

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG contra o vírus da Anemia Infecciosa Equina no soro ou plasma (EDTA ou Heparina) de equínos, por ensaio imunoenzimático, em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou ensaio imunoenzimático.

O VETLISA AIE IgG é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de imunocaptura para a detecção qualitativa de anticorpos IgG contra o vírus da Anemia Infecciosa (VAIE) em soro ou plasma (EDTA ou Heparina) de equínos.

Anticorpos contra o vírus da Anemia Infecciosa Equina presentes na amostra, se ligam ao antígeno recombinante purificado que reveste a microplaca, formando o complexo imobilizado: antígeno anticorpos anti-VAIE. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. O Conjugado anticorpo-enzima se liga ao complexo imobilizado antígeno anticorpos anti-VAIE presente na placa.

Após a segunda incubação, a microplaca é lavada e o Substrato é adicionado e incubado. A intensidade da cor azul produzida pela adição do Substrato é proporcional a quantidade de anticorpos contra o vírus da Anemia Infecciosa Equina presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para finalizar a reação havendo uma mudança de cor para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

COMPONENTES DO KIT

- 1- Placa Sensibilizada - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Microplaca revestida com antígeno recombinante purificado do vírus da Anemia Infecciosa Equina (VAIE).
- 2- Conjugado Concentrado - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Anticorpo anti-IgG de equino ligado a Peroxidase.
- 3- Lavagem Concentrada - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Solução tampão e conservante.
- 4- Diluente - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Solução tampão e conservante.
- 5- Substrato TMB - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Tampão contendo Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6- Solução de Parada - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Ácido Clorídrico.
- 7- Controle Negativo - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Anticorpos IgG não reativos para o vírus AIE e conservante. **Potencialmente infeccioso.**

- 8- Controle Positivo - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém:** Anticorpos IgG anti-VAIE e conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 9- Seladores de Placa**

APRESENTAÇÃO

Componentes	Apresentação		
	1	2	3
	96 cavidades	192 cavidades	480 cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 unidade (96 cavidades)	2 unidades (2 x 96 cavidades)	5 unidades (5 x 96 cavidades)
2- Conjugado Concentrado	1 x 300 µL	2 x 300 µL	5 x 300 µL
3- Lavagem Concentrada	1 x 20mL	2 x 20mL	5 x 20mL
4- Diluente	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
5- Substrato TMB	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
6- Solução de Parada	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
7-Controle Negativo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
8- Controle Positivo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
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 entre 5 e 1000µL, com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2-** Repipetador ou pipeta multicanal calibrada para volume de 100 µL e 300 µL, com coeficiente de variação menor que 1,5% (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, depois de diluída.
- 8-** Água destilada ou deionizada.
- 9-** Ferramentas de Controle de Qualidade.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A faixa de temperatura para armazenamento do produto é de 2 a 8°C. O transporte pode ser feito em temperatura ambiente (até 30°C) por até 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1-** Produto para diagnóstico *in vitro*, somente para uso veterinário.

- 2-** Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3-** O profissional deve seguir com rigor as normas e rotinas de segurança ao manipular amostras biológicas. O uso de luvas descartáveis e outros equipamentos de proteção individual é imprescindível.
- 4- IMPORTANTE:** Antes de iniciar o ensaio, permita que todos os componentes do kit alcancem a temperatura ambiente. Abrir o envelope contendo as microcavidades somente após alcançar a temperatura ambiente.
- 5-** Não misture reagentes de kits ou lotes diferentes. Não utilize componentes do kit vencidos.
- 6-** Não coma, beba ou fume no local de realização do ensaio.
- 7-** Não pipete reagentes ou amostra (s) utilizando a boca. Não utilize a mesma ponteira para pipetar diferentes amostras.
- 8-** Os controles Positivo e Negativo devem ser retestados para cada novo ensaio realizado.
- 9-** A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico, que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com o devido cuidado.
- 10-** Manusear os componentes do kit com o devido cuidado, a fim de evitar sua contaminação. Tome cuidado especial com o substrato, que é uma solução sensível a luz. Utilize ponteiras e recipientes novos ou adequadamente limpos para seu manuseio e não permita sua exposição a luz forte durante sua estocagem ou nos períodos de incubação do ensaio.
- 11-** Utilizar água recém destilada ou deionizada e isenta de contaminantes no preparo de soluções.
- 12-** Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
- 13-** Antes de realizar a leitura da placa, assegurar que o fundo das microcavidades estejam limpos e secos. Garantir que não haja bolhas na superfície do líquido.
- 14-** 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.
- 15-** 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.
- 16-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 17-** Os instrumentos e equipamentos utilizados no ensaio devem estar devidamente calibrados e com as manutenções periódicas em dia.

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

ATENÇÃO: Os Controles Positivo e Negativo são pontos para o uso.

PREPARO DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO E AMOSTRAS

1- Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo da Lavagem Concentrada (Reagente N°3) em 1000 mL de água recentemente destilada ou deionizada. Conservar entre 2 e 8°C até a data de validade impressa no frasco. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

2- Diluição do Conjugado

Diluir o Conjugado Concentrado (Reagente N° 2) na proporção de 1/50 em Diluente (Reagente N°4). Prepare a solução no momento de realizar o ensaio. Para realizar um ensaio utilizando todas as cavidades do kit, misture 220 µL do Conjugado Concentrado em 10,8 mL de Diluente. Para realizar um ensaio utilizando 8 cavidades (1 tira), misture 20 µL do Conjugado Concentrado em 980 µL de Diluente.

IMPORTANTE: A solução de conjugado diluída não pode ser estocada. Por isso, prepare apenas a quantidade necessária para realizar o ensaio.

3- Diluição das Amostras

Em um tubo de ensaio, diluir 10 µL da amostra em 490µL de Diluente. Tampar o tubo e agitar em vórtex gentilmente ou homogeneizar manualmente por inversão. As diluições não podem ser armazenadas.

TÉCNICA

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os Reagentes, Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 30 minutos. Retornar as tiras não utilizadas para a embalagem original selada.

- 1-** Separar as microcavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (podendo ser testados em duplicata).
- 2-** Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- 3-** Pipetar 100 µL do Controle Negativo e do Controle Positivo nas microcavidades previamente determinadas.

Obs: Os controles estão prontos para o uso, não sendo necessário diluí-los.

4- Pipetar 100 µL das amostras previamente diluídas nas microcavidades determinadas. Na cavidade Branco, caso tenha feito a opção, pipetar somente 100µL do diluente.

5- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as microcavidades com selador de placa.

6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos a temperatura ambiente.

7- Descartar o conteúdo das microcavidades por aspiração (lavadora) ou por decantação (manual); Usar 300µL/microcavidade aproximadamente de Solução de Lavagem previamente diluída*, para um total de três (3) ciclos de lavagem. Agitar por três segundos em cada lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.

IMPORTANTE: Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.

8- Pipetar 100 µL de Conjugado previamente diluído em cada microcavidade, inclusive na cavidade do Branco.

9- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placa.

10- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em temperatura ambiente.

11- Repetir o item 7.

12- Adicionar 100 µL da solução de Substrato TMB, em todas as microcavidades.

13- Homogeneizar gentilmente durante ± 3 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placa.

14- Incubar por 10 minutos ± 1 minuto, a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

15- Retirar o selador de placas das microcavidades.

16- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em cada microcavidade.

17- Homogeneizar gentilmente durante ± 3 segundos.

18- Leia a absorbância em leitora de ELISA em filtro duplo de 450nm (filtro primário) / 630nm (filtro secundário) em até no máximo 10 minutos após adição da Solução de Parada.

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBÂNCIA MÉDIA (FILTRO DUPLO)
Branco	< 0,150
Controle Negativo	> 0,100 e < 0,350
Controle Positivo	> 1,000

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

CÁLCULO DO CUT OFF

Se os resultados dos controles forem válidos, calcule o Cut Off com a seguinte fórmula:

Cut Off = Absorbância média do Controle Negativo + 0,300

CÁLCULO DO ÍNDICE DAS AMOSTRAS

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

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	1,1
Controle Negativo	0,210
Valor de Cut Off	0,210 + 0,300 = 0,510
Índice: Amostra / Valor de Cut Off	1,1 / 0,510 = 2,156

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO - QUALITATIVO

ITEM	QUALITATIVO ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Indeterminado	$\geq 0,9$ e $\leq 1,1$
Positivo	> 1,1

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnóstico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação, antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Enfim, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas e laboratoriais disponíveis.

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 medições.

DESEMPENHO DO PRODUTO CONTROLE DE QUALIDADE

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Este produto foi testado em comparação com outros métodos de enzimaímunoensaio. Foram analisadas um total de 92 amostras, sendo 46 amostras diagnosticadas como positivas e 46 diagnosticadas como negativas. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do produto é 91,3% e a especificidade clínica é de 95,6%.

MÉTODO		REFERÊNCIA		TOTAL
VELTISA AIE IgG	Resultado	Positivo	Negativo	
	Positivo	42	2	44
	Negativo	4	44	48
RESULTADO TOTAL		46	46	92

Sensibilidade Clínica: 91,3% (42/46)

Especificidade Clínica: 95,6% (44/46)

Precisão: 93,4% [(42 + 44) / (46 + 46)]

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes. Foram obtidos os seguintes resultados:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	1,009	1,373	0,053
Desvio Padrão	0,061	0,082	0,006
Coefficiente de Variação (%)	6,08	6,00	11,14

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes. Foram obtidos os seguintes resultados:

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	1,019	1,364	0,051
Desvio Padrão	0,056	0,069	0,006
Coefficiente de Variação (%)	5,49	5,06	10,98

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1- QUIBASA: Dados de Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes produzidos pela Quibasa Química Básica Ltda são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca

CEP 31.565 -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

Produto licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento desde 11/11/2019 sob o número 10.280/2019

Responsável Técnico: Dr. Hugo Vieira Fróes (CRMV/MG 8963)

Revisão: Outubro/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 DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	REPRESENTANTE EUROPEU AUTORIZADO		MARCA CE
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG contra el Virus de la Anemia Infecciosa Equina en suero o plasma equino, por ensayo inmunoenzimatico, en microplaca.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimmunoen ensayo o ensayo inmunoenzimatico

El VETLISA AIE IgG es un ensayo inmunoenzimatico en fase sólida, basado en el principio de inmunocaptura para la detección cualitativa de anticuerpos IgG contra el Virus de la Anemia Infecciosa Equina (VAIE) en suero o plasma de equinos.

Los anticuerpos contra el Virus de la Anemia Infecciosa Equina presentes en la muestra, se unen al antígeno recombinante purificado que recubre la microplaca, formando el complejo inmovilizados: antígeno – anticuerpos anti-VAIE. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. El Conjugado anticuerpo-enzima se une al complejo inmovilizado antígeno – anticuerpos anti-VAIE en la placa.

Después de la segunda incubación, la microplaca se lava y el Sustrato se agrega y se incuba. La intensidad del color azul producido por la adición del Sustrato es proporcional a la cantidad de anticuerpos contra el Virus de la Anemia Infecciosa Equina presentes en las muestras. La Solución de Parada se agrega para finalizar la reacción, promoviendo un cambio de color a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

1- Placa Sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Microplaca recubierta con antígeno recombinante purificado del virus de la Anemia Infecciosa Equina (VAIE).

2- Conjugado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpo anti-IgG de equino ligado a Peroxidasa.

3- Lavado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución tamponada y conservante.

4- Diluyente - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución tamponada y conservante.

5- Sustrato TMB - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución que contiene tetrametilbenzidina (TMB) y conservante.

6- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorhídrico.

7- Control Negativo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgG no reactivos para el virus AIE y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

8- Control Positivo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos anti-VAIE y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

9- Selladores de Placa

PRESENTACIONES

Componentes	Presentación		
	1	2	3
	96 pocillos	192 pocillos	480 pocillos
1- Placa Sensibilizada	1 unidad (96 pocillos)	2 unidades (2 x 96 pocillos)	5 unidades (5 x 96 pocillos)
2- Conjugado Concentrado	1 x 300 µL	2 x 300 µL	5 x 300 µL
3- Lavado Concentrado	1 x 20mL	2 x 20mL	5 x 20mL
4- Diluyente	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
5- Sustrato TMB	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
6- Solución de Parada	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
7- Control Negativo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
8- Control Positivo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
9- Selladores de Placa	3 unidades	6 unidades	15 unidades

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

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

Materiales necesarios, no contenidos en el kit:

- 1- Conjunto de pipetas calibradas, capaces de dispensar volúmenes entre 5 y 1000 µL, con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
- 2- Pipeta repetidora o multicanal calibrada a 100 µL y 300 µL de volumen, con un coeficiente de variación inferior al 1,5% (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbencia em 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 desionizada.
- 9- Herramientas de Control de Calidad.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento do producto deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) por até 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- **Producto para el uso diagnóstico *in vitro*, solamente para uso veterinario.**
- 2- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados exactos.

3- El profesional debe seguir estrictamente las normas y rutinas de seguridad al manipular muestras biológicas. El uso de guantes desechables y otros equipos de protección personal es esencial.

4- IMPORTANTE: Antes de comenzar la prueba, permita que todos los componentes del kit alcancen la temperatura ambiente. Abra el sobre que contiene los pocillos solo después de alcanzar la temperatura ambiente.

5- No mezcle reactivos de diferentes kits o lotes. No utilice componentes del kit caducados.

6- No coma, beba ni fume en el sitio de prueba.

7- No pipetee reactivos ni muestras con la boca. No use la misma punta para pipetear diferentes muestras.

8- Los controles positivo y negativo se deben volver a probar para cada nueva prueba realizada.

9- La Solución de Parada contiene Ácido Clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manipúlelo con el debido cuidado.

10- Manipule los componentes del kit con el debido cuidado para evitar la contaminación. Tenga especial cuidado con el sustrato, que es una solución sensible a la luz. Utilice puntas y recipientes nuevos o adecuadamente limpios para su manipulación y no permita que estén expuestos a luz intensa durante el almacenamiento o durante los períodos de incubación del ensayo.

11- Use agua recién destilada o desionizada que esté libre de contaminantes al preparar soluciones.

12- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.

13- Antes de leer la placa, asegurar que el fondo de las microcavidades están limpias y secas. Asegúrese de que no haya burbujas en la superficie del líquido.

14- 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.

15- 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.

16- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

17- 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 muy 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).

DESCRICIÓN DEL PROCESO

ATENCIÓN: Los Controles Positivo y Negativo están listos para usar.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO Y MUESTRAS

1- Solución de Lavado

Diluir el contenido del Lavado Concentrado (Reactivo Nº 3) en 1000 mL de agua recién destilada o desionizada. Almacenar a 2 a 8°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.

2- Dilución del Conjugado

Diluya el Conjugado Concentrado (Reactivo Nº 2) en la proporción de 1/50 en Diluyente (Reactivo Nº 4). Prepare la solución al realizar la prueba.

Para realizar un ensayo utilizando todos los pocillos del kit, mezcle 220 µL de Conjugado Concentrado en 10,8 mL de Diluyente.

Para realizar un ensayo utilizando 8 pocillos (1 tira), mezcle 20 µL del Conjugado Concentrado en 980 µL de Diluyente.

IMPORTANTE: La solución de conjugado diluido no se puede almacenar. Por lo tanto, prepare solo la cantidad necesaria para realizar la prueba.

3- Dilución de Muestras

En un tubo de ensayo, diluya 10 µL de la muestra en 490 µL de Diluyente. Tape el tubo y agite suavemente en vórtex o mezcle manualmente por inversión. Las diluciones no se pueden almacenar.

TÉCNICA

Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 30 minutos. Devuelva las tiras no utilizadas al embalaje original sellado.

1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (puede probar en duplicado).

2- Separar lo primero pocillo para el Blanco (OPCIONAL).

3- Pipetear 100 µL del Control Negativo e del Control Positivo en los pocillos previamente determinados.

Nota: Los controles estás listos para usar, no hay necesidad de diluirlos.

4- Pipetear 100 µL de las muestras previamente diluidas en los pocillos previamente determinados. En la cavidad Blanco (OPCIONAL), si ha elegido, pipetear solo 100 µL del diluyente.

- 5- Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubrir las cavidades con sellador de placas.
- 6- Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- 7- Descartar el contenido de las cavidades por aspiración (lavadora) o por decantación (manual). Utilizar 300µL/ pocillo aproximadamente de Solución de Lavado previamente diluida, para un total de tres (3) ciclos de lavado. Agite durante tres segundos con cada lavado. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, golpear la placa por unos segundos en papel absorbente.
- IMPORTANTE:** Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
- 8- Pipetear 100 µL de Conjugado previamente diluido en cada pocillo, incluso en la cavidad del Blanco.
- 9- Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 10- Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- 11- Repetir el ítem 7.
- 12- Agregar 100 µL de Sustrato TMB a cada pocillo.
- 13- Homogeneizar suavemente durante ± 3 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
- 14- Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz.
- 15- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
- 16- Pipetear 100 µL de Solución de Parada en todas las cavidades.
- 17- Homogeneizar suavemente durante ± 3 segundos.
- 18- Lea la absorbancia en un lector de ELISA en un filtro doble de 450 nm (filtro primario) / 630 nm (filtro secundario) dentro de un máximo de 10 minutos después de agregar la Solución de Parada.

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique se los resultados obtenidos para lectura del Blanco e de los Controles y el Blanco sean compatibles con los valores presentes abajo:

ITEM	ABSORBANCIA (FILTRO DOBLE)
Blanco	< 0,150
Control Negativo	> 0,100 e < 0,350
Control Positivo	> 1,000

Si los valores están fuera de los valores esperados, la prueba debe repetirse.

CALCULO DO CUT OFF

Si los resultados de los controles son válidos, calcule el valor de corte con la siguiente fórmula:

Cut Off = Absorbancia promedio del Control Negativo + 0,300

CALCULO DEL ÍNDICE DE LAS MUESTRAS

Calcule el indice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de corte. Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,1
Control Negativo	0,210
Valor de Cut Off	0,210 + 0,300 = 0,510
Índice: Abs. de la Muestra / Valor de Cut Off	1,1 / 0,510 = 2,156

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO – CUALITATIVO

RESULTADOS	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	≥ 0,9 e ≤ 1,1
Indeterminado	> 1,1

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en un solo ensayo. Se deben incluir otras pruebas confirmatorias antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. De todos modos, todos los resultados deben interpretarse junto con el historial de vacunación, la información clínica y de laboratorio disponible.

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 presenten una variabilidad analítica característica, que debe ser controlada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten evaluar la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Esto producto fue probado en comparación con otros métodos de inmunoensayo enzimático. Fueran analizadas un total de 92 muestras, siendo 46 muestras diagnosticadas como positivas y 46 diagnosticadas como negativas. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del producto es 91,3% y la especificidad clínica es del 95,6%.

MÉTODO		REFERENCIA		TOTAL
VELTISA AIE IgG	Resultado	Positivo	Negativo	
	Positivo	42	2	44
	Negative	4	44	48
RESULTADO TOTAL		46	46	92

Sensibilidad clínica: 91,3% (42/46)
Especificidad clínica: 95,6% (44/46)
Precisión: 93,4% [(42+44) / (46+46)]

Precisión

REPETIBILIDAD

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

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Media	1,009	1,373	0,053
Desviación estándar	0,061	0,082	0,006
Coefficiente de Variación (%)	6,08	6,00	11,14

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:

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Media	1,019	1,364	0,051
Desviación estándar	0,056	0,069	0,006
Coefficiente de Variación (%)	5,49	5,06	10,98

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- QUIBASA: Datos del Departamento de Investigación y Desarrollo.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos de Quibasa 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, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rúa 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 - Industria Brasileira

ATENDIMIENTO CONSUMIDOR

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

Producto con licencia en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento desde el 11/11/2019 con el número 10.280/2019.

Responsable técnico: Dr. Hugo Vieira Fróes (CRMV/ MG 8963)

Revisión: Octubre/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

AIE IgG VET FAST

REF VET037

USE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Test for the qualitative determination of IgG antibodies against Equine Infectious Anemia Virus in equine serum or plasma, by immunoenzymatic assay, in microplate.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic assay based on the immunocapture principle for the qualitative detection of IgG antibodies against Equine Infectious Anemia Virus (EIAV) in equine serum or plasma. Antibodies against Equine Infectious Anemia Virus present in the sample bind to the purified recombinant antigen that covers the microplate, forming the immobilized complex: antigen - anti-EIAV antibodies. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. The Antibody-Enzyme Conjugate binds to the immobilized antigen – anti-EIAV antibody complex on the plate.

After the second incubation, the microplate is washed and the Substrate is added and incubated. The intensity of the blue color produced by the addition of the Substrate is proportional to the amount of antibodies against the Equine Infectious Anemia Virus present in the samples. The Stop Solution is added to stop the reaction, promoting a color change to yellow, measured in a microplate reader.

REAGENTS

1- Sensitized Plate - Store between 2 and 8°C. Contains: Microplate coated with Equine Infectious Anemia virus (EIAV) purified recombinant antigen.

2- Concentrated Conjugate - Store between 2 and 8°C. Contains: Peroxidase-linked anti-equine IgG antibody.

3- Concentrated Wash - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffered solution and preservative.

4- Diluent - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffered solution and preservative.

5- TMB Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: Solution containing tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.

6- Stop Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Hydrochloric Acid.

7- Negative Control - Store between 2 and 8°C. Contains: IgG antibodies not reactive for AIE virus and preservative. **Potentially infectious.**

8- Positive Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Anti-VAIE Antibodies and preservative. **Potentially infectious.**

9- Plate Sealers

PRESENTATIONS

Components	Presentation		
	1	2	3
	96 wells	192 wells	480 wells
1- Sensitized Plate	1 unit (96 wells)	2 units (2 x 96 wells)	5 units (5 x 96 wells)
2- Concentrated Conjugate	1 x 300 µL	2 x 300 µL	5 x 300 µL
3- Concentrated Wash Solution	1 x 20mL	2 x 20mL	5 x 20mL
4- Diluent	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
5- Substrate TMB	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
6- Stop Solution	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
7- Negative Control	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
8- Positive Control	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
9- Plate Sealers	3 units	6 units	15 units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials contained in the kit:

- Reagents described in the previous table.

- Instructions for use (manual).

Materials needed, but not contained in the kit:

1- Set of calibrated pipettes, capable of dispensing volumes between 5 and 1000 µL, with a coefficient of variation of less than 1.5%.

2- Repeater or multichannel pipette calibrated at 100 µL and 300 µL volume, with a coefficient of variation of less than 1.5% (optional).

3- Microplate washing machine (optional).

4- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.

5- Absorbent paper to dry the microcavities.

6- Stopwatch or clock.

7- Bottle to store the Washing Solution, after dilution.

8- Distilled or deionized water.

9- Quality Control Tools

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The product storage temperature should be 2 to 8 °C. Transport can be carried out at room temperature (30°C) for up to 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- Product for *in vitro* diagnosis, for veterinary use only.

2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.

3- The professional must strictly follow safety rules and routines when handling biological samples. The use of disposable gloves and other personal protective equipment is essential.

4- IMPORTANT: Before starting the test, allow all kit components to reach room temperature. Open the envelope containing the wells only after reaching room temperature.

5- Do not mix reagents from different kits or lots. Do not use expired kit components.

6- Do not eat, drink, or smoke at the test site.

7- Do not pipette reagents or samples by mouth. Do not use the same tip to pipette different samples.

8- Positive and negative controls should be retested for each new test performed.

9- The Stop Solution contains Sulfuric Acid, which is a strong acid. Therefore, handle it with care.

10- Handle the kit components with care to avoid contamination. Take special care with the substrate, which is a light sensitive solution. Use new or appropriately clean tips and containers for handling and do not allow them to be exposed to strong light during storage or during the incubation periods of the assay.

11- Use contaminant-free freshly distilled or deionized water when preparing solutions.

12- Always add the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microcavities.

13- Before reading the plate, ensure that the bottom of the microcavities are clean and dry. Make sure there are no bubbles on the surface of the liquid.

14- 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.

15- 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.

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

17- It is essential that the instruments and equipment 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 cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C (freezer).

VETERINARY USE

PROCESS DESCRIPTION

ATTENTION: The Positive and Negative Controls are ready to use.

PREPARATION OF WORK REAGENTS AND SAMPLES

1- Washing Solution

Dilute the content of the Concentrated Wash Solution (Reagent N° 3) in 1000 mL of freshly distilled or deionized water. Store at 2 to 8°C until the validity date printed on the original bottle. It can be stored at room temperature. If crystallization occurs, heat to 37°C until dissolution.

2- Conjugate Dilution

Dilute the Concentrated Conjugate (Reagent N° 2) in the ratio of 1/50 in Diluent (Reagent N° 4). Prepare the solution at the moment of performing the test.

To perform an assay using all wells in the kit, mix 220 µL of Concentrated Conjugate in 10,8 mL of Diluent.

To perform an assay using 8 wells (1 strip), mix 20 µL of the Concentrated Conjugate in 980 µL of Diluent.

IMPORTANT: The diluted conjugate solution cannot be stored. Therefore, prepare only the amount necessary to perform the test.

3- Sample Dilution

In a test tube, dilute 10 µl of the sample in 490 µl of diluent. Cap the tube and gently vortex or manually mix by inversion. Dilutions cannot be stored.

TECHNIQUE

Before starting the assay, place all reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 - 30°C) for at least 30 minutes. Return the unused strips to the original sealed packaging.

1- Separate the wells to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate).

2- Separate the first well for the Blank (OPTIONAL).

3- Pipette 100 µL of the Negative Control and the Positive Control into the previously determined wells. **Note: The controls are ready to use, there is no need to dilute them.**

4- Pipette 100 µL of the previously diluted samples into the previously determined wells. In the Blank cavity (OPTIONAL), if you have chosen, pipette only 100 µL of the diluent.

5- Homogenize gently for ± 10 seconds. Cover the cavities with plate sealer.

6- Incubate for 30 minutes at room temperature.

7- Discard the content of the cavities by aspiration (washing machine) or by decantation (manual). Use approximately 300µL/well of previously diluted Wash Solution, for a total of three (3) wash cycles. Shake for three seconds after each wash cycle. To guarantee the drying of the plate, at the end of the wash, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.

Note: Poor washing/drying can cause inadequate results.

8- Pipette 100 µL of the Conjugate previously diluted into each well, even in the Blank cavity.

9- Homogenize gently for ± 10 seconds. Cover the cavities with plate sealer.

10- Incubate for 30 minutes at room temperature.

11- Repeat item 7.

12- Add 100 µL of Substrate TMB into each well.

13- Homogenize gently for ± 3 seconds. Cover the cavities with plate sealer.

14- Incubate for 10 minutes at room temperature, protected from light.

15- Remove the plate sealer from the cavities.

16- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.

17- Homogenize gently for ± 3 seconds.

18- Read the absorbance in an ELISA reader on a dual filter 450 nm (primary filter) / 630nm (secondary filter) within a maximum of 10 minutes after adding the Stop Solution.

TECHNIQUE VERIFICATION

Verify if the results obtained from reading the Blank and the Controls are compatible with the values presented above:

ITEM	ABSORBANCE (DUAL FILTER)
Blank	< 0,150
Negative Control	> 0,100 e < 0,350
Positive Control	> 1,000

If the values are out the expected ones, the test should be repeated.

CUT OFF CALCULATION

If the results of the controls are valid, calculate the cut off value with the following formula:

Cut Off = Negative Control Average Absorbance + 0,300

CALCULATION OF THE SAMPLE INDEX

Calculate the index by dividing the absorbance of the sample by the cut off value. Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,1
Negative Control	0,210
Cut Off Value	$0,210 + 0,300 = 0,510$
Index: Sample Abs. / Cut Off Value	$1,1 / 0,510 = 2,156$

INTERPRETATION OF THE RESULT - QUALITATIVE

RESULTS	INDEX
Negative	< 0,9
Positive	$\geq 0,9$ e $\leq 1,1$
Undetermined	> 1,1

PRODUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

This product was tested comparing to other enzyme immunoassay methods. A total of 92 samples were analyzed, with 46 samples diagnosed as positive and 46 diagnosed as negative. The results show that the clinical sensitivity of the product is 91,3% and the clinical specificity is 95,6%.

VETLISA AIE IgG	METHOD	REFERENCE		TOTAL
	Result	Positive	Negative	
	Positive	42	2	
	Negative	4	44	
TOTAL RESULT		46	46	92

Clinical sensitivity: 91,3% (42/46)

Clinical specificity: 95,6% (44/46)

Precision: 93,4% [(42+44) / (46+46)]

Precision

REPEATABILITY

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

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Mean	1,009	1,373	0,053
Standard Deviation	0,061	0,082	0,006
Coefficient of Variation (%)	6,08	6,00	11,14

REPRODUCIBILITY

Reproducibility was calculated from 10 successive determinations over 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following results:

REPRODUCIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Mean	1,019	1,364	0,051
Standard Deviation	0,056	0,069	0,006
Coefficient of Variation (%)	5,49	5,06	10,98

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test should not be based on a single trial. Other confirmatory tests must be included before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. However, all results should be interpreted in conjunction with vaccination history, available clinical and laboratory information.

INTERNAL QUALIT 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 an 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.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1- QUIBASA: Data from the Research and Development Department.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all Quibasa reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured until the validity date mentioned on the packaged, as long as they are stored and transported under the appropriate conditions.



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 - Industria Brasileira

CONSUMER SERVICE

Customer Support Service

Tel.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Product licensed in the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply since 11/11/2019 with the number 10.280/2019.

Technical manager: Dr. Hugo Vieira Fróes (CRMV/MG 8963)

Review: October/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