destilada o deionizada.
11- Herramientas de Control de calidad.
12- Incubadora de 37ºC ± 2ºC.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8ºC. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) durante un máximo de 5 días. 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 8ºC.
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 Sulfúrico, 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 oferecen 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 (Heparina).
Muestras hemolizadas o altamente lipémicas no deben ser usadas.
Las muestras pueden ser conservadas bajo refrigeración, entre 2 y 8ºC, 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 -20ºC (freezer).

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del frasco Nº 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 8ºC por 30 días o 10 días a temperatura ambiente. Caso ocurra cristalización, calentar a 37ºC hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA

Antes de iniciar el ensayo, colocar todos los reactivos, Controles y Muestras para que se estabilicen en temperatura ambiente (15 - 30ºC) por lo mínimo 40 minutos.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retornar las tiras de la microplaca no utilizadas para el embalaje original sellado.
2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
3- Preparar una dilución de 1:101 de las Controles y Muestras en microtubos mediante la adición de 10 μL mais 1000 μL Diluyente de Muestra. Homegeinizar.
4- Se distribuyen 100 μL Controles y Muestras deben diluirse en cavidades predeterminadas.
5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.
6- Incubar por 45 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37ºC ± 2ºC.
7- Retirar el sellador de las cavidades.
8- Descartar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual). Usar 350 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 37ºC ± 2ºC.
12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
13- Repetir el item 8.
14- Adcionar 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 a temperatura ambiente, bajo protección de la luz.
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 / 630 nm dentro de los 15 minutos (como máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,100
Control Negativo	< 0,100
Control Positivo	> 1,000

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

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcular Cut Off de acuerdo con la fórmula siguiente:
Cut Off = (Abs. Promedio del Control Positivo x 0,1) + 0,050
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo	A1 = 1,870
	A2= 1,874
Cut Off = (Abs. Promédio del Control Positivo x 0,1) + 0,050	Cut Off = ((1,870 + 1,874/2) x 0,1) + 0,050 Cut Off = 0,237

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

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	0,615
Valor de Cut Off	0,237
Índice = Muestra / Valor del Cut Off	Índice = 0,615 / 0,237 Índice = 2,595

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

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	≤ 0,8
Indeterminado	Entre 0,8 y 1,2
Positivo	≥ 1,2

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 colectar 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 sôlo 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 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.

INTERFERENTES
Ninguna interferencia se observó por Triglicéridos hasta 2000 mg/dL. Hemoglobina hasta 5 g/L, Bilirrubina hasta 30 mg/dl y Factor Reumatoide hasta 1500 UI/mL.

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 8 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,064	0,092	0,527
Desvío Patrón	0,009	0,007	0,017
Coeficiente de Variación (%)	14,869	7,355	3,193

REPRODUCTIBILIDAD
La reproductibilidad fue calculada a partir de 8 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,064	0,090	0,540
Desvío Patrón	0,0004	0,006	0,043
Coeficiente de Variación (%)	0,601	7,077	7,967

Sensibilidad y Especificidad Clínica
El kit BIOLISA Leishmaniasis Visceral analizó muestras clínicas en comparación con otro método de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA Leishmaniasis Visceral es 97,9% y la especificidad clínica es > 99,9%.

Biolisa Leishmaniasis Visceral x EIA Referencia

MÉTODO		EIA REFERENCIA		Total
		Positivo	Negativo	
BIOLISA Leishmaniasis Visceral	Positivo	48	0	48
	Negativo	1	51	52
Resultado Total		49	51	100

Sensibilidad Clínica: 97,9% (48/49)
Especificidad Clínica: > 99,9% (51/51)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
La leishmaniasis visceral, también conocida como calazar, es una enfermedad infecciosa parasitaria sistémica, no contagiosa, causada por el protozoario *Leishmania infantum chagasi*. Se transmite a través de la picadura de flebótomos, siendo el *Lutzomyia longipalpis* la principal especie del vector en Brasil. La enfermedad se caracteriza por una evolución progresiva que puede llevar a la muerte si no se trata. Sus principales síntomas son: pérdida de peso, fiebre irregular, anemia, debilidad (reducción de la fuerza muscular), hinchazón abdominal, aumento del hígado y del bazo.
Un paciente es considerado clínicamente sospechoso cuando presenta un historial prolongado de fiebre (más de dos semanas) con un cuadro de esplenomegalia y pérdida de peso.
Según la Organización Mundial de la Salud, sólo 50 a 60% de los pacientes con los hallazgos clínicos citados, presentan Leihmaniosis Visceral. Por lo tanto, un diagnóstico diferencial de laboratorio es fundamental. Las principales enfermedades con síntomas similares al calazar son: malaria, esquistosomiasis, brucelosis, fiebre tifoide, abscesos esplénicos, enfermedades mieloproliferativas, leucemias, linfomas y anemia hemolítica crónica.
Los principales métodos de diagnóstico de laboratorio para Leishmaniasis Visceral son los serológicos, incluyendo pruebas de aglutinación directa, ELISA y prueba rápida (inmunocromatografía), y las pruebas parasitológicas como análisis microscópico de aspirado de ganglio, aspirado esplénico y aspirado de médula ósea.

NÚMERO DE PRUEBAS
Presentación 1 - 96 Pruebas
Presentación 2 - 192 Pruebas
Presentación 3 - 480 Pruebas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1. Ritmeijer K. et al. Evaluation of a new recombinant K39 rapid diagnostic test. Am. J. Trop. Med. Hyg., 74(1), pp. 76–80, 2006.
2. Costa MM, Penido M, dos Santos MS, Doro D, de Freitas E, et al. Improved Canine and Human Visceral Leishmaniasis Immunodiagnosis Using Combinations of Synthetic Peptides in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. PLoS Negl Trop Dis 6(5): e1622, 2012.
3. Om Prakash Singh and Shyam Sundar. Developments in Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in the Elimination Era. Journal of Parasitology Research. Volume 2015, Article ID 239469, 2015.
4. Srivastava et al. Diagnosis of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. January; 105(1): 1–6, 2011.
5. Pearson, R. et al. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 84 (2): 157-166, 1989.
6. Bioclin – Dados de arquivos

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 validad mencionada en el embalaje de presentacion, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.

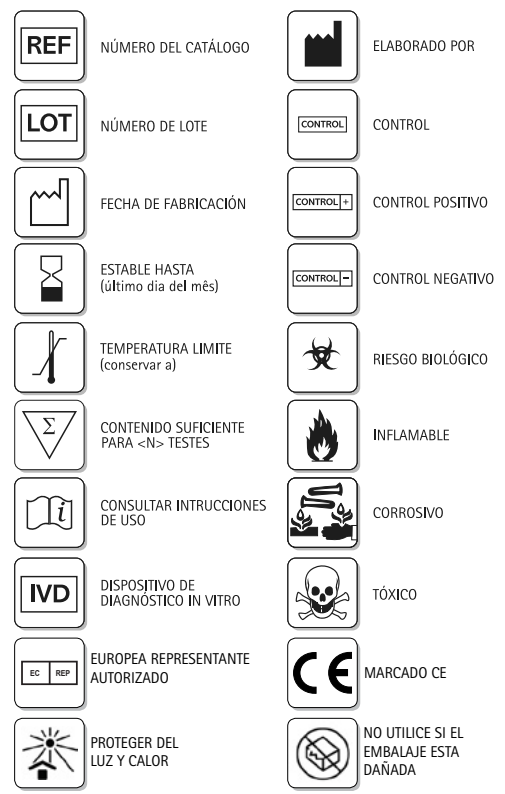
QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 (31) 3439-5454 – Fax: +55 (31) 3439-5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileña

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

Numero de Registro del kit BIOLISA Leishmaniasis Visceral en la ANVISA: 10269360317

Revisión: Febrero/2019

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



BIOLISA VISCERAL LEISHMANIASIS

REF **K210**

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Test for the qualitative determination of IgG antibodies anti-*Leishmania infantum chagasi* 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 Visceral Leishmaniasis kit is a solid phase enzyme immunoassay based on the principle of qualitative detection IgG Antibodies against *Leishmania infantum chagasi* in serum or plasma. Antibodies specifics for *Leishmania infantum chagasi*, present in the sample, bind to the recombinant antigens immobilized on the microplate, forming complexes antigen-antibody complexes. After initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated human Anti-IgG Antibodies are added to the microplate and then incubated. Conjugated antibodies bind to the antigen-antibody complexes. New wash is performed to remove unbound. After this step, the Substrate is added and incubated, producing a blue color, if IgG antibodies to *L. infantum chagasi* are present in the sample. The Stop Solution is added to stop the reaction having a color change to yellow, measured in a microplate reader, in 450 nm / 630 nm.

REAGENTS

1- Sensitized Plate - Store between 2 and 8°C.
2- Conjugate - Store between 2 and 8°C. Contains: Human Anti-IgG 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 8ºC. Contains: Buffer Solution, stabilizers and preservative.
5- Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Hydrogen Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
6- Stop Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Sulfuric Acid < 1 M.
7- Negative Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Non-reactive IgG Antibodies to *L. infantum chagasi*, stabilizers and preservative. **Potentially infectious.**
8- Positive Control - Store between 2 and 8°C. Contains: IgG Antibodies Anti-*L. infantum chagasi*, stabilizers and preservative. **Potentially infectious.**
9- Plate Sealers

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 CAVITIES	192 CAVITIES	480 CAVITIES
1- Sensitized Plate	1 Unit (96 Cavities)	2 Units (192 Cavities)	5 Units (480 Cavities)
2- Conjugate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3- Concentrated Washing Solution	1 Flask x 100 mL	2 Flasks x 100 mL	5 Flasks x 100 mL
4- Sample Diluent	1 Flask x 100 mL	2 Flasks x 100 mL	5 Flasks x 100 mL
5- Substrate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
6- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
7- Negative Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
8- Positive Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
9- Plate sealers	3 Units	6 Units	15 Units

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 10 and 100 µL with lower coefficient of variation than 1,5%.
2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 100 µL and 350 µL, with lower coefficient of variation than 1,5% or multicontrol pipette (Optional).
3- Microplate washer (optional).
4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
5- Adjustable volume pipettes (100 µL to 1000 µL) for sample dilution.
6- Test tubes for preparation for sample diluition.
7- Paper towel to dry cavities
8- Stopwatch or watch.
9- Flask to store the Washing Solution after diluted.
10- Distilled or deionized water.
11- Tools of Quality Control.
12- Incubator 37ºC ± 2ºC.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8ºC. The transport can be done under ambient temperature (up to 30°C) for up to 5 days. 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 microcavities in the sachet, seal and store between 2 and 8ºC.
4- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
5- Deionized saturated columns release alkaline water several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
6- Stop Solution contains Sulfuric 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, 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.
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 (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 -20ºC (freezer).

PROCESS DESCRIPTION

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution
Dilute the contents of the Flask Nº 3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation the solution may be stored at 2 to 8ºC for 30 days or 10 days 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, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 - 30ºC) for at least 40 minutes.
1- Select the cavities to be used considering: 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.
2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3- Prepare a 1:101 dilution of the Controls and Samples in microtubes adding 10 µL more 1000 µL of the Sample Diluent. Homogenize.
4- Pipette 100 µL of diluted Samples and Controls into the previously determined wells.
5- 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.
6- Incubate for 45 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37ºC ± 2ºC.
7- Remove the plate sealers of cavities.
8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decanting (Manual). Use approximately 350 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.
9- Pipette 100 µL of Conjugate in all cavities except in the Blank cavity (if you made this option).
10- Mix gently for ± 30 seconds. Cover cavities with plate sealer.
11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
12- Remove the sealer from plate cavities.
13- Repeat item 8.
14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
15- Mix gently for ± 30 seconds. Cover wells with plate sealer.
16- Incubate for 15 minutes ± 2 minutes in an incubator at room temperature, under light protection.
17- Remove the plate sealer from cavities.
18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.
19- Mix gently for ± 30 seconds.
20- Read the 450 nm / 630 nm within 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

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

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0,100
Negative Control	< 0,100
Positive Control	> 1,000

If the values are out of the expected values, technique must be repeated.

CALCULATIONS

QUALITATIVE
Calculate Cut Off according to the formula below:
Cut Off = (Positive Control Mean Abs. x 0,1) + 0,050
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control	A1 = 1,870
	A2= 1,874
Cut Off = (Positive Control Mean Abs. x 0,1) + 0,050	Cut Off = ((1,870 + 1,874/2) x 0,1) + 0,050 Cut Off = 0,237

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	0,615
Cut Off Value	0,237
Index = Sample / Cut Off Value	Index = 0,615 / 0,237 Index = 2,595

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	≤ 0,8
Undetermined	Between 0,8 and 1,2
Positive	≥ 1,2

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.

INTERFERENCES
No interference was observed by Triglycerides up to 2000 mg/dL Hemoglobin up to 5 g/L, Bilirubin up to 30 mg/dL, and Rheumatoid Factor up to 1500 IU/mL.

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 8 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,064	0,092	0,527
Standard Deviation	0,009	0,007	0,017
Coefficient of Variation (%)	14,869	7,355	3,193

REPRODUCIBILITY
The reproducibility was calculated from 8 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

REPRODUCIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,064	0,090	0,540
Standard Deviation	0,0004	0,006	0,043
Coefficient of Variation (%)	0,601	7,077	7,967

Clinical Sensitivity and Specificity
BIOLISA Visceral Leishmaniasis analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the kit BIOLISA Visceral Leishmaniasis is 97,9% and clinical specificity is > 99,9%.

Biolisa Visceral Leishmaniasis x EIA REFERENCE

METHOD		EIA REFERENCE		Total
		Positive	Negative	
BIOLISA Visceral Leishmaniasis	Positive	48	0	48
	Negative	1	51	52
Total Results		49	51	100

Clinical Sensitivity: 97,9% (48/49)
Clinical Specificity: > 99,9% (51/51)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
Visceral leishmaniasis, also known as kalazar, is a non-contagious systemic parasitic infectious disease caused by the protozoan *Leishmania infantum chagasi*. It is transmitted through the bite of sandflies, and *Lutzomyia longipalpis* is the main vector species in Brazil. The disease is characterized by a progressive evolution that can lead to death if left untreated. Its main symptoms are: weight loss, irregular fever, anemia, weakness (reduction of muscle strength), abdominal swelling, enlargement of the liver and spleen.
A patient is considered clinically suspect when he has a prolonged history of fever (more than two weeks) with a picture of splenomegaly and weight loss. According to the World Health Organization, only 50 to 60% of the patients with the clinical findings cited present Visceral Leihmaniosis. Therefore, a differential laboratory diagnosis is essential. The main diseases with symptoms similar to kalazar are: malaria, schistosomiasis, brucellosis, typhoid, splenic abscess, myeloproliferative diseases, leukemias, lymphomas and chronic hemolytic anemia.
The main methods of laboratory diagnosis for Visceral Leishmaniasis are serological tests, including direct agglutination test, ELISA and rapid test (immunochromatography), and parasitological tests such as microscopic analysis of aspirate of lymph node, splenic aspirate and aspirate of bone marrow.

NUMBER OF TESTS
Presentation 1 - 96 tests
Presentation 2 - 192 tests
Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES
1. Ritmeijer K. et al. Evaluation of a new recombinant K39 rapid diagnostic test. Am. J. Trop. Med. Hyg., 74(1), pp. 76–80, 2006.
2. Costa MM, Penido M, dos Santos MS, Doro D, de Freitas E, et al. Improved Canine and Human Visceral Leishmaniasis Immunodiagnosis Using Combinations of Synthetic Peptides in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. PLoS Negl Trop Dis 6(5): e1622, 2012.
3. Om Prakash Singh and Shyam Sundar. Developments in Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in the Elimination Era. Journal of Parasitology Research. Volume 2015, Article ID 239469, 2015.
4. Srivastava et al. Diagnosis of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. January; 105(1): 1–6, 2011.
5. Pearson, R. et al. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 84 (2): 157-166, 1989.
6. 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 Visceral Leishmaniasis kit: 10269360317

Review: February/2019

UNIVERSAL SYMBOLOGY