



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN Nº

4719

BUENOS AIRES 12 JUN 2015

VISTO, el expediente nº 1-47-22370/12-0 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma BIOARS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado HBsAg One Version ULTRA / Ensayo inmunoenzimático de cuarta generación (ELISA) para la determinación del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) en plasma y suero humano.

Que a fs. 163 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

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

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley 16.463, Resolución Ministerial Nº 145/98 y Disposición A N M A T Nº 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Artículo 8º inciso 11) del Decreto Nº 1490/92 y 1886/14.

*Handwritten mark*

*Handwritten signature*



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN Nº 4719

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE  
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTICULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado HBsAg One Version ULTRA / Ensayo inmunoenzimático de cuarta generación (ELISA) para la determinación del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) en plasma y suero humano que será elaborado por DIA.PRO Diagnostic BioProbes S.r.l., Via G. Carducci. 27-20099- Sesto San Giovanni, Milan (ITALIA) e importado por BIOARS S.A. a expenderse en envases conteniendo VER ANEXO I, cuya composición se detalla a fojas 24 y 25 con un período de vida útil de 15 (QUINCE) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8°C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 41 a 52 y 125 a 151, desglosándose las fojas 41, 42, 47, 48 y 125 a 133 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA, se reserva el derecho de reexaminar los



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN Nº

4719

métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

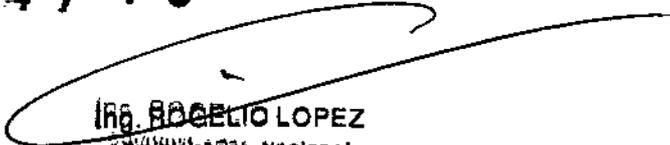
ARTICULO 5º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por Mesa de Entradas de la Dirección Nacional de Productos Médicos notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el Certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente nº: 1-47-22370/12-0.

DISPOSICIÓN Nº:

4719

av.

  
Ing. ROGELIO LOPEZ  
Administrador Nacional  
A.N.M.A.T.



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T.

"2015 - Año del Bicentenario del congreso de los Pueblos Libres"

## ANEXO I

Expediente N° 1-47-22370/12-0

### PRODUCTO:

HBsAg One Version ULTRA / ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO DE CUARTA GENERACIÓN (ELISA) PARA LA DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B (HBsAg) EN PLASMA Y SUERO HUMANO.

Determinaciones	96	192	480	960	192 cassette
Microplaca (MICROPLATE)	1	2	5	10	2
Control Negativo (CONTROL -)	2ml	4ml	10ml	20ml	4ml
Control Positivo (CONTROL +)	2ml	4ml	10ml	20ml	4ml
Calibrador (CAL)	1	2	5	10	2
Tampón de lavado conc. (WASH BUF 20X)	60ml	2x60ml	5x60ml	4x150ml	2x60ml
Diluyente del conjugado (CONJ DIL)	16ml	2x16ml	2x40ml	2x80ml	1x30ml
Conjugado Concentrado (CONJ 20X)	1x0,80ml	2x1ml	1x4ml	2x4ml	1x1,5ml

Cromógeno/Sustrato (SUBS TMB)	1x25ml	2x25ml	3x42ml	2x125ml	1x50ml
Ácido Sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1x15ml	1x25ml	2x40ml	2x80ml	1x25ml
Sellador adhesivo (unidades)	2	3	10	20	3
Contenedor para mezclar conjugado	-	-	-	-	1
Tapones	-	-	-	-	3

Ing. ROGELIO LOPEZ  
Administrador Nacional  
S.N.M.A.T.

Expediente nº: 1-47-22370/12-0.

DISPOSICIÓN Nº:

**4719**

av.



4719

ORIGINAL

# PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

PRODUCTO: HBsAg one Version ULTRA

❖ 96 test

12 JUN 2015

NO LOT C1T1/6 2011-06 2012-09 Σ = 96

**HBsAg one**  
Version ULTRA  
REF: SAG1ULTRA.CE.95

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl  
Via Corrida, 27 - 20139 Sesto San Giovanni (MI) Italy  
tel. +39 02 27007101 fax. +39 02 27007120  
http://www.dia.pro e-mail: info@dia.pro

HBsAg one - Version ULTRA  
Reagents/Reagentii/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

MICROPLATE	n° 1	LOT
CONTROL -	n° 1 ml 2	C1T1/6
CONTROL +	n° 1 ml 2	
CAL ....	n° 1 lyoph	
WASHBUF 20X	n° 1 ml 60	
CONJ 20X	n° 1 ml 0.8	
CONJ DIL	n° 1 ml 16	
SUBS TMB	n° 1 ml 25	CE
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.3 M	n° 1 ml 15	0318

❖ 192 tests

NO LOT C1T1/7 2011-07 2012-10 Σ = 192

**HBsAg one**  
Version ULTRA  
REF: SAG1ULTRA.CE

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl  
Via Corrida, 27 - 20139 Sesto San Giovanni (MI) Italy  
tel. +39 02 27007101 fax. +39 02 27007120  
http://www.dia.pro e-mail: info@dia.pro

HBsAg one - Version ULTRA  
Reagents/Reagentii/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

MICROPLATE	n° 2	LOT
CONTROL -	n° 1 ml 4	C1T1/7
CONTROL +	n° 1 ml 4	
CAL ....	n° 2 lyoph	
WASHBUF 20X	n° 2 ml 60	
CONJ 20X	n° 2 ml 1	
CONJ DIL	n° 2 ml 16	
SUBS TMB	n° 2 ml 25	CE
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.3 M	n° 1 ml 25	0318

❖ 480 tests

NO LOT C1T1/6 2011-06 2012-09 Σ = 480

**HBsAg one**  
Version ULTRA  
REF: SAG1ULTRA.CE.480

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl  
Via Corrida, 27 - 20139 Sesto San Giovanni (MI) Italy  
tel. +39 02 27007101 fax. +39 02 27007120  
http://www.dia.pro e-mail: info@dia.pro

HBsAg one - Version ULTRA  
Reagents/Reagentii/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

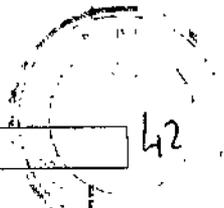
MICROPLATE	n° 5	LOT
CONTROL -	n° 1 ml 10	C1T1/6
CONTROL +	n° 1 ml 10	
CAL ....	n° 5 lyoph	
WASHBUF 20X	n° 5 ml 60	
CONJ 20X	n° 1 ml 4	
CONJ DIL	n° 2 ml 40	
SUBS TMB	n° 3 ml 42	CE
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.3 M	n° 2 ml 40	0318

HBsAg one Versión ULTRA Producto de Dia.Pro Diagnostic Bioprobes Srl

*Handwritten signature*

BU...  
.../CO

4719



❖ 960 tests

IVD LOT C1T1/7 2011-07 2012-10

**HBsAg one**  
Version ULTRA  
REF: SAG1ULTRA.CE.960

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl  
Via Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI-Italy)  
Tel.: +39 02 27007161 Fax: +39 02 24867724  
http://www.dia.pro.it e-mail: info@dia.pro.it

2°C min 37°C max

**HBsAg one - Version ULTRA**  
Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

MICROPLATE	n° 10	LOT
CONTROL -	n° 1 ml 20	C1T1/7
CONTROL +	n° 1 ml 20	
CAL ...	n° 10 lyoph	
WASHBUF 20X	n° 4 ml 150	
CONJ 20X	n° 2 ml 4	
CONJ DIL	n° 2 ml 80	
SUBS TMB	n° 2 ml 125	CE
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.3 M	n° 2 ml 80	0318

❖ 192.Cassette

IVD LOT C1T1/7 2011-07 2012-10

**HBsAg one**  
Version ULTRA  
DIA.BLOOD application  
REF: SAG1ULTRA.CE.DB

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl  
Via Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI-Italy) 2°C min  
Tel.: +39 02 27007161 Fax: +39 02 24867724  
http://www.dia.pro.it e-mail: info@dia.pro.it

2°C min 37°C max

**HBsAg one - Version ULTRA**  
Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

MICROPLATE	n° 2	LOT
CONTROL -	n° 1 ml 4	C1T1/1
CONTROL +	n° 1 ml 4	
CAL ...	n° 2 lyoph	
WASHBUF 20X	n° 2 ml 60	
CONJ 20X	n° 1 ml 1.5	
CONJ DIL	n° 1 ml 30	
SUBS TMB	n° 1 ml 50	CE
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.3 M	n° 1 ml 25	0318

Establecimiento Elaborador: Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l. Via G. Carducci, n° 27, 20099, Sesto San Giovanni, Milán, Italia.  
Establecimiento Importador BIOARS S.A. - Olleros 2537 - 1426 C.A.B.A.  
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028  
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°

HBsAg one Versión ULTRA Producto de Dia.Pro Diagnostic Bioprobes Srl

*[Handwritten signature]*

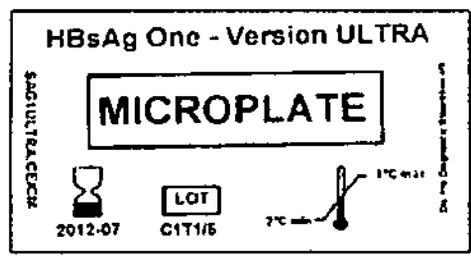
*[Handwritten signature]*  
BIO QUÍMICO  
DIRECTOR TÉCNICO

# PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

PRODUCTO: HBsAg one Version ULTRA

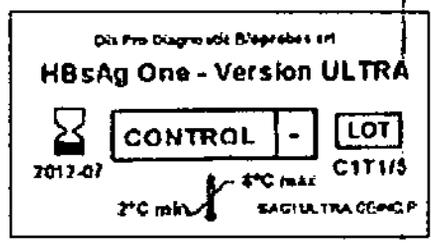
## MICROPLACA

(96, 192, 480, 960 TEST y 192 TEST, CASSETTE)

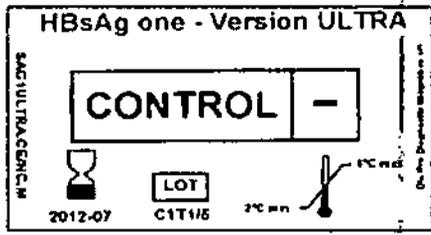


## CONTROL NEGATIVO

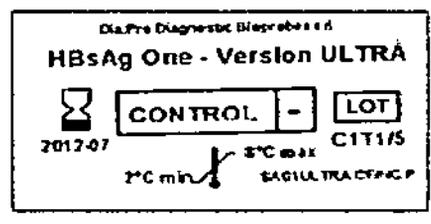
96 Y 192 TEST



480 y 960 TESTS

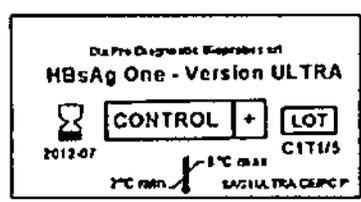


(192 TEST, CASSETTE)

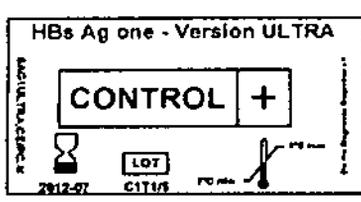


## CONTROL POSITIVO

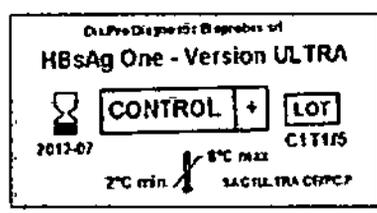
(96 Y 192 TESTS)



(480 y 960 TESTS)

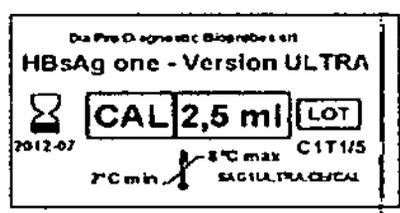


(192 TEST, CASSETTE)



## CALIBRADOR

(96, 192, 480, 960 TEST y 192 TEST, CASSETTE)

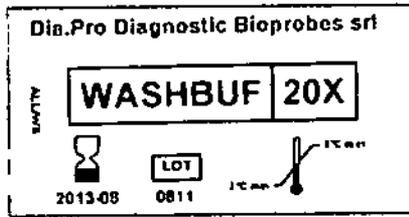


*[Handwritten signature]*  
 INGENIERO TECNICO



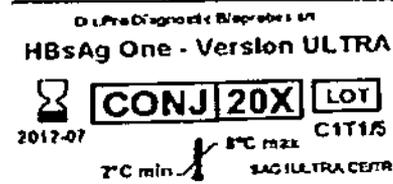
**TAMPÓN DE LAVADO CONCENTRADO**

(96, 192, 480, 960 TEST y 192 TEST, CASSETTE)



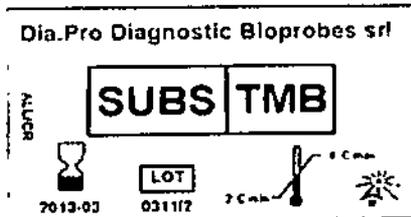
**CONJUGADO CONCENTRADO**

(96, 192, 480, 960 TEST y 192 TEST, CASSETTE)



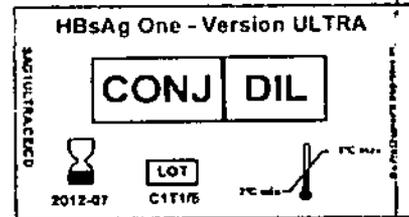
**CROMÓGENO/SUSTRATO**

(96, 192, 480, 960 TEST y 192 TEST, CASSETTE)



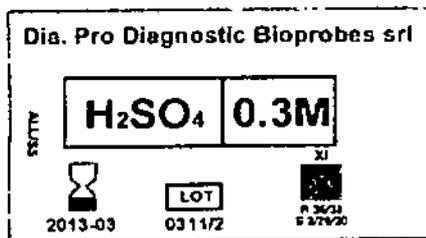
**DILUYENTE DE CONJUGADO**

(96, 192, 480, 960 TEST y 192 TEST, CASSETTE)



**ÁCIDO SULFÚRICO**

(96, 192, 480, 960 TEST y 192 TEST, CASSETTE)



Establecimiento Elaborador: Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l. Via G. Carducci, nº 27, 20099, Sesto San Giovanni, Milán, Italia.  
 Establecimiento Importador BIOARS S.A. - Olleros 2537 - 1426 C.A.B.A.  
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028  
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°

HBsAg one Version ULTRA, Producto de DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl

*Handwritten signature and stamp in the bottom right corner.*

4719



# HBsAg<sub>one</sub>

## Versión ULTRA

Ensayo inmunoenzimático de cuarta generación (ELISA) para la determinación de antígeno de superficie de la hepatitis B o HBsAg en plasma y suero humanos

- Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro"-



**DIA.PRO**

Diagnostic Bioprobes Srl  
Via G.Carducci n° 27  
20099 Sesto San Giovanni  
Milán - Italia

Teléfono +39 02 27007161

Fax +39 02 26007726

e-mail: [info@diapro.it](mailto:info@diapro.it)

REF SAG1ULTRA.CE  
96/192/480/960 pruebas

*Claudia Etcheves*  
BIOQS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TECNICO



1719

# HBsAg One versión ULTRA

## A. OBJETIVO DEL EQUIPO.

Ensayo inmunoenzimático de cuarta generación (ELISA) para la determinación en un paso del antígeno de superficie de la hepatitis B o HBsAg en plasma y suero humanos.

El equipo puede emplearse para el cribado en unidades de sangre, es capaz de detectar mutantes de HBsAg y puede aplicarse al seguimiento de pacientes infectados con HBV.

Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro".

## B. INTRODUCCIÓN.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la infección con virus de hepatitis B del siguiente modo:

"La Hepatitis B es una de las enfermedades más importantes que aquejan a la humanidad y constituye un problema de salud pública global. El término hepatitis significa inflamación del hígado y la causa más común es la infección por uno de los cinco virus, denominados A, B, C, D y E. Estos virus pueden causar una enfermedad aguda cuyos síntomas persisten por varias semanas, se caracterizan por el color amarillo de la piel y los ojos (ictericia); orina oscura; fatiga extrema; náuseas; vómitos y dolor abdominal. La recuperación puede tardar de varios meses a un año. Los virus de la Hepatitis son causantes de infecciones crónicas en las que el paciente nunca se libera del virus e incluso, años más tarde, desarrolla cirrosis hepática o cáncer de hígado.

El tipo más serio de hepatitis viral es la causada por el HBV, siendo el único tipo, de los que provocan infección crónica, para el cual existe una vacuna disponible. El virus de la Hepatitis B se transmite por contacto con sangre o fluidos corporales de personas infectadas, de la misma forma que el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), agente causal del SIDA. Sin embargo, el HBV es entre 50 y 100 veces más infeccioso que el HIV. Las principales vías de transmisión del HBV son: (a) vía perinatal (transmisión de madre a hijo durante el parto); (b) de niño a niño; (c) mediante inyecciones y transfusiones inseguras (d) por contacto sexual.

A nivel mundial, la mayor parte de las infecciones ocurre de madre infectada a hijo, de niño a niño en hogares y por la reutilización de agujas y jeringuillas sin previa esterilización. En muchos países en desarrollo, casi todos los niños se infectan con el virus. En muchos países desarrollados (Europa Occidental y Norteamérica), el patrón de transmisión es diferente. En estos países, la transmisión de madre a hijo y de niño a niño representaban cerca de un tercio de las infecciones crónicas antes de que se implantara el programa de vacunación infantil. Sin embargo, la mayoría de las infecciones en estos países se adquiere por la actividad sexual durante la adolescencia, y por el consumo de drogas inyectables. Por otra parte, el virus de la hepatitis B constituye el principal riesgo en el trabajo, dentro del colectivo de los profesionales de la salud, motivo por el cual se ha aplicado la vacunación para la protección de los mismos.

El virus de la hepatitis B no se trasmite por la comida o agua contaminadas, ni por contactos casuales en el ámbito laboral. En zonas del Este y Centro de Europa se han encontrado tasas elevadas de infección crónica por HBV. En el Asia Central y en regiones de la India, aproximadamente el 5% de la población está infectada de forma crónica, mientras que en Europa Occidental y Norteamérica, los índices son menores del 1%.

Los niños infectados con HBV, constituyen el grupo más susceptible a la infección crónica. Aproximadamente el 90% de los niños infectados durante el primer año de vida y entre el 30 y el 50% de los niños infectados entre 1 y 4 años, desarrollan este tipo de infección. La mortalidad por cáncer de hígado o cirrosis asociados al HBV es cerca del 25%, entre las personas que han adquirido la infección crónica en la niñez. En ciertos pacientes, la hepatitis B crónica es tratada con interferones o lamivudinas, lo cual puede ayudar en ocasiones. En algunos casos de cirrosis se han realizado trasplantes de hígado, pero el resultado ha sido variable. La prevención de esta enfermedad a través de la vacunación constituye la mejor opción.

La vacuna contra la Hepatitis B tiene índices de seguridad y eficacia demostrados. A partir de 1982, han sido administradas mundialmente alrededor de mil millones de dosis. Se aplica por vía intramuscular en series de tres dosis. Los estudios realizados demuestran un 95% de

eficacia en la prevención de la infección crónica en niños y adultos. En niños oscila entre 8% y 15%, se ha observado una reducción a menos del 1% en grupos de niños inmunizados. Desde 1991, la OMS ha hecho un llamamiento para la introducción de la vacuna contra la hepatitis B en todos los programas nacionales de vacunación.

El antígeno de superficie de la hepatitis B o HBsAg es la proteína más importante de la envoltura del virus, responsable de las hepatitis virales agudas y crónicas.

Contiene el determinante "a", común a todos los subtipos virales conocidos, dividido inmunológicamente en dos subgrupos distintos (ay y ad).

En los últimos años la posibilidad de detectar el HBsAg mediante inmunoensayos altamente sensibles, ha permitido comprender su distribución y epidemiología en el mundo así como la gran disminución del riesgo de infección por transfusiones.

## C. PRINCIPIOS DEL ENSAYO.

La superficie de los pocillos está recubierta con una mezcla de anticuerpos monoclonales de ratón específicos para los determinantes "a", "d" e "y" de HBsAg. El suero/plasma del paciente se adiciona al pocillo conjuntamente a una segunda mezcla de anticuerpos monoclonales de ratón conjugada con peroxidasa (HRP) y dirigido contra un epitopo diferente del determinante "a" y contra "preS".

El inmunocomplejo específico, formado en presencia del HBsAg de la muestra, queda capturado en la fase sólida.

Terminada la incubación de un solo paso, los pocillos son lavados para eliminar las proteínas séricas no ligadas y el conjugado HRP.

Después se añade el sustrato/ cromogénico, que en presencia del inmunocomplejo de HBsAg capturado, el sustrato incoloro es hidrolizado por el conjugado HRP unido, generando un producto final coloreado. Después de bloquear la reacción enzimática, su densidad óptica se mide en un lector ELISA.

La intensidad del color es proporcional a la cantidad de HBsAg presente en la muestra.

La versión ULTRA es especialmente idónea para cribados automatizados y es capaz de detectar mutantes "s".

## D. COMPONENTES.

La configuración estándar contiene reactivos suficientes para realizar 192 pruebas y está formada por los siguientes componentes:

### 1. Microplaca **MICROPLATE**

n° 2 12 tiras de 8 pocillos rompibles recubiertos con anticuerpos monoclonales de ratón, purificados por afinidad, anti HBsAg, específicos para determinantes "a", "y" y "d" en una bolsa sellada con desecante.

### 2. Control negativo **CONTROL-**

1x4.0 ml/vial. Listo para el uso. Contiene suero de cabra, tampón fosfato 10 mM pH 7.4 +/- 0.1, así como azida sódica 0.09% y Kathon GC 0.1% como conservantes. El control negativo está codificado con color amarillo pálido.

### 3. Control positivo **CONTROL+**

1x4.0 ml/vial. Listo para el uso. Contiene suero de cabra, HBsAg recombinante, no infeccioso, tampón fosfato 10 mM pH 7.4 +/- 0.1, además de sulfato de gentamicina 0.02% y Kathon GC 0.1% como conservantes. El control positivo está codificado con el color verde.

### 4. Calibrador **CAL ...**

n°2 viales. Calibrador liofilizado. Para disolver en agua calidad EtA como se indica en la etiqueta. Contiene suero fetal bovino, HBsAg recombinante no infeccioso a 0.5 IU/mL (2). Estándar internacional O.M.S. para HBsAg, NIBSC código

B

f

*Stevan Williams*  
BIOARS S.A.  
BIOQ CLAUDIA ETCHÉVEZ  
DIRECTOR TÉCNICO



00/588), tampón fosfato 10 mM pH 7.4 +/- 0.1, así como sulfato de gentamicina 0.02% y Kathon GC 0.1% como conservantes.  
**Nota: El volumen necesario para disolver el contenido del frasco varía en cada lote. Se recomienda usar el volumen indicado en la etiqueta.**

**5. Solución de lavado concentrada WASHBUF 20X**  
 2x60ml/botella. Solución concentrada 20X. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7.0 +/- 0.2, Tween 20 al 0.05% y Kathon GC al 0.05%.

**6. Diluyente de conjugado CONJ DIL**  
 2x16ml/vial. Listo para el uso y reactivo codificado con color rosa/rojo. Contiene tampón Tris 10mM a pH 6.8 +/- 0.1, 1% de suero de ratón normal, 5% de BSA, además 0.02% de sulfato de gentamicina y Kathon GC 0.1% como conservantes. La solución es normalmente opalescente.

**7. Conjugado CONJ 20X**  
 2x1ml/vial. Reactivo concentrado 20X. Contiene anticuerpos monoclonales de ratón anti HBsAg marcados con peroxidasa (HRP), determinante "a" y preS", tampón Tris 10 mM a pH 6.8 +/- 0.1, 5% BSA, Kathon GC 0.1% y sulfato de gentamicina 0.02% como conservantes.

**8. Cromógeno/substrato SUBS TMB**  
 2x25ml/botella. Contiene solución tamponada citrato-fosfato 50 mM a pH 3.5-3.8, dimetilsulfóxido 4%, tetra-metil-benzidina (TMB) 0.03% y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 0.02%.  
**Nota: Evitar la exposición a la luz, la sustancia es fotosensible.**

**9. Ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.3M**  
 1x25ml/botella. Contiene solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.3M  
**Nota: Atención: Irritante (Xi R36/38; S2/26/30)**

**12. Manual de instrucciones**

**Nota importante:**  
 A solicitud del cliente, Dia.Pro puede suministrar reactivos para 96, 480, 960 pruebas, como se describe a continuación:

Microplacas	Nº1	Nº5	Nº10
Control negativo	1x2ml/vial	1x10ml/vial	1x20 ml/vial
Control Positivo	1x2ml/vial	1x10ml/vial	1x20 ml/vial
Calibrador	Nº 1 vial	Viales n.º 5	Viales n.º 10
Solución de lavado concentrada	1x60ml/vial	5x60ml/vial	4x150ml/vial
Conjugado	1x0.8ml/vial	1x4ml/vial	2x4ml/vial
Diluyente de conjugado	1x16ml/vial	2x40ml/vial	2x80ml/vial
Cromógeno/substrato	1x25 ml/vial	3x42ml/vial	2x125ml/vial
Ácido Sulfúrico	1x15 ml/vial	2x40ml/vial	2x80ml/vial
Sellador adhesivo	Nº 2	Nº 10	Nº 20
Manual de instrucciones	Nº 1	Nº 1	Nº 1
Número de pruebas	96	480	960
Código SAGIULTRA.CE	.96	480	.960

**E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.**

1. Micropipetas calibradas (150, 100 y 50 µl) y puntas de plástico desechables.
2. Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para remover químicos oxidantes usados como desinfectantes).
3. Timer con un rango de 60 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.
5. Incubador termostático de microplacas ELISA (en seco o húmedo), capaz de agitar a 1300 rpm +/- 150, ajustado a +37°C.
6. Lector calibrado de microplacas de ELISA con filtros de 450nm (lectura) y de 620-630 nm.

7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Vórtex o similar.

**F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.**

1. El equipo debe ser usado por personal técnico adecuadamente entrenado, bajo la supervisión de un doctor responsable del laboratorio
2. Cuando el equipo se utiliza para el cribado de unidades de sangre y componentes sanguíneos, debe utilizarse en un laboratorio certificado y homologado por la autoridad nacional en ese campo (Ministerio de Sanidad o entidad similar) para realizar dicho tipo de análisis.
3. Todo el personal que participe en la realización de los ensayos deberá llevar la indumentaria protectora adecuada de laboratorio, guantes sin talco y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). El personal debe ser adiestrado en procedimientos de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
4. Todo el personal involucrado en el manejo de muestras debe estar vacunado contra HBV y HAV, para lo cual existen vacunas disponibles, seguras y eficaces.
5. Se debe controlar el entorno del laboratorio para evitar la contaminación por polvo o agentes microbianos en el aire al abrir los viales del equipo y las microplacas, así como durante la realización del ensayo. Evitar la exposición del cromógeno (TMB) a la luz y las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
6. Conservar el equipo a temperaturas entre 2-8 °C, en un refrigerador con temperatura regulada o en cámara fría.
7. No intercambiar componentes de diferentes lotes ni tampoco de diferentes equipos del mismo lote.
8. Comprobar que los reactivos no contengan precipitados ni agregados en el momento del uso. De darse el caso, informar al responsable para realizar el procedimiento pertinente y reemplazar el equipo.
9. Evitar contaminación cruzada entre muestras de suero/plasma usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
10. Evitar contaminación cruzada entre los reactivos del equipo usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
11. No usar el producto después de la fecha de vencimiento indicada en el equipo e internamente en los reactivos. En un estudio realizado con un equipo abierto no se ha detectado pérdida de actividad relevante utilizándolo hasta 6 veces y durante un período de hasta 6 meses.
12. Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras de suero humano deben ser manipuladas al nivel 2 de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
13. Se recomienda el uso de material plástico desechable para la preparación de las soluciones de lavado y para la transferencia de los reactivos a los diferentes equipos automatizados a fin de evitar contaminaciones cruzadas.
14. Los desechos producidos durante el uso del equipo deben ser eliminados según lo establecido por las directivas nacionales y las leyes relacionadas con el tratamiento de los residuos químicos y biológicos de laboratorio. En particular, los desechos líquidos provenientes del proceso de lavado deben ser tratados como potencialmente infecciosos y deben ser inactivados. Se recomienda la inactivación con lejía al 10% de 16 a 18 horas o el uso de la autoclave a 121°C por 20 minutos.
15. En caso de derrame accidental de algún producto, se debe utilizar papel absorbente embebido en lejía y posteriormente en agua. El papel debe eliminarse en contenedores designados para este fin en hospitales y laboratorios

*[Handwritten Signature]*  
 BIOARS S.A.  
 BIOU CLAUDIA ETCHEVEZ  
 DIRECTOR TÉCNICO



4719

16. La solución de parada es irritante. En caso de derrame, se debe lavar la superficie con abundante agua.  
17. Otros materiales de desecho generados durante la utilización del equipo (por ejemplo: puntas usadas en la manipulación de las muestras y controles, microplacas usadas) deben ser manipuladas como fuentes potenciales de infección de acuerdo a las directivas nacionales y leyes para el tratamiento de residuos de laboratorio.

**G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y RECOMENDACIONES.**

- 1. Extraer la sangre asépticamente por punción venosa y preparar el suero o plasma según la técnica estándar de los laboratorios de análisis clínico. No se ha detectado que el tratamiento con citrato, EDTA o heparina afecte las muestras.
- 2. Evitar la adición de conservantes a las muestras, en particular azida sódica, ya que podría afectar a la actividad enzimática del conjugado, generando resultados falsos negativos.
- 3. Las muestras deben ser identificadas claramente mediante código de barras o nombres, a fin de evitar errores en los resultados. Cuando el equipo se emplea para el cribado en unidades de sangre, se recomienda el uso del código de barras y la lectura electrónica.
- 4. Las muestras hemolizadas (color rojo) o lipémicas (aspecto lechoso) deben ser descartadas para evitar falsos resultados. al igual que aquellas donde se observe la presencia de precipitados, restos de fibrina o filamentos microbianos porque pueden dar lugar a falsos positivos. Las muestras con una vía de coagulación alterada, que presentan partículas tras la extracción y preparación de suero/plasma y las que proceden de pacientes hemodializados, pueden originar resultados falsos positivos.
- 5. Suero y plasma pueden conservarse hasta 7 días, a partir del momento de la extracción, a una temperatura entre 2 y 8°C. Para períodos de conservación más largos, las muestras pueden almacenarse a -20°C durante varios meses, evitando luego descongelar cada muestra más de una vez porque se pueden generar partículas que podrían afectar al resultado de la prueba. Si hay algo de turbidez o se sospecha de la presencia de micropartículas tras descongelar, filtrar la muestra en un filtro de 0.2-0.8µm desechable para limpiarla para las pruebas o usar el método alternativo de dos pasos.

**H. PREPARACIÓN DE LOS COMPONENTES Y PRECAUCIONES.**

Estudios de estabilidad realizados en equipos en uso no han arrojado pérdida de actividad significativa en un periodo de hasta 6 meses.

**1. Microplacas:**

Dejar la microplaca a temperatura ambiente (aprox 1 hora) antes de abrir el envase. Compruebe que el desecante no esté de color verde, lo que indicaría un defecto de conservación.  
De ser así, debe solicitar el servicio de Dia.Pro: atención al cliente.  
Las tiras de pocillos no utilizadas deben guardarse herméticamente cerradas en la bolsa de aluminio con el desecante a 2-8°C. Cuando se abre por primera vez, las tiras sobrantes se mantienen estables hasta que el indicador de humedad dentro de la bolsa del desecante cambia de amarillo a verde.

**2. Control negativo:**

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar.

**3. Control positivo:**

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar. control positivo no contiene ningún HBV infeccioso ya que se compone de HBsAg recombinante sintético.

**4. Calibrador:**

Añadir al polvo liofilizado, el volumen de agua de calidad ELISA indicado en la etiqueta; dejar disolver completamente y después mezclar cuidadosamente con el vórtex antes de usar. Una vez reconstituida, la solución no es estable. Se recomienda mantenerla congelada en alicuotas a -20°C.

**5. Solución de lavado concentrada:**

La solución concentrada 20x debe diluirse con agua de calidad EIA hasta 1200 ml y mezclarse suavemente antes del uso. Dado que pueden existir algunos cristales de sal en el vial, debe prestarse atención a que todo el contenido quede disuelto al preparar la solución.  
Durante la preparación hay que evitar la formación de espuma y burbujas, que podrían reducir la eficiencia de lavado.  
**Nota: Una vez diluida, la solución es estable durante una semana a temperaturas entre +2 y 8°C.**

**6. Conjugado:**

La solución de trabajo se prepara diluyendo el reactivo concentrado 20X con el Diluyente de Conjugado.  
Mezclar cuidadosamente con el vórtex antes de usar.  
Evitar la contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios. En caso de que deba transferirse el reactivo, usar contenedores de plástico, estériles y desechables únicamente.  
**Nota importante:** La solución de trabajo no es estable. Preparar solamente el volumen necesario para el trabajo del día. Como un ejemplo cuando el equipo se utiliza en combinación con otros instrumentos o manualmente, diluir 0.1 ml de Conjugado 20X con 1.9 ml de Diluyente de Conjugado en un vial de plástico desechable y mezclar cuidadosamente antes de usar.

**7. Cromógeno/ Substrato:**

Listo para el uso. Mezclar bien volteando.  
Evitar la contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios. Evitar la exposición a la luz, agentes oxidantes y superficies metálicas.  
En caso de que deba transferirse el reactivo, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

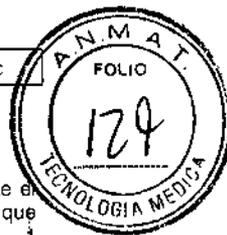
**8. Ácido Sulfúrico:**

Listo para el uso. Mezclar bien volteando.  
**Atención:** Irritante (X1 R36/38; S2/26/30)  
**Leyenda:** R 36/38 = Irritante a los ojos y la piel.  
S2/26/30 = En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y consultar a un médico.

**I. INSTRUMENTOS Y EQUIPAMIENTO UTILIZADOS EN COMBINACIÓN CON EL EQUIPO.**

- 1. Las micropipetas deben estar calibradas para dispensar correctamente el volumen requerido en el ensayo y sometidas a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra o los reactivos (etanol 70%, lejía 10%, desinfectantes de calidad hospitalaria). Deben además, ser regularmente revisadas para mantener una precisión del 1% y una confiabilidad de +/- 2%.
- 2. La incubadora ELISA debe ser ajustada a 37°C (+/- 1°C de tolerancia) y controlada periódicamente para mantener la temperatura correcta. Pueden emplearse incubadores secos o baños de agua siempre que estén validados para la incubación de pruebas de ELISA.
- 3. En caso de agitación durante las incubaciones, el instrumento debe garantizar 350 rpm ±150. La amplitud de la agitación es muy importante ya que si es errónea pueden producirse salpicaduras y por lo tanto falsos positivos.

BIOARS S.A.  
BIO CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TECNICO



4. El lavador ELISA es extremadamente importante para el rendimiento global del ensayo. Antes de emplearlo en los ensayos de rutina del laboratorio, debe ser cuidadosamente optimizado y validado usando los controles/calibrador y paneles de referencia pertinentes. Para asegurar que el ensayo se realiza conforme lo esperado, normalmente basta con 4-5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350µl/pocillo de solución de lavado = 1 ciclo). **Se recomienda un tiempo entre ciclos de 20-30 segundos.** Para establecer correctamente el número, se recomienda efectuar el ensayo con los controles/calibrador del equipo y muestras positivas y negativas de referencia bien caracterizadas, tratando de ajustarlas a los valores indicados en la sección "Control interno de calidad". La calibración periódica del volumen a dispensar (descontaminación y lavado de las agujas) debe hacerse según las instrucciones del fabricante.
5. Los tiempos de incubación deben tener un margen de  $\pm 5\%$ .
6. El lector de microplacas debe estar provisto de un filtro de lectura de 450 nm y, de un segundo filtro (620-630 nm, recomendado) para reducir interferencias en la lectura. El procedimiento estándar debe contemplar: a) Ancho de banda  $\leq 10\text{nm}$  b) Rango de absorbancia de 0 a  $\geq 2.0$ , c) Linealidad  $\geq 2.0$ , reproducibilidad  $\geq 1\%$ . El blanco se prueba en el pocillo indicado en la sección "Procedimiento del ensayo". El sistema óptico del lector debe ser calibrado periódicamente para garantizar que se mide la densidad óptica correcta. Periódicamente debe procederse al mantenimiento según las instrucciones del fabricante.
7. En caso de usar sistemas automatizados ELISA, los pasos críticos (dispensado, incubación, lavado, lectura, agitación, procesamiento de datos, etc.) deben ser cuidadosamente fijados, calibrados, controlados y periódicamente ajustados, para garantizar los valores indicados en la sección "Control interno de calidad". El protocolo del ensayo debe ser instalado en el sistema operativo de la unidad y validado comprobando la plena coincidencia de los rendimientos declarados del equipo. Por otro lado, la parte del sistema que maneja los líquidos (dispensado y lavado) debe ser validada y fijada correctamente, prestando particular atención a evitar el arrastre por las agujas de dispensación de muestras y de lavado. Debe estudiarse y controlarse el efecto de arrastre a fin de minimizar la posibilidad de contaminación de pocillos adyacentes debido a muestras muy reactivas, lo que provocaría resultados falsos positivos. Se recomienda el uso de sistemas automatizados de Elisa para el cribado en unidades de sangre y cuando la cantidad de muestras supera las 20-30 unidades por serie.
8. Cuando se utilizan instrumentos automáticos, en el caso en que los contenedores para viales del instrumento no se ajusten a los viales del equipo, debe transferirse la solución a contenedores adecuados y marcarlos con la misma etiqueta despegada del vial original. Esta operación es importante para evitar la falta de coincidencia de los contenidos de los viales al transferirlos. Cuando la prueba termine, guardar los contenedores secundarios etiquetados a 2-8°C, firmemente cerrados.
9. El servicio de atención al cliente en Dia.Pro, ofrece apoyo al usuario para calibrar, ajustar e instalar los equipos a usar en combinación con el equipo, con el propósito de asegurar el cumplimiento de los requerimientos esenciales del ensayo. También se ofrece apoyo para la instalación de nuevos instrumentos a usar en combinación con el equipo.

#### L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

1. Comprobar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa de la caja del equipo. No usar si ha caducado.
2. Comprobar que los componentes líquidos no están contaminados con partículas ni agregados observables a simple vista. Comprobar que el cromógeno/substrato es incoloro o azul pálido. Comprobar que no se han producido

roturas ni derrames de líquido dentro de la caja durante el transporte. Asegurarse de que la bolsa de aluminio que contiene la microplaca no esté rota o dañada.

3. Diluir totalmente la solución de lavado concentrada 20X, como se ha descrito anteriormente.
4. Diluir el conjugado concentrado 20X con su diluyente, tal y como se describe.
5. Disolver el calibrador como se ha descrito anteriormente.
6. Dejar los componentes restantes hasta alcanzar la temperatura ambiente (aprox. 1 hora), mezclar luego según se describe.
7. Ajustar la incubadora de ELISA a 37°C y alimentar el lavador de ELISA utilizando la solución de lavado, según las instrucciones del fabricante. Fijar el número de ciclos de lavado de acuerdo a los parámetros de validación del instrumento para usar con el equipo.
8. Comprobar que el lector ELISA ha sido encendido al menos 20 minutos antes de realizar la lectura.
9. Si se utiliza un sistema automatizado, encenderlo y comprobar que los protocolos estén correctamente programados.
10. Comprobar que las micropipetas estén fijadas en el volumen requerido.
11. Asegurarse de que el resto de equipamiento esté disponible y listo para el uso.
12. En caso de surgir algún problema, se debe detener el ensayo y avisar al responsable.

#### M. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

El ensayo debe realizarse según las instrucciones que siguen a continuación, es importante mantener en todas las muestras el mismo tiempo de incubación.

##### Ensayo automatizado:

En caso de que el ensayo se realice automáticamente con un sistema ELISA, se recomienda que el instrumento dispense primero 150 µl de controles y calibrador, después todas las muestras y finalmente 100 µl de conjugado diluido.

Para el paso de pre-lavado (primer punto del procedimiento del ensayo) y para las operaciones siguientes, consulte las instrucciones que aparecen debajo para el Ensayo Manual.

Es muy importante comprobar que el tiempo entre el dispensado de la primera y la última muestra sea calculado por el instrumento y considerado para los lavados.

##### Ensayo manual:

1. Poner el número de tiras necesarias en el soporte de plástico y hacer un ciclo de lavado para hidratar los pocillos. Identificar cuidadosamente los pocillos de controles, calibradores y muestras.

**Nota importante: El prelavado (1 ciclo: dispensación de 350 µl de solución de lavado por pocillo además de aspiración) es fundamental para obtener resultados confiables y específicos tanto en el procedimiento automático como en el manual. ¡No omitir!**

2. Dejar el pocillo A1 vacío para el blanco.
3. Dispensar 150µl del Control Negativo, por triplicado, 150µl de Calibrador por duplicado y 150 µl del Control Positivo. Posteriormente, añadir 150 µl de cada muestra.
4. Comprobar la presencia de las muestras en los pocillos a simple vista (existe una marcada diferencia de color entre los llenos y los vacíos) o por lectura a 450/620nm. (la densidad óptica de las muestras es superior a 0.100).
5. Dispensar 100 µl del Conjugado diluido en todos los pocillos, excepto en el A1 que se utiliza para operaciones de blanco.

*Handwritten signature*

BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVEZ  
DIRECTOR TÉCNICO



47191

**Nota importante:** Tener cuidado de no tocar la pared interna del pocillo con la punta de la pipeta al dispensar el conjugado. Podría producirse contaminación.

Este método muestra un rendimiento similar al método estándar por lo cual puede ser utilizado como alternativa.

- Después de la adición del conjugado comprobar que las muestras han cambiado de color amarillo a rosa/rojo y después incubar la microplaca por 120 min a +37°C.

**Notas importantes:**

- Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado sólo cuando se hace el ensayo manualmente. No sellar cuando se emplean equipos automatizados de ELISA.
- Si el proceso es efectuado agitando, asegúrese de tener las mismas rpm de la sección 1.3. De lo contrario se podría verificar contaminación dentro el pocillo.
- Tras la primera incubación, lavar los pocillos como se ha descrito previamente (sección 1.4).
- Dispensar 200 µl de cromógeno/substrato en todos los pocillos, incluido el A1.

**Nota importante:** No exponer directamente a fuerte iluminación, de lo contrario se puede generar un fondo excesivo.

- Incubar la microplaca protegida de la luz a 18-24°C durante 30 minutos. Los pocillos con control positivo, calibrador y muestras positivas deben pasar de un tono claro a azul.
- Dispensar 100 µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos para detener la reacción enzimática usando la misma secuencia que en el paso 8. La adición de la solución de ácido cambiará el color del control positivo, el calibrador y las muestras positivas de azul a amarillo/marrón.
- Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se indica en la sección 1.6, con un filtro de 450 nm (lectura) y otro de 620-630 nm (substracción del fondo, recomendado), calibrando el Instrumento con el pocillo A1 (blanco).

**Notas generales importantes:**

- Si no se puede utilizar el segundo filtro, asegurarse de que no hay impresiones digitales ni polvo en el fondo externo de los pocillos antes de leer a 450nm. Podrían generarse falsos positivos en la lectura.
- La lectura debería hacerse inmediatamente después de añadir la solución de ácido y, en cualquier caso, nunca transcurridos más de 20 minutos de su adición. Se podría producir auto oxidación del cromógeno causando un elevado fondo.
- Cuando las muestras que se van a analizar no sean seguramente limpias o hayan estado congeladas, se recomienda seguir el procedimiento abajo descrito en cuanto es menos susceptible a la interferencia de la hemólisis, hiperlipemia, contaminación bacteriana y micropartículas de fibrina. El ensayo se realiza en dos pasos a +37°C con agitación a 350 rpm ±150 como sigue:
  - dispensar 100 µl de controles, calibradores y muestras
  - incubar 60 min a +37°C con agitación
  - lavar según las instrucciones (sección 1.4)
  - dispensar 100 µl de trazador enzimático diluido
  - incubar 30 min a +37°C con agitación
  - lavar
  - dispensar 100 µl de mezcla TMB y H2O2
  - incubar 30 min a t.amb. con agitación
  - parar y leer

En este procedimiento se puede omitir el prelavado.

**N. ESQUEMA DEL ENSAYO.**

Operaciones	Procedimiento
Paso de pre-lavado	ciclo n° 1
Controles&Calibradores&muestras	150 µl
Conjugado diluido	100 µl
1ª Incubación	120 min
Temperatura	+37°C
Pasos de lavado	n°4-5
Cromógeno/substrato	200ul
2ª Incubación	30 min
Temperatura	temperatura ambiente
Ácido Sulfúrico	100 µl
Lectura D.O.	450nm

En la sección siguiente se describe un ejemplo del esquema de dispensado:

Microplaca

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	M2										
B	CN	M3										
C	CN	M4										
D	CN	M5										
E	CAL	M6										
F	CAL	M7										
G	CP	M8										
H	M1	M9										

Leyenda: BL = Blanco CN = Control Negativo  
CAL = Calibrador CP = Control Positivo M = Muestra

**O. CONTROL DE CALIDAD INTERNO.**

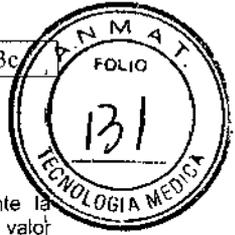
Se realiza una comprobación en los controles/calibrador cada vez que se usa el equipo para verificar si los valores DO450nm o M/Co son los esperados en el análisis.

Asegurar el cumplimiento de los siguientes resultados:

Parámetro	Exigencia
Pocillo blanco	valor < 0.100 DO450nm
Control negativo (CN)	Valor medio < 0.050 de DO450nm después de leer el blanco
Calibrador 0.5 IU/ml	M/Co > 2
Control Positivo	valor > 1.000 DO450nm

Si los resultados del ensayo coinciden con lo establecido anteriormente, pase a la siguiente sección. En caso contrario, detenga el ensayo y compruebe:

*Handwritten signature*



Problema	Compruebe que
Pocillo blanco > 0.100 DO450nm	1. la solución cromógeno/substrato no se ha contaminado durante el ensayo.
Control negativo (CN) > 0.050 DO450nm después de leer el blanco	1. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 2. se ha usado la solución de lavado apropiada y que el lavador ha sido alimentado con la misma antes del uso. 3. no se han cometido errores en el procedimiento (dispensar el control positivo en lugar del negativo). 4. no ha existido contaminación del control negativo o de sus pocillos debido a muestras positivas derramadas, o al conjugado. 5. las micropipetas no se han contaminado con muestras positivas o con el conjugado. 6. las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas.
Calibrador M/Co < 2	1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no se han cometido errores en su distribución (por ejemplo, dispensar control negativo en lugar de calibrador) 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del calibrador.
Control Positivo < 1.000 DO450nm	1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no se han cometido errores en el procedimiento (dispensar el control negativo en lugar del positivo. En este caso, el control negativo tendrá un valor de DO450nm > 0.050). 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del control positivo.

Si ocurre alguno de los problemas anteriores, después de comprobar, informe al responsable para tomar las medidas pertinentes.

**P. CÁLCULO DEL VALOR DE CORTE.**

Los resultados de las pruebas se calculan a partir de un valor de corte determinado con la fórmula siguiente sobre el valor medio de DO450nm del control negativo (CN):

$$CN + 0.050 = \text{Valor de corte (Co)}$$

El valor encontrado en la prueba es utilizado para la interpretación de los resultados, según se describe a continuación.

*Nota importante:* Cuando el cálculo de los resultados se halla mediante el sistema operativo de un equipo de ELISA automático, asegurarse de que la formulación usada para el cálculo del valor de corte, y para la interpretación de los resultados sea correcta.

**Q. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.**

La interpretación de los resultados se realiza mediante la relación entre el valor de DO450nm de la muestra (M) y el valor de corte (Co), matemáticamente M/Co. Los resultados se interpretan según la siguiente tabla:

M/Co	Interpretación
< 0.9	Negativo
0.9 – 1.1	Equívoco
> 1.1	Positivo

Un resultado negativo indica que el paciente no está infectado por HBV y la unidad de sangre se puede transfundir. Cualquier paciente, cuya muestra resulte equívoca debe someterse a una nueva prueba con una segunda muestra de sangre recogida 1 o 2 semanas después de la inicial. En este caso la unidad de la sangre no debe ser transfundida. Un resultado positivo es indicativo de infección por HBV y por consiguiente el paciente debe ser tratado adecuadamente o la unidad de sangre debe ser descartada.

**Notas importantes:**

1. La interpretación de los resultados debe hacerse bajo la vigilancia del responsable del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio y de interpretación.
2. Cualquier resultado positivo debe confirmarse antes repitiendo el ensayo sobre la muestra, después de haberla filtrado en un filtro de 0.2-0.8 u para eliminar la interferencia de las micropartículas. Después, si todavía es positivo, la muestra debe someterse a una prueba de confirmación antes de emitir un diagnóstico de hepatitis viral.
3. Cuando se transmiten los resultados de la prueba, del laboratorio a otro departamento, debe ponerse mucha atención para evitar el traslado de datos erróneos.
4. El diagnóstico de infección con un virus de la hepatitis debe ser realizado y comunicado al paciente por un médico cualificado.

A continuación se describe un ejemplo de los cálculos a realizar.

Los siguientes datos no deben usarse en lugar de los valores reales obtenidos en el laboratorio.

**Control negativo:** 0.012 – 0.008 – 0.010 DO450nm  
 Valor medio: 0.010 DO450nm  
 Menor de 0.050 – Válido  
**Control positivo:** 2.489 DO450nm  
 Mayor de 1.000 – Válido  
 Valor de corte = 0.010+0.050 = 0.060  
 Calibrador: 0.350 - 0.370 DO 450nm  
 Valor medio: 0.360 DO450nm M/Co = 6.0  
 M/Co Mayor de 2.0 – Válido  
 Muestra 1: 0.028 DO450nm  
 Muestra 2: 1.690 DO 450nm  
 Muestra 1 M/Co < 0.9 = negativa  
 Muestra 2 M/Co > 1.1 = positiva

**R. CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO.**

La evaluación del rendimiento ha sido realizada según lo establecido en las Especificaciones Técnicas Comunes (ETC) (Art. 5, Capítulo 3 de la Directiva IVD 98/79/CE). La versión ULTRA ha demostrado ser al menos equivalente al diseño original en un estudio realizado para la validación de la nueva versión.

**1. Sensibilidad analítica**

El límite de detección del ensayo se ha calculado sobre el 2º estándar internacional O.M.S., NIBSC código 00/588.

BIOARS, S.A.  
 BIOC. CLAUDIA ETCHEVES  
 DIRECTOR TÉCNICO

4719



En la siguiente tabla se muestran los resultados de tres totes (P1, P2 y P3) de la versión ULTRA en comparación con el dispositivo de referencia (Ref.):

O.M.S. IU/ml	Lote P1 M/Co	Lote P2 M/Co	Lote P3 M/Co	Ref. M/Co
0.4	4.6	4.8	4.6	4.6
0.2	2.3	2.4	2.4	2.4
0.1	1.4	1.4	1.5	1.2
0.05	0.8	0.8	1.0	0.7
0.025	0.6	0.6	0.6	0.4
SFB (CN)	0.3	0.2	0.3	0.1

08	ad	0.37	1.3
09	ad	0.30	1.2
10	ad	0.23	1.0
11	ay	2.51	11.2
12	ay	1.28	5.9
13	ay	0.97	4.1
14	ay	0.77	3.7
15	ay	0.63	2.0
16	ay	0.48	2.4
17	ay	0.42	2.0
18	ay	0.33	1.6
19	ay	0.23	1.6
20	ay	0.13	1.1
21	negativo	/	0.6

El ensayo mostró una sensibilidad analítica mejor a 0.1 O.M.S. IU/ml de HBsAg.

Además se probaron dos paneles de sensibilidad suministrados por EFS, Francia, y por SFTS, Francia, y se obtuvieron los siguientes resultados en condiciones óptimas:

Panel EFS Ag HBs HB1-HB6 lote n°04

ID muestra	Características	ng/ml	M/Co
HB1	diluyente	/	0.2
HB2	adw2+ayw3	0.05	0.8
HB3	adw2+ayw3	0.1	1.0
HB4	adw2+ayw3	0.2	1.8
HB5	adw2+ayw3	0.3	2.4
HB6	adw2+ayw3	0.5	4.2

Panel de sensibilidad SFTS, Francia, Ag HBs 2005

ID muestra	Características	ng/ml	M/Co
171	Adw2 + ayw3	2.21 ± 0.15	15.4
172	Adw2 + ayw3	1.18 ± 0.10	8.7
173	Adw2 + ayw3	1.02 ± 0.05	6.1
174	Adw2 + ayw3	0.64 ± 0.04	4.0
175	Adw2 + ayw3	0.49 ± 0.03	3.4
176	Adw2 + ayw3	0.39 ± 0.02	2.6
177	Adw2 + ayw3	0.25 ± 0.02	2.0
178	Adw2 + ayw3	0.11 ± 0.02	1.3
179	Adw2 + ayw3	0.06 ± 0.01	0.9
180	Adw2 + ayw3	0.03 ± 0.01	0.8
181	Adw2	0.5 - 1.0	4.7
182	Adw4	0.5 - 1.0	3.6
183	Adr	0.5 - 1.0	4.5
184	Ayw1	0.5 - 1.0	5.1
185	Ayw2	0.5 - 1.0	6.4
186	Ayw3	0.5 - 1.0	7.3
187	Ayw3	0.5 - 1.0	5.8
188	Ayw4	0.5 - 1.0	6.9
189	Ayr	0.5 - 1.0	6.1
190	diluyente	/	0.6

El panel n.º 808, suministrado por Boston Biomedical Inc., Estados Unidos, también se probó para definir el límite de sensibilidad. Los resultados en condiciones óptimas son los siguientes:

BBI panel PHA 808

ID muestra	Características	ng/ml	M/Co
01	ad	2.49	10.2
02	ad	1.17	4.8
03	ad	1.02	4.3
04	ad	0.86	3.8
05	ad	0.69	2.8
06	ad	0.50	2.2
07	ad	0.41	1.5

2. Sensibilidad Diagnóstica:

La sensibilidad diagnóstica ha sido probada según lo establecido en las Especificaciones Técnicas Comunes (ETC) de la Directiva 98/79/CE en IVD para pruebas HBsAg. Las muestras positivas, incluidos los subtipos de HBsAg y un panel de mutantes "s" de las mutaciones más frecuentes, se recogieron de distintas patologías de HBV (hepatitis B aguda, asintomática y crónica) o producidas sintéticamente, y se detectaron positivas en el ensayo.

Todos los subtipos conocidos de HBsAg, "ay" y "ad", y los isoformas "w" y "r", suministrados por CNTS, Francia, se probaron en el ensayo y el equipo los determinó positivos según lo previsto.

Se ha hallado un valor global de 100% en un estudio realizado sobre un número total de más de 400 muestras positivas con la referencia original IVD código SAG1.CE, marca CE.

Se estudiaron 30 sero-conversiones en total, la mayoría producidas por Boston Biomedica Inc., EE.UU.

Los resultados obtenidos al examinar ocho paneles suministrados por Boston Biomedica Inc., EE.UU., se indican abajo para la versión ULTRA en comparación con el dispositivo de referencia código SAG1.CE.

Panel ID	n° muestra positiva	HBsAg subtipo	HBsAg ng/ml	Versión ULTRA M/Co	Ref. dispositivo M/Co
PHM 906	02	ad	0.5	3.7	1.4
PHM 907 (M)	06	ay	1.0	4.4	2.9
PHM 909	04	ad	0.3	1.2	0.8
PHM 914	04	ad	0.5	1.1	1.1
PHM 918	02	ad	0.1	1.8	0.5
PHM 923	03	ay	< 0.2	2.2	1.2
PHM 925	03	Ind.	n.d.	1.4	0.9
PHM 934	01	ad	n.d.	1.0	0.6

3. Especificidad Diagnóstica:

La especificidad diagnóstica ha sido determinada sobre más de 5000 muestras negativas de donantes de sangre (dos centros de donación) clasificadas como negativas con un dispositivo con marca CE en uso en el laboratorio de recogida y primer ensayo.

Se emplearon además plasma sometido a métodos de tratamiento estándar (citrato, EDTA y heparina) y suero humano para determinar la especificidad.

No se ha observado falsa reactividad debida a los métodos de tratamiento de muestras.

Las muestras congeladas también se han probado para comprobar si la congelación interfiere con el rendimiento del ensayo. No se ha observado interferencia a partir de muestras limpias y libres de agregados.

Se examinaron muestras procedentes de pacientes afectados por hepatitis víricas (HCV, HVA) y patologías no víricas del hígado, que pudieran provocar interferencia en el ensayo. No se detectó reacción cruzada.

El estudio mostró un valor de Especificidad Diagnóstica 99.5% como exige la directiva 98/79/CE para pruebas HBsAg.

*Claudia Etcheves*

BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES  
DIRECTOR TECNICO

*[Handwritten signature]*



4719

**4. Precisión:**

Ha sido calculada para la versión ULTRA en dos muestras examinadas en 16 réplicas en 3 series diferentes para tres lotes.

Los resultados se indican en la siguiente tabla:

Valores promedio	Negativo	Calibrador
Total n°=144	Muestra	0.5 IU/ml
DO450nm	0.026	0.332
Desviación estándar	0.004	0.027
CV %	16%	8%

La variabilidad mostrada en las tablas no dio como resultado una clasificación errónea de las muestras.

**S. LIMITACIONES.**

Se evaluaron resultados falso positivo repetibles en muestras recién recogidas en menos del 0.1% de la población normal, debido principalmente a altos títulos de anticuerpo anti ratón heterofílicos (HAMA).

También se observaron interferencias en muestras frescas cuando no estaban libres de partículas o se recogieron incorrectamente (ver capítulo G).

Las muestras antiguas o congeladas, con coágulos de fibrina, crioglobulinas, micelas que contienen lípidos o microparticulas después de almacenar o descongelar, pueden generar falsos positivos.

**BIBLIOGRAFÍA.**

1. Aach R.D., Grisham J.W., Parker S.W.. Detection of Australia antigen by radioimmunoassay. Proc.Natl.Acad.Sci..USA, 68:1956, 1971.
2. Blumer B.S., Suinick A.I., London W.T.. Hepatitis and leukemia: their relation to Australia antigen. Bull.N.Y.Acad.Med.. 44:1566, 1968.
3. Boniolo A., DAVIS M., Matteja R.. The use of enzyme-linked immunosorbent assay for screening hybridoma antibodies against hepatitis B surface antigen. J.Immunol.Meth.. 49:1, 1982.
4. Caldwell C.W., Barpet J.T.. Enzyme immunoassay for hepatitis B and its comparison to other methods. Clin.Chim.Acta 81: 305, 1977
5. Fazekas S., De St.Groth, Scheidegger D.. production of monoclonal antibodies: strategy and tactics. J.Immunol.Meth.. 35: 1, 1980
6. Reesink H.W.. et al.. Comparison of six 3<sup>rd</sup> generation tests for the detection of HBsAg. Vox.Sang . 39:61, 1980
7. Rook G.A.W.. Chromogens for the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using horseradish peroxidase Lepr.Rev. 52: 281, 1981
8. Schroder J.. Monoclonal antibodies: a new tool for reasearch and immunodiagnostic. Med.Biol.. 58: 281, 1981
9. Coleman PF, Chen YC, Mushahwar IK. Immunoassay detection of hepatitis B surface antigen mutants. J.Med.Virol. 1999;59(1):19-24

Todos los productos de diagnóstico in vitro fabricados por la empresa son controlados por un sistema certificado de control de calidad aprobado por un organismo notificado para el mercado CE. Cada lote se somete a un control de calidad y se libera al mercado únicamente si se ajusta a las especificaciones técnicas y criterios de aceptación de la CE.

Producido por  
Dia.Pro. Diagnostic Bioprobes s.r.l.  
Via G. Carducci n° 27 - Sesto San Giovanni (MI) - Italia

**CE**  
0318

**INDICACION AL CONSUMIDOR**

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 47713783 en el horario de 9,00 a 18,00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a Vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S.A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento Elaborador: Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l. Via G. Carducci, n° 27, 20099, Sesto San Giovanni, Milán, Italia  
Establecimiento Importador BIOARS S.A. - Oileros 2537 - 1426 C A B.A.  
Director Técnico: Dra Claudia E Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028  
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°

*Claudia E Etchevés*

BIOARS S.A.  
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVÉS  
DIRECTOR TÉCNICO

*[Handwritten marks]*



Ministerio de Salud  
 Secretaría de Políticas, Regulación  
 e Institutos  
 A. N. M. A. T

**CERTIFICADO DE AUTORIZACION DE VENTA  
 DE PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO**

Expediente nº:1-47-2237012-0

Se autoriza a la firma BIOARS S.A. a importar y comercializar el Producto para Diagnóstico de uso "in vitro" denominado HBsAg One Version ULTRA / Ensayo inmunoenzimático de cuarta generación (ELISA) para la determinación del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) en plasma y suero humano, en envases conteniendo.....

Determinaciones	96	192	480	960	192 cassette
Microplaca (MICROPLATE)	1	2	5	10	2
Control Negativo (CONTROL -)	2ml	4ml	10ml	20ml	4ml
Control Positivo (CONTROL +)	2ml	4ml	10ml	20ml	4ml
Calibrador (CAL)	1	2	5	10	2
Tampón de lavado conc. (WASH BUF 20X)	60ml	2x60ml	5x60ml	4x150ml	2x60ml
Diluyente del conjugado (CONJ DIL)	16ml	2x16ml	2x40ml	2x80ml	1x30ml

Conjugado Concentrado (CONJ 20X)	1x0,80ml	2x1ml	1x4ml	2x4ml	1x1,5ml
Cromógeno/Sustrato (SUBS TMB)	1x25ml	2x25ml	3x42ml	2x125ml	1x50ml
Ácido Sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1x15ml	1x25ml	2x40ml	2x80ml	1x25ml
Sellador adhesivo (unidades)	2	3	10	20	3
Contenedor para mezclar conjugado	-	-	-	-	1
Tapones	-	-	-	-	3

Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y Resolución M.S. y A.S. N° 145/98. Lugar de elaboración: DIA.PRO Diagnostic BioProbes S.r.l., Via G. Carducci. 27-20099- Sesto San Giovanni, Milan (ITALIA). Periodo de vida útil: 15 (QUINCE) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C. En las etiquetas de los envases, anuncios y Manual de instrucciones deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO DE USO "IN VITRO" USO PROFESIONAL EXCLUSIVO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA.

Certificado n°: **008277**

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA.

Buenos Aires, **12 JUN 2015**

**Ing. ROGELIO LOPEZ**  
Administrador Nacional  
A.N.M.A.T.

Firma y sello