

CMV IgG Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: 4040

ANVISA 10009010498

REF 4040-50, 50 testes/kit

REF 4040-100, 100 testes/kit

Uso pretendido . Detecção quantitativa de anticorpos IgG contra o *Herpes Virus HHV-5* (Citomegalovírus) em soro humano, utilizado em sistemas automáticos de quimioluminescência para auxílio no diagnóstico da infecção por citomegalovírus.

Uso profissional.

[Somente para diagnóstico e in vitro]

Analizador . Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo . O citomegalovírus (CMV) é um vírus envelopado com DNA de fita dupla, que tem muitas glicoproteínas em seu envelope que podem se ligar a receptores na superfície das células hospedeiras para causar infecção. A cepa de CMV que infecta humanos é chamada de citomegalovírus humano (HCMV)¹. As infecções por esse vírus geralmente não apresentam sintomas clínicos, mas há um risco significativo para mulheres grávidas, recém-nascidos e indivíduos imunocomprometidos²⁻⁵. A infecção por CMV pode ser classificada como infecção primária ou secundária. Após a infecção primária, o vírus entra em um período latente. Quando a função de regulação imunológica do hospedeiro muda, a replicação viral é ativada, resultando na infecção secundária. A infecção primária ocorre em diferentes estágios e é dividida em infecção congênita e infecção adquirida. A infecção congênita é transmitida da mãe para o feto através da placenta ou durante o parto e pode causar vários graus de sequelas, incluindo deficiência intelectual, retinite, deficiência auditiva, problemas neurológicos e doenças cardíacas⁶⁻⁸. A infecção adquirida é obtida pelo contato com fluidos corporais infectados, como urina, saliva, sangue e fezes. Em indivíduos imunocompetentes, as manifestações clínicas são geralmente assintomáticas ou leves. No entanto, pacientes imunocomprometidos podem apresentar sintomas graves, como pneumonia, miocardite, anemia hemolítica e encefalite. Em pacientes infectados, os anticorpos IgM são sintetizados primeiro, e seus níveis aumentam em poucas semanas. Posteriormente, os níveis diminuem e continuam a fazê-lo por 4-6 meses. Os anticorpos IgG são produzidos dentro de uma semana da produção de IgM. O diagnóstico de CMV geralmente é baseado na detecção de anticorpos IgG e IgM, bem como na detecção de afinidade de IgG, para determinar o tempo de infecção. Ensaios de IgG específicos ajudam a identificar se um paciente está infectado com citomegalovírus. O teste de anticorpos IgM específicos pode diagnosticar infecção aguda por CMV, mas tem baixa especificidade porque também pode ser produzido durante a reativação do vírus. Como a infecção congênita é principalmente causada pela transmissão intrauterina após infecção materna primária, a identificação da infecção primária é essencial para mulheres grávidas⁹. Um resultado positivo de IgM e anticorpos IgG de baixa afinidade detectados antes de 16-18 semanas de gravidez, indicam

infecção primária por CMV durante os primeiros 3-4 meses¹⁰. Um índice de IgG de alta afinidade no final da gravidez não pode excluir infecção primária no início da gravidez.

Princípio do teste . O ensaio CMV IgG é um imunoenensaio para determinação quantitativa da presença de anticorpos IgG contra CMV em amostras de soro humano pelo método indireto e usando a técnica de análise por quimioluminescência (CLIA). Na primeira etapa, 20 μ L de amostra são automaticamente pré-diluídas 1:20 com Sample Diluent A Ref. 4060. Os anticorpos presentes na amostra e o antígeno CMV recombinante são combinados e incubados. Os anticorpos CMV presentes na amostra se ligam ao antígeno CMV, então a mistura é lavada. O anticorpo anti IgG humano conjugado com acridina é adicionado na segunda etapa. Os anticorpos marcados com acridina que não se ligaram são removidos por outro ciclo de lavagem. Finalmente, as soluções de Pre-Trigger e Trigger são adicionadas à reação, resultando numa reação quimioluminescente que é medida em Unidades Relativas de Luz (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de anticorpos IgG contra citomegalovírus presente na amostra e as RLUs detectadas pelo equipamento automático dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Reagentes

REF	4040-50	4040-100
Testes por kit	50	100
R11	6,0 mL	11,0 mL
M	6,0 mL	11,0 mL
CAL11	0,5 mL	0,5 mL
CAL2	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL1	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL2	0,5 mL	0,5 mL
Tampas de silicone	2	2

R11 – Anticorpo anti-IgG humano conjugado com acridina $\leq 0,12$ μ g/mL em tampão $\leq 6,12$ mg/mL com estabilizante, surfactante e conservante.

M – Micropartículas magnéticas $\leq 0,12$ mg/mL revestidas com antígeno CMV $\leq 0,12$ μ g/mL em tampão $\leq 15,54$ mg/mL com estabilizante, surfactante e conservante.

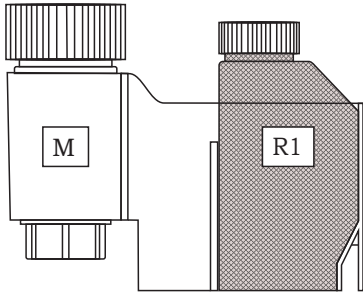
CAL11 – Anticorpo CMV IgG em tampão $\leq 5,56$ mg/mL com estabilizante de proteína e conservante.

CAL2 – Anticorpo CMV IgG em tampão $\leq 5,56$ mg/mL com estabilizante de proteína e conservante.

CONTROL1 – Controle Positivo (nível baixo): anticorpo CMV IgG em tampão $\leq 5,56$ mg/mL com estabilizante de proteína e conservante *.

CONTROL 12 – Controle Positivo (nível alto): anticorpo CMV IgG em tampão $\leq 5,56$ mg/mL com estabilizante de proteína e conservante *.

*Para média e intervalo, ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br.
- Evite formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostra, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- Não misture lotes de reagentes.
- Realizar a calibração do produto conforme o tópico “Calibração”.
- Não utilizar o produto caso sejam observados sinais de contaminação.
- As cubetas são descartáveis e não devem ser reutilizadas.
- Não manusear o Reagent M próximo a campos eletromagnéticos intensos.
- Não separar o volume de nenhum dos componentes do kit em alíquotas.

Precauções de segurança

Cuidado . Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspensas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Substitua a tampa original dos reagentes R1 e M pelas tampas de silicone quando o reagente for carregado no equipamento automático.

4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.

5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.
6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Armazenamento e Estabilidade . Não congele. Armazene o CMV IgG Reagent Kit Ref. 4040 na posição vertical para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade:

Fechado a 2 - 8 °C	até a data de validade apresentada
Aberto a 2 - 8 °C	45 dias
On board	28 dias

Indicações de deterioração dos reagentes

A deterioração dos reagentes pode ser indicada quando ocorre um erro de calibração ou um valor de controle está fora da faixa especificada. Os resultados dos testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente após uma nova calibração.

Coleta e preparação de amostras . Utilizar soro coletado em tubos com ou sem gel separador. A amostra é estável por 2 dias a 20 -25 °C, 7 dias a 2-8 °C e 3 meses a -20 °C (± 5 °C). Centrifugue as amostras contendo precipitados antes de realizar o ensaio. Para obter resultados exatos, as amostras de soro devem estar livres de fibrina, glóbulos vermelhos e outras partículas. As amostras de soro de pacientes recebendo terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina devido à formação incompleta do coágulo. Certifique-se de que as amostras, calibradores e controles estejam em 20-25 °C antes da medição.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Procedimento

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref. 4100
2. Trigger Solution Ref. 4002
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004
5. Sample Diluent A Ref. 4060
6. Cubetas de reação para o equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest

Procedimento do ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para um teste é de 20 µL sem considerar o volume morto e volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração . Rastreabilidade: Este método é rastreável a padrões de referência internos.

Todo kit de CMV IgG Reagent Kit Ref. 4040 é rotulado com um *QR Code* contendo informações específicas de calibração por lote. A *Master Curve* predefinida é adaptada ao analisador usando dois calibradores que acompanham o kit.

Os controles (CONTROL 1 e CONTROL 2) devem ser ensaiados para avaliar a calibração do produto. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional.

Uma nova calibração deve ser realizada nas seguintes condições:

- Quando um kit de reagente com um novo número de lote for utilizado;
- Quando os controles da qualidade não atenderem aos limites estabelecidos;
- Depois de 28 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente;
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou, após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Recomenda-se utilizar os controles da qualidade CONTROL 1 e CONTROL 2 contidos no kit para controle interno da qualidade.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu *QR Code*, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura do *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos, dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site: www.labtest.com.br

Resultados

Cálculos . O ensaio CMV IgG utiliza um método de redução de dados com adaptação da curva logística de 4 parâmetros (4PLC) para gerar a calibração e resultados.

Procedimentos de diluição de amostra . Amostras com concentrações de CMV IgG acima da faixa de medição devem ser diluídas com Sample Diluent A Ref. 4060. A diluição recomendada é 1:5 (automática pelos analisadores ou manualmente). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software considera automaticamente a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Limitações do procedimento

- Os resultados devem ser utilizados em conjunto com outros dados, por exemplo, sintomas, resultados de outros testes e impressões clínicas.
- Se os resultados para CMV IgG forem inconsistentes com as evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
- Anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com imunoglobulinas, interferindo nos imunoenaios in vitro. Pacientes rotineiramente expostos a animais ou a produtos de soro animal podem ser propensos a esta interferência e valores anômalos podem ser observados¹¹.
- Os valores do ensaio CMV IgG devem ser usados em conjunto com outros procedimentos diagnósticos.

Características de desempenho . Dados de desempenho representativos são fornecidos nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Estudos de comparação de métodos . O estudo de comparação foi realizado utilizando 103 amostras e um método de tecnologia similar (CLIA), disponível comercialmente, como método comparativo, obtendo-se os resultados apresentados na tabela a seguir:

CLIA				
Produto	Resultado	Reagente	Não reagente	Total
CMV IgG Reagent Kit Ref. 4040	Reagente	51	0	51
	Não Reagente	1	51	52
	Total	52	51	103

Sensibilidade: 98,08 (IC 95%: 89,74 a 99,95)
Especificidade: 100,00 (IC 95%: 93,02 a 100,00)
Eficiência: 99,03
Coeficiente Kappa: 0,98
IC: Intervalo de confiança

Limites inferiores de medição . O Limite do Branco $\leq 0,10$ U/mL foi obtido através de 60 replicatas de uma amostra sem analito. Esse limite foi determinado de acordo com o CLSI EP17-A2¹².

O Limite de Detecção de 0,25 U/mL foi determinado com base no Limite do Branco e no desvio padrão de uma amostra de baixa concentração ($n=20$).

O Limite de Quantificação 0,25 U/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com

CV ≤ 20%.

Faixa de medição . 0,25 a 250,00 UI/mL. Valores abaixo do limite de detecção são reportados como < 0,25 UI/mL. Valores acima da faixa de medição são reportados como > 250,00 UI/mL.

Interpretação dos resultados

UI/mL	Interpretação
< 0,5	Não reagente . Presume-se que indivíduos com esses resultados não estejam infectados com CMV.
≥ 0,5 a < 1,00	Zona cinza . Recomenda-se confirmar os resultados das amostras da zona cinza testando-as para CMV IgM. Considere coletar uma segunda amostra, se possível, dentro de um período de tempo apropriado (por exemplo, duas semanas) para confirmar os níveis de IgM e IgG.
≥ 1,00	Reagente . A reatividade para anticorpos CMV pode indicar infecção atual, reativação ou vacinação recente.

Imprecisão . Os estudos de imprecisão foram realizados utilizando duas amostras com diferentes concentrações e anticorpos IgG contra CMV.

Repetibilidade - imprecisão intra ensaio

	N	Média (UI/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	5,67	0,19	3,44
Amostra 2		126,92	4,54	3,58

DP = Desvio Padrão
CV = coeficiente de variação

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média (UI/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	40	5,56	0,23	4,11
Amostra 2		128,79	8,60	6,68

CV = coeficiente de variação
DP = Desvio Padrão

Os resultados indicam que o método atende a especificação desejável para Coeficiente de Variação (≤ 10% para reprodutibilidade e ≤ 8% para repetibilidade).

Interferências

O CMV IgG Reagent Kit Ref. 4040 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir.

Substâncias	Concentrações
Hemoglobina	≤ 500 mg/dL
Bilirrubina	≤ 20 mg/dL
Triglicérides	≤ 1500 mg/dL

Especificidade analítica . Estudos adicionais foram realizados para avaliar a potencial interferência das seguintes condições médicas no CMV IgG Reagent Kit Ref. 4040: Epstein-Barr IgG positiva, CMV IgM positiva, Rubéola IgG positiva, Toxoplasmose IgG positiva, Herpes Simples IgG (HSV1 e HSV2) positiva, Sífilis, Parvovirus B19 IgG positiva, Influenza A IgG positiva, Influenza B IgG positiva, Hepatite B (anti-HBs positiva). Nenhuma reatividade cruzada para as condições médicas descritas acima foi observada para o CMV IgG Reagent Kit Ref. 4040.

Referências

1. Lefkowitz, E. J. et al. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Nucleic Acids Research 46, D708–D717 (2018).

2. Munro, S. C. et al. Diagnosis of and screening for cytomegalovirus infection in pregnant women. J Clin Microbiol 43, 4713–4718 (2005).

3. Cannon, M. J. & Davis, K. F. Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic. BMC Public Health 5, 70 (2005).

4. Pass, R. F., Griffiths, P. D. & August, A. M. Antibody response to cytomegalovirus after renal transplantation: comparison of patients with primary and recurrent infections. J Infect Dis 147, 40–46 (1983).

5. Hecker, M., Qiu, D., Marquardt, K., Bein, G. & Hackstein, H. Continuous cytomegalovirus seroconversion in a large group of healthy blood donors. Vox Sang 86, 41–44 (2004).

6. Stagno, S. et al. Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. JAMA 256, 1904–1908 (1986).

7. Fowler, K. B. et al. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. N Engl J Med 326, 663–667 (1992).

8. Revello, M. G. & Gerna, G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. Clin Microbiol Rev 15, 680–715 (2002).

9. Lazzarotto, T. et al. Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in the diagnosis of maternal infection. Hum Immunol 65, 410–415 (2004).

10. Prince, H. E. & Lapé-Nixon, M. Role of Cytomegalovirus (CMV) IgG Avidity Testing in Diagnosing Primary CMV Infection during Pregnancy. Clin Vaccine Immunol 21, 1377–1384 (2014).

11. Ward G, McKinnon L, Badrick T, Hickman PE. Heterophilic antibodies remain a problem for the immunoassay laboratory. Am J Clin Pathol. 1997 Oct;108(4):417-21. doi: 10.1093/ajcp/108.4.417. PMID: 9322595.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation Approved Guideline - Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA (2004).

13. Labtest. Dados de arquivo.

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - CEP: 33240-152

Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Ref.: 171125(03)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment
	Cartucho contendo reagente Cartucho que contiene reactivo Cartridge containing reagent		Instalar até Instalar hasta Install before

Ref.: 031125 |