

Bioclin

BIOLISA SARS-CoV-2 IgM

REF **K233-1**
INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa por captura de anticorpos IgM para SARS-CoV-2 (vírus causador da doença COVID-19) em amostras biológicas (soro ou plasma) através de teste enzimaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa por captura de Anticorpos IgM para SARS-CoV-2 em soro ou plasma humano. Anticorpos IgM presentes na amostra se ligam aos Anticorpos anti IgM revestidos na microplaca formando imunocomplexos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Antígenos de SARS-CoV-2 conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca que é então incubada. Os Antígenos conjugados a enzima ligam-se aos Anticorpos IgM Anti- SARS-CoV-2 presentes, ligados à placa revestida com anticorpos anti IgM. Nova lavagem é realizada para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a detecção de Anticorpos IgM Anti- SARS-CoV-2 presentes na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplaca.

REAGENTES

- 1- Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa Sensibilizada com Anticorpo Anti-IgM.
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, Antígenos de SARS-CoV-2 conjugados à peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão (Fosfato < 0,5 mol/L, Cloreto de Potássio < 100 mmol/L, Cloreto de Sódio < 5 mol/L), surfactante e conservante.
- 4- Diluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizantes, surfactante e conservante.
- 5- Substrato** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 7- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizante, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, Anticorpos IgM Anti - SARS-CoV-2, corante, estabilizantes, surfactante 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 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 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 5 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2-** Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3-** Lavadora de microplaca (opcional).
- 4-** Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- 5-** Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 6-** Cronômetro ou relógio.
- 7-** Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluída.
- 8-** Água destilada ou deionizada.
- 9-** Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10-** Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 2 a 8°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

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

- 6-** A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
 - 7-** Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBsAg, Anti-HIV 1&2 e Anti HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.
 - 8-** Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
 - 9-** Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
 - 10-** Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.
 - 11-** Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.
 - 12-** Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
 - 13-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
 - 14-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
 - 15-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.
- AMOSTRAS**
Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina).
Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8°C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

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

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

ESTABILIDADE APÓS ABERTO

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa SARS-CoV-2 IgM é estável após aberto durante, pelo menos, 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

TÉCNICA

- Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.
- 1-** Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
 - 2-** Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
 - 3-** Preparar uma diluição de 1:101 das Amostras e Controles em microtubos adicionando 5 µL de amostras e/ou controles, mais 500 µL de Diluente de Amostra. Homogeneizar.
- Observar a mudança de cor do diluente no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao microtubo corretamente.
- 4-** Pipetar 100 µL de Amostra e Controles diluídos nas cavidades previamente determinadas. **Na cavidade do Branco, pipetar 100µL de Diluente de Amostra.**
 - 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 100µL de Conjugado em todas as cavidades. **Exceto na cavidade do Branco.**
 - 10-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
 - 11-** Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
 - 12-** Retirar o selador de placa das cavidades.
 - 13-** Repetir o item 8.
 - 14-** Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades. **Inclusive na cavidade do Branco.**
 - 15-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
 - 16-** Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
 - 17-** Retirar o selador de placa das cavidades.
 - 18-** Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades. **Inclusive na cavidade do Branco.**
 - 19-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
 - 20-** Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,250
Controle Negativo	< 0,300
Controle Positivo	> 1,200

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

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

QUALITATIVO

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,160

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente N° 8)	A1 = 2,120
	A2 = 2,094
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,160	((2,120 + 2,094) / 2 x 0,02) + 0,160 = 0,202

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,321
Valor de Cut Off	0,202
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,321 / 0,202 = 6,539

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para determinação dos resultados.

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 - 1,1

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 uma semana. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. Para uma avaliação mais completa do diagnóstico e correlação clínica, sugere-se que cada amostra seja testada para IgG e IgM. 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 diagnostico, 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 ao vírus. 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 Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatóide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti Estreptolisina O 1023UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 132 amostras negativas para SARS-CoV-2, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 12 amostras positivas para Influenza, 27 positivas para Rinovírus e 13 amostras positivas para Vírus Sincicial Respiratório, 10 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para Dengue, 10 amostras positivas para Chikungunya, 10 amostras positivas para Toxoplasmose, 10 amostras positivas para Rubéola, 10 amostras positivas para HIV, 10 amostras positivas para HBV e 10 amostras positivas para HCV. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para Influenza, Rinovírus, Vírus sincicial respiratório, Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmose, Rubéola, HIV, HBV e HCV. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnostico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

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

Foram realizadas 10 dosagens sucessivas com 3 amostras, utilizando o mesmo lote, obtendo-se os seguintes resultados:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	2,041	0,932	0,334
Desvio padrão	0,032	0,030	0,015
Coefficiente de variação (%)	1,54	3,22	4,58

REPRODUTIBILIDADE

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

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	2,044	0,950	0,331
Desvio padrão	0,030	0,029	0,016
Coefficiente de variação (%)	1,48	3,07	4,91

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM é 96,4% e a especificidade clínica é 95,9%.

	Resultado Esperado	BIOLISA SARS-CoV-2 IgM
Amostra Positiva	84	81
Amostra Negativa	97	93
Total de Amostras Testadas	181	174

Sensibilidade Clínica: 96,4% (81/84)
Especificidade Clínica: 95,9% (93/97)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Os Coronavírus (CoV) pertencem a família Coronaviridae, e estão amplamente distribuídos infectando seres humanos e outros mamíferos. Em humanos, os sintomas mais comuns apresentados são: febre, tosse, dispneia, mialgia ou fadiga. Pode causar doenças que variam do resfriado comum a doenças mais graves, como a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV). Em dezembro de 2019, uma série de casos de pneumonia de causa desconhecida surgiu em Wuhan na China, com sintomatologia clínica muito semelhante à pneumonia viral, após sequenciamento completo das amostras respiratórias foi evidenciado ser infecção por Coronavírus, que foi chamado de novo coronavírus (2019-nCoV). Em aproximadamente 150 países em todos os continentes já foram notificados casos de infecção.

NÚMERO DE TESTES

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

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Corman VM, Landt O, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
- Huang C, Wang Y, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

 QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br
Número de Registro do kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM na ANVISA: 10269360331

Revisão: Setembro/2020

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMÁVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNOSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

Bioclin

BIOLISA SARS-CoV-2 IgM

REF **K233-1**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM contra SARS-CoV-2 (virus que causa la enfermedad COVID-19) en muestras biológicas (suero o plasma) mediante prueba de inmunoensayo enzimático. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Inmunoensayo enzimático o inmunoenzimático
El kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de detección cualitativa por captura de anticuerpos IgM para SARS-CoV-2 en suero y plasma humano. Los anticuerpos IgM presentes en la muestra se unen a los anticuerpos anti IgM recubierto en la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación La microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Se añaden antígenos de SARS-CoV-2 conjugados con peroxidasa a la microplaca que luego se incuba. Los antígenos conjugados con enzimas se unen a los anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2 presentes, unidos a la placa recubierto con anticuerpos anti IgM. Se realiza un nuevo lavado para eliminar excedentes Después de esta etapa, el sustrato se agrega y se incuba, produciendo un color azul que indica la detección de anticuerpos IgM SARS-CoV-2 presente en la muestra. Solución de parada agregada para detener la reacción con un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1- Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Placa Sensibilizada con Anticuerpo Anti-IgM.
- 2- Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, Antígenos de SARS-CoV-2 conjugado con Peroxidasa, tensioactivo, estabilizantes, colorante y conservante.
- 3- Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón (Fosfato <0.5 mol/L, Cloruro de Potasio <100 mmol/L, Cloruro de Sodio <5 mol/L), tensioactivo y conservante.
- 4- Diluyente de Muestra** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizantes, tensioactivos y conservantes.
- 5- Sustrato** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
- 6- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.
- 7- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizante, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 8- Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, IgM Anti - Anticuerpos SARS-CoV-2, colorantes, estabilizadores, tensioactivos y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 9- Selladores de placas**

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 – Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 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 ítem anterior
- Instrucciones de uso (manual)

Materiais necesarios, mas no contenidos en el kit:

- 1-** Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2-** Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 500 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 absorbencia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5-** Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 6-** Cronómetro o reloj.
- 7-** Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.
- 8-** Agua destilada o deionizada.
- 9-** Herramientas de Control de Calidad.
- 10-** Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte debe ser de 2 a 8°C. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- 2-** Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- 3-** El sobre de aluminio conteniendo las microplacas debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar entre 2 y 8°C.
- 4-** El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
- 5-** Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.

- 6-** La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.
- 7-** Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo, esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.
- 8-** Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
- 9-** Por medida de protección, debe cubrir la placa durante la reacción.
- 10-** Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco, y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.
- 11-** No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante 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

Suero o Plasma (EDTA o Heparina).

No se deben utilizar muestras hemolizadas o altamente lipémicas. Las muestras pueden mantenerse refrigeradas, entre 2 y 8°C, durante um período máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a -20°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del Reactivo N° 3 (Lavado Concentrado) em 1000 mL de agua destilada o deionizada. Después de la preparación de la solución se puede almacenar a 2 a 30°C hasta la fecha de validad impresa en el frasco original. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

ESTABILIDAD DESPUÉS DE ABRIR

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa SARS-CoV-2 IgM es estable después de abrir durante al menos 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba y el medio ambiente. Por lo tanto, se sugiere controlar el rendimiento del producto. utilizando controles internos del kit y criterios de validación técnica.

TÉCNICA

- Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 40 minutos.
- 1-** Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retornar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.
- 2-** Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- 3-** Prepare una dilución 1:101 de Muestras y Controles en microtubos adicionando 5 µL de muestras y/o controles, más 500 µL de Diluyente de Muestra. Homogeneizar. Observe el cambio de color del diluyente al agregar la muestra. Un el cambio de color indica que la muestra se agregó correctamente al microtubo.
- 4-** Pipetear 100 µL de Muestra y Controles diluidos en las cavidades previamente determinadas. **En la cavidad para el Blanco, pipetear 100 µL del Diluyente de Muestra.**
- 5-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.
- 6-** Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
- 7-** Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 8-** Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada**, para un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente.
- Nota:** Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
- 9-** Pipetear 100 µL de Conjugado en todas las cavidades. **Excepto en la cavidad para el Blanco.**
- 10-** Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
- 11-** Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora 37°C ± 2°C.
- 12-** Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 13-** Repetir el ítem 8.
- 14-** Pipetear 100 µL Sustrato en todas las cavidades. **Incluso en la cavidad para el Blanco.**
- 15-** Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 16-** Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
- 17-** Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 18-** Pipetear 100 µL de Solución de Parada a todos los pocillos. **Incluso em la cavidad para el Blanco.**
- 19-** Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20-** Leer utilizando filtro doble: 450nm / 630nm en hasta 15 minutos (no máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBANCIA
Branco	< 0,250
Control Negativo	< 0,300
Control Positivo	> 1,200

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

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcule el Cut Off según la siguiente fórmula:

Cut Off = (Absorbancia Promédio del Control Positivo x 0,02) + 0,160

Ejemplo

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo N° 8)	A1 = 2,120
	A2 = 2,094
Cut Off = (Absorbancia Promédio del Control Positivo x 0,02) + 0,160	((2,120 + 2,094) / 2 x 0,02) + 0,160 = 0,202

Calcule el Indice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,321
Valor del Cut Off	0,202
Indice = Muestra / Valor del Cut Off	1,321 / 0,202 = 6,539

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Después de calcular el índice de las muestras, considere los índices a continuación para determinar los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVO
	INDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 1,1

Observación: En el caso de un resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizado. Las muestras que obtienen resultados indeterminados repetidamente se deben volver a analizar utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecen indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra en dos semanas. El resultado de la última muestra recolectada debe prevalecer. Para una evaluación más completa del diagnóstico y la correlación clínica, se sugiere analizar cada muestra para detectar IgG e IgM. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, y no es el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no pueden utilizarse para calcular los resultados.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La interpretación de una prueba de diagnóstico no debe establecerse con base en un solo ensayo. Deben incluirse otras pruebas confirmatorias, antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición al virus. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible. antes del diagnóstico definitivo de la enfermedad.

INTERFERENTE

No se observó interferencia para el Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Factor Rematoide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y Anti Estreptolisina O 1023 UI/mL.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 132 muestras negativas para SARS-CoV-2, pero positivas para otras infecciones. Entre ellos 12 muestras positivas para Influenza, 27 positivas para Rhinovirus, 13 muestras positivas para Vírus Sincitial Respiratorio, 10 muestras positivas para Zika, 10 muestras positivas para Dengue, 10 muestras positivas para Chikungunya, 10 muestras positivas para Toxoplasmosis, 10 muestras positivas para Rubéola, 10 muestras positivas para HIV, 10 muestras positivas para HBV y 10 muestras positivas para HCV. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para Influenza, Rhinovirus, Vírus sincitial respiratorio, Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Rubéola, HIV, HBV y HCV. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

Precisión

REPETIBILIDAD

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

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	2,041	0,932	0,334
Desvío Patrón	0,032	0,030	0,015
Coefficiente de Variación (%)	1,54	3,22	4,58

REPRODUCTIBILIDAD

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

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	2,044	0,950	0,331
Desvío Patrón	0,030	0,029	0,016
Coefficiente de Variación (%)	1,48	3,07	4,91

Sensibilidad e Especificidad Clínica

El kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM es 96,4% y la especificidad clínica 95,9%.

	Resultado Esperado	BIOLISA SARS-CoV-2 IgM
Muestra Positiva	84	81
Muestra Negativa	97	93
Total de Muestras Testadas	181	174

Sensibilidad Clínica: 96,4% (81/84)

Especificidad Clínica: 95,9% (93/97)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Los coronavirus (CoV) pertenecen a la familia Coronaviridae y son ampliamente distribuido infectando humanos y otros mamíferos. En humanos, los síntomas más comunes presentados son: fiebre, tos, disnea, mialgia o fatiga. Puede causar enfermedades que van desde el resfriado común a las enfermedades más graves, como el síndrome respiratorio oriental (MERS-CoV) y Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARSCoV). En diciembre de 2019, una serie de casos de neumonía causaron la enfermedad apareció en Wuhan en China, con síntomas clínicos muy similar a la neumonía viral, después de la secuenciación completa de las muestras respiratorias se demostró que era una infección por Coronavirus, que se llamó el nuevo coronavirus (2019-nCoV). En aproximadamente 150 países en todos los continentes, ya se han informado casos de infección.

NÚMERO DE PRUEBAS

Presentación 1 – 96 pruebas

Presentación 2 – 192 pruebas

Presentación 3 – 480 pruebas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
2. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2. 2002:31.
3. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
4. Corman VM, Landt O, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
5. Huang C, Wang Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
6. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos Bioclin son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.

 QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca

CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil

Tel.: +55 (31) 3439-5454

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA SARS-CoV-2 IgM en la

ANVISA: 10269360331

Revisión: Septiembre/2020

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

Bioclin

BIOLISA SARS-CoV-2 IgM

REF **K233-1**

USE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Test for qualitative determination of IgM antibodies to SARS-CoV-2 (virus that causes COVID-19 disease) in biological samples (serum or plasma) through enzyme immunoassay test. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic

The BIOLISA SARS-CoV-2 IgM kit is an immunoenzymatic assay in solid phase based on the principle of qualitative detection by capture of antibodies IgM for SARS-CoV-2 in serum, plasma human. IgM antibodies present in the sample bind to the anti antibodies IgM coated on the microplate forming immunocomplexes. After incubation the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated SARS-CoV-2 antigens are added to the microplate which is then incubated. The enzyme-conjugated antigens bind to the IgM Anti-SARS-CoV-2 Antibodies present, attached to the plate coated with anti-IgM antibodies. New wash is performed to remove surpluses. After this stage, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the detection of IgM Antibodies SARS-CoV-2 present in the sample. Stop Solution is added to stop the reaction with a color change from blue to yellow, measured in a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Sensitized Plate with Anti-IgM Antibody.
- 2- Conjugate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, Antigens of SARS-CoV-2 conjugated to Peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3- Concentrated Washing** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution (Phosphate <0.5 mol/L, Potassium Chloride <100 mmol/L, Sodium Chloride <5 mol/L), surfactant and preservative.
- 4- Sample Diluent** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant 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: Hydrochloric Acid 1 M.
- 7- Negative Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
- 8- Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, IgM Anti - SARS-CoV-2 Antibodies, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
- 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 – Concentrate Washing	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
4 – Sample Diluent	1 Flask x 100 mL	2 Flasks x 100 mL	5 Flasks x 100 mL
5 - Substrate	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
9 – Stop Solution	1 Flask x 12mL	2 Flasks x 12mL	5 Flasks x 12mL
7 –Negative Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
8 –Positive Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
9 – Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

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

Required materials not contained in the kit:

- 1-** Pipette capable of dispensing volumes of 5 to 500 µL with lower coefficient of variation than 1.5%.
- 2-** Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 500 µL, with lower coefficient of variation than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3-** Microplate washer (optional).
- 4-** ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- 5-** Paper towel to dry cavities
- 6-** Stopwatch or watch.
- 7-** Flask to store the washing solution after diluted.
- 8-** Distilled or deionized water.
- 9-** Tools of Quality Control.
- 10-** Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature and transport should be 2 to 8°C. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

- 2-** Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- 3-** The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store be 2 to 8°C.
- 4-** The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 5-** Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.

6- Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Handle it with care.

7- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti-HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the bio safety of these products.

8- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.

9- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.

10- You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry, and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test.

11- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.

12- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

14- Do not use the product in case of damaged packaging.

15- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin).

Hemolysed or highly lipemic samples should not be used. The samples can be kept refrigerated, between 2 and 8°C, for a maximum period of 5 days. If samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution

Dilute the contents of the Reagent N° 3 (Concentrate Washing) 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. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready for use.

STABILITY AFTER OPEN

The results of the stability test show that the Biolisa kit SARS-CoV-2 IgM is stable after opening for at least 30 days. This stability may vary according to the conditions of the test and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using internal kit controls and technique validation criteria.

TECHNIQUE

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

1- Select the cavities to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the microplate will not be used, for the original sealed packaging.

2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).

3- Prepare a 1:101 dilution of Samples and Controls in microtubes by adding 5 µL of samples and/or controls, plus 500 µL of Sample Diluent. Homogenize.

Observe the color change of the diluent when adding the sample. A Color change indicates that the sample was successfully added to the microtube.

4- Pipette 100 µL of Diluted Sample and Controls into the previously determined wells. **In the Blank cavity, pipette 100uL of Sample Diluent.**

5- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.

6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.

7- Remove the sealing of wells.

8- Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decanting (Manual).

Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared to perform a total of five (5) washing cycles. To ensure drying of the plate, at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper.

Note: Poor washing/drying can cause inadequate results.

9- Pipette 100 µL of Conjugate into each well. **Except in Blank cavity.**

10- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.

11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.

12- Remove the sealer from plate cavities.

13- Repeat item 8.

14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells. **Included in the cavity for Blank.**

15- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.

16- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.

17- Remove the sealer from plate cavities.

18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells. **Included in the cavity for Blank.**

19- Mix gently for ± 30 seconds.

20- Read using double filter: 450nm / 630nm within up to 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	< 0.250
Negative Control	< 0.300
Positive Control	> 1.200

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = (Average Absorbance Positive Control x 0.02) + 0.160

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N° 8)	A1 = 2.120
	A2 = 2.094
Cut Off = (Average Absorbance Positive Control x 0.02) + 0.160	((2.120 + 2.094) / 2 x 0.02) + 0.160 = 0.202

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.321
Cut Off Value	0.202
Index = Sample / Cut Off Value	1.321 / 0.202 = 6.539

INTERPRETATION OF RESULTS

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

RESULTS	QUALITATIVE INDEX
Negative	< 0.9
Positive	> 1.1
Undetermined	0.9 – 1.1

Note: In the case of an undetermined result, the sample must be reanalyzed. Samples that obtain results repeatedly Indeterminate conditions must be retested using an alternative method. If results remain indeterminate, a new sample in two weeks. The result of the last sample must prevail collected. For a more complete assessment of the diagnosis and clinical correlation, it is suggested that each sample be tested for IgG and IgM. The results provided by this kit must be interpreted responsible medical professional, and it is not the only criterion for the determining the diagnosis and /or treatment of the patient.

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

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test should not be established with basis of a single trial. Other confirmatory tests should be included, before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure to the virus. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information before the definitive diagnosis of the disease.

INTERFERENT

No interference was observed for Acetylsalicylic Acid 20 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 2 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL, Oxalic Acid 60 mg/dL, Rematoid Factor 980 IU/mL, C Reactive Protein 41.2 mg/dL and Anti Streptolysin O 1023 IU/ml.

CROSS REACTIVITY

A cross-reactivity study was carried out, evaluating 132 samples negative for SARS-CoV-2, but positive for other infections. Among they 12 samples positive for Influenza, 27 positive for Rhinovirus, 13 positive samples for Respiratory Syncytial Virus, 10 positive samples for Zika, 10 positive samples for Dengue, 10 positive samples for Chikungunya, 10 samples positive for Toxoplasmosis, 10 samples positive for Rubella, 10 HIV positive samples, 10 samples positive for HBV and 10 positive samples for HCV. It was not observed cross-reactivity with positive samples for Influenza, Rhinovirus, Respiratory syncytial virus, Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Rubella, HIV, HBV and HCV. Despite the results found, it is not can completely rule out the possibility of cross-reactivity. O final diagnosis should consider the patient's clinical data together with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

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

PRUDUCT PERFORMANCE QUALITY CONTROL

Accuracy

REPETIBILITY

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

REPETIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	2.041	0.932	0.334
Standard Deviation	0.032	0.030	0.015
Coefficient of Variation (%)	1.54	3.22	4.58

REPRODUCIBILITY

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

REPRODUCIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	2.044	0.950	0.331
Standard Deviation	0.030	0.029	0.016
Coefficient of Variation (%)	1.48	3.07	4.91

Clinical Sensitivity and Specificity

BIOLISA SARS-CoV-2 IgM Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA SARS-CoV-2 IgM kit is 96.4% and clinical specificity is 95.9%.

	Expected Result	BIOLISA SARS-CoV-2 IgM
Positive Sample	84	81
Negative Sample	97	93
Total Tested Sample	181	174

Clinical Sensitivity: 96.4% (81/84)

Clinical Specificity: 95.9% (93/97)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Coronaviruses (CoV) belong to the Coronaviridae family, and are widely distributed infecting humans and other mammals. In humans, the most common symptoms presented are: fever, cough, dyspnoea, myalgia or fatigue. It can cause diseases ranging from the cold common to more serious diseases, such as the Eastern Respiratory Syndrome (MERS-CoV) and Severe Acute Respiratory Syndrome (SARSCoV). In December 2019, a series of cases of pneumonia caused disease appeared in Wuhan in China, with clinical symptoms very similar to viral pneumonia, after complete sequencing of the respiratory samples was found to be Coronavirus infection, which it was called the new coronavirus (2019-nCoV). In approximately 150 countries on all continents have already been reported cases of infection.

NUMBER OF TESTS

Presentation 1 - 96 tests

Presentation 2 - 192 tests

Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/ LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Corman VM, Landt O, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019- nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
- Huang C, Wang Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

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



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Phone: +55 (31) 3439.5454

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for BIOLISA SARS-CoV-2 IgM kit: 10269360331

Review: September/2020

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