



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Disposición

Número:

Referencia: 1-47-3110-8166-17-1

VISTO el expediente N° 1-47-3110-8166-17-1 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma CROMOION S.R.L. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Productos para diagnóstico de uso in vitro denominado: AiD HBsAg ELISA.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro: AiD HBsAg ELISA, de acuerdo con lo solicitado por CROMOION S.R.L., con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N°IF-2020-09318051-APN-INPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM-908-160”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4°.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5°.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4°. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

LABORATORIO: CROMOION S.R.L.

NOMBRE COMERCIAL: AiD HBsAg ELISA.

INDICACIÓN DE USO: ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO (ELISA) DESTINADO A LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE HBsAg EN MUESTRAS DE SUERO O PLASMA HUMANO.

FORMA DE PRESENTACIÓN: ENVASES POR 96 o 480 DETERMINACIONES, CONTENIENDO:

| | | |
|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| Reactivos | 96 determinaciones | 480 determinaciones |
| Placa de micropocillo | 1 x 96 pocillos | 5 x 96 pocillos |
| Control Negativo | 1 x 1 ml | 3 x 1 ml |
| Control positivo | 1 x 1 ml | 3 x 1 ml |
| HRP-Conjugada | 1 x 6 ml | 5 x 6 ml |

| | | |
|-------------------------|-----------|------------|
| Diluyente de muestra | 1 x 5 ml | 5 x 5 ml |
| Tampón de lavado | 1 x 30 ml | 2 x 100 ml |
| Solución de cromógeno A | 1 x 6 ml | 1 x 60 ml |
| Solución de cromógeno B | 1 x 6 ml | 1 x 60 ml |
| Solución de stop | 1 x 6 ml | 1x 60 ml |

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: QUINCE (15) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8 °C.

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: BEIJING WANTAI BIOLOGICAL PHARMACY ENTERPRISE Co. Ltd. No. 31 Kexueyuan Road. Changping District, Beijing 102206. (R.P. de CHINA).

Condición de Venta/Categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Expediente N° 1-47-3110-8166-17-1

Digitally signed by GARAY Valeria Teresa
Date: 2020.07.16 15:03:29 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.07.16 15:03:32 -03:00

| | |
|--|--------------------------|
| AiD™ HBsAg ELISA | Document No.HBsAg2016-01 |
| Labels: kit box label 96T, 480T; Reagents labels | Revision 1.0 |

Kit box, 96T label

AiD™ HBsAg ELISA

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for qualitative detection of HBsAg in human serum or plasma specimens

| Components | | | Code | Format |
|------------|-------|-----|------|----------|
| UUU | Plate | | 5 | 1x |
| CONTROL | - | | 8 | 1 x 1ml |
| CONTROL | + | | 7 | 1 x 1ml |
| HRP | CON | | 6 | 1-x 6ml |
| DIL | SPE | | 9 | 1 x 5ml |
| WASH | BUF | 20X | 1 | 1 x 30ml |
| CHROM | SOL | A | 2 | 1 x 6ml |
| CHROM | SOL | B | 3 | 1 x 6ml |
| STOP | SOL | | 4 | 1 x 6ml |

REF WB-1296



H317
P280
P333+P313
P363



H360D
P201
P280
P308+P313

CROMOION S.R.L.
OSCAR A. GARCIA
SOCIO GERENTE

CROMOION S.R.L.
Farm. Cecilia A. Amadori
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica





CE

LOT



IVD

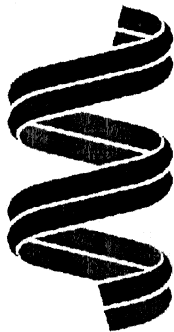


IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: **CROMOION S.R.L.**
 Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
 Avda (011) 4846-320506
 Legajo 1000
 Directora Técnica: Dra. Cecilia Arnaboldi
 Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
 Uso Diagnóstico in Vito
 Centil / PK: **900160**
 Autorizado por la ANMAT
 Ministerio de Salud - República Argentina
 VER INSTRUCCIONES DE USO

Beijing Wantai Biological Pharmaceutical Co., Ltd.
 No.31 Kasuyuan Road, Changping, Beijing
 Tel: +86 10 80726392 86701548 Fax: +86 10 80703549
 www.wbtm.com

Qinad S.r.l.s. : Cepalstraat 3, B-1440 Geel, Belgium
 qinad@qinad.com

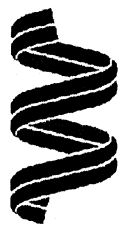
WANTAI Bio - Pharm



96Tests

CROMOION S.R.L.
 OSCAR A. GARCIA
 SOCIO GERENTE

CE IVD



WANTAI Bio - Pharm

96Tests

Arnaboldi
CROMOION s.r.l.
 Farm. Cecilia A. Arnaboldi
 M.P. 15533 • M.N. 13795
 Dirección Técnica

| | |
|--|--------------------------|
| AiD™ HBsAg ELISA | Document No.HBsAg2016-01 |
| Labels: kit box label 96T, 480T; Reagents labels | Revision 1.0 |

Kit box, 480T label

AiD™ HBsAg ELISA

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for qualitative detection of HBsAg in human serum or plasma specimens

| Components | | | Code | Format |
|------------|-------|-----|------|-----------|
| UUU | Plate | | 5 | 5x |
| CONTROL | - | | 8 | 3 x 1ml |
| CONTROL | + | | 7 | 3 x 1ml |
| HRP | CON | | 6 | 5 x 6ml |
| DIL | SPE | | 9 | 5 x 5ml |
| WASH | BUF | 20X | 1 | 2 x 100ml |
| CHROM | SOL | A | 2 | 1 x 60ml |
| CHROM | SOL | B | 3 | 1 x 60ml |
| STOP | SOL | | 4 | 1 x 60ml |

REF WB-12480



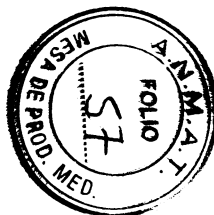
H317
P280
P333+P313
P363



H360D
P201
P280
P308+P313

CROMOION S.R.L.
 OSCAR A. GARCIA
 10510 GERENTE

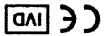
CROMOION S.R.L.
 Farm. Cecilia A. Anaboldi
 M.P. 15533 • M.N. 13795
 Dirección Técnica



265*145*113

CROMOION S.R.L.
OSCAR A. GARCIA
SOCIO GERENTE

WANTAI Bio-Pharm 480Tests



WANTAI Bio-Pharm

480Tests

Beijing WANTAI Biological Pharming Enterprise Co., Ltd.
No.31 Kexueyuan Road, Changping, Beijing
Tel: +86 10 59528888 Fax: +86 10 59705849
www.yhtw.com

CE REP Qmed S.v.b.a. - Cipolatstraat 3, B-3440 Oud, Belgium
qmed@qmed.com

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro

Certif. / PM:

Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - Republica Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

908160

LOT

EX

IVD

CE



CROMOION S.R.L.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica


Cecilia Amaboldi



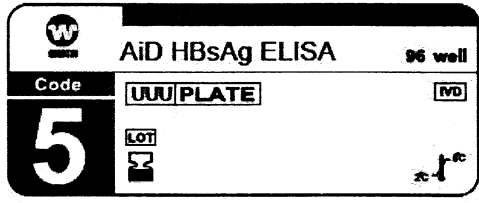
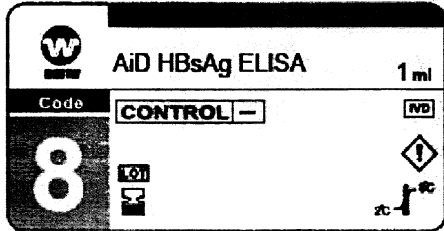
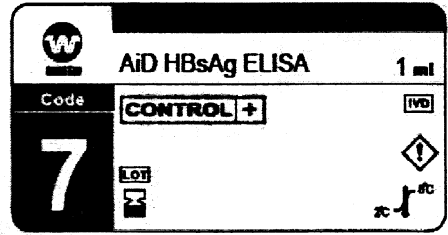
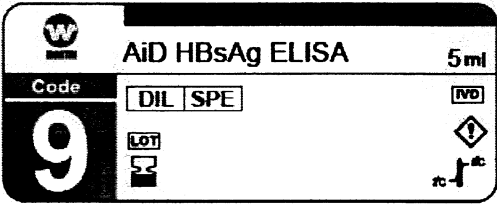
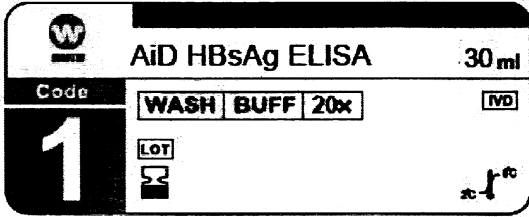
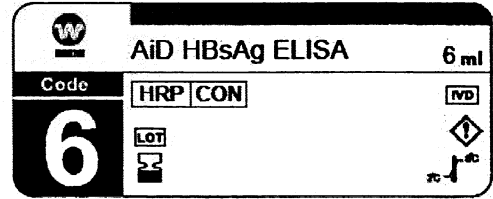
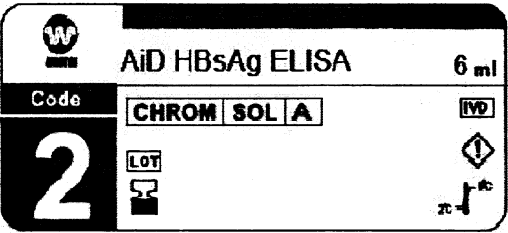
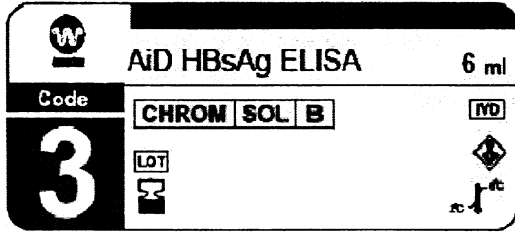
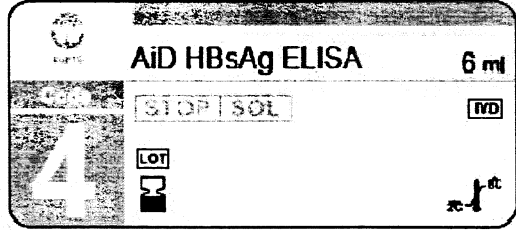


ROTULOS INTERNOS


CRONOION S.R.L.
OSCAR A. GARCIA
SOCIO GERENTE


CRONOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Arnaboldi
N.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica

| | |
|--|--------------------------|
| AiD™ HBsAg ELISA | Document No.HBsAg2016-01 |
| Labels: kit box label 96T, 480T; Reagents labels | Revision 1.0 |

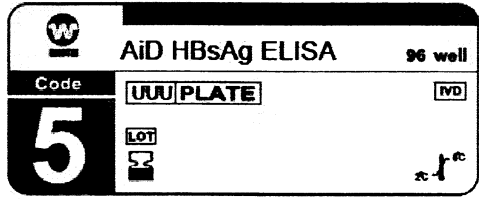
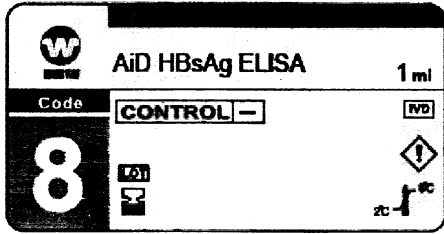
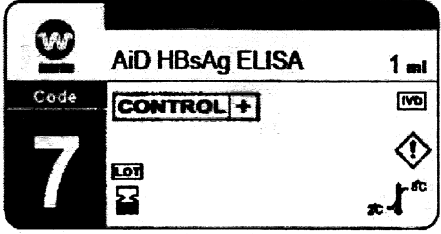
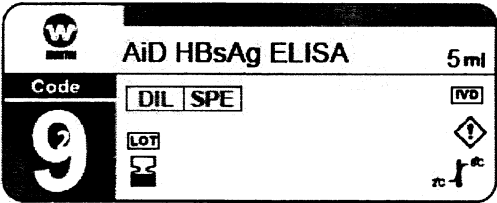
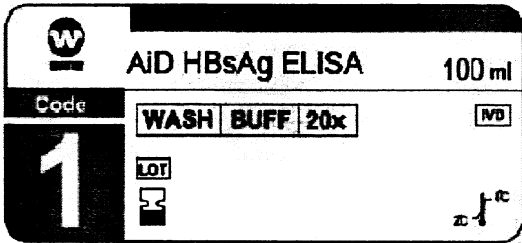
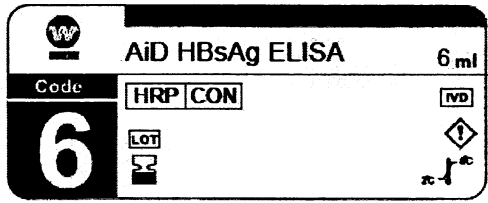
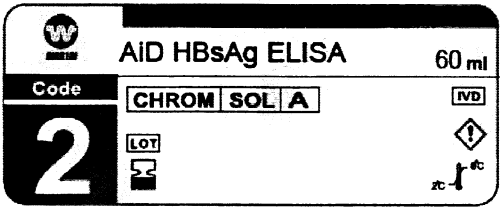
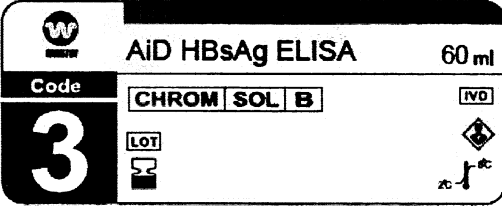
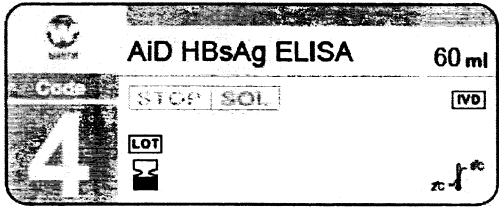
| Reagent Labels - 96T | | |
|--|---|---|
| Microwell Plate | Negative Control | Positive Control |
|  |  |  |
| Specimen Diluent | Wash Buffer | HRP- Conjugate |
|  |  |  |
| Chromogen - A | Chromogen- B | Stop Solution |
|  |  |  |

Handwritten signature
CROMOION S.R.L.
OSCAR A. GARCIA
 SOCIO GERENTE

Handwritten signature
CROMOION s.r.l.
 Farm. Cecilia A. Amadei
 M.P. 19533 • M.N. 19795
 Dirección Tassinara

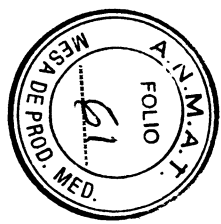


| | |
|--|--------------------------|
| AiD™ HBsAg ELISA | Document No.HBsAg2016-01 |
| Labels: kit box label 96T, 480T; Reagents labels | Revision 1.0 |

| Reagent Labels - 480T | | |
|---|--|---|
| Microwell Plate | Negative Control | Positive Control |
|  |  |  |
| Specimen Diluent | Wash Buffer | HRP- Conjugate |
|  |  |  |
| Chromogen - A | Chromogen- B | Stop Solution |
|  |  |  |

CROMOION S.R.L.
 OSCAR A. GARCIA
 SOCIO GERENTE

CROMOION S.R.L.
 Farm. Cecilia A. Arnsfeldt
 Av. P. 15533 • Av. N. 13795
 Edifici6n T6cnica





MANUAL DE INSTRUCCIONES


CROMOION S.R.L.
OSCAR A. GARCIA
SOCIO GERENTE


CROMOION S.R.L.
Farm. Cecilia A. Arnaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica

Diagnóstico del virus de la Hepatitis B de Wantai

AID™ HBsAg ELISA

Kit de diagnóstico para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (ELISA)

REF WB-1296



V. 2016-01 [Eng.]

96



IVD

Lea el prospecto completa y cuidadosamente antes de realizar el ensayo. Sigala instrucciones y no las modifique. Sólo mediante el cumplimiento estricto de estas instrucciones, se pueden evitar los resultados erróneos y se logra el rendimiento óptimo del ADTM HBsAg ELISA.

USO PREVISTO

AID™ HBsAg ELISA es un ensayo inmunoadsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección cualitativa de HBsAg en suero o plasma humano. Está destinado a la detección de donantes de sangre y al diagnóstico de pacientes relacionados con la infección por el virus de la hepatitis B.

RESUMEN

El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus de ADN bicatenario con envoltura que pertenece a la familia Hepadnaviridae y se reconoce como la principal causa de hepatitis transmitida por la sangre junto con el virus de la hepatitis C (VHC). La infección con VHB induce un espectro de manifestaciones clínicas que van desde una enfermedad leve e inaparente hasta hepatitis fulminante, enfermedades hepáticas crónicas graves, que en algunos casos pueden conducir a cirrosis y carcinoma de hígado. La clasificación de una infección de hepatitis B requiere la identificación de varios marcadores serológicos expresados durante tres fases (incubación, aguda y convalescente) de la infección. Ahora se utilizan varias pruebas de diagnóstico para la detección, el diagnóstico clínico y el tratamiento de la enfermedad. El antígeno de superficie de la hepatitis B o HBsAg, previamente descrito como antígeno de Australia, es la proteína más importante de la envoltura del virus de la hepatitis B. El antígeno de superficie contiene el determinante "a", común a todos los subtipos virales conocidos y se distingue inmunológicamente en dos subgrupos distintos (ay y ad). El VHB tiene 10 serotipos principales y se han reconocido cuatro subtipos de HBsAg (ady, ayw y ayr). El HBsAg se puede detectar de 2 a 4 semanas antes de que los niveles de ALT se vuelvan anormales y de 3 a 5 semanas antes de que aparezcan los síntomas. La detección serológica de HBsAg es un método poderoso para el diagnóstico y la prevención de la infección por VHB y ELISA se ha convertido en un sistema analítico ampliamente utilizado para el screening de donantes de sangre y el diagnóstico clínico de VHB en individuos infectados.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Para la detección de HBsAg, ADTM HBsAg ELISA utiliza un método de ELISA "sandwich" de anticuerpos en el que las tiras de pocillos de poliestireno están recubiertas previamente con anticuerpos monoclonales específicos para HBsAg. La muestra de suero o plasma del paciente se agrega a los micropocillos. Durante la incubación, el inmunocomplejo específico formado en caso de presencia de HBsAg en la muestra, se captura en la fase sólida. A continuación, el segundo anticuerpo conjugado con la enzima peroxidasa de rábano picante (el Conjugado de HRP) dirigido contra un epítopo diferente de HBsAg se agrega a los pocillos. Durante la segunda etapa de incubación, estos anticuerpos conjugados con HRP se unirán a cualquier complejo anti-HBs-HBsAg formado previamente durante la primera incubación, y el conjugado de HRP no unido se eliminará luego mediante lavado. Las soluciones de cromógeno que contienen tetrametil-bencidina (TMB) y peróxido de urea se agregan a los pocillos. En presencia del inmunocomplejo "sandwich" de anticuerpo-antígeno-anticuerpo (HRP), los cromógenos incoloros se hidrizarán mediante el conjugado de HRP unido a un producto de color azul. El color azul se vuelve amarillo después de detener la reacción con ácido sulfúrico. La cantidad de intensidad de color se puede medir y es proporcional a la cantidad de antígeno capturado en los pocillos, y a su cantidad en la muestra, respectivamente. Los pocillos que contienen muestras negativas para HBsAg permanecen incoloros.

COMPONENTES

IVD Sólo para uso diagnóstico In Vitro

Este kit contiene reactivos suficientes para la prueba de un máximo de 91 muestras.

PLACA

Código 5 (1x96 pocillos)
8 x 12/12 X8-pocillos por placa

CONTROL -

Código 8 (1x1ml por frasco)
preserv.0.1% ProClin™ 300

CONTROL +

Código 7 (1x1ml por frasco)
preserv.0.1% ProClin™ 300

HRP - CON

Código 6 (1x6ml por frasco)
preserv.0.1% ProClin™ 300

PLACA DE MICROPOCILLO: Tiras de micropocillos en blanco fijadas en e soporte de tiras blancas. La placa se sella en una bolsa de aluminio con desecante. Cada pocillo contiene anticuerpos monoclonales reactivos al HBsAg (anti-HBs). Las tiras de micropocillos se pueden romper para usar por separado. Coloque los pocillos o tiras no utilizados en la bolsa de plástico de almacenamiento provista junto con el desecante y vuelva a colocarlos a 2-8°C. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

CONTROL NEGATIVO: Líquido amarillento en un frasco con tapa de rosca verde. Tampón estabilizado con proteína probado no reactivo para HBsAg. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

CONTROL POSITIVO: Líquido de color rojo en un frasco con tapa de rosca roja. HBsAg diluido en tampón estabilizado con proteína. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

HRP-CONJUGADO: Líquido de color rojo en un frasco blanco con tapa de rosca roja. Anticuerpos Anti-HBs conjugados con peroxidasa de rábano picante. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

DIL. SPE

Código 9 (1x5ml por frasco)
preserv.0.1% ProClin™ 300

WASH. BUF. 20X

Código 1 (1x30ml por botella)
DILUIR ANTES DE USAR!
desarrollado en 1998-20

CROM. SOL. A

Código 2 (1x6ml por frasco)

CROM. SOL. B

Código 3 (1x6ml por frasco)

STOP. SOL.

Código 4 (1x6ml por frasco)

BOLSA DE PLASTICO CON CIERRE:

Para guardar las tiras sin utilizar

• PROSPECTO

• CUBIERTA PARA PLACAS

Para cubrir las placas durante la incubación y evitar la evaporación o contaminación de los pocillos.

DILUYENTE DE MUESTRA: Color verde en un frasco con tapón de rosca azul. Solución tampón que contiene proteína. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

TAMPÓN DE LAVADO: Líquido incoloro en una botella transparente con tapón de rosca blanco. Solución tampón que contiene surfactante. El concentrado se debe diluir en 1 a 20 con agua destilada / desionizada antes de su uso. Una vez diluido, se mantiene estable durante 1 semana a temperatura ambiente, o durante 2 semanas almacenado a 2-8°C.

SOLUCIÓN DE CROMÓGENO A: Líquido incoloro en un frasco blanco con tapa de rosca verde. Solución de peróxido de urea. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

SOLUCIÓN DE CROMÓGENO B: Líquido incoloro en un frasco negro con tapón de rosca negro. TMB (Tetrametil-bencidina), N, N-dimetilformamida. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

SOLUCIÓN DE PARADA: Líquido incoloro en un frasco blanco con tapón de rosca amarillo. Solución de ácido sulfúrico diluido (0.5M H2SO4). Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

1 unidad

1 copia

3 hojas

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Agua destilada o desionizada, guantes desechables y reloj automático, recipientes de desechos apropiados para materiales potencialmente contaminados, sistema de dispersión y/o pipeta, puntas de pipeta desechables, papel absorbente o paño limpio, incubadora seca o baño de agua, 37 ± 1 ° C, lector de placas, longitud de onda simple 450nm o longitud de onda dual 450/600 - 650nm, sistema de aspiración / lavado de micropocillos.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

- Recolección de muestras: No se requiere preparación especial del paciente. Recoga la muestra de acuerdo con la práctica normal del laboratorio. Se pueden usar especímenes de suero o plasma frescos con este ensayo. Permita que la sangre recolectada por venopunción se coagule naturalmente y completamente. Separe el suero / plasma del coágulo lo más pronto posible para evitar hemólisis de los RBC. Asegúrese de que los especímenes de suero estén claros y no estén contaminados por microorganismos. Cualquier material particulado visible en el espécimen debe eliminarse por centrifugación a 3000 RPM (revoluciones por minuto) durante 20 minutos a temperatura ambiente o por filtración.
- Se pueden probar muestras de plasma recogidas en EDTA, citrato de sodio o heparina, pero no se deben utilizar especímenes altamente lipémicos, icterémicos o hemolíticos, ya que pueden dar resultados falsos en el ensayo. No caliente las muestras inactivadas. Esto puede causar el deterioro del analito blanco. Los especímenes con contaminación microbiana visible nunca deben utilizarse.
- AID™ HBsAg ELISA está destinado ÚNICAMENTE para la prueba de muestras de suero o plasma individuales. No use el ensayo para muestras de cadáveres, saliva, orina u otros fluidos corporales, o sangre combinada (mixta).
- Transporte y almacenamiento: Almacene las muestras a 2-8 ° C. Los especímenes no requeridos para el ensayo dentro de una semana deben almacenarse congelados (-20 ° C o menos). Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Para el envío, los especímenes deben ser empaquetados y etiquetados de acuerdo con las regulaciones locales e internacionales existentes para el transporte de muestras clínicas y agentes etiológicos.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit se conservarán hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta y en el envase mientras se almacenan entre 2-8 ° C, no los congele. Para asegurar el máximo rendimiento de AID™ HBsAg ELISA, durante el almacenamiento, proteja los reactivos de la contaminación con microorganismos o productos químicos.

PRECAUCIONES Y SEGURIDAD

PARA SER UTILIZADO SÓLO POR PROFESIONALES CALIFICADOS
Los ensayos ELISA son sensibles al tiempo y la temperatura. Para evitar resultados incorrectos, siga estrictamente los pasos del procedimiento de prueba y no los modifique.

- No intercambie reactivos de diferentes lotes o use reactivos de otros kits disponibles comercialmente. Los componentes del kit se ajustan con precisión para un rendimiento óptimo de los ensayos.
- Asegúrese de que todos los reactivos estén dentro de la validez indicada en la caja del kit y sean del mismo lote. Nunca utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas o cajas.
- Deje que los reactivos y los especímenes alcancen la temperatura ambiente (18-30°C) antes de usarlos. Agite suavemente el reactivo antes de usarlo. Vuelva a 2-8°C inmediatamente después de su uso. Use sólo un volumen suficiente de muestra como se indica en los pasos del procedimiento. De no hacerlo, puede causar baja sensibilidad del ensayo.
- No toque el fondo exterior de los pocillos; huellas dactilares o arañazos pueden interferir con la lectura. Al leer los resultados, asegúrese de que el fondo de la placa esté seco y no haya burbujas de aire dentro de los pocillos.
- Nunca permita que los pocillos de microplaca se sequen después del paso de lavado. Continúe inmediatamente con el siguiente paso. Evite la formación de burbujas de aire al añadir los reactivos.
- Evite interrupciones prolongadas de los pasos del ensayo. Asegure las mismas condiciones de trabajo para todos los pocillos.
- Calibre la pipeta con frecuencia para asegurar la precisión de la dispersión de muestras / reactivos. Utilice diferentes puntas de pipeta de eliminación para cada muestra y reactivos para evitar la contaminación cruzada.
- Asegúrese de que la temperatura de incubación es de 37°C dentro de la incubadora.
- Cuando agregue especímenes, no toque la parte inferior del pocillo con la punta de la pipeta.
- Cuando mida con un lector de placas, determine la absorbancia a 450 nm o a 450/600 - 650 nm.
- La actividad enzimática del HRP conjugado puede verse afectada por el polvo y sustancias químicas reactivas y sustancias como hipoclorito de sodio, ácidos, álcalis, etc. No realice el ensayo en presencia de estas sustancias.

- Si utiliza equipo totalmente automatizado, durante la incubación, no cubra las placas con la cubierta. También puede omitir la extracción de los restos dentro de la placa después del lavado.
- Todos los especímenes de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos. La estricta observancia de las normas CLP (Buenas Prácticas de Laboratorio) puede garantizar la seguridad personal. **ADVERTENCIA:** Los materiales de origen humano pueden haber sido utilizados en la preparación del Control Negativo del kit. Estos materiales han sido probados con kits de pruebas con desempeño aceptable y se encontraron negativos para HBsAg y anticuerpos contra HIV 1/2, HCV, TP. Sin embargo, no existe un método analítico que pueda asegurar que los agentes infecciosos en los especímenes o reactivos estén completamente ausentes. Por lo tanto, manipule reactivos y especímenes con extrema precaución como si fueran capaces de transmitir enfermedades infecciosas. Se han utilizado sueros derivados de bovinos para estabilizar los controles positivos y negativos. La albúmina de suero bovino (BSA) y los sueros de tenebra fetal (FCS) derivan de animales procedentes de zonas libres de EEB/TSE.
- Nunca coma, beba, fume o aplique cosméticos en el laboratorio de análisis. Nunca pipeteo soluciones con la boca.
- Los productos químicos sólo deben manipularse y eliminarse de acuerdo con las actuales GLP (Buenas Prácticas de Laboratorio) y las regulaciones locales o nacionales.
- Las puntas de la pipeta, los frascos, las frías y los recipientes de muestras deben recogerse y esterilizarse en autoclave durante no menos de 2 horas a 121 ° C o tratarse con hipoclorito de sodio al 10% durante 30 minutos para descontaminar antes de cualquier otra etapa de esterilización. Las soluciones que contienen hipoclorito de sodio NUNCA deben ser esterilizadas en autoclave. La Ficha de Datos de Seguridad de Materiales (FDSM) se encuentra disponible bajo petición.
- Algunos reactivos pueden causar toxicidad, irritación, quemaduras o tener efectos cancerígenos como materias primas. Evite el contacto con la piel y/o mucosa pero no limite a los siguientes reactivos: Solución de parada, los cromógenos y el tampón de lavado.
- La Solución de Parada 0.5M H2SO4 es un ácido. Utilícelo con el cuidado apropiado. Limpie los derrames inmediatamente y lave con agua si entra en contacto con la piel o los ojos.
- ProClin™ 300 0.1% utilizado como conservante, puede causar irritación de la piel. Limpie los derrames inmediatamente y lave con agua si entra en contacto con la piel o los ojos.

INDICACIONES DE INESTABILIDAD Y DETERIORO DEL REACTIVO: Los valores de los controles Positivo o Negativo, que están fuera del rango de control de calidad indicado, son indicadores de posible deterioro de los reactivos y / o errores del operador o del equipo. En tal caso, los resultados deben considerarse no válidos y las muestras deben volverse a analizar. En caso de resultados erróneos constantes y deterioro comprobado o inestabilidad de los reactivos, sustituya inmediatamente los reactivos por uno nuevo o póngase en contacto con el soporte técnico de Wantai para obtener asistencia adicional.



Advertencia:
H317, P280, P333+P313, P363
ProClin™ 300



Peligro:
H360D, P201, P280, P308+P313
N,N-dimetilformamida

PROCEDIMIENTO

Preparación de Reactivos: Permita que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-30°C). Verifique el concentrado de tampón de lavado para detectar la presencia de cristales de sal. Si se han formado cristales, vuelva a solubilizar calentando a 37°C hasta que los cristales se disuelvan. Diluir el tampón de lavado (20X) como se indica en las instrucciones para el lavado. Use agua destilada o desionizada y sólo limpie los recipientes para diluir el tampón. Todos los demás reactivos ESTÁN LISTOS PARA USAR COMO SE SUMINISTRAN.

- Paso 1** Preparación: Marque tres pocillos como Control Negativo (ej. B1, C1, D1), dos pocillos como Control Positivo (ej. E1, F1) y un espacio en blanco (ej. A1, ningún espécimen ni HRP-Conjugado debe añadirse al pocillo en Blanco). Si los resultados se determinarán utilizando un lector de placas de longitud de onda dual, se podrá omitir el requisito de uso del pocillo en blanco. Utilice sólo el número de tiras necesarias para la prueba.
- Paso 2** Adición de Diluyente: Añada 20µl de diluyente de muestras en cada pocillo, excepto en el blanco.
- Paso 3** Adición de muestras: Añada 100µl de control positivo, control negativo y muestras en sus respectivos pocillos, excepto en el espacio en blanco. Nota: Utilice una punta de pipeta de eliminación diferente para cada muestra, control negativo, control positivo o para evitar la contaminación cruzada. Mezcle tocando suavemente la placa.
- Paso 4** Incubación: Cubra la placa con la cubierta e incube a 37°C por 60 minutos.
- Paso 5** Adición de HRP-Conjugado: Al final de la incubación, remueva y descarte la cubierta. Añada 50µl de HRP-Conjugado en cada pocillo excepto el blanco, y mezcle tocando suavemente la placa.
- Paso 6** Incubación: Cubra la placa con la cubierta e incube a 37°C por 30 minutos.
- Paso 7** Lavado: Al final de la incubación, retire y deseche la cubierta de la placa. Lave cada pocillo 5 veces con tampón de lavado diluido. Permita que los micropocillos se empañen durante 30-60 segundos cada vez. Después del ciclo de lavado final, ponga boca abajo la placa sobre un paño seco o un paño limpio y golpee suavemente para eliminar cualquier residuo.
- Paso 8** Coloreado: Añada 50µl Solución de Cromógeno A y luego 50 µl de Solución de Cromógeno B en cada pocillo incluyendo el Blanco, mezcle suavemente. Incube la placa a 37°C durante 30 minutos evitando la luz. La reacción enzimática entre las soluciones de cromógeno y el HRP conjugado produce color azul en el control positivo y en los pocillos de muestras positivas para HBsAg.
- Paso 9** Detener la reacción: Utilizando una pipeta multicanal o manualmente, añada 50 µl de solución de parada en cada pocillo y mezcle suavemente. El color amarillo intenso se desdora en el control positivo y en los pocillos de muestras positivas para HBsAg.
- Paso 10** Medición de la Absorbancia: Calibre el lector de placas con el pocillo en blanco y lea la absorbancia a 450nm. Si se utiliza un instrumento de filtro dual, establezca la longitud de onda de referencia a 600-650nm. Calcule el valor de corte y evalúe los resultados. (Nota: Lea la absorbancia dentro de los 10 minutos posteriores a detener la reacción).

INSTRUCCIONES PARA EL LAVADO

- Un buen procedimiento de lavado es esencial para obtener datos analíticos confiables y precisos.



CROMOION S.R.L.
OSCAR A. GARCIA
SOCIO-GERENTE

CROMOION S.R.L.
Farm. Cecilia A. Annabaldini
M.P. 15593 • M.N. 13795
Innovación Técnica

- Por lo tanto, se recomienda utilizar una lavadora de microplacas ELISA de buena calidad, manteniendo al mejor nivel de rendimiento de lavado. En general, no menos de 5 ciclos de lavado automático de 350-400 µl/pocillo son suficientes para evitar reacciones positivas falsas y alto background.
- Para evitar contaminaciones cruzadas de la placa con el espécimen o el HRP-conjugado, después de la incubación, no descarte el contenido de los pocillos, sino que permita que la lavadora de placas lo aspire automáticamente.
- Asegúrese de que los canales de dispensación de líquidos de la lavadora de microplacas no estén bloqueados o contaminados y que se suministre un volumen suficiente de tampón de lavado en los pocillos cada vez.
- En caso de lavado manual, sugerimos llevar a cabo 5 ciclos de lavado, dispersando 350-400 µl/pocillo y aspirando el líquido 5 veces. Si se observan malos resultados (alto background), aumente los ciclos de lavado o el tiempo de remojo por pocillo.
- En cualquier caso, el líquido aspirado de las tiras debe tratarse con una solución de hipoclorito de sodio a una concentración final de 2,5% durante 24 horas, antes de desecharlos de manera apropiada.
- El tampón de lavado concentrado debe diluirse 1:20 antes de usar. Si se utiliza menos de una placa entera, proporcione el volumen proporcional de solución.

CONTROL DE CALIDAD Y CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Cada microplaca debe considerarse por separado al calcular e interpretar los resultados del ensayo, independientemente del número de placas procesadas simultáneamente. Los resultados se calculan restando cada valor de absorbancia de muestra (A) con el valor de corte (C.O.) de la placa. Si la lectura de corte se basa en un lector de placa de filtro úrico, los resultados deben calcularse restando el valor del pocillo blanco (A) de los valores del informe impreso de muestras y controles. En el caso de que la lectura se base en un lector de placa de filtro dual, no restar el valor del pocillo blanco (A) de los valores del informe impreso de los especímenes y controles.

Cálculo del valor de corte (C.O.) = $Nc + 0.06$

(Nc = el valor de absorbancia medio para tres controles negativos).

Control de calidad (validación del ensayo): Los resultados de la prueba son válidos si se cumplen los criterios de control de calidad. Se recomienda que cada laboratorio establezca un sistema de control de calidad apropiado con material de control de calidad similar o idéntico al espécimen de paciente que se analiza.

- El valor A del pocillo blanco, que contiene sólo Cromógeno y Solución de Parada, es < 0.080 a 450nm.
- Los valores A del Control Positivo deben ser ≥ 0.800 a 450/600-650nm o a 450nm después del blanking.
- Los valores A del Control Negativo deben ser ≤ 0.100 a 450/600-650nm o a 450nm después del blanking.

Si uno de los valores del control negativo A no cumple con los criterios de control de calidad, debe descartarse y volver a calcular el valor medio utilizando los dos valores restantes. Si más de un valor de control negativo A no cumple con las especificaciones del rango de control de calidad, la prueba no es válida y debe repetirse.

Ejemplo:

1. Control de Calidad

Valor A del pocillo Blanco: A1 = 0.025 a 450nm (Nota: el blanking solo es necesario cuando se lee con un solo filtro a 450nm).

| | | | |
|--|-------|-------|-------|
| Pocillo No.: | B1 | C1 | D1 |
| Valores del Control Negativo A después del blanking: | 0.020 | 0.012 | 0.016 |

| | | |
|--|-------|-------|
| Pocillo No.: | E1 | F1 |
| Valores del Control Positivo A después del blanking: | 2.421 | 2.369 |

Todos los valores de control están dentro del rango de control de calidad indicado

2. Cálculo de Nc = $(0.020 + 0.012 + 0.016) = 0.016$

3. Cálculo del Corte: (C.O.) = $0.016 + 0.06 = 0.076$

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

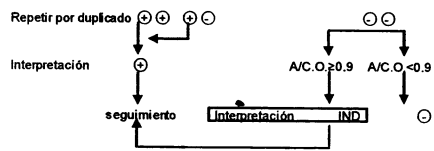
Resultados Negativos (A / C.O. < 1): Los especímenes que dan absorbancia menor que el valor de corte son negativos para este ensayo, lo que indica que no se han detectado anticuerpos o antígeno de superficie del virus de la hepatitis B con AID™ HBsAg ELISA, por lo tanto el paciente probablemente no está infectado con VHB y la unidad de sangre no contiene el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y podría transfundirse en caso de que otros marcadores de enfermedades infecciosas también estén ausentes.

Resultados Positivos (A / C.O. ≥ 1): Los especímenes que dan una absorbancia igual o mayor que el valor de corte se consideran inicialmente reactivos, lo que indica que el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B probablemente ha sido detectado usando AID™ HBsAg ELISA. Todos los especímenes inicialmente reactivos deben volver a examinarse por duplicado usando AID™ HBsAg ELISA antes de la interpretación final de los resultados del ensayo. Las muestras reactivas repetidas pueden considerarse positivas para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B con AID™ HBsAg ELISA.

Borderline (A / C.O. = 0.9-1.1): Los especímenes con absorbancia a la relación de corte entre 0.9 and 1.1 se consideran borderline y se requiere repetir el ensayo de estos especímenes en duplicado para confirmar los resultados iniciales.

Se requiere el seguimiento, la confirmación y las pruebas complementarias de cualquier muestra positiva a otro sistema analítico (ej. PCR). El diagnóstico clínico no debe establecerse en base a un solo resultado de la prueba. Debe integrarse datos clínicos y de otro tipo y hallazgos de laboratorio.

INTERPRETACIÓN Y SEGUIMIENTO DE RESULTADOS INICIALES TODAS LAS MUESTRAS INICIALMENTE REACTIVAS O LÍMITE



IND = no interpretable

-Si después de un nuevo ensayo de los especímenes inicialmente reactivos, ambos pocillos dan resultados negativos (A/C.O. < 0.9), estos especímenes deben considerarse positivos no repetibles (o falsos positivos) y registrarse como negativos. Como con muchos ensayos ELISA muy sensibles, pueden producirse resultados positivos falsos debido a las diversas razones, la mayoría de las cuales están relacionadas con, pero no limitadas a, una etapa de lavado inadecuada. Para obtener más información sobre la Solución de Problemas de Wantai ELISA, consulte la "Guía de Solución de Problemas ELISA" de Wantai.

-Si después de repetirla prueba en duplicado, uno o ambos pocillos son resultados positivos, el resultado final de esta prueba ELISA debe ser registrado como repetidamente reactivo. Las muestras repetidamente reactivas podrían considerarse positivas para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, por lo tanto el paciente probablemente está infectado con VHB y la unidad de sangre debe ser descartada.

-Después de repetir el ensayo por duplicado, los especímenes con valores cercanos al valor de corte deben interpretarse con precaución y considerarse como espécimen de caso "borderline", o no interpretables al momento de la prueba.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONALIDAD

Los estudios de evaluación llevados a cabo en el Paul Ehrlich Institut (PEI), el Instituto de la Cruz Roja Alemana Baden-Württemberg - Hessen, y tres bancos de sangre en China, demostraron las siguientes características de funcionalidad del AID™ HBsAg ELISA.

Especificidad: Cuando se evaluó en donantes de sangre europeos (n = 5038), la especificidad diagnóstica global del kit fue del 99.78%. Durante la evaluación multicéntrica en China, el AID™ HBsAg ELISA demostró una especificidad del 99.92%.

| Laboratorio | Número | AID™ HBsAg ELISA | | Especificidad |
|--------------------------|--------------|------------------|----------|---------------|
| | | - | + | |
| Banco de sangre Xiamen | 1958 | 1955 | 3 | 99.85% |
| Banco de sangre Hubei | 2518 | 2516 | 2 | 99.92% |
| Banco de sangre Zhejiang | 6344 | 6340 | 4 | 99.94% |
| Total | 10820 | 10811 | 9 | 99.92% |

Sensibilidad: Se evaluó la sensibilidad del AID™ HBsAg ELISA en 22 paneles de seroconversión del VHB comercialmente disponibles del VHB y en 403 HBsAg positivos, incluyendo 146 HBsAg del VHB genotipo y muestras de plasma suabido HBsAg disponibles en el Paul Ehrlich Institut. Con respecto a la sensibilidad de la seroconversión, los resultados del AID™ HBsAg ELISA en los 22 paneles de seroconversión del VHB mostraron un nivel de sensibilidad al menos equivalente al rango actual de los análisis de detección de HBsAg con marcado CE para los que PEI contiene datos. 10 paneles de seroconversión adicionales fueron probados internamente. La sensibilidad a la seroconversión fue comparable a otras pruebas de detección de HBsAg marcadas con CE. Con respecto a la sensibilidad diagnóstica, AID™ HBsAg ELISA detectó todas las muestras positivas como positivas, incluidos los genotipos del VHB, subtipos A-F o HBsAg examinados.

En conclusión, el puntaje general de AID™ HBsAg ELISA para la sensibilidad de la seroconversión fue comparable con otras kits de prueba de HBsAg con marcado CE para los que PEI contiene datos y todos los 403 especímenes positivos de HBsAg fueron reactivos dando una sensibilidad total de 100%.

Sensibilidad analítica: 0.11 IU/ml (NBSC 00588)

Especificidad analítica: No se observó interferencia con las muestras de pacientes con alto factor reumático y la mujer embarazada. El mismo día y las muestras congeladas se han probado para verificar la no interferencia debido a la recolección y el almacenamiento. Total de 100 muestras reactivas para anti-Hbc, anti-VHC y anti-VH-I se analizaron para HBsAg con AID™ HBsAg ELISA. 98 de cada 100 muestras fueron negativas para HBsAg. 200 muestras de sangre de pacientes también se analizaron con AID™ HBsAg ELISA. 191 de 200 muestras tuvieron resultados de screening negativos para HBsAg. 8 de cada 9 muestras con resultados de screening reactivos iniciales tuvieron resultados repetidos de la prueba reactiva con AID™ HBsAg ELISA, pero el virus de la hepatitis B no se confirmó en todos los casos.

Detección de mutaciones: Se analizó un panel de 108 muestras recogidas por la Universidad de Xiamen (Xiamen, China) y secuenciadas mediante PCR para demostrar el rendimiento de la ELISA HBsAg AID™ en la detección de mutaciones de HBsAg. Los resultados se muestran en la tabla a continuación:

| Background | Número | AID™ HBsAg ELISA |
|---------------|------------|------------------|
| adr (+) | 35 | 33 |
| 4 mutaciones | 5 | 4 |
| adw (+) | 37 | 34 |
| 16 mutaciones | 25 | 24 |
| ayw (+) | 2 | 2 |
| 2 mutaciones | 2 | 2 |
| ayr (+) | 2 | 2 |
| 2 mutaciones | 2 | 2 |
| Total | 108 | 101 |

LIMITACIONES

- Los resultados positivos deben confirmarse con otro método disponible e interpretarse conjuntamente con la información clínica del paciente.
- Los antígenos pueden ser indetectables durante la fase temprana de la enfermedad. Por lo tanto, los resultados negativos obtenidos con AID™ HBsAg ELISA son sólo indicación de que la muestra no contiene niveles detectables de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y cualquier resultado negativo no debe considerarse como evidencia concluyente de que el individuo no está infectado con VHB o la unidad de sangre no está infectada con VHB.
- Si después de volver a probar los especímenes inicialmente reactivos, los resultados del ensayo son negativos, estos especímenes deben considerarse como no repetibles (falsos positivos) e interpretados como negativos. Al igual que con muchos ensayos ELISA muy sensibles, pueden producirse resultados positivos falsos debido a diversas razones, la mayoría de las cuales están relacionadas pero no limitadas a un lavado inadecuado. Para obtener más información sobre la Solución de problemas de Wantai ELISA, consulte la "Guía de solución de problemas" de Wantai ELISA, o póngase en contacto con el soporte técnico de Wantai para obtener más ayuda.
- Los errores de ensayo más comunes son: uso de kits más allá de la fecha de caducidad, malos procedimientos de lavado, reactivos contaminados, pasos de procedimiento de ensayo incorrectos, insuficiencia de aspiración durante el lavado, falta en la adición de muestras o reactivos, funcionamiento incorrecto del equipo de laboratorio, errores en el tiempo, uso de especímenes altamente hemolizados o muestras que contienen fibrina, muestras de suero incompletamente coaguladas.
- La prevalencia del marcador afectará los valores predictivos del ensayo.
- Este ensayo no puede utilizarse para probar el suero o plasma combinado (mezclado). AID™ HBsAg ELISA se ha evaluado sólo con muestras de suero o plasma individuales.
- AID™ HBsAg ELISA es un ensayo cualitativo y los resultados no pueden usarse para medir la concentración de antígenos.

REFERENCIAS

- Stevens, C. E., P. E. Taylor, and M. J. Tong. 1988. Viral hepatitis and liver disease. Alan R. Liss, New York, N.Y. 142.
- Stevens, C. E., P. E. Taylor, M. J. Tong, P. T. Toy, G. N. Vyas, P. V. Nair, J. Y. Weissman, and S. Krugman. 1987. Yeast-recombinant hepatitis B vaccine. Efficacy with hepatitis B immune globulin in prevention of perinatal hepatitis B virus transmission. JAMA 257:2612-2616.
- Stevens, C. E., P. T. Toy, P. E. Taylor, T. Lee, and H. Y. Yip. 1992. Prospects for control of hepatitis B virus infection: implications of childhood vaccination and long term protection. Pediatrics 90(Suppl.):170-173.
- Hurie, M. B., E. Mast, and J. P. Davis. 1992. Horizontal transmission of hepatitis B virus infection to U.S. born children of Hmong refugees. Pediatrics 89:269-273.
- Szmuness, W., C. E. Stevens, E. J. Halsey, E. A. Zang, W. R. Gesko, D. C. Williams, R. Sadovsky, J. M. Morison, and A. Kellner. 1980. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in a controlled trial in a high risk population in the U.S. N. Eng. J. Med. 303:833-841.
- Bhanagar, P. K., E. Pappas, H. E. Blum, D. R. Mich, D. Ntceki, M. J. Kardis, and G. N. Vyas. 1982. Immune response to synthetic peptide analogues of hepatitis B surface antigen specific for the a determinant. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:4400-4404.

RESUMEN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL KIT

Utilice este resumen sólo como referencia y siga siempre la hoja de métodos completa al realizar el ensayo.

Nota: los componentes de los kits individuales no son intercambiables por lotes.

| | | |
|----------------------------|----------|--------|
| 1. Placa de Microplato | Código 5 | uno |
| 2. Control Negativo | Código 8 | 1x1ml |
| 3. Control Positivo | Código 7 | 1x1ml |
| 4. HRP-Conjugado | Código 6 | 1x6ml |
| 5. Diluyente de Muestra | Código 9 | 1x5ml |
| 6. Tampón de lavado | Código 1 | 1x30ml |
| 7. Solución de Cromógeno A | Código 2 | 1x6ml |
| 8. Solución de Cromógeno B | Código 3 | 1x6ml |
| 9. Solución de Parada | Código 4 | 1x6ml |

RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO DE ENSAYO:

Utilice este resumen sólo como referencia y siga siempre la hoja de métodos detallada al realizar el ensayo.

| | |
|----------------------------|-------------------------|
| Añada diluyente de muestra | 20µl |
| Añada muestra | 100µl |
| Incube | 60 minutos |
| Añada HRP-Conjugado | 50µl |
| Incube | 30 minutos |
| Lave | 5 veces |
| Coleórese | 50µl A + 50µl B |
| Incube | 30 minutos |
| Detenga la reacción | 50µl solución de parada |
| Léa la absorbancia | 450nm a 450/600-650nm |

EJEMPLO DE ESQUEMA DE DISTRIBUCIÓN DE CONTROLES / ESPECÍMENES:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|--------|----|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | Blanco | S3 | | | | | | | | | | |
| B | Neg. | | | | | | | | | | | |
| C | Neg. | | | | | | | | | | | |
| D | Neg. | | | | | | | | | | | |
| E | Pos. | | | | | | | | | | | |
| F | Pos. | | | | | | | | | | | |
| G | S1 | | | | | | | | | | | |
| H | S2 | | | | | | | | | | | |

SÍMBOLOS DE MARCADO CE:

| | | | |
|------------|---|---------------|-----------------------------------|
| IVD | Dispositivo Médico de Diagnóstico In Vitro | | Condiciones de Almacenamiento |
| | Usar antes de | LOT | Lote |
| | Contenido Suficiente para pruebas $n \geq 1$ | | Instrucciones de Uso |
| CE | Marcado CE - IVDD 98/79/EC | CE REP | Representante Autorizado de la EU |
| REF | Número de Catálogo | | Fabricante |

Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.
No. 31 Keueyuan Road, Changping Distrit, Beijing 102206, China
Tel: +86-10-59528888, Fax: +86-10-89705649
Sitio Web: www.wstwt.com
Email: wtxport@stwt.com

CE REP Qarad b.v. b.a.
Cijpalstraat 3, B-2140 Geel, Bélgica
Email: qarad@qarad.com



CROMIOJANS, P. J. OSCARA A. GARCIA SOCIO GERENTE

CROMIOJANS, P. J. Farm. Cecilia A. Ampudia M.P. 15553 • A.N. 10795 Dirección Técnica

Diagnóstico del virus de la Hepatitis B de Wantai

AiD™ HBsAg ELISA

Kit de diagnóstico para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (ELISA)

REF WB-12480

V. 2016-01 [Eng.]

480

IVD

Lea el prospecto completa y cuidadosamente antes de realizar el ensayo. Siga las instrucciones y no las modifique. Sólo mediante el cumplimiento estricto de estas instrucciones, se pueden evitar los resultados erróneos y se logra el rendimiento óptimo del AiD™ HBsAg ELISA.

USO PREVISTO

AiD™ HBsAg ELISA es un ensayo inmunoadsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección cualitativa de HBsAg en suero o plasma humano. Está destinado a la detección de donantes de sangre y al diagnóstico de pacientes relacionados con la infección por el virus de la hepatitis B.

RESUMEN

El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus de ADN bicatenario con envoltura que pertenece a la familia Hepadnaviridae y se reconoce como la principal causa de hepatitis transmitida por la sangre junto con el virus de la hepatitis C (VHC). La infección con VHB induce un espectro de manifestaciones clínicas que van desde una enfermedad leve e inaparente hasta hepatitis fulminante, enfermedades hepáticas crónicas graves, que en algunos casos pueden conducir a cirrosis y carcinoma de hígado. La clasificación de una infección de hepatitis B requiere la identificación de varios marcadores serológicos expresados durante tres fases (incubación, aguda y convalescente) de la infección. Ahora se utilizan varias pruebas de diagnóstico para la detección, el diagnóstico clínico y el tratamiento de la enfermedad. El antígeno de superficie de la hepatitis B o HBsAg, previamente descrito como antígeno de Australia, es la proteína más importante de la envoltura del virus de la hepatitis B. El antígeno de superficie contiene el determinante "a", común a todos los subtipos virales conocidos y se distingue inmunológicamente en dos subgrupos distintos (ay y ad). El VHB tiene 10 serotipos principales y se han reconocido cuatro subtipos de HBsAg (adw, ady, ayw y ayr). El HBsAg se puede detectar de 2 a 4 semanas antes de que los niveles de ALT se vuelvan anormales y de 3 a 5 semanas antes de que aparezcan los síntomas. La detección serológica de HBsAg es un método poderoso para el diagnóstico y la prevención de la infección por VHB y ELISA se ha convertido en un sistema analítico ampliamente utilizado para el screening de donantes de sangre y el diagnóstico clínico de VHB en individuos infectados.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Para la detección de HBsAg, AiD™ HBsAg ELISA utiliza un método de ELISA "sándwich" de anticuerpos en el que las tiras de pocillos de poliestireno están recubiertas previamente con anticuerpos monoclonales específicos para HBsAg. La muestra de suero o plasma del paciente se agrega a los micropocillos. Durante la incubación, el inmunocomplejo específico formado en caso de presencia de HBsAg en la muestra, se captura en la fase sólida. A continuación, el segundo anticuerpo conjugado con la enzima peroxidasa de rábano picante (el conjugado de HRP) dirigido contra un epítipo diferente de HBsAg se agrega a los pocillos. Durante la segunda etapa de incubación, estos anticuerpos conjugados con HRP se unirán a cualquier complejo anti-HBsAg-HBsAg formado previamente durante la primera incubación, y el conjugado de HRP no unido se eliminará luego mediante lavado. Las soluciones de cromógeno que contienen tetrametil-bencidina (TMB) y peróxido de urea se agregan a los pozos. En presencia del inmunocomplejo "sándwich" de anticuerpo-antígeno-anticuerpo (HRP), los cromógenos incoloros se hidrolizan mediante el conjugado de HRP unido a un producto de color azul. El color azul se vuelve amarillo después de detener la reacción con ácido sulfúrico. La cantidad de intensidad de color se puede medir y es proporcional a la cantidad de antígeno capturado en los pocillos, y a su cantidad en la muestra, respectivamente. Los pozos que contienen muestras negativas para HBsAg permanecen incoloros.

COMPONENTES

IVD Sólo para uso diagnóstico In Vitro

Este kit contiene reactivos suficientes para la prueba de un máximo de 455 muestras.

PLACA
Código 5 (5x96 pocillos)
8x12 (12x8 pocillos por placa)

CONTROL -
Código 8 (3 x1ml por frasco)
preserv. 0.1% ProClin™ 300

CONTROL +
Código 7 (3 x1ml por frasco)
preserv. 0.1% ProClin™ 300

HRP - CON
Código 6 (5 x8ml por frasco)
preserv. 0.1% ProClin™ 300

PLACA DE MICROPOCILLO: Tiras de micropocillos en blanco fijadas en el soporte de tiras blancas. La placa se sella en una bolsa de aluminio con desecante. Cada pocillo contiene anticuerpos monoclonales reactivos al HBsAg (anti-HBs). Las tiras de micropocillos se pueden romper para usar por separado. Coloque los pocillos o tiras no utilizados en la bolsa de plástico de almacenamiento provista junto con el desecante y vuelva a colocarlos a 2-8°C. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

CONTROL NEGATIVO: Líquido amarillento en un frasco con tapa de rosca verde. HBsAg diluido en tampón estabilizado con proteína. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

CONTROL POSITIVO: Líquido de color rojo en un frasco con tapa de rosca roja. HBsAg diluido en tampón estabilizado con proteína. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

HRP-CONJUGADO: Líquido de color rojo en un frasco blanco con tapa de rosca roja. Anticuerpos Anti-HBs conjugados con peroxidasa de rábano picante. Listo para usar según lo provisto. Una vez abierto, se mantiene estable durante 4 semanas a 2-8°C.

DIL SPE
Código 9 (5 x5ml por frasco)
preserv. 0.1% ProClin™ 300

WASH BUF 20X
Código 1 (2 x100ml por botella)
DILUIR ANTES DE USAR!
detergente a 20x

CROM SOL A
Código 2 (1x60 ml por frasco)

CROM SOL B
Código 3 (1x60 ml por frasco)

STOP SOL
Código 4 (1x60 ml por frasco)

- BOLSA DE PLASTICO CON CIERRE: Para guardar las tiras sin utilizar 5 unidades
- PROSPECTO 1 copia
- CUBIERTA PARA PLACAS 15 hojas

Para cubrir las placas durante la incubación y evitar la evaporación o contaminación de los pocillos.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

Agua destilada o desionizada, guantes desechables y reloj automático, recipientes de desechos apropiados para materiales potencialmente contaminados, sistema de dispensación y / o pipeta, puntas de pipeta desechables, papel absorbente o paño limpio, incubadora seca o baño de agua, 37 ± 1 ° C, lector de placas, longitud de onda simple 450nm o longitud de onda dual 450/600 - 650nm, sistema de aspiración / lavado de micropocillos.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

1. **Recolección de muestras:** No se requiere preparación especial del paciente. Recoja la muestra de acuerdo con la práctica normal de laboratorio. Se pueden usar especímenes de suero o plasma frescos con este ensayo. Permita que la sangre recolectada por venopunción se coagule natural y completamente. Separe el suero / plasma del coágulo lo más pronto posible para evitar hemólisis de los RBC. Asegúrese de que los especímenes de suero estén claros y no estén contaminados por microorganismos. Cualquier material particulado visible en el espécimen debe eliminarse por centrifugación a 3000 RPM (revoluciones por minuto) durante 20 minutos a temperatura ambiente o por filtración.
2. **Se pueden probar muestras de plasma recogidas en EDTA, citrato de sodio o heparina, pero no se deben utilizar especímenes altamente lipémicos, icterémicos o hemolíticos, ya que pueden dar resultados falsos en el ensayo. No caliente las muestras inactivadas. Esto puede causar el deterioro del análisis blanco. Los especímenes con contaminación microbiana visible nunca deben utilizarse.**
3. **AiD™ HBsAg ELISA está destinado ÚNICAMENTE para la prueba de muestras de suero o plasma individuales. No use el ensayo para muestras de cadáveres, saliva, orina u otros fluidos corporales, o sangre combinada (mixta).**
4. **Transporte y almacenamiento:** Almacene las muestras a 2-8 ° C. Los especímenes no requeridos para el ensayo dentro de una semana deben almacenarse congelados (-20 ° C o menos). Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Para el envío, los especímenes deben ser empaquetados y etiquetados de acuerdo con las regulaciones locales e internacionales existentes para el transporte de muestras clínicas y agentes etiológicos.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit se conservarán hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta y en el envase mientras se almacenen entre 2-8 ° C, no los congele. Para evitar el máximo rendimiento de AiD™ HBsAg ELISA durante el almacenamiento, proteja los reactivos de la contaminación con microorganismos o productos químicos.

PRECAUCIONES Y SEGURIDAD

PARA SER UTILIZADO SÓLO POR PROFESIONALES CALIFICADOS. Los ensayos ELISA son sensibles al tiempo y la temperatura. Para evitar resultados incorrectos, siga estrictamente los pasos del procedimiento de prueba y no los modifique.

1. No intercambie reactivos de diferentes lotes o use reactivos de otros kits disponibles comercialmente. Los componentes del kit se ajustan con precisión para un rendimiento óptimo de los ensayos.
2. Asegúrese de que todos los reactivos estén dentro de la validez indicada en la caja del kit y sean del mismo lote. Nunca utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas o cajas.
3. **Deje que los reactivos y los especímenes alcancen la temperatura ambiente (18-30°C) antes de usarlos. Agite suavemente el reactivo antes de usarlo. Vuelva a 2-8°C inmediatamente después de su uso. Use sólo un volumen suficiente de muestra como se indica en los pasos del procedimiento. De no hacerlo, puede causar baja sensibilidad del ensayo.**
4. No toque el fondo exterior de los pocillos; huellas dactilares o arañazos pueden interferir con la lectura. Al leer los resultados, asegúrese de que el fondo de la placa esté seco y no haya burbujas de aire dentro de los pocillos.
5. Nunca permita que los pocillos de microplaca se sequen después del paso de lavado. Continúe inmediatamente con el siguiente paso. Evite la formación de burbujas de aire al añadir los reactivos.
6. Evite interrupciones prolongadas de los pasos del ensayo. Asegure las mismas condiciones de trabajo para todos los pocillos.
7. Calibre la pipeta con frecuencia para asegurar la precisión de la dispensación de muestras / reactivos. Utilice diferentes puntas de pipeta de eliminación para cada muestra y reactivos para evitar la contaminación cruzada.
8. Asegúrese de que la temperatura de incubación es de 37 ° C dentro de la incubadora.
9. Cuando agregue especímenes, no toque la parte inferior del pocillo con la punta de la pipeta.
10. Cuando mida con un lector de placas, determine la absorbancia a 450 nm o a 450/600 - 650 nm.
11. La actividad enzimática del HRP conjugado puede verse afectada por el polvo y sustancias químicas reactivas y sustancias como hipoclorito de sodio, ácidos, álcalis, etc. No realice el ensayo en presencia de estas sustancias.

13. Si utiliza equipo totalmente automatizado, durante la incubación, no cubra las placas con la cubierta. También puede omitir la extracción de los restos dentro de la placa después del lavado.
14. Todos los especímenes de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos. La estricta observancia de las normas GLP (Buenas Prácticas de Laboratorio) puede garantizar la seguridad personal.
15. **ADVERTENCIA:** Los materiales de origen humano pueden haber sido utilizados en la preparación del Control Negativo del kit. Estos materiales han sido probados con kits de pruebas con desempeño aceptable y se encontraron negativos para HBsAg y anticuerpos contra HIV 1/2, HCV, TP. Sin embargo, no existe un método analítico que pueda asegurar que los agentes infecciosos en los especímenes o reactivos estén completamente ausentes. Por lo tanto, manipule reactivos y especímenes con extrema precaución como si fueran capaces de transmitir enfermedades infecciosas. Se han utilizado sueros derivados de bovinos para estabilizar los controles positivos y negativos. La albúmina de suero bovino (BSA) y los sueros de ternera fetal (FCS) derivan de animales procedentes de zonas libres de EEB TSE.
16. Nunca coma, beba, fume o aplique cosméticos en el laboratorio de análisis. Nunca pipete soluciones con la boca.
17. Los productos químicos sólo deben manipularse y eliminarse de acuerdo con las actuales GLP (Buenas Prácticas de Laboratorio) y las regulaciones locales o nacionales.
18. Las puntas de la pipeta, los frascos, las tiras y los recipientes de muestras deben recogerse y esterilizarse en autoclave durante no menos de 2 horas a 121 ° C o tratarse con hipoclorito de sodio al 10% durante 30 minutos para descontaminar antes de cualquier otra etapa de eliminación. Las soluciones que contienen hipoclorito de sodio NUNCA deben ser esterilizadas en autoclave. La Ficha de Datos de Seguridad de Materiales (FDSM) se encuentra disponible bajo petición.
19. Algunos reactivos pueden causar toxicidad, irritación, quemaduras o tener efectos cancerígenos como materias primas. Evite el contacto con la piel y la mucosa pero no limite a los siguientes reactivos: Solución de parada, los cromógenos y el tampón de lavado.
20. La Solución de Parada 0.5M H₂SO₄ es un ácido. Útilcelo con el cuidado apropiado. Limpie los derrames inmediatamente y lave con agua si entra en contacto con la piel o los ojos.
21. ProClin™ 300 0.1% utilizado como conservante, puede causar irritación de la piel. Limpie los derrames inmediatamente y lave con agua si entra en contacto con la piel o los ojos.

INDICACIONES DE INESTABILIDAD Y DETERIORO DEL REACTIVO: Los valores de los controles Positivo o Negativo, que están fuera del rango de control de calidad indicado, son indicadores de posible deterioro de los reactivos y / o errores del operador o del equipo. En tal caso, los resultados deben considerarse no válidos y las muestras deben volverse a analizar. En caso de resultados erróneos constantes y deterioro comprobado o inestabilidad de los reactivos, sustituya inmediatamente los reactivos por uno nuevo o póngase en contacto con el soporte técnico de Wantai para obtener asistencia adicional.



Advertencia:
H317, P280, P333+P313, P363
ProClin™ 300



Peligro:
H360D, P201, P280, P308+P313
N,N-dimetilformamida

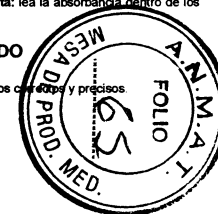
PROCEDIMIENTO

Preparación de Reactivos: Permita que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-30°C). Verifique el concentrado de tampón de lavado para detectar la presencia de cristales de sal. Si se han formado cristales, vuelva a solubilizar calentando a 37°C hasta que los cristales se disuelvan. Diluir el tampón de lavado (20X) como se indica en las instrucciones para el lavado. Use agua destilada o desionizada y sólo limpie los recipientes para diluir el tampón. Todos los demás reactivos ESTÁN LISTOS PARA USAR COMO SE SUMINISTRAN.

- Paso 1** **Preparación:** Marque tres pocillos como Control Negativo (ej. B1, C1, D1), dos pocillos como Control Positivo (ej. E1, F1) y un espacio en blanco (ej. A1, ningún espécimen ni HRP-Conjugado debe añadirse al pocillo en Blanco). Si los resultados se determinarán utilizando un lector de placas de longitud de onda dual, se podría omitir el requisito de uso del pocillo en blanco. Utilice sólo el número de tiras necesarias para la prueba.
- Paso 2** **Adición de Diluyente:** Añada 20µl de diluyente de muestras en cada pocillo, excepto en el blanco.
- Paso 3** **Adición de muestras:** Añada 100µl de control positivo, control negativo y muestras en sus respectivos pocillos, excepto en el espacio en blanco. Nota: Utilice una punta de pipeta de eliminación diferente para cada muestra, control negativo, control positivo para evitar la contaminación cruzada. Mezcle tocando suavemente la placa.
- Paso 4** **Incubación:** Cubra la placa con la cubierta e incube a 37°C por 60 minutos.
- Paso 5** **Adición de HRP-Conjugado:** Al final de la incubación, remueva y descarte la cubierta. Añada 50µl de HRP-Conjugado en cada pocillo excepto el blanco, y mezcle tocando suavemente la placa.
- Paso 6** **Incubación:** Cubra la placa con la cubierta e incube a 37°C por 30 minutos.
- Paso 7** **Lavado:** Al final de la incubación, retire y deseche la cubierta de la placa. Lave cada pocillo 5 veces con tampón de lavado diluido. Permita que los micropocillos se empañen durante 30-60 segundos cada vez. Después del ciclo de lavado final, ponga boca abajo la placa sobre un papel secante o un paño limpio y golpéela suavemente para eliminar cualquier residuo.
- Paso 8** **Coloreado:** Añada 50µl Solución de Cromógeno A y luego 50 µl de Solución de Cromógeno B en cada pocillo incluyendo el blanco, mezcle suavemente. Incube la placa a 37°C durante 30 minutos evitando la luz. La reacción enzimática entre las soluciones de cromógeno y el HRP-conjugado produce color azul en el control positivo y en los pocillos de muestras positivas para HBsAg.
- Paso 9** **Detener la reacción:** Utilizando una pipeta multicanal o manualmente, añada 50 µl de solución de parada en cada pocillo y mezcle suavemente. El color amarillo intenso se desarrolla en el control positivo y en los pocillos de muestras positivas para HBsAg.
- Paso 10** **Medición de la Absorbancia:** Calibre el lector de placas con el pocillo en blanco y lea la absorbancia a 450nm. Si se utiliza un instrumento de filtro dual, establezca la longitud de onda de referencia a 600-650nm. Calcule el valor de corte y evalúe los resultados. (Nota: lea la absorbancia dentro de los 10 minutos posteriores a detener la reacción).

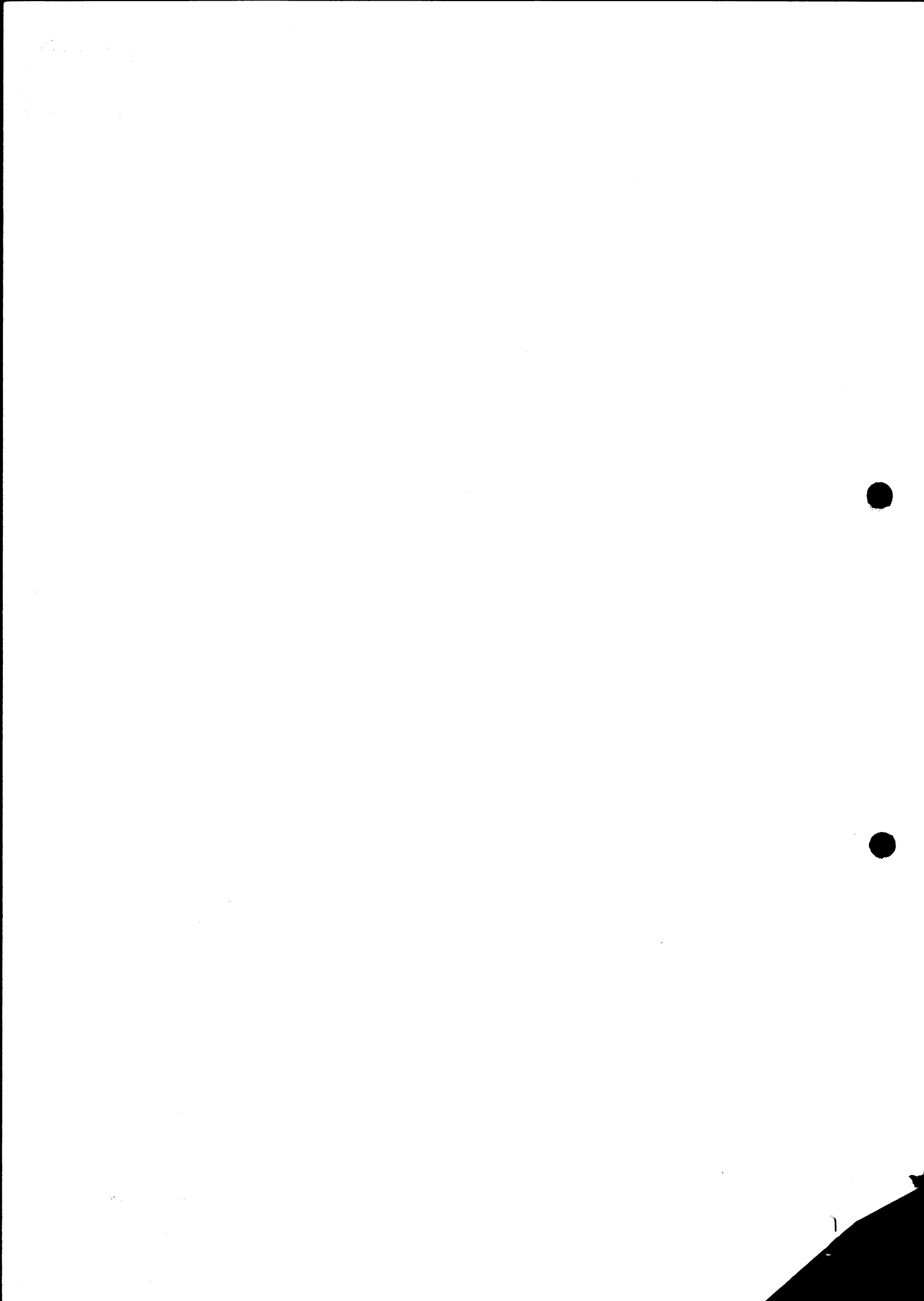
INSTRUCCIONES PARA EL LAVADO

1. Un buen procedimiento de lavado es esencial para obtener datos analíticos correctos y precisos.



CROMOION S.R.L.
OSCAR A. GARCIA
SOBRO GERENTE

CROMOION S.R.L.
Farm. Cecilia A. Amadori
Tel. 15539 * AN. 18795
Laboración Técnica



REFERENCIAS

- Stevens, C. E., P. E. Taylor, and M. J. Tong. 1988. Viral hepatitis and liver disease. Alan R. Riss, New York, N.Y. 142.
- Stevens, C. E., P. E. Taylor, M. J. Tong, P. T. Toy, G. N. Vyas, P. V. Nair, J. Y. Weissman, and S. Krugman. 1987. Yeast-recombinant hepatitis B vaccine. Efficacy with hepatitis B immune globulin in prevention of perinatal hepatitis B virus transmission. JAMA 257:2612-2616.
- Stevens, C. E., P. T. Toy, P. E. Taylor, T. Lee, and H. Y. Yip. 1992. Prospects for control of hepatitis B virus infection: implications of childhood vaccination and long term protection. Pediatrics 90(Suppl.):170-173.
- Hurie, M. B., E. E. Mast, and J. P. Davis. 1992. Horizontal transmission of hepatitis B virus infection to U.S. born children of Hmong refugees. Pediatrics 89:269-273.
- Szmuness, W., C. E. Stevens, E. J. Harley, E. A. Zang, W. R. Olesko, D. C. Williams, R. Sadovsky, J. M. Morrison, and A. Kellner. 1980. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in a controlled trial in a high risk population in the U.S. N. Engl. J. Med. 303:833-841.
- Bhatnagar, P. K., E. Pappas, H. E. Blum, D. R. Milich, D. N. Krecki, M. J. Karels, and G. N. Vyas. 1982. Immune response to synthetic peptide analogues of hepatitis B surface antigen specific for the a determinant. Proc Natl. Acad. Sci. USA 79:4400-4404.

RESUMEN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL KIT:

Utilice este resumen sólo como referencia y siga siempre la hoja de métodos completa al realizar el ensayo. Nota: los componentes de los kits individuales no son intercambiables por lotes.

| | | |
|----------------------------|----------|-----------|
| 1. Placa de Micropocillo | Código 5 | cinco |
| 2. Control Negativo | Código 8 | 3x1ml |
| 3. Control Positivo | Código 7 | 3x1ml |
| 4. HRP-Conjugado | Código 6 | 5x5ml |
| 5. Diluyente de Muestra | Código 9 | 5x5ml |
| 6. Tampon de lavado | Código 1 | 2 x 100ml |
| 7. Solución de Cromógeno A | Código 2 | 1x60ml |
| 8. Solución de Cromógeno B | Código 3 | 1x60ml |
| 9. Solución de Parada | Código 4 | 1x60ml |

RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO DE ENSAYO:

Utilice este resumen sólo como referencia y siga siempre la hoja de métodos detallada al realizar el ensayo.

| | |
|----------------------------|-------------------------|
| Añada diluyente de muestra | 20µl |
| Añada muestra | 100µl |
| Incube | 30 minutos |
| Añada HRP-Conjugado | 50µl |
| Incube | 30 minutos |
| Lave | 5 veces |
| Colórese | 50µl A + 50µl B |
| Incube | 30 minutos |
| Detenga la reacción | 50µl solución de parada |
| Léa la absorbancia | 450nm ó 450/600-650nm |

EJEMPLO DE ESQUEMA DE DISTRIBUCIÓN DE CONTROLES / ESPECÍMENES:

| | | | | | | | | | | | | |
|---|--------|-----|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| A | Blanco | S3 | | | | | | | | | | |
| B | Neg. | ... | | | | | | | | | | |
| C | Neg. | ... | | | | | | | | | | |
| D | Neg. | ... | | | | | | | | | | |
| E | Pos. | ... | | | | | | | | | | |
| F | Pos. | ... | | | | | | | | | | |
| G | S1 | | | | | | | | | | | |
| H | S2 | | | | | | | | | | | |

SÍMBOLOS DE MARCADO CE:

| | | | |
|--|--|--|-----------------------------------|
| | Dispositivo Médico de Diagnóstico In Vitro | | Condiciones de Almacenamiento |
| | Vitro | | +2°C → +8°C |
| | Usar antes de | | Lote |
| | Contenido Suficiente para pruebas <n> | | Instrucciones de Uso |
| | Marcado CE – IVDD 98/79/EC | | Representante Autorizado de la EU |
| | Número de Catálogo | | Fabricante |

Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.
No.31 Kexueyuan Road, Changping District, Beijing 102206, China
Tel: +86-10-59528888, Fax: +86-10-89705849
Sitio Web: www.ystwt.com
Email: wlexport@ystwt.com

Qarad b.v.b.a.
Cipalstraat 3, B-2440 Geel, Bélgica
Email: qarad@qarad.com



- Por lo tanto, se recomienda utilizar una lavadora de microplacas ELISA de buena calidad, manteniendo el mejor nivel de rendimiento de lavado. En general, no menos de 5 ciclos de lavado automático de 350 mm por pocillo son suficientes para evitar reacciones positivas falsas y alto background.
- Para evitar contaminaciones cruzadas de la placa con el espécimen o el HRP-conjugado, después de la incubación, no descarte el contenido de los pocillos, sino que permita que la lavadora de placas lo aspire automáticamente.
- Asegúrese de que los canales de dispensación de líquidos de la lavadora de microplacas no estén bloqueados o contaminados y que se suministre un volumen suficiente de tampón de lavado en los pocillos cada vez.
- En caso de lavado manual, sugerimos llevar a cabo 5 ciclos de lavado, dispensando 350-400µl/pocillo y aspirando el líquido 5 veces. Si se observan malos resultados (alto background), aumente los ciclos de lavado o el tiempo de remojo por pocillo.
- En cualquier caso, el líquido aspirado de las tiras debe tratarse con una solución de hipoclorito de sodio a una concentración final de 2,5% durante 24 horas, antes de desecharlos de manera apropiada.
- El tampón de lavado concentrado debe diluirse 1:20 antes de usar. Si se utiliza menos de una placa entera, prepare el volumen proporcional de solución.

CONTROL DE CALIDAD Y CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Cada microplaca debe considerarse por separado al calcular e interpretar los resultados del ensayo, independientemente del número de placas procesadas simultáneamente. Los resultados se calculan relacionando cada valor de absorbancia de muestra (A) con el valor de corte (C.O.) de la placa. Si la lectura de corte se basa en un lector de placa de filtro único, los resultados deben calcularse restando el valor del pocillo blanco A de los valores del informe impreso de muestras y controles. En el caso de que la lectura se base en un lector de placa de filtro dual, no restar el valor del pocillo blanco A de los valores del informe impreso de los especímenes y controles.

Cálculo del valor de corte (C.O.): $Nc \div 0.06$
(Nc = el valor de absorbancia medio para tres controles negativos)

Control de calidad (validación del ensayo): Los resultados de la prueba son válidos si se cumplen los criterios de control de calidad. Se recomienda que cada laboratorio establezca un sistema de control de calidad apropiado con material de control de calidad similar o idéntico al espécimen de paciente que se analiza.

- El valor A del pocillo blanco, que contiene sólo Cromógeno y Solución de Parada, es < 0.080 a 450nm.
- Los valores A del Control Positivo deben ser ≥ 0.800 a 450/600-650nm o a 450nm después del blanking.
- Los valores A del Control Negativo deben ser ≤ 0.100 a 450/600-650nm o a 450nm después del blanking.

Si uno de los valores del control negativo A no cumple con los criterios de control de calidad, debe descartarse y volver a calcular el valor medio utilizando los dos valores restantes. Si más de un valor de control negativo A no cumple con las especificaciones del rango de control de calidad, la prueba no es válida y debe repetirse.

Ejemplo:

| | | | |
|---|-------|-------|-------|
| Control de Calidad | | | |
| Valor A del pocillo Blanco: A1=0.025 a 450nm (Nota: el blanking solo es necesario cuando se lee con un solo filtro a 450nm) | | | |
| Pocillo No.: | B1 | C1 | D1 |
| Valores del Control Negativo A después del blanking: | 0.020 | 0.012 | 0.016 |
| Pocillo No.: | E1 | F1 | |
| Valores del Control Positivo A después del blanking: | 2.421 | 2.369 | |
| Todos los valores de control están dentro del rango de control de calidad indicado | | | |

2. Cálculo de Nc: $= (0.020+0.012+0.016) \div 3 = 0.016$

3. Cálculo del Corte (C.O.): $= 0.016 \div 0.06 = 0.016$

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

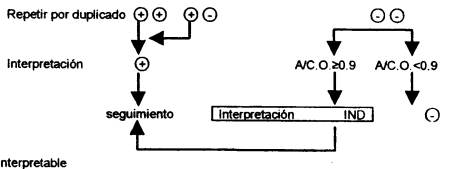
Resultados Negativos (A / C.O. < 1): Los especímenes que dan absorbancia menor que el valor de corte son negativos para este ensayo, lo que indica que no se han detectado anticuerpos o antígeno de superficie del virus de la hepatitis B con AID™ HBsAg ELISA, por lo tanto el paciente probablemente no está infectado con VHB y la unidad de sangre no contiene el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y podría transfundirse en caso de que otros marcadores de enfermedades infecciosas también estén ausentes.

Resultados Positivos (A / C.O. ≥ 1): Los especímenes que dan una absorbancia igual o mayor que el valor de corte se consideran inicialmente reactivos, lo que indica que el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B probablemente ha sido detectado usando AID™ HBsAg ELISA. Todos los especímenes inicialmente reactivos deben volver a examinarse por duplicado usando AID™ HBsAg ELISA antes de la interpretación final de los resultados del ensayo. Las muestras reactivas repetidas pueden considerarse positivas para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B con AID™ HBsAg ELISA.

Borderline (A / C.O. = 0.9-1.1): Los especímenes con absorbancia a la relación de corte entre 0.9 and 1.1 se consideran borderline y se requiere repetir el ensayo de estos especímenes en duplicado para confirmar los resultados iniciales.

Se requiere el seguimiento, la confirmación y las pruebas complementarias de cualquier muestra positiva con otro sistema analítico (ej. PCR). El diagnóstico clínico no debe establecerse en base a un solo resultado de la prueba. Debe integrarse datos clínicos y de otro tipo y hallazgos de laboratorio.

**INTERPRETACIÓN Y SEGUIMIENTO DE RESULTADOS INICIALES
TODAS LAS MUESTRAS INICIALMENTE REACTIVAS O LÍMITE**



-Si después de un nuevo ensayo de los especímenes inicialmente reactivos, ambos pocillos dan resultados negativos (A/C.O. < 0.9), estos especímenes deben considerarse positivos no repetibles (o falsos positivos) y registrarse como negativos. Como con muchos ensayos ELISA muy sensibles, pueden producirse resultados positivos falsos debido a las diversas razones, la mayoría de las cuales están conectadas con, pero no limitadas a, una etapa de lavado inadecuada. Para obtener más información sobre la Solución de Problemas de Wantai ELISA, consulte la "Guía de Solución de Problemas ELISA" de Wantai.

-Si después de repetir la prueba en duplicado, uno o ambos pocillos son resultados positivos, el resultado final de esta prueba ELISA debe ser registrado como repetidamente reactivo. Las muestras repetidamente reactivas podrían considerarse positivas para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, por lo tanto el paciente probablemente está infectado con VHB y la unidad de sangre debe ser descartada.

-Después de repetir el ensayo por duplicado, los especímenes con valores cercanos al valor de corte deben interpretarse con precaución y considerarse como espécimen de caso "borderline", o no interpretables al momento de la prueba.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONALIDAD

Los estudios de evaluación llevados a cabo en el Paul-Ehrlich-Institut (PEI), el Instituto de la Cruz Roja Alemana Baden-Württemberg – Hessen, y tres bancos de sangre en China, demostraron las siguientes características de funcionalidad del AID™ HBsAg ELISA.

Especificidad: Cuando se evaluó en donantes de sangre europeos (n = 5038), la especificidad diagnóstica global del kit fue del 99,78%. Durante la evaluación multicéntrica en China, el AID™ HBsAg ELISA demostró una especificidad del 99,92%.

| Laboratorio | Número | AID™ HBsAg ELISA | | Especificidad |
|--------------------------|--------|------------------|---|---------------|
| | | - | + | |
| Banco de sangre Xiamen | 1958 | 1955 | 3 | 99,85% |
| Banco de sangre Hubei | 2518 | 2516 | 2 | 99,92% |
| Banco de sangre Zhejiang | 6344 | 6340 | 4 | 99,94% |
| Total | 10820 | 10811 | 9 | 99,92% |

Sensibilidad: Se evaluó la sensibilidad del AID™ HBsAg ELISA en 22 paneles de seroconversión del VHB comercialmente disponibles del VHB y en 403 HBsAg positivos, incluyendo 146 HBsAg del VHB genotipo y muestras de plasma subtipo HBsAg disponibles en el Paul-Ehrlich-Institut. Con respecto a la sensibilidad de la seroconversión, los resultados del AID™ HBsAg ELISA en los 22 paneles de seroconversión del VHB mostraron un nivel de sensibilidad al menos equivalente al rango actual de los análisis de detección de HBsAg con marcado CE para los que PEI contiene datos. 10 paneles de seroconversión adicionales fueron probados internamente. La sensibilidad a la seroconversión fue comparable a otras pruebas de detección de HBsAg marcadas con CE. Con respecto a la sensibilidad diagnóstica, AID™ HBsAg ELISA detectó todas las muestras positivas como positivas, incluidos los genotipos del VHB, subtipos A-F o HBsAg examinados.

En conclusión, el puntaje general de AID™ HBsAg ELISA para la sensibilidad de la seroconversión fue comparable a otros kits de prueba de HBsAg con marcado CE para los que PEI contiene datos y todos los 403 especímenes positivos de HBsAg fueron reactivos dando una sensibilidad total de 100%.

Sensibilidad analítica: 0.1IU/ml (NIBSC 00/588)

Especificidad analítica: No se observó interferencia con las muestras de pacientes con alto factor reumatoide y la mujer embarazada. El mismo día y las muestras congeladas se han probado para verificar si hay interferencias debido a la recolección y el almacenamiento. Total de 100 muestras reactivas para anti-HBc, anti-VHC y anti-VIH-1 se analizaron para HBsAg con AID™ HBsAg ELISA. 98 de cada 100 muestras fueron negativas para HBsAg. 200 muestras de sangre de pacientes también se analizaron con AID™ HBsAg ELISA. 191 de 200 muestras tuvieron resultados de screening negativos para HBsAg. 8 de cada 9 muestras con resultados de screening reactivos iniciales tuvieron resultados repetidos de la prueba reactiva con AID™ HBsAg ELISA, pero el virus de la hepatitis B no se confirmó en todos los casos.

Detección de mutaciones: Se analizó un panel de 108 muestras recogidas por la Universidad de Xiamen (Xiamen, China) y secuenciadas mediante PCR para demostrar el rendimiento del ELISA HBsAg AID™ en la detección de mutaciones de HBsAg. Los resultados se muestran en la tabla a continuación:

| Background | Número | AID™ HBsAg ELISA |
|------------|------------------|------------------|
| adr (+) | wild type 35 | 33 |
| | 4 mutaciones 5 | 4 |
| adw (+) | wild type 37 | 34 |
| | 16 mutaciones 25 | 24 |
| ayw (+) | wild type 2 | 2 |
| | 2 mutaciones 2 | 2 |
| ayr (+) | 2 mutaciones 2 | 2 |
| Total | 108 | 101 |

LIMITACIONES

- Los resultados positivos deben confirmarse con otro método disponible e interpretarse conjuntamente con la información clínica del paciente.
- Los antígenos pueden ser indetectables durante la fase temprana de la enfermedad. Por lo tanto, los resultados negativos obtenidos con AID™ HBsAg ELISA son sólo indicación de que la muestra no contiene niveles detectables de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y cualquier resultado negativo no debe considerarse como evidencia concluyente de que el individuo no está infectado con VHB o la unidad de sangre no está infectada con VHB.
- Si después de volver a probar los especímenes inicialmente reactivos, los resultados del ensayo son negativos, estos especímenes deben considerarse como no repetibles (falsos positivos) e interpretados como negativos. Al igual que con muchos ensayos ELISA muy sensibles, pueden producirse resultados positivos falsos debido a diversas razones, la mayoría de las cuales están relacionadas pero no limitadas a un lavado inadecuado. Para obtener más información sobre la Solución de problemas de Wantai ELISA, consulte la "Guía de solución de problemas" de Wantai ELISA, o póngase en contacto con el soporte técnico de Wantai para obtener más ayuda.
- Los errores de ensayo más comunes son: uso de kits más allá de la fecha de caducidad, malos procedimientos de lavado, reactivos contaminados, pasos de procedimiento de ensayo incorrectos, insuficiencia de aspiración durante el lavado, falta en la adición de muestras o reactivos, funcionamiento incorrecto del equipo de laboratorio, errores en el tiempo, uso de especímenes altamente hemolizados o muestras que contengan fibrina, muestras de suero incompletamente coaguladas.
- La prevalencia del marcador afectará los valores predictivos del ensayo.
- Este ensayo no puede utilizarse para probar el suero o plasma combinado (mezclado). AID™ HBsAg ELISA se ha evaluado sólo con muestras de suero o plasma individuales.
- AID™ HBsAg ELISA es un ensayo cualitativo y los resultados no pueden usarse para medir la concentración de antígenos.

CRONOION S.R.L.
OSCAR AGUIAR
SOCIO GERENTE
CRONOION S.R.L.
 Farm. Cecilia A. Annabola
 N.º P. 16553 • ALN. 13795
 Fracción Técnica



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: 1-47-3110-8166-17-1 CROMONION SRL.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 13 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.02.11 11:11:37 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.02.11 11:11:38 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-47-3110-8166-17-1

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-3110-8166-17-1

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por CROMOION S.R.L., se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto para diagnóstico de uso in vitro con los siguientes datos característicos:

LABORATORIO: CROMOION S.R.L.

NOMBRE COMERCIAL: **AiD HBsAg ELISA.**

INDICACIÓN DE USO: ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO (ELISA) DESTINADO A LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE HBsAg EN MUESTRAS DE SUERO O PLASMA HUMANO.

FORMA DE PRESENTACIÓN: ENVASES POR 96 o 480 DETERMINACIONES, CONTENIENDO:

| | | |
|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| Reactivos | 96 determinaciones | 480 determinaciones |
| Placa de micropocillo | 1 x 96 pocillos | 5 x 96 pocillos |
| Control Negativo | 1 x 1 ml | 3 x 1 ml |

| | | |
|-------------------------|-----------|------------|
| Control positivo | 1 x 1 ml | 3 x 1 ml |
| HRP-Conjugada | 1 x 6 ml | 5 x 6 ml |
| Diluyente de muestra | 1 x 5 ml | 5 x 5 ml |
| Tampón de lavado | 1 x 30 ml | 2 x 100 ml |
| Solución de cromógeno A | 1 x 6 ml | 1 x 60 ml |
| Solución de cromógeno B | 1 x 6 ml | 1 x 60 ml |
| Solución de stop | 1 x 6 ml | 1x 60 m |

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: QUINCE (15) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8 °C.

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: BEIJING WANTAI BIOLOGICAL PHARMACY ENTERPRISE Co. Ltd. No. 31 Kexueyuan Road. Changping District, Beijing 102206.

(R.P. de CHINA).

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: Venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-908-160.

Expediente N° 1-47-3110-8166-17-1