



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

DISPOSICIÓN Nº 9447

BUENOS AIRES, 01 NOV 2015

VISTO el expediente Nº 1-47-3110-643/14-0 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 IgG Capture ELISA (DDGS-1) / detección de anticuerpos IgG dirigidos hacia el antígeno recombinantes derivados del DENGUE (DENRA) (1-4) en suero humano para la ayuda en el diagnóstico de la exposición humana al virus del dengue.

Que a fojas 204 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 Nº 16.463, Resolución Ministerial Nº 145/98 y Disposición ANMAT Nº 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto Nº 1490/92, por el Decreto Nº 1886/14 y el Decreto Nº 1368/15.

[Handwritten signature]
[Handwritten signature]
[Handwritten signature]



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

DISPOSICIÓN Nº 9447

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 IgG Capture ELISA (DDGS-1) / detección de anticuerpos IgG dirigidos hacia el antígeno recombinantes derivados del DENGUE (DENRA) (1-4) en suero humano para la ayuda en el diagnóstico de la exposición humana al 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 IgG humana (96 pocillos), Solución buffer de dilución de las muestras (25ml), Control negativo (50µl), control positivo (50µl), conjugado enzimático HRP (6ml), solución amortiguadora de lavado 10X (120ml), EnWash (20ml), sustrato líquido de TMB (9ml) y Solución de corte (6ml), 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 136 a 145 y 176 a 202 (Desglosándose 136, 140, 141 y 176 a 184)

Handwritten initials and signature:
LV



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

DISPOSICIÓN Nº **9447**

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 Nº 1-47-3110-643/14-0

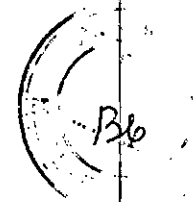
DISPOSICIÓN Nº: **9447**

Fd

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

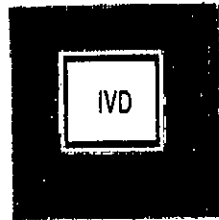
Dr. EDUARDO VERNA
SUBSECRETARIO GENERAL NACIONAL
DECRETO N° 1368/2015
A.N.M.A.T.

9747



ROTULOS EXTERNOS


11 NOV. 2015




DENV Detect™ IgG ELISA


InBios
International,
Inc.
562 1st Ave. S
Suite 600
Seattle, WA
98104
USA
206-344-5821
www.inbios.com

REF DDGS-1 LOT XX0000 00:00:0000

 Store at 2-8°Celsius

CE  CEpartner-01, Esdoornlaan 15
3951DB Maarn, The Netherlands



IMPORTADORA: CROMOION S.R.L.
CALLE 1425 (CALLE 1425)
Buenos Aires (011) 4644-3000/08
Licencia empresa: 900
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amador
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PMA
Aprobado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

DENV Detect™ IgG ELISA Catalog No. DDGS-1 Kit Contents

Quantity	Description	Storage
1	Coated Microtiter Strips for Dengue IgG, 96 Wells	2-8°C
1	Sample Dilution Buffer for Dengue IgG_25ml	2-8°C
1	Dengue IgG Negative Control_50µl	2-8°C
1	Dengue IgG Positive Control_50µl	2-8°C
1	Ready to Use Enzyme Conjugate-HRP for Dengue IgG_6ml	2-8°C
1	10X Wash Buffer_120ml	2-8°C
1	EnWash_20ml	2-8°C
1	Liquid TMB Substrate_8ml	2-8°C
1	Stop Solution_6ml	2-8°C

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

9447

140

ROTULOS INTERNOS

Coated Microtiter Strips for
Dengue Human IgG

Part #: 500256

Lot #:

Exp. Date:

Store at 2-8 Celsius

InBios

Ready to Use Enzyme Conjugate-
HRP for Dengue IgG, 6ml

Part #: 500257

Lot #:

Exp. Date:

Store at 2-8 Celsius

InBios

Sample Dilution Buffer for
Dengue IgG, 25ml

Part #: 500241G

Lot #:

Exp. Date:

Store at 2-8 Celsius

InBios

Liquid TMB Substrate, 9ml

Part #: 500140

Lot #:

Exp. Date:

Store at 2-8 Celsius

InBios

10X Wash Buffer, 120ml

Lot #:

Part #: 500100

Exp. Date:

Store at 2-8 Celsius

InBios
Seattle, WA

A

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

9447

141

EnWash, 20ml

Lot #:
Part #: 500114
Exp. Date:
Store at 2-8° Celsius

InBios
Seattle, WA

Stop Solution, 6ml

Lot #:
Part #: 500102
Exp. Date:
Store at 2-8° Celsius

InBios
Seattle, WA

**Dengue IgG Positive Control,
50 ul**

Part #: 500258
Lot #:
Exp. Date:
Store at (-20) to (-70)°C

InBios

**Dengue IgG
Negative Control, 50 ul**

Part #: 500259
Lot #:
Exp. Date:
Store at 2-8°C

InBios

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

Handwritten marks: a checkmark and a vertical line.

9447

InBios

DENV Detect™ IgG ELISA

Para Uso Diagnóstico in vitro

No para venta y distribución en USA

USO A QUE ESTA DESTINADO

El ensayo DENV Detect™ IgG ELISA es un sistema de ensayo ELISA, para la detección de anticuerpos IgG en suero humano, dirigidos hacia el antígeno recombinante derivado del Dengue (DENRA) (1-4). Este ensayo es para la ayuda en el diagnóstico de la exposición humana al virus del Dengue. No está indicado para el screening de sangre o componentes sanguíneos, y es sólo para uso diagnóstico in vitro.

RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

El dengue es una enfermedad viral aguda del hombre, la cual es transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*. El dengue se caracteriza clínicamente por fiebre bifásica, erupción, depresión hematopoyética y por síntomas constitutivos, como malestar, artralgia, mialgia y cefaleas (1). Con menor frecuencia, se ha visto una enfermedad más severa, que se manifiesta a través de una fiebre hemorrágica, la cual puede progresar a un shock letal (2-3). Es endémico en las zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo, donde se calcula que anualmente se producen 100 millones de casos (4). Se estimó que cerca de 50 a 100 millones de casos de Fiebre Dengue (DF) ocurren cada año, con cerca de 250.000 a 500.000 casos de Fiebre hemorrágica dengue (DHF). Durante el 2002, más de 30 países latinoamericanos informaron más de 10.000.000 de casos de DF, con una gran cantidad de casos de DHF. Esto siguió con extensas epidemias de DHF en varias partes de la India durante el 2003 hasta el 2005. En las Américas, la incidencia reportada se ha triplicado desde el año 1996 al 2002. En Hawái (5) y en Laredo, Texas, se ha constatado la incidencia de brotes epidémicos de dengue. El potencial del virus, en cuanto a causar una enfermedad grave, ha resultado también en la inclusión de este patógeno, en la lista de "categoría A" del CDC, para agentes potenciales de guerra biológica y para el bioterrorismo.

FUNDAMENTO DEL ENSAYO

El DENV Detect™ IgG ELISA consiste en un inmunoensayo de tipo sándwich en "dos pasos" amplificado enzimáticamente.

En este ensayo, el control Negativo Dengue IgG (representa suero no-reactivo), el Control Positivo de Dengue y las muestras de suero desconocidas son incubadas en pocillos de microtitulación, los cuales fueron recubiertos con anticuerpos monoclonales unidos a un antígeno de Dengue recombinante. Las muestras de suero son diluidas con Buffer de dilución para muestras de Dengue IgG.

Después de la incubación y el lavado, los pocillos son tratados con un anticuerpo específico para IgG humana marcado con la enzima peroxidasa de rábano picante (HRP). Después de una segunda incubación y paso de lavado, los pocillos son incubados con el sustrato tetrametilbenzidina (TMB).

Una solución de finalización ácida es luego adicionada y el grado de turnover enzimático del sustrato es determinado por la medida de la absorbancia a 450 nanómetros. Por encima de un cierto umbral, la relación de las absorbancias del DENRA y de los pocillos control determina con precisión si los anticuerpos contra Dengue están presentes.

Nota: Un juego de controles positivos y negativos son provistos como controles internos de modo de monitorear la integridad de los componentes del equipo.

MATERIALES PROVISTOS

Precaución: No utilice ningún reactivo, cuando haya ocurrido daño en el envase.

El equipo DENV Detect™ IgG ELISA contiene reactivos suficientes para una placa de 96 pocillos (12 x 8 tiras) cada una.

El equipo contiene los siguientes reactivos:

1. Tiras de microtitulación para Dengue IgG: Sostenedor de tiras en envase ziplock, conteniendo 96 pocillos de poliestireno para microtitulación recubiertos con anticuerpo monoclonal unido a antígeno de Dengue recombinante en cada pocillo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración.
Nota: El DENRA y el antígeno celular normal (NCA) están ya unidos a las placas.
2. Buffer de dilución de muestra para Dengue IgG: Una botella, 25 ml (contiene 0.05% Proclin como conservante). Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración.
Nota: Si se ve cualquier precipitado, agite la botella muy bien para obtener una solución homogénea y luego úsela.

9447

3. Control Negativo Dengue IgG: Un vial, 50 ul. El control Negativo ayudará a monitorear la integridad del equipo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración. Rote el vial brevemente antes de su uso, para recolectar el contenido del fondo.
4. Control Positivo Dengue IgG: Un vial, 50 ul. El control Positivo ayudará a monitorear la integridad del ensayo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración. Rote el vial brevemente antes de su uso, para recolectar el contenido del fondo.
5. Conjugado- HRP enzimático listo para su uso para Dengue IgG: Una botella, 6 ml, listo para usar, contiene un conjugado anti-IgG humano de cabra prediluido. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración.
6. Buffer de lavado 10 X: Una botella, 120 ml, a ser diluida antes de su uso. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración.
7. EnWash: Una botella, 20 ml, lista para uso. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración.
8. Sustrato TMB Líquido: Una botella, 9 ml, listo para usar. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración.
Nota: El sustrato debe ser conservado en una botella protegida de la luz, en todo momento, como la provista.
9. Solución de finalización: Una botella, 6 ml, lista para uso. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de expiración.
Precaución: Ácido fuerte, usar guantes de protección, mascarilla y gafas de seguridad. El descarte de todos los materiales debe hacerse según las regulaciones de seguridad.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- Espectrofotómetro ELISA capaz de medir absorbancia a 450 nm.
- Agua de alto grado de calidad o grado biología molecular.
- Lavador de placa automático.
- Incubador a 37°C sin suministro de CO2 o humidificación.
- 1-10 ul de pipetas de único canal, 50-200 ul de pipetas de simple o multi canal.
- Tubos de polipropileno
- Parafilm
- Timer
- Vortex

PRECAUCIONES

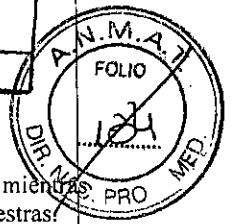
- Sólo para uso diagnóstico in vitro. No para la venta o distribución en USA.
- Todos los materiales humanos usados en la preparación de los controles han sido inactivados por calor. Sin embargo, todos los controles humanos y el antígeno deberían ser manipulados como un material potencialmente infeccioso. Los Centros para el Control de Enfermedades y Prevención y el Instituto Nacional de Salud recomiendan que los agentes potencialmente infecciosos sean manipulados como Nivel de Bioseguridad 2.
- Es necesario un conocimiento exhaustivo del inserto del envase para el uso satisfactorio del producto. Resultados confiables serán obtenidos por el uso de técnicas de laboratorio precisas y siguiendo exactamente las instrucciones del inserto.
- No mezcle varios lotes de cualquier componente del ensayo, dentro de un ensayo individual.
- No utilice ningún componente después de la fecha de expiración indicada en el rótulo.
- Evite la exposición de los reactivos al calor excesivo o a la luz directa durante el almacenamiento e incubación.
- Algunos reactivos pueden formar un ligero precipitado, mezcle suavemente antes de su uso.
- Un lavado incompleto afectará negativamente el resultado y la precisión del ensayo.
- Para minimizar el desvío potencial del ensayo debido a la variación en el tiempo de incubación del sustrato, se debería tener cuidado de adicionar la solución de finalización dentro de los pocillos en el mismo orden y velocidad, que se utiliza para adicionar la solución de TMB.
- Evite la contaminación bacteriana de los reactivos, especialmente del Conjugado-HRP enzimático para Dengue IgG, listo para uso. Evite la contaminación de la solución de sustrato TMB con el Conjugado HRP Enzimático.
- Use ropa de protección, gafas protectoras y guantes descartables mientras se realiza el ensayo. Lávese bien las manos después.
- Use un tip de pipeta descartable limpio para cada reactivo, estándar, control o muestra.
- Cubra el área de trabajo con papel absorbente descartable.

CUIDADO: MATERIAL POTENCIALMENTE PELIGROSO

Este equipo puede contener reactivos hechos con suero humano o plasma. El suero o plasma usado ha sido inactivado por calor a menos que se indique lo contrario. Manipule todos los sueros y los equipos usados, como si

9447

REFOLIADO N° 178
Direc. Nac. Prod. Méd.



contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos mientras se realizan todos los procedimientos y siga los procedimientos estándares para el descarte apropiado de muestras.

PELIGRO QUÍMICO

Las Hojas de seguridad (MSDS) están disponibles para todos los componentes de este equipo. Revise todas las MSDS antes de realizar este ensayo. Evite el contacto con las manos y los ojos o membranas mucosas durante el ensayo. Si el contacto ocurre, consulte la MSDS aplicable para un tratamiento apropiado.

RECOLECCION DE MUESTRA Y PREPARACION

- En este ensayo debe ser usado suero humano. Los reactivos no han sido optimizados o ensayados con sangre entera o plasma, de modo que ellos no pueden ser ensayados directamente.
- Remueva el suero a partir del coágulo de glóbulos rojos, tan pronto como sea posible, para evitar hemólisis.
- El ensayo debe ser realizado tan pronto como sea posible después de la recolección. No permita que el suero quede a temperatura ambiente por períodos prolongados.
- Debería usarse suero y deberían ser observadas las precauciones usuales para la venopunción. Las muestras pueden ser almacenadas a 2-8°C por hasta 7 días, ó congeladas a -20°C ó menos, por hasta 30 días. Para mantener la vida útil a largo plazo del suero, almacenar a -70°C. Evite el congelamiento y descongelamiento repetido de las muestras.
- Las muestras congeladas deberían ser descongeladas a temperatura ambiente y mezcladas a fondo, por agitación suave o inversión, antes de su uso. Siempre rote rápidamente, antes de su uso.
- Si los sueros deben ser transportados, deberían ser envasados de acuerdo a las regulaciones federales que cubren el transporte de agentes infecciosos.
- No use suero si observó algún indicio de contaminación.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Precaución: Este equipo no ha sido optimizado por InBios para su uso con cualquier sistema de procesamiento ELISA automatizado particular. El uso con un sistema de procesamiento ELISA automatizado requerirá una validación apropiada para asegurar que los resultados son equivalentes a las expectativas descritas en el inserto del envase. Modificaciones al protocolo de estos sistemas y/o diferentes volúmenes de reactivos puede ser requerida.

Lleve todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente (~ 25°C) antes de su uso. Mezcle a fondo los reactivos y muestras antes de su uso por inversión suave.

Preparación de los reactivos

- Preparación del Buffer de lavado 1 X.

Diluir el Buffer de lavado 10 x a 1 x, usando agua de alta calidad o de grado biológico. Para preparar una solución buffer de lavado 1 x, mezcle 120 ml de buffer de lavado 10 x, con 1080 ml de agua destilada (o desionizada) y disuelva cualquier cristal. Agite hasta que esté bien mezclado y se disuelvan todos los cristales. Después de diluir a 1x, almacene a temperatura ambiente, por hasta 6 meses. Chequee por contaminación, antes de su uso. Descarte si se sospecha contaminación.

- Pocillos de microtitulación

Seleccione el número de pocillos recubiertos requeridos para el ensayo. El remanente de los pocillos no usados debería ser rápidamente colocada otra vez en el envase y sellado, luego almacenado a 2-8°C, hasta que esté listo para usar o hasta el vencimiento.

Procedimiento de ensayo

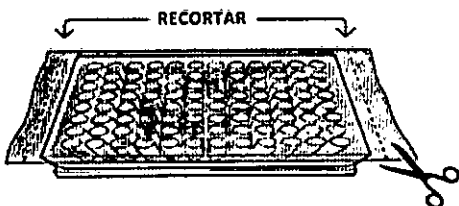
1. Controles positivos y negativos deberían ser ensayados en duplicado, por ambas partes DENRA y NCA del ensayo. Muestras de suero desconocidas a ser ensayadas pueden ser probadas individualmente, pero deben ser ensayadas por ambas partes DENRA Y NCA del ensayo. Refiérase al diagrama de flujo al final de esta sección, para la ilustración de este procedimiento. Hasta 44 muestras de ensayo pueden ser testeadas sobre la placa de 96 pocillos.
2. Marque las tiras de microtitulación a ser usadas.
Note que los antígenos de Dengue (DENRA) y los antígenos control (NCA) están ya unidos a la placa en esta disposición:
DENRA: hilera A-D
NCA: hilera E-H
3. Diluya el suero a ensayar y los controles a 1/100 usando el buffer de dilución de muestra provisto. Use los pequeños tubos de polipropileno para estas diluciones y utilice al menos 4 ul de suero para los controles

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

positivos y negativos, y las muestras desconocidas. Por ejemplo: mezcle 4 ul de suero más 396 ul de buffer de dilución de muestra para Dengue IgG, para hacer una dilución 1/100.

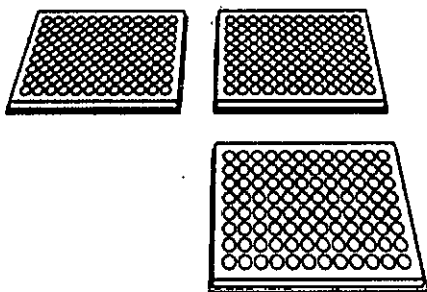
4. Aplique 50 ul por pocillo de suero a ensayar diluido 1/100, Control Negativo Dengue IgG, Control Positivo Dengue IgG a la placa con una pipeta de único o múltiple canal, según sea apropiado. Un ejemplo de disposición para 44 muestras de suero se muestra en el capítulo de "Ejemplo de aplicación de muestra de suero" al final del inserto. Nota: Todas las muestras de suero deben ser ensayadas con DENRA y NCA.
5. Cubra la placa con parafilm sólo sobre la superficie de la placa, de modo que el fondo de la placa no esté cubierto.

Nota: Esto es para asegurar que la temperatura de distribución está uniformemente extendida en todos los pocillos desde el fondo y los lados; cualquier parafilm extra puede ser cortado, una vez que la parte superior está sellada para bloquear la evaporación.



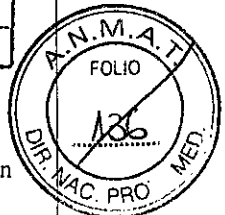
6. Deje incubar la placa a 37 °C durante 1 hora en una incubadora.

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 otros gases. 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, usando una solución de lavado 1X. Use 300 ul por pocillo en cada ciclo de lavado.
8. Agregue 50 ul por pocillo de conjugado enzimático HRP dentro de todos los pocillos, mediante pipetas de varios canales.
9. Cubra la placa con parafilm sólo en la superficie abierta 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 de lavado 1X.
12. Agregue 150 ul de EnWash por pocillo, dentro de todos los pocillos, mediante pipetas de varios canales.
13. Deje incubar la placa a temperatura ambiente durante 5 minutos sin ningún recubrimiento sobre la placa.
14. Después de la incubación, lave las placas 6 veces con una lavadora automática de placas y una solución de lavado 1X.
15. Agregue 75 ul por pocillo de sustrato TMB líquido dentro de todos los pocillos mediante pipetas de varios canales.

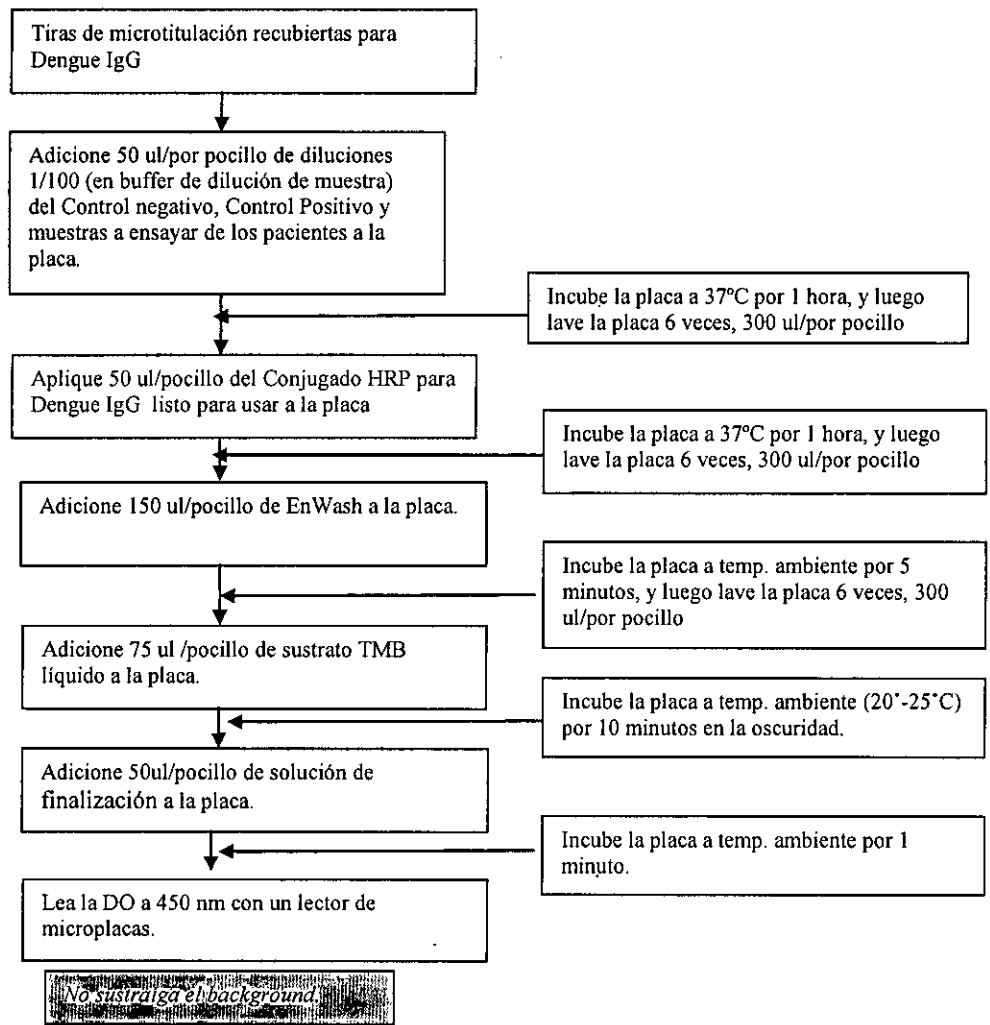


9447

16. Incube la placa a temperatura ambiente en un lugar oscuro (o en un contenedor) por 10 minutos sin ningún recubrimiento sobre la placa.
17. Después de la incubación, adicione 50 ul por pocillo de solución de finalización dentro de todos los pocillos con una pipeta multicanal e incube a temperatura ambiente por 1 minuto, sin ningún recubrimiento sobre la placa.
18. Después de la incubación, lea los valores crudos de DO a 450 nm, con un lector de microplacas.

Asegúrese de que la lectora de microplacas NO reste ni normalice los datos para los valores en cualquier blanco o en los pocillos vacíos.

DENV Detect™ IgG ELISA - Flujoograma de procedimiento

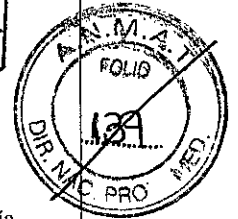


CONTROL DE CALIDAD

Cada equipo contiene sueros control positivo y negativo. Los valores aceptables de la Relación del estado inmune (ISR) para estos controles se encuentran en la tabla de especificación más abajo. Los controles positivo y negativo están diseñados para monitorear las fallas de reactivos sustanciales. El control positivo no asegurará la precisión del valor de corte del ensayo. El ensayo es inválido y debe ser repetido si el valor ISR de cualquiera de los controles no cumple con las especificaciones de abajo. Si el ensayo es inválido, los resultados del paciente no pueden ser reportados. Los requerimientos de control de calidad deben ser ajustados en conformidad con las regulaciones locales, estatales y/o federales o con los requerimientos de acreditación y sus procedimientos de control de calidad de laboratorio estándares.

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

9447



Se recomienda que el usuario se refiera a NCCLS C24-A y 42 CFR 493.1256 como guía sobre las prácticas apropiadas de control de calidad. Los resultados abajo están dados estrictamente sólo como propósito de guía. Aplicable sólo para lecturas espectrofotométricas.

Cálculo del Control Negativo: Calcule la media de los valores de Control negativo para Dengue IgG con DENRA y con NCA:

Ejemplo 1: Control Negativo Dengue IgG

	DO 450	
	DENRA	NCA
Duplicado 1	0.098	0.101
Duplicado 2	0.096	0.103
Total	0.194	0.204

Promedio DENRA = $0.194 / 2 = 0.097$
 Promedio NCA = $0.204 / 2 = 0.102$
 Calcule la relación DENRA/NCA (ISR): $0.097 / 0.102 = 0.95$

Cualquier ISR Dengue IgG Control Negativo mayor que 2.0 indica que el procedimiento debe ser repetido.

Cálculo del Control Positivo: Calcule la media de los valores Dengue IgG Control Positivo con DENRA y con NCA:

Ejemplo 2: Control Positivo Dengue IgG

	DO 450	
	DENRA	NCA
Duplicado 1	1.374	0.034
Duplicado 2	1.380	0.036
Total	2.754	0.070

Promedio DENRA = $2.754 / 2 = 1.377$
 Promedio NCA = $0.070 / 2 = 0.035$
 Calcule la relación DENRA/NCA (ISR): $1.377 / 0.035 = 39.3$

Cualquier ISR Dengue IgG Control Positivo menor que 5.0 indica que el procedimiento debe ser repetido.

Los valores en la tabla de abajo deben ser obtenidos de modo que los resultados del ensayo puedan ser reportados. El no cumplimiento de estos criterios es una indicación de deterioro de los reactivos o un error en el procedimiento de ensayo y el ensayo debería ser repetido.

Factor (Para verificación de ensayo)	Tolerancia
Media de la DO del Control Negativo Dengue IgG en DENRA	< 0.300
Media de la DO del Control Positivo Dengue IgG en DENRA	> 0.350
Relación Estado Inmune (ISR) del Control Positivo Dengue IgG	> 5.00
Relación Estado Inmune (ISR) del Control Negativo Dengue IgG	< 2.00

Cálculos para el análisis de las muestras desconocidas

Cálculo de la Relación Estado Inmune (ISR): si las muestras desconocidas se ensayaron por duplicado, compute el promedio de los dos duplicados con el DENRA, y los dos duplicados con el NCA, luego calcule la relación DENRA/NCA (ISR) mediante la división del promedio del valor de DO DENRA por el promedio del valor de DO NCA. Si las muestras desconocidas se ensayaron de modo único, divida el valor DO DENRA por el valor DO NCA.

Selección del valor de corte: El valor de corte fue seleccionado usando valores a partir de un pequeño conjunto de datos de campo y es sólo una estimación.

Interpretación de los resultados: La tabla de abajo muestra como los resultados deberían ser interpretados.

9747

ISR	Resultados	Interpretación
≤ 1.65	Negativo	Ningún anticuerpo IgG detectable
1.65-2.84	Indeterminado	Necesidad de un ensayo confirmatorio
≥ 2.84	Positivo	Presencia de anticuerpo IgG detectable. Se recomienda ensayo confirmatorio suplementario.

CARACTERISTICAS DE PERFORMANCE**Estudio de Sensibilidad interno:**

De modo de evaluar la sensibilidad del DENV Detect™ IgG ELISA Kit, 132 sueros sospechosos de Dengue (en varias regiones de Brasil), controles del kit y un panel de muestras positivas y negativas se ensayaron por duplicado. Los sueros se recolectaron a partir de sujetos en dos tiempos diferentes (visita inicial y visita siguiente). Los ensayos ELISA se realizaron según se describe en el inserto de producto. Los resultados de este estudio se resumen en la tabla de abajo.

Tabla: Panel de enfermedad con sospecha de Dengue - Brasil

Suero original sospechoso de Dengue	Cantidad de muestras	DENV Detect™ IgG ELISA	
		IgG ISR negativo	IgG ISR Positivo
Brasil	132	20	112
Total	132	20/132	112/132

Sensibilidad serológica = 112/132 = 84.84%

55 muestras de pacientes se evaluaron por el ensayo de neutralización de reducción plaquetaria (PRNT) y 39/55 sujetos se consideraron PRNT positivos. Todas las muestras PRNT positivas se identificaron con un valor ISR positivo con el DENV Detect™ IgG ELISA kit.

Estudio de Especificidad interno:

Un panel de 54 sueros humanos normales (NHS) se usó para evaluar la especificidad del equipo DENV Detect™ IgG ELISA. Los ensayos ELISA se realizaron, según se describe en el inserto e incluyeron los controles del equipo y un panel de muestras positivas y negativas.

Todas las muestras se ensayaron por duplicado, en cada punto de tiempo. Los resultados de este estudio se muestran en la tabla de abajo.

Categoría	DENV Detect™ IgG ELISA		
	Negativo	Indeterminado	Positivo
NHS	52	1	1
Total	52/54	1/54	1/54

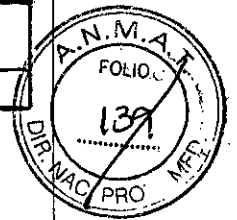
Especificidad serológica = 96.3 %

Estudio de Reactividad cruzada interno:

Dos paneles de sueros negativos para Dengue se utilizaron para evaluar reactividad cruzada del equipo DENV Detect™ IgG ELISA. El panel de flavivirus (especies muy relacionadas) consistió en 30 sueros positivos para IgG contra el virus West Nile (WN), 3 sueros positivos para encefalitis de Saint Louis (SLE) y 1 suero positivo para encefalitis japonesa (JE). El panel de enfermedades no relacionadas consistió en sueros de pacientes infectados con Epstein Barr Virus (EBV), factor reumatoideo (RF), anticuerpos antinucleares (ANA), virus Varicella zoster (VZV) y Citomegalovirus (CMV). Los ensayos ELISA se realizaron según se describe en el inserto del producto. Los controles del equipo y todas las muestras se ensayaron por duplicado. Las tablas de abajo resumen los resultados de este estudio. Se observó reactividad cruzada con el virus de West Nile.

Tabla: Panel de enfermedad Flavivirus

Enfermedad	Número de muestras	DENV Detect™ IgG ELISA		Cantidad total de Positivos o Indeterminados
		Indeterminado	Positivo	
WN	30	6	11	17/30
SLE	3	0	0	0/3
JE	1	1	0	1/1
Total	34	7	11	18/34



9447

Tabla: Panel de enfermedad No - Flavivirus

Enfermedad	Número de muestras	DENV Detect™ IgG ELISA		Cantidad total de Positivos o Indeterminados
		Indeterminado	Positivo	
EBV	1	0	0	0/1
RF	1	0	0	0/1
ANA	1	0	0	0/1
VZV	1	0	0	0/1
CMV	1	0	0	0/1
Total	5	0	0	0/5

Limitaciones

- Dado que es un método de screening indirecto, la presencia de resultados falsos positivos y falsos negativos deben ser considerados.
- Todas las muestras reactivas deben ser evaluadas mediante un ensayo confirmatorio.
- Los reactivos provistos en este equipo están optimizados para medir los niveles de anticuerpos reactivos – DENRA en suero.
- La reactividad cruzada con el grupo flavivirus es común. Algunos sueros de pacientes infectados con encefalitis japonesa, virus del Nilo Occidental y/o Saint Louis pueden dar resultados falsos positivos. Por lo tanto cualquier suero positivo para Dengue debe ser confirmado con otros ensayos.
- Las características de performance del ensayo no han sido establecidas para la determinación de resultados visual.
- Los resultados de pacientes inmunosuprimidos deben ser interpretados con precaución.
- Los resultados del ensayo deberían ser interpretados sólo en el contexto de otros hallazgos de laboratorio y del estado clínico total del paciente.

Referencias

1. Monath, Flaviviruses. In: Fields, B. N. et al. Fields Virology, 2nd ed. Vol 1, New York: Raven Press, 1990, p. 763-814.
2. Effler PV, Halstead SB. Immune enhancement of viral infection. Progress in Allergy 1982;31:301-64.
3. Halstead SB. Neutralisation and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. Advances in Virus Research 2003;60:421-67.
4. Gubler DJ, Dengue and dengue hemorrhagic fever. Clin Microbiol Rev 11, 480, 1998
5. 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):742-9
6. Henchal EA, Putnak JR. The dengue viruses. Clin Microbiol Rev. 1990;3(4):376-96.



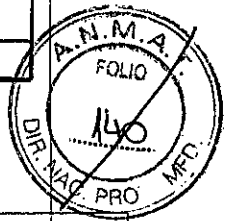
InBios International, Inc.
562 1st Avenue South, Suite 600
Seattle, WA 98104 USA
Toll Free USA- 1-866-INBIOS1
206-344-5821 (International)
www.inbios.com
Part No. 900175-01
Fecha vigencia: 08/05/2015

REF DDGS-1

EC REP

CEpartner4U, Esdoornlaan 13, 3951 DB Maam.
The Netherlands. Tel: +31 (0) 6.516.536.26





9747

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

Disposición del revestimiento Dengue RA y NCA de la placa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	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

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
 Bloq. Hernán Galino
 Co-Dirección Técnica
 M. N. 7499
 GROMION S.R.L.



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 1-47-3110-643/14-0

Se autoriza a la firma CROMOION S.R.L. a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado DENV Detect IgG Capture ELISA (DDGS-1) / detección de anticuerpos IgG dirigidos hacia el antígeno recombinantes derivados del DENGUE (DENRA) (1-4) en suero humano para la ayuda en el diagnóstico de la exposición humana al virus del dengue. En envases conteniendo: Tiras de microtitulación recubiertas para IgG humana (96 pocillos), Solución buffer de dilución de las muestras (25ml), Control negativo (50µl), control positivo (50µl), conjugado enzimático HRP (6ml), solución amortiguadora de lavado 10X (120ml), EnWash (20ml), sustrato líquido de TMB (9ml) y Solución de corte (6ml), 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

LV

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA. Certificado nº **008336**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA

Buenos Aires, **1 NOV. 2015**



Firma y sello

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

