

BIOLISA TOXOPLASMOSE IgM

REF K126

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgM para *Toxoplasma gondii* em soro ou plasma humano por enzaimunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzaimunoensaio ou imunoenzimático

O kit BIOLISA Toxoplasmose IgM é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseada no princípio de detecção qualitativa indireta de Anticorpos IgM para *Toxoplasma gondii* em soro ou plasma humano. Anticorpos IgM Anti-*Toxoplasma gondii*, presentes nas amostras se ligam aos Antígenos revestidos na microplaca formando complexos Antígeno-Anticorpos IgM. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Anticorpos Anti-IgM humanos conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca e então incubados. Os Anticorpos Anti-IgM humano conjugado a enzima ligam-se aos Anticorpos IgM presentes, ligados aos antígenos. Nova lavagem é realizada para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a quantidade de Anticorpos IgM Anti-*Toxoplasma gondii* presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplaca.

REAGENTES

- 1- Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8°C.
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpo Anti-IgM humano ligados à Peroxidase e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
- 4- Diluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão e conservante.
- 5- Substrato** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 7- Calibrador Cut-Off** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM Anti-*Toxoplasma gondii* diluídos e conservantes. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM não reativos para *Toxoplasma gondii* e conservantes. **Potencialmente infectante.**
- 9- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM Anti-*Toxoplasma gondii* e conservantes. **Potencialmente infectante.**
- 10- Seladores de Placa**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Placa Sensibilizada	1 Unidade (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4- Diluente de Amostra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
5- Substrato	1 Frasco x 11 mL	2 Frascos x 11 mL	5 Frascos x 11 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Calibrador Cut-Off	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
8- Controle Negativo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
9- Controle Positivo	1 Frasco x 100 µL	2 Frascos x 100 µL	5 Frascos x 100 µL
10 - Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

- Materiais contidos no kit:**
- Reagentes descritos no quadro anterior.
- Instruções de uso (manual).

Materiais necessários, não contidos nos Kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5, 50 e 100 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 100 µL e 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630nm de comprimento de onda.
- 5- Pipetas com volumes reguláveis (200 µL a 1000 µL) para diluição das amostras.
- 6- Tubos de ensaio ou microtubos para diluição das amostas.
- 7- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 8- Cronômetro ou relógio.
- 9- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluída.
- 10- Água destilada ou deionizada.
- 11- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 12- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte pode ser feito sob temperatura ambiente (até 30°C) por até 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e estocar a 2-8°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 armazenamento ou etapas de incubação.
- 12- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 13- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- 14- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 15- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Utilizar soro ou plasma (EDTA ou Heparina). Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8°C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20°C (freezer).

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco Nº3 (Lavagem Concentrada) em 1000mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30°C até a data de validade impressa no frasco original. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA

- Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os Reagentes, Amostras, Calibrador Cut-Off e Controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30°C) por no mínimo 40 minutos.
- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Calibrador Cut-Off, Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras da microplaca que não serão utilizadas para a embalagem original selada.
- 2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- 3- Preparar uma diluição de 1:41 das Amostras, Controles e Calibrador Cut-Off em microtubos, adicionando 5µL mais 200 µL de Diluente de Amostra. Homogeneizar.
- 4- Pipetar 100 µL de Amostras, Controles e Calibrador Cut-Off diluídos nas cavidades previamente determinadas.
- 5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
- 6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 7- Retirar o selador das cavidades.
- 8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (manual).
- Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparado**, para 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 cada cavidade exceto na cavidade Branco (Caso tenha feito a opção).
- 10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora 37°C ± 2°C.
- 12- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 13- Repetir o item 8.
- 14- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades.

- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 16- Incubar por 15 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 17- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 18- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Ler a 450 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

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

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

As absorbâncias para os Controles e Calibrador Cut-Off foram obtidas após a diminuição da absorbância do Branco. Considerar limite de Branco < 0,150. Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Considerar como Cut-Off a absorbância média obtida com o Calibrador Cut-Off. Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Calibrador Cut-Off	0,952
	0,885
Absorbância média do Calibrador Cut-Off	(0,952 + 0,885) / 2 = 0,919

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,347
Valor de Cut-Off	0,919
Índice = Amostra / Valor de Cut-Off	1,347 / 0,919 = 1,465

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

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

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

Observação: Devido à alta sensibilidade do produto, é possível que ocorra a detecção de anticorpos IgM residuais (Vide Limitações do Processo). Em caso de resultados com índice entre 1,0 e 1,5, pode-se suspeitar de anticorpos IgM residuais, e, portanto, é recomendado a realização do teste de avidez de IgG. Em caso de resultados com índice entre 0,9 e 1,0, recomenda-se repetir o exame por outro método alternativo ou aguardar 2 semanas para nova análise.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Os anticorpos IgM ficam presentes no soro por período curto de tempo, desaparecendo até seis meses após a infecção, enquanto os anticorpos IgG permanecem presentes por longo período de tempo. Entretanto, a alta sensibilidade das novas metodologias de diagnóstico, em alguns casos, permite encontrar níveis muito baixos de anticorpos IgM, denominados IgM residuais, por um maior período de tempo. A detecção destes anticorpos IgM residuais dificulta a interpretação clínica sobre o período de infecção. Nestes casos, para confirmação do resultado, é recomendado a realização de teste de avidez de IgG. A interpretação de um teste diagnóstico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação, antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo da doença.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,990	1,862	0,905
Desvio padrão	0,069	0,148	0,043
Coefficiente de variação (%)	6,943	7,965	4,747

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,967	1,817	0,882
Desvio padrão	0,068	0,146	0,042
Coefficiente de variação (%)	7,008	8,052	4,807

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA Toxoplasmose IgM analisou amostras clínicas em comparação com outro kit de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA Toxoplasmose IgM é > 99,9%, e a especificidade clínica é de 97%.

BIOLISA Toxoplasmose IgM x EIA Referência				
MÉTODO		EIA REFERÊNCIA		TOTAL
		Positivo	Negativo	
BIOLISA TOXOPLASMOSE IgM	Positivo	19	4	23
	Negativo	0	130	130
Resultado Total		19	134	153

Sensibilidade Clínica: >99,9% (19/19)
Especificidade Clínica: 97% (130/134)
Concordância Global: 97,4%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Toxoplasma gondii é o agente causador da toxoplasmose. É um protozoário intracelular obrigatório que tem sido encontrado em muitas espécies de aves, répteis e mamíferos. O agente pode ser transmitido através de transplante de órgãos, transfusão de sangue e de leucócitos, contato com fezes de gatos contaminados e ingestão de carnes cruas contaminadas. Nos adultos, a infecção é geralmente benigna ou assintomática. No entanto, os casos sintomáticos, incluindo casos fatais ocorrem em pacientes imunossuprimidos que tem evidência clínica ou laboratorial de danos ao sistema nervoso central. Após a infecção, os anticorpos IgM aparecem em 5 dias e apresentam níveis reduzidos dentro de algumas semanas ou meses. Os anticorpos IgG aparecem geralmente de 1 - 2 semanas após a infecção, alcançando níveis de pico em 6 - 10 semanas persistindo para toda a vida. Nas crianças, o risco de infecção fetal varia de acordo com o tempo de gravidez, quando a mãe é infectada. Em infecções maternas que ocorrem durante o primeiro trimestre, a probabilidade da infecção passar para o feto é menor. No entanto, se a transmissão ocorre, desfechos graves, como aborto espontâneo e hidrocefalia, são mais prováveis. Infecções adquiridas mais tarde na gravidez, onde as transmissões fetais ocorrem com mais frequência, tendem ser menos graves, mas mesmo assim podem gerar manifestações congênicas, incluindo calcificações cerebrais e aprendizagem deficiente.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1 – 96 testes

Apresentação 2 – 192 testes

Apresentação 3 – 480 testes

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Feldman, HA. Toxoplasmosis: An Overview. Acad. Med. (1974) 50:110-127.
2. Remington, JS. Toxoplasmosis in the Adult. Acad. Med. (1974) 50:211-227.
3. McLeod, R, and Remington JS. In Harrison.s Principles of Internal Medicine. (1980) 879-885.
4. Frenkel, JK. Toxoplasma in and Around Us. Bioscience. (1973) 23:343-352.
5. Feldman, HA. Epidemiology of Toxoplasma Infections, Epid. Rev. (1982) 4:204-213.
6. Krick, JA, and Remington, JS. Toxoplasmosis in the Adult – An Overview. N. Engl. J. Med. (1978) 298(10):550-553.
7. Bryan, RT, and Wilson, M. Toxoplasmosis. Lab Management (1988) 26:40-43.
8. 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 Toxoplasmose IgM na ANVISA: 10269360194

Revisão: Junho/2018

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

REF

NÚMERO DE CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DO LOTE

DATA DE FABRICAÇÃO

DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)

LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)

O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

IVD

PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC

REP

REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA
LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROL

CONTROLE

CONTROL +

CONTROLE POSITIVO

CONTROL -

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÁMVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

BIOLISA TOXOPLASMOSIS IgM

REF K126

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Test para determinación cualitativa de anticuerpos IgM para *Toxoplasma gondii* en suero o plasma humano por enzaiminmunoensayo en microplaca. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

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

REACTIVOS

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

PRESENTACIÓN

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

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

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

Materiales necesarios, no contenidos en los Kit:

- 1- Pipeteas capaces de dispensar volúmenes de 5, 50 y 100 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2- Repipetadores para pipetajes repetitivas de volúmenes de 100 µL y 300 µL, con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Pipetas con volúmenes regulables (200 µL a 1000 µL) para diluición de las muestras.
- 6- Tubos de ensayo o microtubos para la diluición de las muestras.
- 7- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 8- Cronómetro o reloj.
- 9- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.
- 10- Agua destilada o deionizada.
- 11- Herramientas de Control de Calidad.
- 12- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) durante un máximo de 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- **Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- 3- El sobre de aluminio conteniendo la microplaca debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar a 2-8°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 sequem durante el ensayo.
- 11- No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante almacenamiento o etapas de incubación.
- 12- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- 13- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- 14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- 15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

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

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del frasco N°3 (Solución de Lavado Concentrado) en 100mL de agua destilada o desionizada. Después de la preparación de la solución puede almacenar a 2 a 30°C hasta la fecha de validez impresa en el frasco original. Puede ser almacenada a temperatura ambiente. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA

Antes de iniciar el ensayo, colocar todos los Reactivos, Muestras, Calibrador Cut-Off y Controles para que se establecen a temperatura ambiente (15 – 30°C) mínimo por 40 minutos.

- 1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Calibrador Cut-Off, 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- Preparar una dilución de 1:41 Calibrador Cut-Off, Controles y Muestras en microtubos mediante la adición de 5 µL mais 200 µL Diluyente de Muestra. Homogeneizar.
- 4- Se distribuyen 100 µL Muestras, Controles y Calibrador Cut-Off deben diluirse en cavidades predeterminadas.
- 5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.
- 6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
- 7- Retirar el sellador de 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 cada cavidad excepto en la cavidad Blanco (Caso haya hecho la opción).
- 10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora 37°C ± 2°C.
- 12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 13- Repetir el item 8.
- 14- Adicionar 100 µL Sustrato en todas las cavidades.
- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.

- 16- Incubar durante 15 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
- 17- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 18- Adicionar 100 µL de Solución de Parada a todos los pocillos.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- Leer a 450 nm dentro de los 15 minutos (como máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

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

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

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

CÁLCULOS

CUALITATIVO

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

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Calibrador Cut-Off	0,952
	0,885
Absorbancia promedio del Calibrador Cut-Off	(0,952 + 0,885) / 2 = 0,919

Calcular el Índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut-Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,347
Valor de Cut-Off	0,919
Índice: Muestra/ Valor de Cut-Off	1,347 / 0,919 = 1,465

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

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

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

Observación: Debido a la alta sensibilidad del producto, es posible que se produzca la detección de anticuerpos IgM residuales (Véase Limitaciones del Proceso). En caso de resultados con un índice entre 1,0 y 1,5, se puede sospechar de anticuerpos IgM residuales, y por lo tanto se recomienda la realización de la prueba de avidez de IgG. En caso de resultados con un índice entre 0,9 y 1,0, se recomienda repetir el examen por otro método alternativo o esperar 2 semanas para el nuevo análisis.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Los anticuerpos IgM quedan presentes en el suero por un período corto de tiempo, desapareciendo hasta seis meses después de la infección, mientras que los anticuerpos IgG permanecen presentes durante un largo período de tiempo. Sin embargo, la alta sensibilidad de las nuevas metodologías de diagnóstico, en algunos casos, permite encontrar niveles muy bajos de anticuerpos IgM, denominados IgM residuales, por un mayor período de tiempo. La detección de estos anticuerpos IgM residuales dificulta la interpretación clínica sobre el período de infección. En estos casos, para confirmación del resultado, se recomienda la realización de prueba de avidez de IgG.

La interpretación de un test diagnóstico, no debe ser establecida con base en un sólo ensayo. Se deben incluir otros tests de confirmación, antes que una muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben ser interpretados en conjunto con otras informaciones clínicas disponibles antes del diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

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

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

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	0,990	1,862	0,905
Desvío Patrón	0,069	0,148	0,043
Coefficiente de variación (%)	6,943	7,965	4,747

REPRODUCTIBILIDAD

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

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,967	1,817	0,882
Desvío Patrón	0,068	0,146	0,042
Coefficiente de variación (%)	7,008	8,052	4,807

Sensibilidad y Especificidad Clínica

El kit BIOLISA Toxoplasmosis IgM analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA Toxoplasmosis IgM es > 99,9%, y la especificidad clínica es de 97%.

BIOLISA Toxoplasmosis IgM x EIA Referencia				
MÉTODO		EIA REFERÊNCIA		TOTAL
		Positivo	Negativo	
BIOLISA TOXOPLASMOSIS IgM	Positivo	19	4	23
	Negativo	0	130	130
Resultado Total		19	134	153

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (19/19)
Especificidad Clínica: 97% (130/134)
Concordancia Global: 97,4%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Toxoplasma gondii es el agente causador de la toxoplasmosis. Es un protozoo intracelular obligatorio que ha sido encontrado en muchas especies de aves, reptiles y mamíferos. El agente puede ser transmitido a través de trasplante de órganos, transfusión de sangre y de leucocitos, contacto con heces de gatos contaminados e ingestión de carnes crudas contaminadas. En los adultos, la infección es generalmente benigna o asintomática. Sin embargo, los casos sintomáticos, incluyendo casos fatales ocurren en pacientes inmunosuprimidos que tienen evidencia clínica o laboratorial de daños al sistema nervioso central. En los niños, el riesgo de infección fetal varía de acuerdo con el tiempo de embarazo, cuando la madre es infectada. En Infecciones maternas que ocurren durante el primer trimestre, la probabilidad de la infección pasar para el feto es menor. Sin embargo, si la transmisión ocurre, resultados graves, como aborto espontáneo e hidrocefalia, son más probables. Infecciones adquiridas más tarde en el embarazo, donde las transmisiones fetales ocurren con más frecuencia, tienden ser menos graves, pero así mismo pueden generar manifestaciones congénitas, incluyendo calcificaciones cerebrales y aprendizaje deficiente. Después de la infección, los anticuerpos IgM aparecen en 5 días y presentan niveles reducidos dentro de algunas semanas o meses. Los anticuerpos IgG aparecen generalmente de 1 - 2 semanas después de la infección, alcanzando niveles de pico en 6 - 10 semanas persistiendo para toda la vida.

NÚMERO DE PRUEBAS

Presentación 1 – 96 pruebas
Presentación 2 – 192 pruebas
Presentación 3 – 480 pruebas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Feldman, HA. *Toxoplasmosis: An Overview*. Acad. Med. (1974) 50:110-127.
- Remington, JS. *Toxoplasmosis in the Adult*. Acad. Med. (1974) 50:211-227.
- McLeod, R, and Remington JS. In Harrison.s Principles of Internal Medicine. (1980) 879-885.
- Frenkel, JK. *Toxoplasma in and Around Us*. Bioscience. (1973) 23:343-352.
- Feldman, HA. Epidemiology of Toxoplasma Infections, Epid. Rev. (1982) 4:204-213.
- Krick, JA, and Remington, JS. *Toxoplasmosis in the Adult – An Overview*. N. Engl. J. Med.(1978) 298(10):550-553.
- Bryan, RT, and Wilson, M. *Toxoplasmosis*. Lab Management (1988) 26:40-43.
- Bioclin – Datos de archivos

GARANTÍA DE CALIDAD

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



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

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

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

Número de Registro do kit BIOLISA Toxoplasmosis IgM en la ANVISA: 10269360194

Revisión: Junio/2018

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA
(último día del mês)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

BIOLISA TOXOPLASMOSIS IgM

REF K126

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Test for qualitative determination of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* in serum or human plasma by enzyme immunoassay in microplate. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic

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

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8°C.
- 2- Conjugate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Human Anti-IgM Antibody linked to Peroxidase and preservative.
- 3- Concentrated Washing Solution** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
- 4- Sample Diluent** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution and preservative.
- 5- Substrate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6- Stop Solution** - Store between 2 and 8°C. Contains: Chloridric Acid 1M.
- 7- Cut-Off Calibrator** - Store between 2 and 8°C. Contains: Diluted IgM Antibodies Anti-*Toxoplasma gondii* and preservative. **Potentially infectious.**
- 8- Negative Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Non-reactive IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* and preservative. **Potentially infectious.**
- 9- Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: IgM Antibodies Anti-*Toxoplasma gondii* and preservative. **Potentially infectious.**
- 10- 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 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
4- Sample Diluent	1 Flask x 42 mL	2 Flasks x 42 mL	5 Flasks x 42 mL
5- Substrate	1 Flask x 11 mL	2 Flasks x 11 mL	5 Flasks x 11 mL
6- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
7- Cut-Off Calibrator	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
8- Negative Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
9- Positive Control	1 Flask x 100 µL	2 Flasks x 100 µL	5 Flasks x 100 µL
10- Plate sealers	3 Units	6 Units	15 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

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

Required materials not contained in the Kit:

- 1- Pipette capable of dispensing volumes of 5, 50 and 100 µL with lower coefficient of variation than 1,5%.
- 2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 100µL and 300 µL, with lower coefficient of variation than 1,5% or multichannel pipette (Optional).
- 3- Micro plate washer (optional).
- 4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Adjustable volume pipettes (200 µL to 1000 µL) for sample dilution.
- 6- Test tubes for preparation for sample dilution.
- 7- Paper towel to dry cavities
- 8- Watch or stopwatch.
- 9- Flask to store the Washing Solution after diluted.
- 10- Distilled water.
- 11- Tools of Quality Control.
- 12- Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. The transport can be done under ambient temperature (up to 30°C) for up to 72 (seventy two) hours. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- **For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- 3- The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store at 2-8°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 Chloridric Acid, which is a strong acid. Handle it with care.

- 7- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, HIV 1 & 2 and Anti HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the biosafety of these products.
- 8- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
- 9- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
- 10- You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test.
- 11- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
- 12- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
- 13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
- 14- Do not use the product in case of damaged packaging.
- 15- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

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

DESCRIPTION OF PROCESS

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution
Dilute the contents of the Flask N°3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled water or deionized water. After preparation the solution may be stored at 2 to 30°C until expiration date printed on the original bottle. Can be stored at room temperature. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready for use.

TECHNIQUE

- Before starting the assay, bring all Reagents, Samples, Cut-Off Calibrator and Controls to stabilize at room temperature (15-30°C) for at least 40 minutes.
- 1- Select the wells to be used considering: Cut-Off Calibrator, Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the plate will not be used for the original sealed packaging.
 - 2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
 - 3- Prepare a 1:41 dilution of the Samples, Controls and Cut-Off Calibrator in microtubes, adding 5 µL more 200 µL of the Sample Diluent. Homogenize.
 - 4- Pipette 100 µL of diluted Samples and Controls and Cut-Off Calibrator into the previously determined wells.
 - 5- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
 - 6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
 - 7- Remove the sealing of wells.
 - 8- Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decanting (manual).
 - Use approximately 300 µL of Washing Solution, **previously prepared** to perform a total of five (5) washing cycles.
 - To ensure drying of the plate at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper.
 - Note:** Poor washing and drying can cause inadequate results.
 - 9- Pipette 100 µL of Conjugate into each well except in the Blank cavity (if you made this option).
 - 10- Mix gently for ± 30 seconds. Cover cavities with plate sealer.
 - 11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
 - 12- Remove the sealer from plate cavities.
 - 13- Repeat item 8.
 - 14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
 - 15- Shake gently for ± 30 seconds. Cover wells with plate sealer.

- 16- Incubate for 15 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.
- 19- Mix gently for ± 30 seconds.
- 20- Read the 450 nm within 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

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

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

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

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

ITEM	ABSORBANCE
Cut-Off Calibrator	0,952
	0,885
Average Absorbance from Cut-Off Calibrator	(0,952 + 0,885) / 2 = 0,919

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,347
Cut-Off Value	0,919
Index: Sample / Cut-Off Value	1,347 / 0,919 = 1,465

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

INTERPRETATION OF RESULTS

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative	≤ 0,9
Undetermined*	Between 0,9 and 1,5
Positive	≥ 1,5

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

Observación: Due to the high sensitivity of the product, detection of residual IgM antibodies may occur (See Procedure Limitations). In the case of results with an index between 1,0 and 1,5, residual IgM antibodies may be suspected, and therefore the IgG avidity test is recommended. In case of results with index between 0,9 and 1,0, it is recommended to repeat the examination by another alternative method or to wait 2 weeks for a new analysis.

PROCEDURE LIMITATIONS

IgM antibodies are present in the serum for a short period of time, disappearing up to six months after infection, while IgG antibodies remain present for a long period of time. However, the high sensitivity of the new diagnostic methodologies, in some cases, allows to find very low levels of IgM antibodies, called residual IgM, for a longer period of time. Detection of these residual IgM antibodies hinders clinical interpretation over the period of infection. In these cases, to confirm the result, an IgG avidity test is recommended.

The interpretation of a diagnostic test, should not be based on a single run. This should include confirmation of other tests before that a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results should be interpreted in conjunction with other clinical information available before the descriptive diagnosis of the disease.

INTERNAL QUALITY CONTROL

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

PRUDUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

Accuracy

REPEATABILITY

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

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,990	1,862	0,905
Standard Deviation	0,069	0,148	0,043
Coefficient of Variation (%)	6,943	7,965	4,747

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	0,967	1,817	0,882
Standard Deviation	0,068	0,146	0,042
Coefficient of Variation (%)	7,008	8,052	4,807

Clinical sensitivity and specificity

BIOLISA Toxoplasmosis IgM kit analyzed clinical samples in comparison with other kit of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA Toxoplasmosis IgM kit is > 99,9% and clinical specificity is 97%.

BIOLISA Toxoplasmosis IgM X Reference EIA				
METHOD		REFERENCE EIA		TOTAL
		Positive	Negative	
BIOLISA TOXOPLASMOSIS IgM	Positive	19	4	23
	Negative	0	130	130
Total Results		19	134	153

Clinical Sensitivity: > 99,9% (19/19)
Clinical Specificity: 97% (130/134)
Overall Agreement: 97,4%

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Toxoplasma gondii is the causative agent of toxoplasmosis. It is an obligate intracellular protozoan that has been found in many species of birds, reptiles and mammals. The agent can be transmitted through organ transplants, blood transfusions and leukocyte, contact with cat feces contaminated and ingestion of contaminated raw meats. In adults, the infection is usually benign or asymptomatic. However, symptomatic cases, including fatal cases occur in patients immunosuppressed patients who have clinical or laboratory evidence of central nervous system damage. In children, the risk of fetal infection varies according to the time of pregnancy when the mother is infected. In maternal infections that occur during the first quarter, the probability of infection through to the fetus is smaller. However, if transmission occurs, severe outcomes such as miscarriage and hydrocephalus are more likely. Infections acquired later in pregnancy, where the transmissions fetal occur most frequently tend to be less severe, but even they can generate congenital manifestations, including brain calcification and impaired learning. After infection, IgM antibodies appear 5 days and had reduced levels within a few weeks or months. IgG antibodies usually appear 1 - 2 weeks after infection, reaching levels peak at 6 - 10 weeks persisting for life.

NUMBER OF TESTS

Presentation 1 - 96 tests

Presentation 2 - 192 tests

Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Feldman, HA. Toxoplasmosis: An Overview. Acad. Med. (1974) 50:110-127.
2. Remington, JS. Toxoplasmosis in the Adult. Acad. Med. (1974) 50:211-227.
3. McLeod, R, and Remington JS. In Harrison.s Principles of Internal Medicine. (1980) 879-885.
4. Frenkel, JK. Toxoplasma in and Around Us. Bioscience. (1973) 23:343-352.
5. Feldman, HA. Epidemiology of Toxoplasma Infections, Epid. Rev. (1982) 4:204-213.
6. Krick, JA, and Remington, JS. Toxoplasmosis in the Adult – An Overview. N. Engl. J. Med. (1978) 298(10):550-553.
7. Bryan, RT, and Wilson, M. Toxoplasmosis. Lab Management (1988) 26:40-43.
8. 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 Toxoplasmosis IgM kit: 10269360194

Review: June/2018

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



BATCH CODE



DATE OF MANUFACTURE



USED BY
(last day of month)



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



MANUFACTURED BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



INFLAMMABLE



CORROSIVE



POISON



CE MARK



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED