

ErbaLisa® COVID-19 IgM

Catalog No. IME00137 (96 Tests)

INTENCION DE USO

El kit ERBALisa COVID-19 IgM se utiliza para la detección de anticuerpos IgM al virus SARS-CoV-2 (COVID-19) en suero o plasma humano.

RESUMEN Y EXPLICACION.

Desde finales de diciembre de 2019, un brote de una nueva enfermedad por Coronavirus (COVID-19; anteriormente conocido como 2019-nCoV)¹, fué reportado primera vez en Wuhan, China² que posteriormente se extendió a nivel mundial en un corto periodo de tiempo. COVID-19 o SARS-CoV-2 ha demostrado tener la capacidad de propagarse rápidamente, provocando impactos significativos en los sistemas de salud locales, causando trastornos sociales y la amenaza potencial para la salud pública que representa COVID-19 es alta³. En general, COVID-19 es una enfermedad aguda resuelta, pero también puede ser mortal, con una tasa de letalidad del 2%. COVID-19 es un coronavirus de ARN monocatenario⁴. La infección viral causa una serie de enfermedades respiratorias, incluido el síndrome respiratorio grave, lo que indica que el virus probablemente infecta las células epiteliales respiratorias y se propaga principalmente a través del tracto respiratorio de humano a humano⁴. Los coronavirus están compuestos de varias proteínas, incluidas la espiga (S), la envoltura (E), la membrana (M) y la nucleocápside (N)⁵. Las infecciones por virus se caracterizan por elevaciones en los niveles específicos de anticuerpos IgM de 3 a 5 días después del inicio de los síntomas; Esto generalmente persiste durante 30 a 60 días. Los niveles de IgG también se elevan después de 10 a 14 días y permanecen detectables de por vida..

PRINCIPIO DEL ENSAYO.

El suero diluido del paciente se agrega a los pocillos recubiertos con antígeno COVID-19 purificado. El anticuerpo específico de SARS-CoV-2 IgM, si está presente, se une al antígeno. Todos los materiales no unidos se eliminan por lavado, y el conjugado enzimático se agrega para unirse al complejo anticuerpo-antígeno, si está presente. El exceso de conjugado enzimático se lava y se agrega sustrato. La placa se incuba para permitir la oxidación del sustrato por la enzima. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpo específico IgG en la muestra.

MATERIALES PROVISTOS		96 Tests
1.	Micropozos recubiertos antígeno COVID-19	12x8x1
2.	Diluyente de la muestra: 1 Frasco (listo para usar)	22 ml
3.	Calibrador (Tapa Amarilla): 1 Vial (listo para usar)	1 ml
4.	Control Positivo (Tapa Roja): 1 Vial (listo para usar)	1 ml
5.	Control Negativo (Tapa Azul): 1 Vial (listo para usar)	1 ml
6.	Conjugado Enzimático: 1 Frasco (listo para usar)	13 ml
7.	Sustrato TMB: 1 Frasco (listo para usar)	13 ml
8.	Solución de Frenado: 1 Frasco (listo para usar)	12 ml
9.	Concentrado de Lavado 20X: 1 Frasco	25 ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS.

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector de microELISA con lente a 450nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD.

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
3. Los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre que las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

CUIDADOS Y PRECAUCIONES.

1. Materiales con potencial riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de este pueden dar datos no válidos.

RECOLECCION DE LA MUESTRA.

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8° C) por siete días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20° C hasta seis meses. Evite múltiples ciclos de congelación – descongelación.
3. Precaución: No utilizar Diluyente de Muestra IgG para testear muestras IgM.

PREPARACION DEL REACTIVO

Prepare 1X de Solución de Lavado agregando los contenidos del frasco (25 ml, 20X) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Almacenar a temperatura ambiente (Promedio 23°C)

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, todas las muestras y reactivos deben ser llevados a temperatura ambiente (promedio 20-25°C). Mezcle gentilmente todos los reactivos previo a su uso.

1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los pozos no utilizados y refrigérelos a 2-8° C.
2. Los controles (positivo y negativo) y el calibrador están listos para su uso. Prepare una dilución de las muestras de 1:21, agregando 10 µl de la muestra a 200 µl del diluyente. Mezclar bien.
3. Dispense 100 µl del suero diluido, calibrador y controles en los pozos designados. Para el reactivo blanco, dispense 100 µl de diluyente de la muestra en la posición 1A. Golpee la placa para remover las burbujas de aire del líquido y mezcle bien. Incubar por 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Retire el líquido de los pozos. Lave en tres tiempos con 300 µl de solución de lavado a 1X. Golpee los pozos sobre una toalla o papel absorbente.
5. Dispense 100 µl de conjugado enzimático en cada pozo e incube por 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire el conjugado enzimático de los pozos. Lave en seis oportunidades con 300 µl de solución de lavado a 1x. Golpee los pozos sobre una toalla o papel absorbente.
7. Dispense 100 µl de sustrato TMB e incube por 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Agregue 100 µl de solución de frenado.
9. Lea la densidad óptica a 450nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

CALCULO DE RESULTADOS

1. Chequear el Factor de Calibración (CF) valorado en el frasco del Calibrador. Este valor puede variar de lote a lote.
2. Calcule el valor del punto de corte. Calibrador (OD) por Factor de Calibración.
3. Calcule el anticuerpo (Ab) para cada determinación, dividiendo el valor (OD) de cada muestra entre el valor del punto de corte.

Ejemplo de Muestra Típica

Media del Calibrador OD=0.8 - Factor de Calibración (CF)=0.5
Valor Punto de Corte = $0.8 \times 0.5 = 0.400$ Control Positivo O.D. = 1.2.
Índice de Anticuerpo = $1.2 / 0.4 = 3$ - Muestra del Paciente O.D. = 1.6
Índice de Anticuerpo = $1.6 / 0.4 = 4.0$

CONTROL DE CALIDAD

Esta prueba puede considerarse valida siempre que se siga el siguiente criterio metodológico:

1. El OD. Del calibrador debe ser mayor que 0.250.
2. El Índice de Anticuerpo para control negativo debe ser menor que 0.9.
3. El Índice de Anticuerpo para control positivo debe caer dentro del rango especificado en la etiqueta o el Certificado de Análisis.

INTERPRETACION

Lo siguiente es una guía para la interpretación de resultados de COVID-19 IgM; cada laboratorio deberá establecer su criterio para interpretación basado en sus muestras.

Interpretación del Índice de Anticuerpo

<0.9 Anticuerpo no detectado contra COVID-19 IgM por ELISA
0.9-1.1 Límite positivo. Se recomienda realizar mayores pruebas.
>1.1 Anticuerpo detectado contra COVID-19 IgM por ELISA.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados obtenidos mediante la utilización de este kit sirven solo como ayuda en el diagnóstico y deben ser interpretados en relación a la historia clínica del paciente, síntomas y otros procedimientos de diagnóstico.
2. Las muestras hemolizadas o lipemicas pueden causar resultados erróneos.
3. Este test se ofrece únicamente para su uso en Laboratorios
4. Este test no ha sido estudiado por la FDA
5. Los resultados negativos no descartan la infección por SARS-CoV-2, particularmente en aquellos que han estado en contacto con el virus. Las pruebas de seguimiento con un diagnóstico molecular deben considerarse para descartar infección en estos individuos.
6. Los resultados de las pruebas de anticuerpos no deben usarse como la única base para diagnosticar o excluir la infección por SARS-CoV-2 o para informar el estado de la infección.
7. Los resultados positivos pueden deberse a una infección pasada o presente con cepas de coronavirus no SARS-CoV-2, como el coronavirus HKU1, NL63, OC43 o 229E.
8. No debe utilizarse para la detección de sangre donada.

CARACTERISTICAS DE PERFORMANCE

1. **Sensibilidad y Especificidad:** Se analizaron 30 muestras de suero recogidas de pacientes con COVID-19 previamente confirmados por RT-PCR. Se analizaron 50 pacientes normales sanos con muestras recolectadas antes del brote de COVID-19 (antes de diciembre de 2019). Los resultados son los siguientes

	Resultado Positivo	Resultado Negativo
Confirmados Positivos	30	0
Confirmados Negativos	5	45

La sensibilidad es del 100%.

La especificidad es del 90%. Este test tampoco exhibe reacción cruzada alguna con anticuerpos IgG.

2. Interferencia

Se probaron los siguientes interferentes y no se observó influencia en los resultados de la muestra hasta las concentraciones indicadas a continuación:

- Hemoglobina (10 mg/mL)
- Bilirubina (400ug/mL)
- Biotina (200ng/mL)

3. Precisión

Precisión Intra Ensayo

Suero	No. de Replicas	Media (OD 450nm)	Desvio Estandar	Coficiente de Variacion (%)
1	16	0.28	0.02	7.20%
2	16	0.93	0.06	8.06%
3	16	2.36	0.13	5.67%

Precisión Inter Ensayo

Suero	No. de Replicas	Media (OD 450nm)	Desvio Estandar	Coficiente de Variacion (%)
1	16	0.26	0.02	9.42%
2	16	0.89	0.08	8.54%
3	16	2.47	0.17	6.71%

REFERENCIAS

1. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020; (published online Feb 3.)
2. Huang C Wang Y Li X et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395: 497-506.
3. CDC (2020). Policy for Diagnostic Tests for Coronavirus Disease-2019 during the Public Health Emergency.
4. Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H, Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2, *Gastroenterology* (2020), doi: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>.
5. Li, F., Li, W., Farzan, M., & Harrison, S. (2005). Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with its 10.2210/pdb2ajf/pdb.

2020-4-20

 Calbiotech Inc., 1935 Cordell Ct., El Cajon, CA 92020 Tel (619) 660-6162, Fax (619) 660-6970, www.calbiotech.com



CEpartner4U, Esdoornlaan 13, 3951 DB Maarn, The Netherlands Tel +31 (0)6.516.536.26