



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

DISPOSICIÓN N° 9434

BUENOS AIRES, 11 NOV. 2015

VISTO el expediente N° 1-47-3110-640/14-1 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 Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado DENV Detect IgM Capture ELISA (DDMS-1) / detección cualitativa de anticuerpos IgM contra antígenos recombinantes DEN (DENRA) en suero para diagnóstico provisional en laboratorio clínico de infecciones por el virus del dengue .

Que a fojas 299 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 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 N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92, por el Decreto N° 1886/14 y el Decreto N° 1368/15.



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

DISPOSICIÓN N° 9434

Por ello;

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

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado DENV Detect IgM Capture ELISA (DDMS-1) / detección cualitativa de anticuerpos IgM contra antígenos recombinantes DEN (DENRA) en suero para diagnóstico provisional en laboratorio clínico de infecciones por el virus del dengue, el que será elaborado por InBios International, Inc., 562 1st. Avenue South, Suite 600, Seattle WA 98104 (USA) para Cepartner4u B.V., Esdoornlaan 13, 3951 DB Maarn (PAISES BAJOS) e importado terminado por la firma CROMOION S.R.L. en envases conteniendo: Tiras de microtitulación recubiertas para IgM humana (96 pocillos), Solución amortiguadora de dilución de las muestras DENV (25ml), Control negativo (50µl), control positivo (50µl), Antígeno recombinante del dengue (5ml), Antígenos de Células normales (NCA)(5ml), conjugado enzimático HRP (9ml), solución amortiguadora de lavado 10X (120ml), EnWash (20ml), sustrato líquido de TMB (12ml) y Solución de corte (9ml), para 96 determinaciones, con una vida útil de DOCE (12) MESES desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C y que la composición se detalla a fojas 30.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 190 a 198 y 250 a 297 (Desglosándose 190, 193, 194 y 250 a 265)



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

DISPOSICIÓN N° 9434

debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MEDICA se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese, gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas 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 N° 1-47-3110-640/14-1

DISPOSICIÓN N°:

Fd

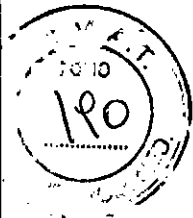
9434

A

↓

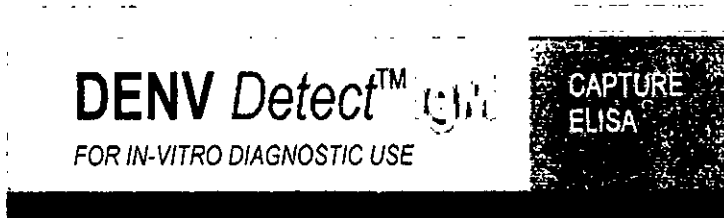
Ing. ROGELIO LOPEZ
Administrador Nacional
A.N.M.A.T.

11 NOV. 2015



ROTULOS EXTERNOS

9434



REF DDMS-1 LOT XX0000 00/00/0000

Store at 2-8° Celsius

CE EC REP CEpartner4U, Esdoornlaan 13,
3951 DB Maam. The Netherlands.
Tel: +31 (0)6.516.536.23



InBios



InBios International, Inc.
562 1st Ave. South, Suite 600,
Seattle, WA 98104 USA
Tel: 206-344-5821 Fax: 206-344-5823
www.inbios.com

IMPORTADORA INSTRUCTORES: CROMOION S.R.L.
Cvorno 4126 (C) L'ARRECCIA I.C.A.R.A. - Argentina
Tel/Fax: (011) 4644-3200/06
Legajo empresa: 909
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amelbold
Producto Medico: Venta exclusiva a Laboratorios de Analisis Clinicos
Uso Diagnostico *in vitro*
Código: / P.N.

Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - Recibida Aprobada
VER INSTRUCCIONES DE USO

DENV Detect™ IgM Capture ELISA Catalog No. DDMS-1 Kit Contents

Quantity	Description	Storage
1	Coated Microtiter Strips for Human IgM	2-8°C
1	DENV Sample Dilution Buffer_25ml	2-8°C
1	Dengue IgM Negative Control_50µl	2-8°C
1	Dengue IgM Positive Control_50µl	2-8°C
1	Ready to use Dengue Recombinant Antigen for IgM_5ml	2-8°C
1	Ready to use Normal Cell Antigen (NCA) for Dengue IgM_5ml	2-8°C
1	Ready to use Enzyme Conjugate-HRP for Dengue IgM_9ml	2-8°C
1	10X Wash Buffer_120ml	2-8°C
1	EnWash_20ml	2-8°C
1	Liquid TMB Substrate_12ml	2-8°C
1	Stop Solution_9ml	2-8°C

Bioq. Hernan Sial...
Co-Dirección Técnica
M. N. 7899
CROMOION S.R.L.

Handwritten marks: a stylized 'F' and a vertical line.



9434

ROTULOS INTERNOS

**Coated Microtiter Strips for
Human IgM, 96 Wells**



Part No.: 500116
Lot No: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius

InBios
Seattle, WA

**DENV Sample Dilution Buffer
25ml**



Part #: 500241D
Lot #: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius

InBios
Seattle, WA

**Dengue IgM Negative
Control, 50µl**



Part #: 500237
Lot #: XX0000
Exp. Date: As Per Kit Lot
Store at 2-8°C

InBios
Seattle, WA

**Dengue IgM Positive
Control, 50µl**



Part #: 500236
Lot #: XX0000
Exp. Date: As Per Kit Lot
Store at 2-8°C

InBios
Seattle, WA

**Ready to Use Dengue Recombinant
Antigen for IgM, 5ml**



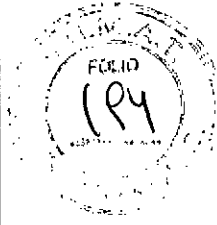
Part #: 500239
Lot #: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius

InBios
Seattle, WA

Handwritten symbols: a stylized 'A' and a vertical line with a hook.

Bloq. Hernán Stalino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7899
CROMOION S.R.L.

9434



**Ready to Use Normal Cell Antigen
(NCA) for Dengue IgM, 5ml**

Part #: 500238
Lot #: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius



**Ready to Use Enzyme Conjugate-
HRP for Dengue IgM, 9ml**

Part #: 500240
Lot #: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius



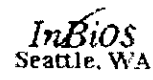
10X Wash Buffer, 120mL

Part #: 500100
Lot #: XX0000
Exp: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius



EnWash, 20ml

Part #: 500114
Lot #: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius



Liquid TMB Substrate, 12mL

Part #: 500104
Lot #: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius



Stop Solution, 9mL

Part #: 500658
Lot #: XX0000
Exp. Date: MM/DD/YY
Store at 2-8° Celsius



Handwritten marks: a large 'A' and a vertical line.

Bloq. Hernán Sialino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7899
CROMOION S.R.L.

InBios

DENV Detect™ IgM CAPTURE ELISA

USO PREVISTO

La prueba DENV Detect IgM Capture ELISA está diseñada para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra antígenos recombinantes DENV (DENRA) en suero para diagnóstico provisional en laboratorio clínico de infecciones por el virus del dengue. La prueba está destinada únicamente a pacientes con síntomas clínicos indicativos de fiebre del dengue o fiebre hemorrágica por dengue. Los resultados positivos se deben confirmar mediante la técnica de reducción de placas por neutralización (PRNT) o mediante las pautas actuales de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) para el diagnóstico de esta enfermedad.

Aún no se han establecido las características de rendimiento de la prueba en sangre del cordón umbilical, en neonatos, en examen sistemático prenatal o en examen sistemático de la población en general. Este ensayo no está autorizado ni aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para el examen en donantes de sangre o plasma.

Advertencia: se ha constatado que se produce reactividad cruzada con IgM del virus del Nilo Occidental y otros flavivirus con el ensayo InBios Dengue IgM. Los resultados con reactivos se deben informar con una declaración de precaución con respecto a la posible reactividad cruzada de IgM con otros flavivirus.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El dengue es una enfermedad viral aguda que transmite más comúnmente el mosquito *Aedes aegypti* y, en mucha menor medida, otras cepas de mosquitos. El dengue se caracteriza clínicamente por fiebre bifásica, erupción, depresión hematopoyética y por síntomas constitutivos, como malestar, artralgia, mialgia y cefaleas (1, 2). Con menor frecuencia, se ven cuadros más graves, que se manifiestan a través de una fiebre hemorrágica (FHD) que puede ser mortal (2-4). Es endémico en las zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo, donde se calcula que anualmente se producen entre 50 y 100 millones de casos (5). Durante 2002, más de 30 países latinoamericanos informaron más de 10,000,000 casos de fiebre del dengue (FD) con una gran cantidad de casos de FHD. En los territorios estadounidenses de Puerto Rico y las Islas Vírgenes de los Estados Unidos, los casos de dengue alcanzaron niveles históricamente altos en 2010. En Puerto Rico, se informaron 21,000 casos en 2010. También en 2010, Florida informó 65 casos autóctonos de dengue y un estudio serológico en Key West, Florida, mostró una tasa de infección del 5%. (6) También en Hawái (7) y Laredo, Texas, se han constatado brotes epidémicos de dengue.

Durante la infección primaria y secundaria se producen transitoriamente anticuerpos IgM contra el virus del dengue. En pacientes con una infección primaria por el virus del dengue, los anticuerpos IgM se desarrollan con rapidez y se pueden detectar en los días 3 a 5 de la enfermedad en la mitad de los pacientes hospitalizados. Los niveles de IgM contra el virus del dengue alcanzan su máximo aproximadamente a las 2 semanas de la infección y descienden hasta niveles indetectables entre los 2 y 3 meses (8,9).

En los pacientes con infecciones secundarias por el virus del dengue, si bien la cinética de la producción de IgM es similar a la que se observa en pacientes con una infección primaria, los niveles de IgM son significativamente menores (8,9). Los anticuerpos IgM contra el virus del dengue también alcanzan su máximo aproximadamente 2 semanas después de la infección, comienzan a disminuir a partir de entonces y aún se pueden detectar en aproximadamente el 30% de los pacientes 2 meses después de comenzados los síntomas. A diferencia de la infección primaria, la infección secundaria por el virus del dengue muestra una aparición más temprana de altos niveles de anticuerpos IgG capaces de mostrar reactividad cruzada antes de las respuestas de la IgM o simultáneamente con estas (9).

DENV Detect IgM Capture ELISA analiza los anticuerpos IgM en suero humano contra antígenos recombinantes derivados del dengue (DENRA).

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

DENV Detect IgM Capture ELISA consta de un inmunoensayo de tipo sándwich amplificado enzimáticamente. En este ensayo, el control negativo de IgM contra el dengue, el control positivo de IgM contra el dengue y las muestras de suero desconocidas se diluyen con una solución amortiguadora de dilución de la muestra DENV, luego se incuban en pocillos de microtitulación que se han recubierto con anticuerpos anti-IgM humana, a lo que sigue una incubación con antígenos recombinantes derivados del dengue (DENRA) y antígenos de células normales (NCA) de manera independiente. Tras la incubación y el lavado, los pocillos se tratan con un anticuerpo monoclonal de DEN específico etiquetado con la enzima peroxidasa de rábano (HRP). Tras un segundo paso de incubación y lavado, los pocillos se incuban con el sustrato de tetrametilbencidina (TMB). Luego se agrega una solución de corte ácida y se determina el grado de recambio enzimático del sustrato mediante medición de la absorbancia a 450 nanómetros. Por encima de cierto umbral, la relación de absorbancias de los pocillos de DENRA y del antígeno de control determina si existen anticuerpos del dengue.

MATERIAL SUMINISTRADO

El kit de DENV Detect IgM Capture ELISA contiene reactivos suficientes para una placa de 96 pocillos (tiras de 12 x 8) cada una. El kit contiene los reactivos siguientes:

Advertencia: No use ninguno de los reactivos donde haya ocurrido daño en el embalaje.

Materiales específicos para DENV Detect IgM Capture ELISA:

1. **Tiras de microtitulación recubiertas para IgM humana:** soporte de tiras en bolsas herméticas con 96 pocillos de microtitulación de polietileno recubiertos con anticuerpos de cabra anti-IgM humana en cada pocillo. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
2. **Solución amortiguadora de dilución de la muestra DENV:** un frasco de 25 ml listo para usar. Solución amortiguadora tris-HCl (pH 7.2 a 7.6) con Tween 20 (0.05%), conservante (proclin-300 al 0.05%) y aditivos. Para usar en la dilución de las muestras de prueba y los controles positivo y negativo. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
3. **Control negativo de IgM contra el dengue:** un vial de 50 µl. Suero negativo. El control negativo ayudará a

controlar la integridad del kit. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.

4. **Control positivo de IgM contra el dengue:** un vial de 50 µl. Suero positivo que contiene azida sódica al 0.09%. El control positivo ayudará a controlar la integridad del kit. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
5. **Antígeno recombinante del dengue listo para usar para IgM:** un frasco de 5 ml listo para usar. Solución amortiguadora tris-HCl (pH 7.2 a 7.6) con Tween 20 (<0.05%), conservante (proclin-300 < 0.05%), antibióticos (sulfato G418 entre el 0.0025% y el 0.004%), antígenos recombinantes del dengue y aditivos. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
6. **Antígeno de células normales (NCA) listo para usar para IgM contra el dengue:** un frasco de 5 ml listo para usar. Solución amortiguadora tris-HCl (pH 7.2 a 7.6) con Tween 20 (<0.05%), conservante (proclin-300 < 0.05%) y sobrenadante de cultivo de células COS-1. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
7. **Conjugado enzimático HRP listo para usar para IgM contra el dengue:**
Un frasco de 9 ml listo para usar que contiene anticuerpos monoclonales reactivos de flavivirus (mAb) conjugados con peroxidasa de rábano en solución amortiguadora tris-citrato (pH 7.2 a 7.6) con Tween 20 (<0.05%), conservante (timerosal al <0.01%) y aditivos. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
Nota: el conjugado se debe almacenar siempre en el frasco que se entrega, protegido de la luz.
8. **Solución amortiguadora de lavado 10X:** un frasco de 120 ml. Concentrado 10X de solución amortiguadora de salina de fosfato con Tween 20 (pH 6.8 a 7.0). Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
9. **EnWash:** un frasco de 20 ml listo para usar. Solución amortiguadora de salina de fosfato con Tween 20 (pH 7.2 a 7.6). Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
10. **Sustrato líquido de TMB:** un frasco de 12 ml listo para usar. Contiene tetrametilbencidina 3, 3', 5, 5' (TMB) y peróxido de hidrógeno en una solución amortiguadora de citrato y ácido cítrico (pH 3.3 a 3.8). Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.
Nota: el sustrato se debe almacenar siempre en el frasco que se entrega, protegido de la luz.
11. **Solución de corte:** un frasco de 9 ml de ácido sulfúrico 1N listo para usar. Se usa para detener la reacción. Estable entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.

Advertencia: ácido fuerte, usar guantes protectores, máscara y lentes de seguridad. Desechar todos los materiales de acuerdo con las normas y los reglamentos de seguridad.

MATERIALES Y EQUIPOS NECESARIOS PERO QUE NO SE SUMINISTRAN

- Espectrofotómetro ELISA capaz de mediciones de absorbancia a 450 nm
- Agua biológica o de alto grado
- Bomba de vacío
- Lavadora de placas
- Incubadora a 37 °C sin suministro de CO₂.

- Pipetas de 1 a 10 µl de un canal, pipetas de 50 a 200 µl de un canal y varios canales
- Tubos de polipropileno
- Parafilm
- Temporizador
- Agitador vórtex

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO. Se necesita comprender completamente el prospecto del envase para usar correctamente el producto. Sólo se obtendrán resultados confiables si se emplean técnicas precisas de laboratorio y si se sigue el prospecto con atención.

Precauciones de seguridad:

- Todos los materiales de origen humano que se emplean en la preparación de los controles han sido inactivados por calor o han arrojado resultados negativos para anticuerpos de VIH 1 y 2, hepatitis C y el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. No obstante, ningún método de prueba puede garantizar un 100% de efectividad. Por lo tanto, todos los antígenos y controles humanos se deben tratar como material potencialmente infeccioso. Los CDC y los Institutos Nacionales de Salud (INS) recomiendan que los agentes potencialmente infecciosos se traten con nivel de bioseguridad 2.
- Use ropa y lentes de protección y guantes desechables durante el ensayo. Lávese bien las manos al terminar.
- No coma, beba, fume ni se maquille en el lugar donde se manipulen los materiales de inmunodiagnóstico.
- No use la boca para la manipulación de las pipetas.

Precauciones técnicas.

- Esta prueba sólo se debe realizar en suero. No se ha validado el uso de sangre entera, plasma u otras matrices de muestra.
- No mezcle distintos lotes de ningún componente del kit en un mismo ensayo.
- **No inactive por calor los sueros de prueba.**
- Todos los reactivos se deben equilibrar a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes de comenzar el ensayo. El ensayo se verá afectado por los cambios de temperatura.
- Evite congelar y descongelar repetidas veces las muestras de suero que va a evaluar.
- Dispense los reactivos directamente desde los frascos mediante puntas de pipeta limpias. Durante la transferencia de reactivos se puede producir contaminación.
- Los micropocillos sin usar se deben sellar de inmediato y almacenar en presencia de desecante. De lo contrario, se pueden obtener resultados erróneos en estos micropocillos sin usar.
- No use ningún componente una vez transcurrida la fecha de vencimiento que aparece en la etiqueta.
- Evite la exposición de los reactivos al calor excesivo o a la luz solar directa durante el almacenamiento y la incubación.
- Algunos reactivos pueden formar un precipitado ligero, mézclelos suavemente antes de usar.
- Un lavado incompleto afectará negativamente el resultado y el rendimiento del ensayo.

9434



PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

PRECAUCIÓN: debe seguir estrictamente el procedimiento de prueba. Toda desviación del procedimiento puede arrojar resultados erróneos. Deje que todos los reactivos del kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente (~25 °C) antes de usarlos. Invierta suavemente los reactivos y las muestras antes de usarlos para mezclarlos por completo. **NOTA:** en caso de almacenamiento a largo plazo, las muestras de suero no se deben congelar y descongelar más de tres veces. Además, los sueros se deben dividir proporcionalmente en volúmenes menores y almacenar a -20 °C.

Este equipo no ha sido validado por InBios para su uso con cualquier sistema de procesamiento ELISA automático particular. Su uso con un sistema de procesamiento ELISA automático requerirá una validación apropiada para asegurar que los resultados son equivalentes a las expectativas descritas en el prospecto del equipo. Pueden requerirse modificaciones al protocolo de estos sistemas y/o volúmenes de reactivos diferentes.

Preparación de los reactivos:

- Preparación de la solución amortiguadora de lavado 1X: Diluya la solución amortiguadora de lavado 10X a 1X con agua biológica o de alto grado. Para preparar una solución amortiguadora de lavado 1X, mezcle 120 ml de solución amortiguadora de lavado 10X con 1080 ml de agua destilada (o desionizada) y enjuague cualquier cristal. Agite hasta que esté bien mezclado y todos los cristales se hayan disueltos. Tras la dilución a 1X, almacene a temperatura ambiente hasta un período de 6 meses. Compruebe la contaminación antes de usar. Deseche la solución si sospecha que está contaminada.
- Pocillos de la tira de microtitulación: Seleccione el número de pocillos recubiertos necesarios para el ensayo. Debe volver a colocar rápidamente los pocillos restantes en la bolsa, sellarla y almacenarla entre 2 °C y 8 °C hasta que estén listos para usar o hasta el vencimiento.

Procedimiento del ensayo:

- Los controles positivo y negativo se deben analizar en duplicado tanto en el caso del dengue como del NCA. Las muestras desconocidas de suero que se van a usar para la prueba se deben analizar individualmente o en duplicado tanto para el caso del DENRA como del NCA. Consulte el diagrama de flujo al final de esta sección para conocer un ejemplo de este procedimiento. Se pueden probar 44 muestras en una placa de 96 pocillos.
- Marque las tiras de microtitulación que va a emplear.
- Diluya los sueros de prueba y los controles hasta 1/100 mediante el diluyente para muestras que se suministra. Use los pequeños tubos de polipropileno para las diluciones y al menos 4 µl de sueros y controles positivo y negativo. Por ejemplo, mezcle 4 µl de la muestra de suero y 396 µl de solución amortiguadora de dilución de la muestra de DENV para lograr una dilución 1/100.
- Aplique 50 µl por pocillo de los sueros de prueba diluidos 1/100, control negativo de IgM contra el dengue y control positivo de IgM contra el dengue a la placa mediante una pipeta de uno o varios canales, según corresponda. En el diagrama "Ejemplo de aplicación de la muestra de suero" al final del prospecto se muestra un ejemplo de la disposición de las 44 muestras de suero de prueba. Nota: todas las muestras de suero se deben probar con DENRA y NCA.
- Cubra la placa con parafilm solo en la superficie de la apertura del pocillo, de modo que la parte inferior de las placas no quede cubierta.

- Para minimizar la posible desviación del ensayo debido a una variación en el tiempo de incubación del sustrato, procure agregar la solución de corte en los pocillos en el mismo orden y a la misma velocidad que agregó la solución de TMB.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos, en especial en el caso del conjugado enzimático HRP listo para usar para IgM contra el dengue. Evite la contaminación de la solución de sustrato de TMB con el conjugado enzimático HRP.
- Use una punta de pipeta limpia y desechable para cada reactivo, estándar, control o muestra.
- Cubra el área de trabajo con papel absorbente desechable.

ADVERTENCIA: MATERIAL CON POSIBLE RIESGO BIOLÓGICO

Este kit contiene reactivos fabricados a partir de suero o plasma humanos. El suero o el plasma usados se han inactivado por calor, a menos que se declare lo contrario. Manipule todos los sueros y kits empleados como si contuvieran agentes infecciosos. Cumpla con las precauciones establecidas frente a los riesgos microbiológicos al realizar todos los procedimientos y siga los procedimientos habituales para desechar correctamente las muestras.

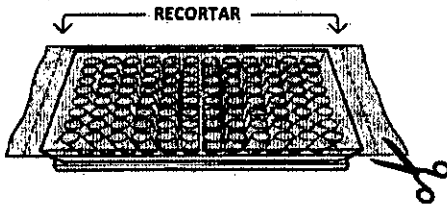
RIESGO QUÍMICO:

Todos los componentes de este kit cuentan con una hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS). Revise todas las MSDS correspondientes antes de realizar este ensayo. Evite todo contacto entre las manos y los ojos o la mucosa durante la prueba. En caso de producirse contacto, consulte la MSDS correspondiente para conocer el tratamiento adecuado.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

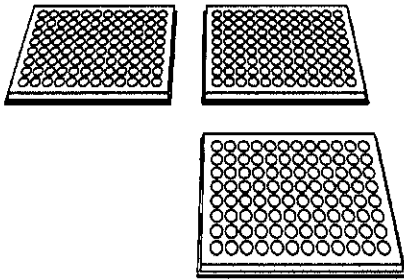
- Solo se debe usar suero para este ensayo, y este debe cumplir con las precauciones habituales correspondientes a la punción venosa. La sangre que se obtenga mediante punción venosa se debe dejar coagular a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) durante 30 a 60 minutos y luego se debe centrifugar de acuerdo con el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) Norma aprobada-Procedimientos para la manipulación y el procesamiento de muestras de sangre; Segunda edición. H18-A2 ISBN 1-56238-388-4).
- La prueba se debe realizar lo antes posible después de la punción. No deje los sueros a temperatura ambiente durante períodos prolongados. El suero separado se debe mantener entre 20 °C y 25 °C por no más de 8 horas. Si no completa los ensayos dentro de las 8 horas, el suero se debe refrigerar entre 2 °C y 8 °C. Si no completa los ensayos dentro de las 48 horas o si debe almacenar el suero separado más allá de las 48 horas, el suero se debe congelar a -20 °C o menos.
- Evite congelar y descongelar repetidamente las muestras, ya que esto provocará un deterioro del analito. Los congeladores de frío seco no son aptos para almacenar las muestras.
- Las muestras congeladas se deben descongelar a temperatura ambiente y mezclar por completo agitando suavemente o mediante inversión antes de usar. Centrifugue siempre antes de usar.
- Si va a transportar los sueros, se deben embalar de conformidad con las regulaciones federales relativas al transporte de agentes infecciosos.
- No utilice sueros si se observan indicios de crecimiento microbiano.

Nota: el objetivo es garantizar una distribución uniforme de la temperatura en todos los pocillos desde la parte inferior y los lados; el parafilm en exceso se puede cortar una vez que la parte superior esté sellada para así evitar la evaporación.



6. Deje incubar la placa a 37 °C durante 1 hora en una incubadora.

Nota: no apile las placas una encima de la otra. Se deben colocar como una sola capa. Esto es muy importante para lograr una distribución uniforme de la temperatura. No use incubadoras de CO₂ ni de ningún otro gas. No coloque las placas en contacto con ninguna sustancia húmeda, como toallas de papel húmedas, etc.



MÉTODO CORRECTO

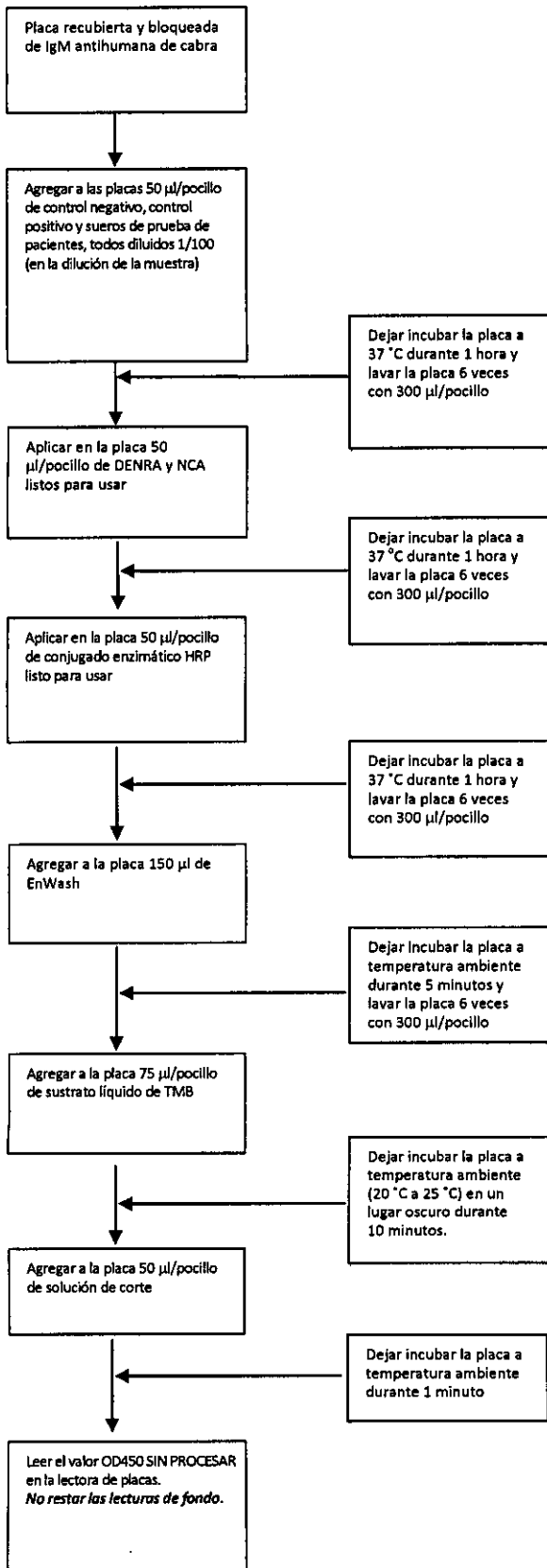
7. Tras la incubación, lave las placas 6 veces con una lavadora automática de placas y una solución amortiguadora de lavado 1X. Use 300 µl por pocillo en cada ciclo.
8. Agregue 50 µl por pocillo de DENRA en las filas A a D y 50 µl por pocillo de NCA en las filas E a H mediante pipetas de varios canales. Al final del prospecto se muestra un ejemplo de aplicación de DENRA y NCA.
9. Cubra la placa con parafilm solo en la superficie de la apertura del pocillo. La parte inferior de la placa no debe quedar cubierta (vea el paso 5).
10. Deje incubar la placa a 37 °C durante 1 hora en una incubadora (vea el paso 6).
11. Tras la incubación, lave las placas 6 veces con una lavadora automática de placas y una solución amortiguadora de lavado 1X. Use 300 µl por pocillo en cada ciclo.
12. Agregue 50 µl por pocillo de conjugado enzimático HRP listo para usar en todos los pocillos mediante pipetas de varios canales.
13. Cubra la placa con parafilm solo en la superficie de la apertura del pocillo. La parte inferior de la placa no debe quedar cubierta (vea el paso 5).
14. Deje incubar la placa a 37 °C durante 1 hora en una incubadora (vea el paso 6).

15. Tras la incubación, lave las placas 6 veces con una lavadora automática de placas y una solución amortiguadora de lavado 1X. Use 300 µl por pocillo en cada ciclo.
16. Agregue 150 µl por pocillo de EnWash en todos los pocillos mediante pipetas de varios canales.
17. Deje incubar la placa a temperatura ambiente durante 5 minutos sin ningún recubrimiento.
18. Tras la incubación, lave las placas 6 veces con una lavadora automática de placas y una solución amortiguadora de lavado 1X. Use 300 µl por pocillo en cada ciclo.
19. Agregue 75 µl por pocillo de sustrato líquido de TMB en todos los pocillos mediante pipetas de varios canales.
20. Deje incubar la placa a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) en un lugar (o recipiente) oscuro durante 10 minutos sin ningún recubrimiento.
21. Después de la incubación, agregue 50 µl por pocillo de solución de corte en todos los pocillos mediante pipetas de varios canales y deje incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto sin cubrir la placa.
22. Después de la incubación, lea el valor OD 450 nm (densidad óptica a 450 nm) **SIN PROCESAR** con una lectora de microplacas. Asegúrese de que la lectora de microplacas NO reste ni normalice los datos en caso de valores de blanco o pocillos vacíos.

Bloq. Hernán S...
Co-Dirección Técnica
M. N. 7899
CROBIOION S.R.L.



Diagrama de flujo del procedimiento de DENV Detect IgM Capture ELISA:



CONTROL DE CALIDAD

Cada kit contiene sueros de control positivo y negativo. Los controles positivo y negativo se deben analizar en cada placa de prueba. Los valores aceptables del índice de estado inmune (ISR) de estos controles se encuentran en la tabla de especificaciones a continuación. El objetivo de los controles negativo y positivo es controlar un error sustancial en el reactivo. El control positivo no garantizará la precisión del corte del ensayo. La prueba no será válida y se deberá repetir si alguno de los controles no cumple con las especificaciones. Si la prueba no es válida, los resultados de los pacientes no se pueden usar con fines informativos. Debe cumplir con los requisitos de control de calidad de conformidad con las normas locales, estatales y/o federales o los requisitos de acreditación y los procedimientos habituales de control de calidad del propio laboratorio. Se recomienda que el usuario consulte CLSI C24-A y 42 CFR 493.1256 para conocer los lineamientos acerca de las prácticas apropiadas de control de calidad.

Los resultados a continuación tienen únicamente fines orientativos. El análisis se aplica cuando se usan lecturas espectrofotométricas sin procesar únicamente y cuando no se emplea la resta automática de los datos de los blancos del agua y los reactivos.

Cálculo del control negativo: calcule los valores promedio del control negativo de IgM contra el dengue con DENRA y el antígeno (NCA) de control:

Ejemplo 1: Control negativo de IgM contra el dengue

	Densidad óptica (450)	
	DENRA	NCA
Réplica 1	0.108	0.066
Réplica 2	0.082	0.061
Suma	0.190	0.127

Promedio (DENRA) = $0.190 \div 2 = 0.095$
 Promedio (NCA) = $0.127 \div 2 = 0.064$

Calcular el índice DENRA/NCA (ISR): $0.095 \div 0.064 = 1.48$

Todo índice DENRA/NCA del control negativo contra el dengue superior a 1.65 indica que se debe repetir el procedimiento de la prueba.

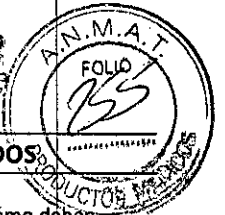
Cálculo del control positivo: Calcular los valores del Control positivo de IgM contra el dengue con DENRA y con NCA.

Ejemplo 2: Control positivo de IgM contra el dengue

	Densidad óptica (450)	
	DENRA	NCA
Réplica 1	0.635	0.105
Réplica 2	0.655	0.115
Suma	1.290	0.220

Promedio (DENRA) = $1.290 \div 2 = 0.645$
 Promedio (NCA) = $0.220 \div 2 = 0.110$

Calcular el índice DENRA/NCA (ISR): $0.645 \div 0.110 = 5.86$



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la tabla 2 que aparece a continuación se indica cómo deben interpretarse los resultados.

Tabla 2

ISR	Resultado	Interpretación
<1.65	Negativo	No se detecta el anticuerpo IgM, al parecer la persona no está infectada con el virus del dengue. El resultado no descarta la infección del virus del dengue. Se debería analizar otra muestra en los próximos 7 a 14 días si se sospecha infección en estado incipiente. Se recomienda realizar otros análisis del virus del dengue como las pruebas Dengue NS1, PCR o cultivos para descartar una infección aguda en estado incipiente.
1.65-2.84	Ambiguo	Las muestras cuyos resultados son dudosos deben repetirse por duplicado y debe determinarse el valor promedio del ISR. Las muestras cuyos resultados siguen siendo ambiguos después de la repetición de la prueba deben señalar que no se pudo determinar la presencia del anticuerpo IgM contra el virus del dengue, y deben repetirse con un método alternativo o se debe obtener otra muestra.
>2.84	Positivo	Se detectó la presencia de anticuerpo IgM, presunta infección con el virus del dengue. El resultado debe confirmarse mediante la prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT) o recurriendo a las últimas pautas de diagnóstico de los CDC para esta enfermedad. Es posible que un resultado IgM positivo no indique una infección reciente ya que el IgM puede persistir durante varios meses tras la infección.

LIMITACIONES

- Las muestras reactivas deben confirmarse mediante la prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT) o recurriendo a las últimas pautas de diagnóstico de los CDC para esta enfermedad. Consulte la información más reciente sobre diagnósticos en el sitio web de los CDC: <http://www.cdc.gov/dengue/clinicalLab/laboratory.html>.
- Dado que éste es un ensayo provisional, debe tenerse en cuenta la presencia de posibles resultados falsos positivos o falsos negativos.
- Es muy común la reactividad cruzada serológica en el grupo de flavivirus. El suero de ciertos pacientes infectados con el virus de la encefalitis japonesa, del Nilo Occidental y/o de Saint Louis pueden causar resultados falsos positivos. Por lo tanto, todo suero cuyo resultado sea dengue positivo debe confirmarse con otras pruebas.
- La reactividad cruzada con IgM contra la malaria no se ha analizado con DENV Detect IgM Capture ELISA.
- No se establecieron las características de realización del ensayo para la determinación visual de los resultados.

Todo índice DENRA/NCA del control positivo de IgM contra el dengue inferior a 5.0 indica que se debe repetir el procedimiento de la prueba.

Se deben obtener los valores de la tabla 1 que se muestra a continuación para publicar los resultados del análisis. El incumplimiento de estos criterios es un indicio del deterioro de los reactivos o de un error en el procedimiento de la prueba y debe repetirse el análisis.

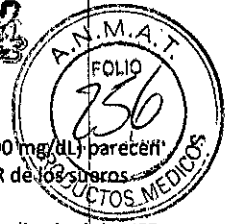
Tabla 1

Factor (para verificación del ensayo)	Tolerancia
Media de la densidad óptica del Control negativo contra el dengue en DENRA	< 0.300
Media de la densidad óptica del Control positivo de IgM contra el dengue en DENRA	> 0.350
Índice de estado inmune (ISR) del Control positivo de IgM contra el dengue	> 5.000
Índice de estado inmune (ISR) del Control negativo contra el dengue	< 1.650

CÁLCULOS DE ANÁLISIS DE MUESTRAS DESCONOCIDAS

Cálculo de índice de estado inmune (ISR): si las muestras desconocidas se analizan por duplicado, calcular el promedio de las dos réplicas con el DENRA y con el NCA y, a continuación, calcular el índice DENRA/NCA (ISR) dividiendo el promedio de densidad óptica del DENRA por los valores de densidad óptica del NCA. Si las muestras desconocidas se analizan por separado, dividir el valor de densidad óptica del DENRA por el del NCA.

Selección del valor de corte y determinación del intervalo de resultados dudosos: se emplearon ciento nueve muestras de suero positivas verdaderas y 97 negativas verdaderas para determinar el valor de corte óptimo del ISR y para establecer el intervalo de resultados dudosos. Todas las pruebas se realizaron de acuerdo con el prospecto. Se utilizó el análisis de dos gráficos ROC para determinar el punto de corte óptimo de los valores del ISR, dándole igual ponderación a la sensibilidad y a la especificidad. El valor óptimo de corte de ISR hallado fue 1.87. Se estableció un intervalo de resultados dudosos y se determinaron dos umbrales. Los valores del $ISR \geq 2.84$ determinaron la positividad de la prueba, los cuales correspondieron a una especificidad del 99% de la prueba y a una sensibilidad del 91%. Los valores del $ISR \leq 1.65$ determinaron la negatividad de la prueba, los cuales correspondieron a una sensibilidad del 96% de la prueba y a una especificidad del 94%. Los valores entre 1.65 y 2.84 se consideran ambiguos.



- No se establecieron las características de realización del ensayo para otras matrices diferentes al suero.
- Los resultados de pacientes con inmunodeficiencia deben interpretarse con cuidado.
- Los resultados del ensayo deben interpretarse exclusivamente en el contexto de otros hallazgos del laboratorio y el estado clínico global del paciente.
- Los niveles altos de colesterol (> 300 mg/dL) parecen dar resultados variables y pueden afectar los valores de densidad óptica del DENRA.
- Los niveles altos de triglicéridos (> 3000 mg/dL) parecen causar un pequeño aumento en los ISR de los sueros positivos bajos.
- La hemoglobina (> 1600 mg/dL) parece disminuir los ISR de ciertas muestras de suero.

VALORES ESPERADOS

Población endémica

La prueba DENV Detect IgM Capture ELISA se llevó a cabo en una clínica en un país endémico de Sudamérica en el año 2009 para analizar prospectivamente muestras de suero de personas que presentaban síntomas similares a los de la infección del dengue. Se examinaron sesenta y seis personas en la consulta de la aparición de la fiebre. Las muestras comprendían infecciones primarias y secundarias. En las tablas 3 y 4 que aparecen a continuación se resume la reactividad de las muestras con la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA.

Tabla 3: Resultados esperados de región endémica de pacientes sintomáticos

Edad (años)	Cantidad de hombres	Cantidad de mujeres	Resultados de la prueba DENV Detect IgM Capture ^a			
			No reactivos	Ambiguo	Reactivos	Prevalencia
9-20	3	10	12	0	1	7.7%
21-30	5	7	8	1	3	25%
31-40	6	14	13	2	5	25%
41-50	7	6	9	2	2	15.4%
51-60	2	3	3	0	2	40%
61-70	2	0	2	0	0	0%
71-80	1	0	1	0	0	0%
Total	26	40	48	5	13	19.7%

a: todas las muestras reactivas se confirmaron con la prueba de PRNT.

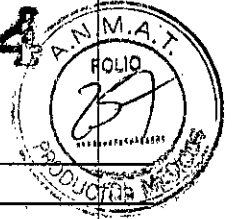
Población no endémica

Las muestras de suero (n = 200) de personas que no presentaban síntomas se obtuvieron en Florida, Texas y Pennsylvania en marzo de 2004. Las muestras representan una variedad de edades, tanto de hombres como mujeres. La reactividad de las muestras de suero que se examinaron se resume a continuación en la tabla 4.

Tabla 4: Resultados esperados de región no endémica de personas que no presentaban síntomas

Edad (años)	Cantidad de hombres	Cantidad de mujeres	Resultados de la prueba DENV Detect IgM Capture			
			No reactivos	Ambiguo	Reactivos	Prevalencia
10-20	5	13	18	0	0	0.0%
21-30	38	30	68	0	0	0.0%
31-40	27	38	64	1	0	0.0%
41-50	23	20	42	0	1 ^a	2.3%
51-60	5	1	6	0	0	0.0%
Total	98	102	198	1	1	0.5%

a: esta muestra arrojó un resultado positivo de dengue con la prueba PRNT.



CARACTERÍSTICAS DE REALIZACIÓN

Estudio de grupo de la OMS

Se creó un grupo de muestras de referencia con características determinadas en un proyecto en común del Fondo Internacional de las Naciones Unidas para Emergencias de la Infancia, el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, el Banco Mundial, el Programa Especial de Investigación y Formación en Enfermedades Tropicales de la Organización Mundial de la Salud y la Iniciativa de la Vacuna Pediátrica contra el Dengue. El grupo de referencia se creó mediante el establecimiento de una red de siete laboratorios que contribuyeron con muestras de suero y el análisis de las mismas (10).

Un subconjunto del grupo de referencia estuvo disponible para su examen mediante la prueba InBios DENV Detect IgM Capture ELISA. Los CDC de Puerto Rico analizaron el grupo de muestras; los resultados obtenidos se ofrecen a continuación en la tabla 5.

Tabla 5
Reactividad de las muestras del grupo de referencia de la OMS con la prueba
InBios DENV Detect IgM ELISA

<u>Categoría</u>	<u>Cantidad analizada</u>	<u>Resultado de la prueba DENV Detect IgM ELISA</u>	<u>Conteo</u>	<u>Categoría</u>	<u>Cantidad analizada</u>	<u>Resultado de la prueba DENV Detect IgM ELISA</u>	<u>Conteo</u>
IgM contra dengue negativo	27	Negativo	27	Encefalitis de St. Louis (SLE)	2	Negativo	1
		Ambiguo	0			Ambiguo	1
		Positivo	0			Positivo	0
IgM contra dengue positivo	109	Negativo	4	IgG contra la enfermedad de Lyme	9	Negativo	9
		Ambiguo	5			Ambiguo	0
		Positivo	100			Positivo	0
IgG contra el virus del Nilo Occidental	11	Negativo	10	Factor reumatoide (FR)	10	Negativo	10
		Ambiguo	1			Ambiguo	0
		Positivo	0			Positivo	0
IgM contra el virus del Nilo Occidental	25	Negativo	21	Lupus eritematoso sistémico	2	Negativo	2
		Ambiguo	2			Ambiguo	0
		Positivo	2			Positivo	0
IgM contra la fiebre amarilla (FA)	4	Negativo	3	IgM contra el hantavirus del nuevo mundo (HTN)	7	Negativo	7
		Ambiguo	1			Ambiguo	0
		Positivo	0			Positivo	0

La coincidencia de porcentaje positivo (PPA) y la coincidencia de porcentaje negativo (NPA) están tabuladas considerando "el peor de los casos". Es decir, las muestras cuyos resultados son ambiguos se consideran falsos negativos para la PPA y se consideran falsos positivos para la NPA.

Coincidencia de porcentaje positivo: (100/109) 91.7% (IC del 95%: 84.9-95.8%).

Coincidencia de porcentaje negativo: (90/97) 92.8% (IC del 95%: 85.6-96.7%).

Estudios clínicos

Sitio del estudio 1:

El presente estudio retrospectivo empleó muestras archivadas obtenidas de personas que presentaban indicios y síntomas de la infección del dengue. Las muestras se obtuvieron a partir de una fecha en adelante hasta que se llegó a la cantidad predeterminada de muestras reactivas. El estudio se realizó con el suero obtenido de 197 sujetos en un laboratorio de referencia en el Sudeste Asiático. Se disponía de dos extracciones de muestras (total de 394 muestras obtenidas con entre 1 y 2 semanas de diferencia) y la confirmación del virus del dengue (DENV) se evaluó mediante distintos métodos en el laboratorio de referencia. El diagnóstico definitivo de cada sujeto se efectuó en el laboratorio de referencia mediante un algoritmo de diagnóstico (resultado de la prueba de IgM validado en planta, y/o el resultado de la PCR, y/o un aumento de la titulación de IgG, y/o un aumento de cuatro veces de la titulación de la inhibición de la hemaglutinación (HAI) entre la extracción de sangre en la fase aguda y la convaleciente). Se empleó cualquiera de los ensayos para confirmar un diagnóstico positivo.

Todas las muestras mencionadas se obtuvieron y analizaron en secuencia con el kit de InBios DENV Detect IgM Capture ELISA. Las coincidencias de porcentaje positivo y negativo con los diagnósticos definitivos del laboratorio de referencia están tabuladas a continuación como función de la cantidad de días posteriores al comienzo de la fiebre.

Tabla 6
Realización de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA del Sitio del estudio 1

<u>Días posteriores a la aparición de la fiebre</u>	<u>Coincidencia de porcentaje positivo</u>	<u>Coincidencia de porcentaje negativo</u>	<u>Cantidad de muestras con resultados ambiguos con diagnóstico definitivo positivo</u>	<u>Cantidad de muestras con resultados ambiguos con diagnóstico definitivo negativo</u>
2 a 3 días	28.6% (2/7)	100.0% (4/4)	1	0
4 a 5 días	40.3% (27/67)	78.8% (26/33)	19	7
6 a 7 días	75.9% (63/83)	88.6% (31/35)	14	3
8 a 10 días	88.8% (71/80)	97.1% (33/34)	7	1
11 a 15 días	91.7% (22/24)	100.0% (21/21)	2	0
16 a 19 días	100.0% (5/5)	100.0% (1/1)	0	0

La coincidencia de porcentaje positivo (PPA) y la coincidencia de porcentaje negativo (NPA) están tabuladas considerando "el peor de los casos". Es decir, las muestras cuyos resultados son ambiguos se consideran falsos negativos para la PPA y se consideran falsos positivos para la NPA.

Nota: el resumen presentado compara los resultados de la prueba del ensayo InBios con los diagnósticos definitivos que efectuó el laboratorio de referencia mediante la prueba de PCR, HAI, el aumento de la titulación de IgG y la prueba de IgM ELISA en planta.

Sitio del estudio 2:

Un estudio retrospectivo analizó en un laboratorio de referencia al oeste de los Estados Unidos 212 muestras archivadas obtenidas en serie de personas que presentaban síntomas de la infección del dengue. Las muestras del período 2008-2009 se obtuvieron a partir de una fecha en adelante hasta que se llegó a la cantidad predeterminada de muestras reactivas. La mayoría de las muestras pertenecía al Caribe y las regiones del sur y sureste de los Estados Unidos (Texas y Florida); no obstante, una minoría de las muestras también provenía de África y Asia. De las 212 muestras analizadas, 116 resultaron negativas, 67 positivas. Veintinueve se incluyeron dentro del intervalo de resultados dudosos y se repitió la prueba de acuerdo con las especificaciones del prospecto. Una vez repetida la prueba, 13 muestras cuyos resultados habían sido ambiguos se clasificaron como negativas, 11 obtuvieron resultados dudosos nuevamente y 5 se clasificaron como positivas.

Debido a la falta del volumen de muestras o de acceso, solo se realizó una prueba PRNT confirmatoria en 5 de las 11 muestras dudosas (de las cuales se confirmaron 3/5 o el 60% como DENV positivas) y en 70 de las 72 muestras positivas (de las cuales se confirmaron 62/70 o el 88.6% como DENV positivas). Un total

de 130 muestras no se sometió a la prueba PRNT.

Las 130 muestras que no se analizaron con la prueba PRNT fueron examinadas por CDC Dengue MAC ELISA en los CDC y clasificadas como negativas, ambiguas, inconclusas o positivas según lo estipulado por el protocolo CDC MAC ELISA. Trece de las muestras analizadas por CDC MAC ELISA se clasificaron como indeterminadas (n=9) o ambiguas (n=4) y luego fueron sometidas a la prueba PRNT para corroborar su estado. Solamente 3 de las 9 (33.3%) muestras indeterminadas y 2 de las 4 (50%) muestras ambiguas analizadas con la prueba PRNT resultaron positivas.

Tabla 7a

Reactividad de las muestras del Sitio del estudio 2 – Confirmadas mediante PRNT

Resultado de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA	Positivo	Diagnósticos definitivos de PRNT		
		DENV positivos (cantidad de muestras)	DENV negativos (cantidad de muestras)	Total (cantidad de muestras)
	Ambiguo	62	8	70
	Negativo	3	2	5
	Total	4	3	7
		69	13	82

Tabla 7b

Reactividad de las muestras del Sitio del estudio 2 – Confirmadas mediante CDC MAC ELISA^a

Resultado de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA	Positivo	Resultado de la prueba CDC MAC ELISA ^a		
		DENV positivos (cantidad de muestras)	DENV negativos (cantidad de muestras)	Total (cantidad de muestras)
	Ambiguo	1	1	2
	Negativo	1	5	6
	Total	4	118	122
		6	124	130

a: 13 muestras resultaron inconclusas o ambiguas con CDC MAC y se analizaron con la prueba PRNT para clasificar en última instancia su estado. Las coincidencias de porcentaje positivo y negativo se calcularon mediante la tabulación de los resultados de PRNT (Tabla 7a) y de CDC MAC ELISA (Tabla 7b).
Coincidencia de porcentaje positivo: (63/75) 84.0% (IC del 95%: 73.9-90.8%).
Coincidencia de porcentaje negativo: (121/137) 88.3% (IC del 95%: 81.8-92.8%).

En los cálculos anteriores de la Tabla 7b, la coincidencia de porcentajes incorpora los datos de la tabla de PRNT y de CDC MAC ELISA. Las muestras ambiguas e indeterminadas de CDC MAC ELISA (n = 13) fueron clasificadas mediante PRNT.

Sitio del estudio 3:

La especificidad de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA se analizó en un laboratorio de salud pública ubicado en la parte norte del Oeste Medio de los Estados Unidos. El presente estudio retrospectivo empleó 289 muestras archivadas (obtenidas en el período 2005-2008) de personas que presentaban síntomas y que padecían o no otras enfermedades (entre ellos 136 pacientes estaban infectados con el virus del Nilo Occidental, hepatitis A, B o C,

VIH, legionelosis, FMMR o enfermedad de Lyme). Todas las pruebas y los diagnósticos se efectuaron en el laboratorio de salud pública. Todas las muestras se obtuvieron de personas del mismo estado en la parte norte del Oeste Medio en donde nunca hubo una epidemia del virus del dengue. Por consiguiente, se supone que las muestras del virus del dengue negativas están basadas en el historial de incidencias del dengue en esta zona general (<http://doh.sd.gov/ID/AnnualReport/1997-2007.pdf>).

Luego del análisis inicial y la repetición de la prueba de las muestras ambiguas, 215 tuvieron resultados negativos, 22 muestras resultaron ambiguas nuevamente y 52 positivas. Las muestras que tuvieron resultados positivos o ambiguos en el análisis inicial se incluyeron en la prueba PRNT (74 muestras). Se observó que prácticamente toda la reactividad cruzada se debe al virus del Nilo Occidental.

Tabla 8

Reactividad de las muestras retrospectivas de área de dengue no endémica (Sitio 3) en los EE. UU.

Resultado de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA	Positivo	Diagnósticos definitivos		
		DENV negativos, sin presencia de otra enfermedad (cantidad de muestras)	DENV negativos, con presencia de otra enfermedad (cantidad de muestras)	DENV PRNT positivos ^b
	Ambiguo	1	40 ^b	11
	Negativo	0	16 ^b	6
	Total	100	115	0
		101	171	17

a: prácticamente todas las muestras de la prueba DENV PRNT que tuvieron un resultado positivo revelaron titulaciones bajas de PRNT y se identificaron como muestras de suero con resultados positivos para el virus del Nilo Occidental, lo cual indica reactividad cruzada con DENV PRNT (11).

b: Nota: Todos los falsos positivos observados y la gran cantidad de muestras ambiguas se deben solamente a la reactividad cruzada que se observó en las muestras que resultaron positivas para el virus del Nilo Occidental (vea la Tabla 9). Las muestras pueden subdividirse según el estado de la enfermedad del paciente. Por ejemplo, las personas que resultaron positivas para el virus de Nilo Occidental (WNV) pueden presentar reactividad cruzada con la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA. En las siguientes tablas se muestran los resultados del Sitio del estudio 3.

Tabla 9

Reactividad cruzada de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA mediante muestras del Sitio del estudio 3

		Estado de las muestras	
		WNV negativos, sin presencia de otra enfermedad (cantidad de muestras)	WNV positivos (cantidad de muestras)
Resultado de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA	Positivo	0	40
	Ambiguo	0	16
	Negativo	35	80
	Total	35	136

Coincidencia de porcentaje negativo de muestras en las que no se detectó enfermedad: (100/101) 99.0% (IC del 95%: 94.1-100%). [Vea la Tabla 8, arriba].

Coincidencia de porcentaje negativo de muestras con otras enfermedades diferentes al virus del Nilo Occidental: (35/35) 100% (IC del 95%: 88.2-100%).

Coincidencia de porcentaje negativo de muestras en las que se detectó el virus del Nilo Occidental: (80/136) 58.8% (IC del 95%: 50.4-66.7%).

Ninguna de las 35 muestras de las personas sin DENV pero con FMMR (n = 5), legionelosis (n=2), enfermedad de Lyme (n=2), VIH (n=8), hepatitis A (n=2), hepatitis B (n=5) o hepatitis C (n=11) resultaron ambiguas o positivas en la prueba InBios DENV Detect IgM Capture ELISA.

De los 136 pacientes sin DENV pero que habían contraído el virus del Nilo Occidental, 80 muestras resultaron negativas para la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA, 16 se incluyeron dentro del intervalo de resultados dudosos y 40 fueron positivas.

Sitio del estudio 4:

La especificidad de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA se analizó en un Departamento Estatal de Salud ubicado en el sur de los Estados Unidos recurriendo a 199 muestras archivadas (obtenidas durante el periodo 2004-2008) de personas que presentaban síntomas pero que se suponía eran DENV negativos. La mayoría de los pacientes presentaba síntomas de dolor de cabeza y fiebre mientras que otros mostraban síntomas neurológicos. En la prueba inicial, 183 muestras resultaron negativas, 10 se incluyeron dentro del intervalo de resultados dudosos de acuerdo con las especificaciones del prospecto y 6 fueron positivas. Una vez repetida la prueba, las 10 muestras del intervalo de resultados dudosos se clasificaron como negativas.

Las 199 muestras se examinaron además en los CDC con la prueba CDC Dengue IgM (MAC) ELISA para clasificarlas como dengue negativo, ambiguo, positivo o que no pudieron interpretarse (background inespecífico muy alto). Debe tenerse en cuenta que estas clasificaciones son las clasificaciones de los CDC para el kit. Dieciséis muestras no pudieron interpretarse según la prueba CDC Dengue IgM (MAC) ELISA, pero el análisis PRNT las confirmó como negativas. Las muestras consideradas negativas se muestran en la siguiente tabla. Una muestra tuvo

resultados dudosos y otra dio positivo con la prueba CDC Dengue IgM ELISA.

Tabla 10

Reactividad de las muestras retrospectivas de área de dengue no endémica (Sitio del estudio 4)

		Prueba CDC Dengue IgM (MAC) ELISA		
		DENV positivos (cantidad de muestras)	DENV ambiguos (cantidad de muestras)	DENV negativos (cantidad de muestras)
Resultado de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA	Positivo	0	0	6
	Ambiguo	0	0	0
	Negativo	1	1	191
	Total	1	1	197

Coincidencia de porcentaje negativo: (191/197) 97.0% (IC del 95%: 93.4-98.7%).

Sitio del estudio 5:

En un estudio prospectivo de 55 personas que presentaban síntomas (edad media: 35.1 años -- muestras obtenidas en el año 2009) realizado en una región endémica de dengue en Sudamérica, se recolectaron muestras de cada individuo en la presentación así como en la segunda visita entre los 4 y 14 (media 9) días posteriores; ambas muestras se analizaron con la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA. Las muestras de ambas visitas cuyos resultados fueron dudosos se volvieron a analizar con la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA. El análisis PRNT confirmatorio se realizó en la muestra de la primera y segunda visitas. Se advirtieron cambios en la prueba PRNT de un aumento de cuatro veces o más entre las visitas 1 y 2, lo cual indica una infección de dengue actual (12) en 39 personas. Se considera que las muestras tienen un incremento de cuatro veces en los niveles de PRNT si los valores de PRNT incrementan de, por ejemplo, PRNT = 10 en la primera visita a PRNT = 40 en la segunda visita para un subtipo de dengue determinado. No se consideró que las muestras que revelaron un valor de PRNT <10 con un aumento de PRNT = 10 (n = 4 muestras) únicamente tuvieron un aumento de cuatro veces.



Tabla 11

Reactividad de las muestras prospectivas de área endémica de dengue (Sitio 5) en la primera visita^a

		Diagnósticos definitivos	
		Infecciones de dengue recientes ^b (cantidad de muestras)	Ningún indicio de infecciones recientes de dengue ^c (cantidad de muestras)
Resultado de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA	Positivo	13	0
	Ambiguo	4	1
	Negativo	22	15
	Total:	39	16

a: coincidencia de porcentaje positivo: (13/39) 33.3% (IC del 95%: 20.6-49.1%).

Coincidencia de porcentaje negativo: (15/16) 93.8% (IC del 95%: 69.7-100%).

b: PRNT positivo y aumento \geq a cuatro veces en PRNT entre la primera y la segunda visita

c: PRNT positivo y aumento $<$ a 4 veces en PRNT entre la primera y la segunda visita

Los resultados de las muestras de suero de la segunda visita de los pacientes (entre 4 y 14 días más tarde) se ofrecen en las siguientes tablas. Como se observa claramente a continuación, la sensibilidad de análisis aumenta llegado el momento de la segunda visita.

Estudio de reproducibilidad: Se evaluó la reproducibilidad de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA en tres sitios y mediante dos operadores diferentes en cada sitio durante cinco días. Todas las muestras (incluidos los controles) se llevaron a cabo por triplicado. El estudio se realizó en un laboratorio de salud pública de Florida, en las instalaciones de InBios y en un laboratorio de referencia ubicado en la parte central de los EE. UU. Se utilizaron cuatro muestras de suero que contenían muestras diluidas en una matriz de analito negativo junto con un control positivo y uno negativo. Las cuatro muestras de suero (sin incluir los controles positivo y negativo) estaban compuestas de una muestra negativa, una situada justo por debajo del intervalo de resultados dudosos, una dentro de este intervalo y una positiva. Las diluciones de suero seleccionadas también garantizaron que la concentración de analito en las muestras representaba un intervalo clínicamente relevante. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12

Reactividad de las muestras prospectivas de área endémica de dengue (Sitio 5) en la segunda visita^a

		Diagnósticos definitivos	
		Infecciones de dengue recientes ^b (cantidad de muestras)	Ningún indicio de infecciones recientes de dengue ^c (cantidad de muestras)
Resultado de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA	Positivo	31	1
	Ambiguo	2	0
	Negativo	6	15
	Total	39	16

a: Coincidencia de porcentaje positivo: (31/39) 79.5% (IC del 95%: 64.2-89.5%).

Coincidencia de porcentaje negativo: (15/16) 93.8% (IC del 95%: 69.7-100%).

b: PRNT positivo y aumento \geq a cuatro veces en PRNT entre la primera y la segunda visita

c: PRNT positivo y aumento $<$ a 4 veces en PRNT entre la primera y la segunda visita

Debe recordarse que, como se indica en el apartado "Interpretación de resultados", las muestras cuyos resultados son ambiguos deben repetirse y someterse a un análisis confirmatorio si se siguen obteniendo resultados dudosos.

A ↓

Tabla 13
Reproducibilidad de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA de InBios

ID de la muestra	n	Media de ISR	Intraensayo (dentro del ensayo)		Día a día		Operador a operador		Sitio a sitio		Total	
			S _{wr}	%CV _{wr}	S _{DD}	%CV _{DD}	S _{OO}	%CV _{OO}	S _{SS}	%CV _{SS}	S _T	%CV _T
Panel A	90	1.133	0.148	13.06	0.056	4.96	0.066	5.86	0.064	5.63	0.158	13.97
Panel B	90	1.587	0.245	15.41	0.187	11.79	0.182	11.44	0.081	5.11	0.308	19.40
Panel C	90	2.433	0.621	25.52	0.668	27.46	0.522	21.44	0.207	8.52	0.912	37.49
Panel D	90	5.821	1.18	20.28	2.014	34.59	1.072	18.41	0.693	11.91	2.334	40.10
Control positivo	90	11.944	1.692	14.17	2.437	20.40	2.085	17.46	1.546	12.94	2.967	24.84
Control negativo	90	1.148	0.152	13.25	0.088	7.67	0.064	5.61	0.051	4.47	0.176	15.31

Todos los valores se calculan como índices de DENRA/NCA

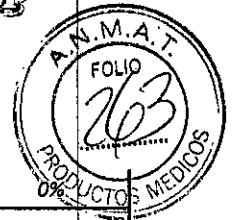
S_x = desviación estándar de "x" (wr o DD) wr: durante el ensayo, DD: día a día, OO: entre operadores, SS: entre sitios

%CV: = % del coeficiente de variación

Estudio de reactividad cruzada: Se examinó el ensayo DENV Detect IgM Capture ELISA con un número de muestras de suero que contenían anticuerpos IgM de varias enfermedades diferentes (vea la siguiente tabla). Inicialmente, las muestras se analizaron por duplicado. Cualquier muestra ambigua o positiva se analizaba por triplicado. Las muestras que resultaron positivas fueron evaluadas para determinar la exposición al virus del dengue mediante la prueba de neutralización por reducción de placas. Solo se observó una reactividad cruzada significativa en el caso del virus del Nilo Occidental.

Tabla 14
Reactividad cruzada de la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA de InBios

Enfermedad o agente infeccioso	Número de muestras	DENV Detect IgM ELISA		N.º total de resultados positivos o ambiguos	% de resultados positivos o ambiguos
		Ambiguo	Positivo		
Encefalitis equina oriental (EEE) ^{†a}	10	0	0	0/10	0%
Encefalitis japonesa (JE) ^a	2	0	0	0/2	0%
Encefalitis de Saint Louis (SLE) ^a	4	0	0	0/4	0%
Virus de la hepatitis B ^a	10	0	0	0/10	0%
Virus de Epstein Barr ^a	15	0	0	0/15	0%
Factor reumatoide	7	0	0	0/7	0%
Virus de la hepatitis C ^a	10	0	0	0/10	0%
Citomegalovirus ^a	10	0	0	0/10	0%
Anticuerpos antinucleares (AAN) ^a	10	0	0	0/10	0%
Virus de la varicela zóster ^a	10	0	0	0/10	0%



Enfermedad de Lyme ^a	5	0	0	0/5	0%
Leptospirosis ^{a,b}	11	0	0	0/11	0%
Virus del Nilo Occidental ^c	24	4	8	12/24	50%
Total	112	4	8	12/128	9.4% (12/128)

a: las muestras analizadas contenían anticuerpos IgM específicos de su respectivo analito. La reactividad cruzada con anticuerpos IgM de malaria no se ha evaluado con el ensayo de IgM de dengue de InBios.

b: se analizó una muestra de leptospirosis que resultó ser reactiva con el ensayo de IgM de dengue de InBios mediante PRNT y resultó ser positiva en el ensayo PRNT (no se incluye en esta tabla ya que se considera una muestra positiva fiable).

El número total de muestras analizadas en relación al suero de reactividad cruzada fue de 128 tras extraer tres sueros (uno WNV positivo, uno JEV positivo y una muestra de leptospirosis positiva) que también resultaron positivos para el virus del dengue mediante PRNT. Doce muestras positivas de IgM del virus del Nilo Occidental de 24 analizadas resultaron ser positivas o ambiguas tras un nuevo análisis mediante la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA. El porcentaje general de la reactividad cruzada con el IgM del virus del Nilo Occidental fue del 50%.

Estudio de Interferencia: Se analizaron cuatro sustancias de interferencia potencial que suelen aparecer en el suero para observar su efecto mediante la prueba DENV Detect IgM Capture ELISA. Se utilizaron una muestra negativa y cuatro muestras positivas del virus del dengue según su potencia, de un positivo débil a uno fuerte. Las cuatro sustancias de interferencia potencial fueron la bilirrubina (1 y 2 mg/dL), los triglicéridos (500 y 3,000 mg/dL), la hemoglobina (1,600 y 16,000 mg/dL) y el colesterol (300 y 500 mg/dL). La bilirrubina no mostró ningún efecto sobre los resultados de la prueba. Los niveles altos de triglicéridos (3,000 mg/dL) mostraron un efecto débil para aumentar el ISR del suero positivo bajo. La hemoglobina afectó a algunas muestras de suero al disminuir el ISR en niveles de hemoglobina altos y posiblemente en niveles de hemoglobina bajos. El colesterol dio resultados variables a partir de estudios repetidos. Por lo tanto, solo se puede afirmar que es posible que el colesterol afecte los valores DENRA de densidad óptica en ambos niveles de colesterol (300 y 500 mg/dL). La tabla que aparece a continuación muestra el porcentaje de cambio en el ISR observado de la sustancia de interferencia cuando se compara con la muestra de referencia.

Tabla 15
Porcentaje de cambio del valor ISC DENRA en presencia de sustancias de interferencia

	Valor ISR de control	Bilirrubina		Triglicérido		Hemoglobina		Colesterol	
		1 mg/dL	2 mg/dL	500 mg/dL	3,000 mg/dL	1,600 mg/dL	16,000 mg/dL	300 mg/dL	500 mg/dL
Control positivo	20.84	16.4%	-1.0%	-1.7%	9.8%	-67.2%	-80.6%	21.8%	-1.9%
Control negativo	1.18	-1.0%	-4.8%	-0.4%	7.2%	-1.3%	3.7%	7.0%	29.4%
Muestra D	14.40	-0.9%	-2.6%	20.8%	31.6%	-43.5%	-62.6%	-10.8%	-17.3%
Muestra E	6.36	25.1%	8.4%	-19.4%	-28.6%	-59.8%	-69.6%	-49.5%	-5.1%
Muestra F	0.94	15.5%	0.1%	-7.5%	-12.9%	-0.1%	12.2%	4.0%	1.1%

REFERENCIAS

1. Monath TP. Flaviviruses. En: Fields BN, et al. Fields Virology, 2.^a ed. Vol. 1, Nueva York: Raven Press, 1990, 763-814.
2. Henchal EA, Putnak JR. The dengue viruses. Clin Microbiol Rev 1990; 3(4):376-96.
3. Effler PV, Halstead SB. Immune enhancement of viral infection. Progress in Allergy 1982; 31:301-64.
4. Halstead SB. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. Advances in Virus Research 2003; 60:421-67.
5. Gubler DJ, Dengue and dengue hemorrhagic fever. Clin Microbiol Rev 1998; 11(3):480-496.
6. The Dengue Update, CDC, Vol. 3 N.º 1 2011
7. Effler PV, Pang L, Kitsutani P, Vorndam V, Nakata M, Ayers T, Elm J, Tom T, Reiter P, Rigau-Perez JG, Hayes JM, Mills K, Napier M, Clark GG, Gubler DJ; Hawaii Dengue Outbreak Investigation Team. Dengue fever, Hawaii, 2001-2002. Emerg Infect Dis 2005; 11(5):742-8.
8. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, Puttisri P, Hoke CH. An enzyme linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. Am J Trop Med Hyg 1989; 40: 418-427.
9. Organización Mundial de la Salud. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control, 2.^a ed. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza 1997.
10. Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, Nguyen VC, Sekaran SD, Enria DA, et al. Evaluation of Commercially Available Anti-dengue Virus Immunoglobulin M Tests. Emerg Infect Dis 2009; 15:436-440.

9434



11. Taketa-Graham M, Pereira J, Baylis E, Cossen C, Ocegüera L, Patiris P, Chiles R, Hanson C, Forghani B. Short Report: High Throughput Quantitative Colorimetric Microneutralization Assay for the Confirmation and Differentiation of West Nile Virus and St. Louis Encephalitis Virus. Am J Trop Med Hyg 2010; 82: 501-504.
12. Kao C, King C, Chao D, Wu H, Chang G. Laboratory diagnosis of dengue virus infection: current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. J Microbiol Immunol Infect 2005; 38:5-16.



InBios International, Inc.
562 1st Ave. South Suite 600
Seattle, WA 98104 EE.UU.
N.º gratuito en EE. UU. - 1-866-INBIOS1
206-344-5821 (Internacional)
www.inbios.com
N.º de referencia del prospecto 900108-04
07.23.2015
 N.º de catálogo DDMS-1



CEpartner4U, Esdoornlaan 13, 3951 DB Maarn.
Países Bajos. Tel.: +31 (0) 6.516.536.26





Ejemplo de aplicación de la muestra de suero

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Control negativo	Muestra 1	Muestra 5	Muestra 9	Muestra 13	Muestra 17	Muestra 21	Muestra 25	Muestra 29	Muestra 33	Muestra 37	Muestra 41
B	Control negativo	Muestra 2	Muestra 6	Muestra 10	Muestra 14	Muestra 18	Muestra 22	Muestra 26	Muestra 30	Muestra 34	Muestra 38	Muestra 42
C	Control positivo	Muestra 3	Muestra 7	Muestra 11	Muestra 15	Muestra 19	Muestra 23	Muestra 27	Muestra 31	Muestra 35	Muestra 39	Muestra 43
D	Control positivo	Muestra 4	Muestra 8	Muestra 12	Muestra 16	Muestra 20	Muestra 24	Muestra 28	Muestra 32	Muestra 36	Muestra 40	Muestra 44
E	Control positivo	Muestra 4	Muestra 8	Muestra 12	Muestra 16	Muestra 20	Muestra 24	Muestra 28	Muestra 32	Muestra 36	Muestra 40	Muestra 44
F	Control positivo	Muestra 3	Muestra 7	Muestra 11	Muestra 15	Muestra 19	Muestra 23	Muestra 27	Muestra 31	Muestra 35	Muestra 39	Muestra 43
G	Control negativo	Muestra 2	Muestra 6	Muestra 10	Muestra 14	Muestra 18	Muestra 22	Muestra 26	Muestra 30	Muestra 34	Muestra 38	Muestra 42
H	Control negativo	Muestra 1	Muestra 5	Muestra 9	Muestra 13	Muestra 17	Muestra 21	Muestra 25	Muestra 29	Muestra 33	Muestra 37	Muestra 41

Ejemplo de la aplicación del RA y del NCA del dengue

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue
B	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue
C	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue
D	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue	RA del dengue
E	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA
F	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA
G	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA
H	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA	NCA



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

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-3110-640/14-1

Se autoriza a la firma CROMOION S.R.L. a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado DENV Detect IgM Capture ELISA (DDMS-1) / detección cualitativa de anticuerpos IgM contra antígenos recombinantes DEN (DENRA) en suero para diagnóstico provisional en laboratorio clínico de infecciones por el virus del dengue. En envases conteniendo: Tiras de microtitulación recubiertas para IgM humana (96 pocillos), Solución amortiguadora de dilución de las muestras DENV (25ml), Control negativo (50µl), control positivo (50µl), Antígeno recombinante del dengue (5ml), Antígenos de Células normales (NCA)(5ml), conjugado enzimático HRP (9ml), solución amortiguadora de lavado 10X (120ml), EnWash (20ml), sustrato líquido de TMB (12ml) y Solución de corte (9ml), para 96 determinaciones. Vida útil: DOCE (12) MESES desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C. Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley Nº 16.463 y Resolución Ministerial Nº 145/98. Lugar de elaboración: InBios International, Inc., 562 1st. Avenue South, Suite 600, Seattle WA 98104 (USA) para Cepartner4u B.V., Esdoornlaan 13, 3951 DB Maarn (PAISES BAJOS) . En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA

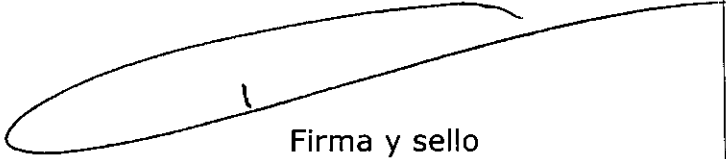
A

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA. Certificado n° **008325**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA

Buenos Aires,

11 NOV. 2015



Firma y sello

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