



BUENOS AIRES 25 AGO 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-1359/16-0 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma CROMOION S.R.L. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) CHIKjj DETECT™ IgG ELISA/ ENSAYO DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE LOS ANTICUERPOS IgG PRESENTES EN SUERO HUMANO, CONTRA LAS PROTEÍNAS E2/E1 DEL VIRUS CHIKUNGUÑA; 2) CHIKjj DETECT™ IgM ELISA/ ENSAYO DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE LOS ANTICUERPOS IgM PRESENTES EN SUERO HUMANO, CONTRA LAS PROTEÍNAS E2/E1 DEL VIRUS CHIKUNGUÑA.

Que a fs. 218 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 establecen la Ley 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que se actúa en virtud a las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.



DISPOSICIÓN N° 9 6 2 3'

Por ello;

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

DISPONE:

ARTICULO 1º.- Autorizase la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) CHIKjj DETECT™ IgG ELISA/ ENSAYO DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE LOS ANTICUERPOS IgG PRESENTES EN SUERO HUMANO, CONTRA LAS PROTEÍNAS E2/E1 DEL VIRUS CHIKUNGUÑA; 2) CHIKjj DETECT™ IgM ELISA/ ENSAYO DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE LOS ANTICUERPOS IgM PRESENTES EN SUERO HUMANO, CONTRA LAS PROTEÍNAS E2/E1 DEL VIRUS CHIKUNGUÑA que serán elaborados por INBIOS INTERNATIONAL, Inc. 562 1<sup>st</sup> Avenue South, Suite 600. Seattle, WA 98104. (USA) e importados por CROMOION S.R.L a expendirse en envases conteniendo 1) ENVASES POR 96 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: MICROPLACA RECUBIERTA PARA IgG (1 x 12 TIRAS x 8 POCILLOS), CONTROL NEGATIVO IgG CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL POSITIVO IgG CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL DE VALOR DE CORTE IgG CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), BUFFER DE DILUCIÓN DE MUESTRA (2 x 25 ml), ANTÍGENO CHIKUNGUÑA (1 x 9 ml), DILUYENTE DE CONJUGADO (1 x 9 ml), CONJUGADO 100X (1 x 150 µl), BUFFER DE LAVADO 10X (1 x 120 ml), SUSTRATO TMB LÍQUIDO (1 x 12 ml), SOLUCIÓN DE FINALIZACIÓN (1 X 9 ml); 2) ENVASES POR 96 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: MICROPLACA



## DISPOSICIÓN Nº 9623

RECUBIERTA PARA IgM (1 x 12 TIRAS x 8 POCILLOS), CONTROL NEGATIVO IgM CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL POSITIVO IgM CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL DE VALOR DE CORTE IgM CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), BUFFER DE DILUCIÓN DE MUESTRA (2 x 25 ml), ANTÍGENO CHIKUNGUÑA (1 x 9 ml), DILUYENTE DE CONJUGADO (1 x 9 ml), CONJUGADO 100X (1 x 150 µl), BUFFER DE LAVADO 10X (1 x 120 ml), SUSTRATO TMB LÍQUIDO (1 x 12 ml), SOLUCIÓN DE FINALIZACIÓN (1 x 9 ml); cuya composición se detalla a fojas 31 a 33 con un período de vida útil de 1) y 2) 12 (DOCE) meses, desde la fecha de elaboración conservando todos los componentes entre 2 y 8 °C, excepto el componente ANTÍGENO CHIKUNGUÑA conservado entre -20 y -80 °C .

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 120 a 209 y 214 a 219, desglosándose las fojas 120 a 122, 129 a 131, 139 a 149, 172 a 183 y 214 a 215 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

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

ARTICULO 5º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición



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

"2016 - Año del Bicentenario de la Declaración de la Independencia Nacional"

DISPOSICIÓN Nº 9 6 2 3

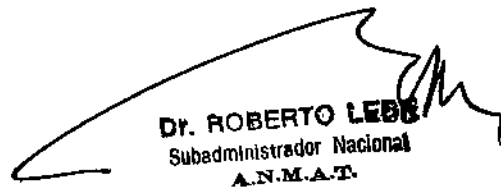
junto con la copia de los proyectos de rótulos , Manual de Instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente nº: 1-47-3110-1359/16-0.

DISPOSICIÓN Nº:

av. 

9 6 2 3

  
Dr. ROBERTO LEBB  
Subadministrador Nacional  
A.N.M.A.T.

9623

25 AGO 2016



# RÓTULOS INTERNOS

Para "CHIKjj Detect™ IgG ELISA":

Coated Microtiter Strips for  
Human IgG, 1x8 Strippable Wells

Part No.: 500641  
Lot No: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius



Chikungunya IgG Cut-Off  
Control, 50µl

Part #: 500685  
Lot #: TBD  
Exp. Date: As per kit lot  
Store at 2-8° Celsius



*InBios*  
Seattle, WA

Chikungunya IgG Positive  
Control, 50µl

Part #: 500684  
Lot #: TBD  
Exp. Date: As per kit lot  
Store at 2-8° Celsius



Chikungunya IgG Negative  
Control, 50µl

Part #: 500683  
Lot #: TBD  
Exp. Date: As per kit lot  
Store at 2-8° Celsius



*Bios Hernán Sialino*  
2-Dirección Técnica  
M. N. 7899  
CROMOION S.R.L.

9 6 2 31



**Sample Dilution Buffer for Chikungunya ELISA, 25mL**



Part #: 500670  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

**Chikungunya Antigen, 9mL**



Part #: 500667  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at or below -20°C

*InBios*  
Seattle, WA

**Conjugate Diluent for Chikungunya ELISA, 9mL**



Part #: 500668  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

**100X Conjugate for Chikungunya, 150µl**

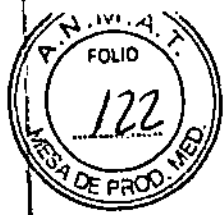


Part #: 500669  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

Blaq. Hernán Sialino  
Co-Dirección Técnica  
M. N. 7899  
CROMDION S.R.L.

9 6 2 3



**10X Wash Buffer, 120mL**



Part #: 500100  
Lot #: TBD  
Exp: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

**Stop Solution, 9mL**



Part #: 500658  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

**Liquid TMB Substrate, 12mL**



Part #: 500104  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

Biod. Hernan Stalino  
Co-Director Técnica  
M. 0000 0000  
CRP S.R.L.

9 6 2 3



Para "CHIKijj Detect™ IgM ELISA":

Coated Microtiter Strips for Human IgM, 1x8 Strippable Wells

Part No.: 500613  
Lot No: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius



Chikungunya IgM Positive Control, 50µl

Part #: 500665  
Lot #: TBD  
Exp. Date: As per kit lot  
Store at 2-8° Celsius



InBios  
Seattle, WA

Chikungunya IgM Cut-Off Control, 50µl

Part #: 500682  
Lot #: TBD  
Exp. Date: As per kit lot  
Store at 2-8° Celsius



InBios  
Seattle, WA

Chikungunya IgM Negative Control, 50µl

Part #: 500664  
Lot #: TBD  
Exp. Date: As per kit lot  
Store at 2-8° Celsius



InBios  
Seattle, WA

Bla. Hernán Sialino  
Co-Dirección Técnica  
M.N. 7899  
CRONOMETROS S.R.L.



9 6 2 3



**Sample Dilution Buffer for Chikungunya ELISA, 25mL**



Part #: 500670  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

**Chikungunya Antigen, 9mL**



Part #: 500667  
Lot #: TRD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at or below -20°C

*InBios*  
Seattle, WA

**Conjugate Diluent for Chikungunya ELISA, 9mL**



Part #: 500668  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

**100X Conjugate for Chikungunya, 150µl**



Part #: 500669  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

**10X Wash Buffer, 120mL**

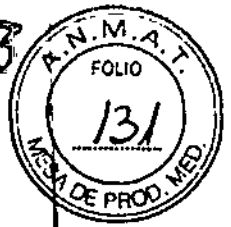


Part #: 500100  
Lot #: TRD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

*InBios*  
Seattle, WA

*B. G. Hernán Sialino*  
Co-Dirección Técnica  
M. N. 7899  
CROMOION S.R.L.

9623



**Stop Solution, 9mL**

Part #: 500658  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius



*InBioS*  
Seattle, WA

**Liquid TMB Substrate, 12mL**

Part #: 500104  
Lot #: TBD  
Exp. Date: 00/0000  
Store at 2-8° Celsius

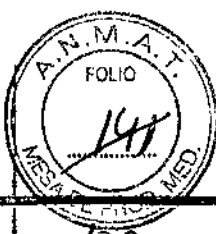


*InBioS*  
Seattle, WA

C.

Dr. Hernán Sialino  
Co-Dirección Técnica  
M. N. 7899  
ROMANA S.R.L.

9 6 2 3



# InBios

## CHIKjj Detect™ IgG ELISA

Para la detección de anticuerpos IgG contra los antígenos del virus chikunguña  
Sólo para Uso Diagnóstico in vitro

REFOLIADO N° 138  
Direc. Nao. Prod. Méd.

### USO A QUE ESTA DESTINADO

El CHIKjj Detect™ IgG ELISA está diseñado para la detección cualitativa de los anticuerpos IgG presentes en suero humano, contra las proteínas E2/E1 del virus chikunguña.

Este ensayo es para el diagnóstico presuntivo de la infección a virus de chikunguña, en el laboratorio clínico. Esta prueba está indicada sólo para uso en pacientes con síntomas clínicos compatibles con infección a chikunguña. Los resultados positivos deben confirmarse mediante el seguimiento de las directivas recomendadas por el CDC, para esta enfermedad.

Las características de performance del ensayo no se establecieron para el ensayo en sangre de cordón, para el ensayo en neonatos, para screening neonatal, o para screening general en la población. Este ensayo no está aprobado por la FDA para la prueba en donantes de sangre o plasma. Este equipo es sólo para uso en exportación. No está disponible para la venta o distribución en los Estados Unidos de América.

### RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

El virus Chikunguña (CHIKV) es un alfavirus transmitido por los mosquitos, aislado por primera vez, durante una epidemia en Tanzania en 1953 [1] [2]. Los síntomas agudos de la enfermedad son fácilmente confundidos con la fiebre del dengue, e incluyen la aparición repentina de fiebre alta y poliartalgia. La artralgia puede ser debilitante y puede durar por períodos de meses o incluso años, después de la infección inicial [3] [4]. Como el chikunguña puede coexistir con otras enfermedades transmitidas por mosquitos *Aedes spp.* (por ej. dengue y fiebre amarilla), puede ser difícil diagnosticar la enfermedad con rapidez y precisión. CHIKV resurgió en los últimos años en varios países, causando brotes en Kenia, India, Italia y las Américas, dando como resultado consecuencias significativas para la salud. Brotes en poblaciones insulares (Lamu, La Unión de las Comoras) dieron lugar a epidemias que infectaron a más del 50 % de la población [3].

El CHIKjj Detect™ IgG ELISA es un ensayo inmunoenzimático de tipo sándwich para la detección de anticuerpos IgG humanos dirigidos a las glicoproteínas de envoltura del CHIKV E2/E1. Los pocillos de microtitulación de poliestireno están pre-cubiertos con anticuerpos de captura para IgG humana. El Control Positivo, el Control Valor de Corte, el Control Negativo y las muestras a ensayar desconocidas se diluyen en un buffer de dilución de muestras y luego se adicionan a la placa ELISA. Después de la incubación y el lavado, un antígeno CHIKV listo para uso [5] [6] se adiciona a cada pocillo. Después de un paso siguiente de incubación y lavado, un complejo de anticuerpos monoclonales específicos para CHIKV E2/E1 conjugado con HRP [7] se adiciona a cada pocillo. Después del lavado, los pocillos se incuban con un sustrato tetrametilbencidina (TMB). Una solución ácida de finalización se adiciona luego y el grado de turnover enzimático se determina por la medida de la absorbancia (densidad óptica) a 450 nanómetros. Si los anticuerpos IgG humanos dirigidos a las glicoproteínas de la envoltura del CHIKV están presentes, se forma un complejo que consiste en IgG, antígeno y conjugado. Si los anticuerpos IgG humanos dirigidos a las glicoproteínas de la envoltura del CHIKV no están presentes, a continuación el complejo del antígeno y el conjugado son lavados.

### MATERIALES PROVISTOS

El CHIKjj Detect™ IgG ELISA contiene reactivos suficientes para una placa de 96 pocillos (12 x 8 tiras) para IgG humana dirigida al CHIKV. Esto es suficiente para ensayar un máximo de 90 muestras desconocidas para IgG humana, con los controles incluidos por duplicado.

**Advertencia: No utilice ningún reactivo en el cual haya ocurrido daño en el envase.**

Hernán Sialino  
Co-Director Técnico  
1999  
SIALINO S.R.L.

96213



1. **Tiras de ensayo de microtitulación recubiertas para IgG (1 placa conteniendo 12, 1 x 8 tiras para IgG humana):** soporte de placa de tiras ELISA con 96 (12 x 8 tiras) pocillos de microtitulación de poliestireno recubiertos. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
2. **Control Negativo IgG Chikunguña (1 x 50 ul):** El control negativo ayudará en la verificación de la validez del equipo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de su uso para sedimentar cualquier precipitado.
3. **Control Positivo IgG Chikunguña (1 x 50 ul):** El control positivo ayudará en la verificación de la validez del equipo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de su uso para sedimentar cualquier precipitado.
4. **Control de Valor de Corte IgG Chikunguña (1 x 50 ul):** El control de valor de corte ayudará en la verificación de la validez del equipo y en el establecimiento del umbral para las muestras reactivas. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de su uso para sedimentar cualquier precipitado.
5. **Buffer de dilución de muestra para Chikunguña (2 x 25 ml):** Esta solución se usa para diluir todas las muestras de suero y controles, antes de su uso en el ELISA. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
6. **Antígeno Chikunguña (1 x 9 ml):** Este vial contiene el antígeno chikunguña listo para uso que comprende las glicoproteínas de envoltura del chikunguña.

**ESTE COMPONENTE DEBE SER REMOVIDO DEL ENVASE DEL EQUIPO Y ALMACENADO CONGELADO.**

Descongele a temperatura ambiente antes de su uso. Después de cada uso, el antígeno debe ser almacenado de -20°C a -80°C hasta la fecha de vencimiento. Evite ciclos de congelamiento-descongelamiento reiterados (no más de 5).

7. **Diluyente de conjugado para Chikunguña (1 x 9 ml):** Esta solución se usa para adicionar el conjugado enzimático para el ensayo ELISA. No utilice sin primero adicionar el Conjugado 100X, según se describe en la sección **Preparación de Reactivos**. Almacene a 2-8°C antes de la fecha de vencimiento.
8. **100 X Conjugado para Chikunguña (1 x 150 ul):** Este contiene anticuerpo monoclonal marcado con enzima peroxidasa de rábano picante dirigido hacia el virus chikunguña. Mezcle bien antes de su uso. El Conjugado 100 x se adiciona al Diluyente de conjugado antes de su uso. Almacene el conjugado 100 x no diluido a 2-8°C hasta su fecha de vencimiento.
9. **10 x Buffer de lavado (1 x 120 ml):** Un frasco de buffer de lavado concentrado 10 X a usarse según lo indicado en el procedimiento de ensayo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
10. **Sustrato TMB Líquido (1 x 12 ml):** Se utiliza según lo indicado en el Procedimiento de ensayo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.

**Nota:** Este sustrato es sensible a la luz y debe ser almacenado en el frasco original.

11. **Solución de finalización (1 x 9 ml):** Se utiliza para finalizar la reacción tal como lo indica el Procedimiento de ensayo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.

**Precaución:** Este es un ácido fuerte, use guantes de protección, máscara y anteojos de seguridad. Descarte todos los materiales de acuerdo a las reglas de seguridad y a las regulaciones.

**MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS**

- Espectrofotómetro ELISA capaz de medir absorbancia a 450 nm.
- Agua de alto grado de calidad o grado biología molecular.
- Bomba de vacío.
- Lavador de placa automático.
- Incubador a 37°C sin suministro de CO<sub>2</sub> o humidificación.
- 1-10 ul de pipetas de único canal, 50-200 ul de pipetas de simple o multi canal.
- Tubos de polipropileno o placas de microtitulación de 96 pocillos.
- Parafilm
- Timer
- Vortex

**PRECAUCIONES**

- Solo 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 dado negativo para los anticuerpos dirigidos a HIV 1&2, Hepatitis C y Antígeno de superficie de Hepatitis B. Sin embargo, no todos los métodos de ensayo pueden asegurar una eficiencia o sensibilidad del 100%. Por lo tanto, todos los

CE CHIKkj Detect™ IgG ELISA (Spanish) Insert Part No. 900193-00 Effective Date: 12/07/2015 Page 2 of 11

9 6 2 ' 3



controles humanos y el antígeno deberían ser manipulados como 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. Se obtendrán resultados confiables 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.
- Evite la contaminación de la solución de sustrato TMB con el Conjugado HRP Enzimático.
- Use ropa de protección, gafas protectoras y guantes descartables mientras 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.

REFOLIADO N° 141  
 Direc. Rad. Prod. Méd.

#### 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 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 usarse 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

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.

Bloc. Heriberto Sialino  
 Co-Director Técnico  
 N.º 7899  
 BSCOMI S.R.L.

**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 DESCRIPTAS EN EL INSERTO DEL ENVASE. MODIFICACIONES AL PROTOCOLO DE ESTOS SISTEMAS Y/O A DIFERENTES VOLÚMENES DE REACTIVOS PUEDE SER REQUERIDA.

**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). Mezcle a fondo para asegurar que cualquier precipitado se disuelva y que la solución sea uniforme. Después de diluir a 1x, la solución se puede almacenar a temperatura ambiente, por hasta 6 meses. Chequee por contaminación, antes de su uso. Descarte si sospecha contaminación.

- Pocillos de microtitulación

Seleccione las tiras correspondientes dependiendo del número de muestras a ensayar. Examine la placa para asegurar que las tiras estén alineadas apropiadamente y niveladas a la placa. El remanente de los pocillos no usados debería ser rápidamente colocado otra vez en el envase y sellado, luego almacenado a 2-8°C, hasta que esté listo para usar o hasta el vencimiento.

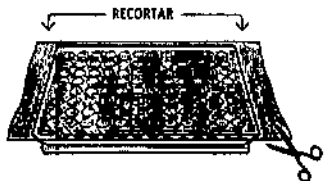
- Preparación del Conjugado enzimático para Chikunguña, listo para uso

Adicione 90 ul de Conjugado para Chikunguña 100 X directamente al frasco de 9 ml de Diluyente de Conjugado para Chikunguña (1 parte: 100 partes). Mezcle varias veces por inversión de la solución. Para volúmenes más pequeños, deberá alicuotar el volumen requerido del diluyente de conjugado dentro de un tubo de ensayo de polipropileno individual, limpio y adicionar el volumen apropiado de Conjugado para Chikunguña 100X, al diluyente en el tubo de ensayo. Prepare sólo la cantidad requerida y necesaria para la corrida de ensayo particular.

**Procedimiento de ensayo**

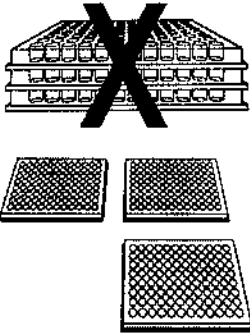
1. Controles positivos, de valor de corte y negativos deberían ser ensayados en duplicado (y correrlos cada vez que el ensayo se realice sobre cada placa). Las muestras de suero desconocidas pueden ser probadas individualmente. Sin embargo, se recomienda correr las muestras en duplicado hasta que el operador se familiarice con el ensayo.
2. Diluya los controles y las muestras de suero desconocidas en el Buffer de dilución de muestras para Chikunguña. Las muestras deberían diluirse 1/100 dentro del pocillo de la placa de dilución limpio ó en un tubo de ensayo de polipropileno individual y limpio. Por ejemplo, diluya 4 ul de muestra en 396 ul de buffer de dilución de muestra. Mezcle bien pipeteando arriba y abajo, varias veces.
3. Adicione 50 ul de las muestras de suero desconocidas y los controles diluidos 1/100 a los correspondientes pocillos de la placa ELISA.
4. Cubra la placa con parafilm, según se muestra abajo.

*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.*



Hernán Galino  
Co-Director Técnica  
M. 899  
PRONON S.R.L.

9 6 2 3


 REFOLIADO N° 113  
 Direc. Nac. Prod. Méd.


### MÉTODO CORRECTO

*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 CO<sub>2</sub> ni de otros gases. No coloque las placas en contacto con ninguna sustancia húmeda, como toallas de papel húmedas, etc.*

5. Incube a 37° C por 30 minutos (+/- 1 minuto) en una incubadora. La incubadora debería ser apropiadamente calibrada y verificada para mantener 37° C +/- 2 °C usando un termómetro de referencia externo.
6. 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.
7. Agregue 50 ul de Antígeno Chikunguña a cada pocillo de la placa ELISA. Devuelva cualquier resto de Antígeno Chikunguña a las condiciones de almacenamiento apropiadas (-20°C a -80°C).
8. Cubra la placa con parafilm.
9. Incube la placa a 37 °C durante 30 minutos (+/- 1 minuto) en una incubadora.
10. Durante la incubación, prepare un volumen fresco de Conjugado enzimático listo para uso según se describe en la sección de Preparación de los Reactivos (por ej., adicione 90 ul de Conjugado 100X directamente al frasco de 9 ml de Diluyente de Conjugado para Chikunguña, 1 parte: 100 partes). Prepare sólo la cantidad mínima de conjugado enzimático listo para su uso necesario para la corrida del ensayo.
11. 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.
12. Agregue 50 ul de Conjugado enzimático listo para uso a cada pocillo de la placa ELISA.
13. Cubra la placa con parafilm.
14. Incube a 37° C por 30 minutos (+/- 1 minuto) en una incubadora.
15. Después de 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.
16. Agregue 75 ul de sustrato TMB líquido dentro de todos los pocillos mediante pipeta de varios canales. *Nota: El TMB líquido es sensible a la luz. Evite la exposición a fuentes de luz innecesarias.*
17. Incube la placa a temperatura ambiente en un lugar oscuro por 10 minutos (+/- 30 segundos).
18. Adicione 50 ul de solución de finalización dentro de todos los pocillos con una pipeta multicanal y deje la placa reposar a temperatura ambiente por 1 minuto, sin ningún recubrimiento.
19. Lea los valores de DO a 450 nm, con un lector de microplacas. NO SUSTRAIGA O NORMALICE CUALQUIER VALOR DE BLANCO O DE POCILLOS VACIOS.
20. Analice los datos según se muestra en la sección de control de calidad y en la sección de interpretación de resultados.

9 6 2 3



REFOLIADO N° 149  
Direc. Nac. Prod. Méd.

**Guía de referencia rápida**

Diluya Controles y Muestras 1/100 en Buffer de Dilución de muestras (4 ul: 396 ul). Los controles deberían ensayarse por duplicado.

Adicione 50 ul de Controles diluidos y Muestras a los correspondientes pocillos de la placa ELISA.

Cubra con parafilm, incube 30 minutos, 37°C.

Lave la placa 5 veces. Adicione 50 ul de Antígeno Chikunguña a cada pocillo de la placa ELISA. Cerciórese de devolver el antígeno a almacenamiento entre -20 °C a -80 °C.

Cubra con parafilm, incube 30 minutos, 37°C.

Prepare un volumen fresco de Conjugado Enzimático listo para uso (por ej., adicione 90 ul de Conjugado 100 X para Chikunguña directamente al frasco de 9 ml de Diluyente de Conjugado para Chikunguña). Prepare sólo el volumen necesario mínimo para la corrida del ensayo.

Lave la placa 6 veces. Adicione 50 ul de Conjugado Enzimático listo para uso a cada pocillo de la placa ELISA.

Cubra con parafilm, incube 30 minutos, 37°C.

Lave la placa 6 veces. Adicione 75 ul de TMB a los pocillos. Evite la exposición a la luz. Incube por 10 minutos a temperatura ambiente.

Adicione 50 ul de solución de finalización a cada pocillo. Mida la DO450 (no substraiga el background o longitudes de onda de referencia).

Bldg. Herman Sialino  
Co-Dirección Técnica  
M. N. 7899  
CRIMOTION S.R.L.



**CONTROL DE CALIDAD**

Cada equipo contiene sueros control positivo, control valor de corte y control negativo. Los controles positivo, de valor de corte y negativo deben correrse sobre cada placa ensayada. Los valores de densidad óptica aceptables (DO) para estos controles se encuentran en la tabla de especificación de abajo. Los controles negativo y positivo están destinados a monitorear las fallas sustanciales de los reactivos. El ensayo es inválido y debe repetirse si cualquiera de los controles no cumple con las especificaciones. El control de valor de corte se provee para establecer un umbral a partir del cual una muestra es considerada reactiva. Los procedimientos de control de calidad (QC) deben realizarse en conformidad con las regulaciones o los requerimientos de acreditación y los procedimientos de control de calidad estándares propios de cada laboratorio. Se recomienda que el usuario se refiera al CLSI C24-A y al 42 CFR 493.1256 para guía sobre las prácticas apropiadas de control de calidad. Los resultados que se dan abajo son sólo estrictamente con el propósito de guía. El análisis es aplicable sólo cuando se usan lecturas espectrofotométricas RAW y cuando la substracción del agua o los reactivos blancos no se emplean.

145  
 REPLICADO N  
 Disc. No. Prod. Méd.

**Cálculo del valor medio (Media) del Control Negativo Chikunguña IgG.**

**Ejemplo 1: Media del control Negativo**

DO450	
Replicado 1	0.084
Replicado 2	0.094
Total	0.178

**Media DO<sub>450</sub> = 0.178 ÷ 2 = 0.089**

**Cálculo del valor medio (Media) del Control Positivo Chikunguña IgG.**

**Ejemplo 2: Media del control Positivo**

DO450	
Replicado 1	1.540
Replicado 2	1.378
Total	2.918

**Media DO<sub>450</sub> = 2.918 ÷ 2 = 1.459**

**Cálculo del valor medio (Media) del Control Valor de Corte Chikunguña IgG.**

**Ejemplo 3: Media del control de valor de corte**

DO450	
Replicado 1	0.182
Replicado 2	0.194
Total	0.376

**Media DO<sub>450</sub> = 0.376 ÷ 2 = 0.188**  
**Valor del Control del valor de corte = 0.188**

Hernán Stalin  
 Dirección Técnica  
 T. N. 2899

**Cálculo de la Capacidad de discriminación del Chikunguña IgG:** La capacidad de discriminación ( $R_{PC/NC}$ ) para el ELISA se define como la relación del Control Positivo con el control negativo.

Ejemplo 4: Capacidad de Discriminación ( $R_{PC/NC}$ )	
DO450	
Media Positivo DO <sub>450</sub>	1.459
Media Negativo DO <sub>450</sub>	0.089
Relación	16.39
$R_{PC/NC} = 1.459 \div 0.089 = 16.39$	

REFOLIADO N° 146  
 Direc. Nac. Prod. Méd.

**Requerimientos de control de calidad:** Se deben cumplir los siguientes criterios para el CHIKjj Detect IgG ELISA para que el ensayo se considere válido.

Requerimientos de Control de Calidad	
Requerimiento	
Media Negativo DO <sub>450</sub>	$\leq 0.200$
Media Positivo DO <sub>450</sub>	$> 0.500$
Media Valor de Corte DO <sub>450</sub>	$>$ Media Control Neg. DO <sub>450</sub>
$R_{PC/NC}$	$\geq 5.00$

**PARA RESULTADOS EXACTOS NO SUBSTRAYA LOS VALORES DE LOS POCILLOS "BLANCO" O LAS LONGITUDES DE ONDA DE REFERENCIA**

#### INTERPRETACION DE RESULTADOS

**Cálculo del Valor de la Relación del Estado Inmune (ISR) para Chikunguña IgG:** Calcule la Relación del Estado Inmune (ISR) para cada muestra en el ensayo. El valor ISR para cada muestra se define como la relación entre la DO<sub>450</sub> de la muestra ensayada y la media del valor del Control de Valor de Corte.

Ejemplo 5: ISR	
DO450	
Media muestra ensayada DO <sub>450</sub>	0.876
Valor de Control de Valor de Corte	0.188
$ISR = 0.876 \div 0.188 = 4.66$	

Las muestras con valores  $ISR \geq 1.0$  son consideradas "Reactivas" y las muestras con valores  $ISR < 1.0$  son consideradas "No-Reactivas". Cualquier muestra en el rango de valor  $0.90 < ISR < 1.10$ , debería reensayarse y evaluarse en duplicado para verificar el estado de la muestra.

Valor ISR	Interpretación
$< 1.0$	"No Reactiva". Muestra que se considera no tiene anticuerpos IgM específicos para chikunguña.
$\geq 1.0$	"Reactiva". Muestra que se considera tiene anticuerpos IgM específicos

REFOLIADO N° 149  
 Direc. Nec. Prod. Méd.

	para chikunguña.
0.9-1.10	Repetir la muestra ensayada en duplicado para verificar el resultado.

**CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE**

**Estudios de sensibilidad y especificidad:**

Sitio 1. – Un estudio retrospectivo utilizó muestras archivadas de individuos que mostraron signos y síntomas de infección a chikunguña. Las muestras fueron ensayadas tanto en el equipo CHIKjj Detect IgG ELISA como con el ensayo IFA en un laboratorio en el este de Estados Unidos. Los dos falsos negativos fueron débilmente positivos por IFA.

		IFA		
		Positivo	Negativo	Total
CHIKjj IgG ELISA	Positivo	20	0	20
	Negativo	2	2	4
	Total	22	2	24

% de Concordancia Positivos: 90.9% [95% CI:72.2-97.5%]\*  
 % de Concordancia Negativos: 100% [95% CI:34.2-100%]\*

\*Método Score Wilson para cálculo de los intervalos de confianza 95%.

**Estudios de reproducibilidad:**

El estudio de reproducibilidad fue corrido en InBios International, Inc. 3 personas diferentes corrieron pruebas en 5 días diferentes cada uno. Los operadores ensayaron el mismo panel de muestras en triplicado usando el mismo lote de CHIKjj Detect IgG ELISA. Todos los ensayos fueron realizados de acuerdo al inserto del equipo. El panel consistió en muestras clínicas de suero diluido en una matriz analito-negativa, e incluyó una muestra positiva, dos muestras positivas débiles y una muestra negativa. Las diluciones de suero seleccionadas también aseguraron que la concentración del analito en las muestras representara un rango clínico relevante. El CV% de la precisión total (de la desviación estándar "total" de los resultados de los triplicados) para la DO cruda y los valores ISR se muestran en la tabla de abajo. El CV% de la precisión total del CHIKjj Detect IgG ELISA (de la desviación estándar "total" de los resultados de los triplicados) para los valores DO crudos varió entre el 21-31%, dependiendo de la muestra. El CV% de la precisión total – ISR varió entre 10-13 %, dependiendo de la muestra. Esta medida de variabilidad inherente incluyó el ruido debido a la variación de operador a operador.

	%CV <sub>Total</sub> - DO450	%CV <sub>Total</sub> -ISR
Control Positivo	21.419	13.092
Control Negativo	23.152	12.810
Control Valor de corte	30.446	0.000
Panel # 1	27.073	10.078
Panel # 2	28.631	12.850
Panel # 3	26.682	11.372
Panel # 4	30.142	12.320

**Estudio de reactividad cruzada**

Los sueros que fueron positivos para otros patógenos de reactividad cruzada potencial fueron evaluados con el CHIKjj Detect IgG ELISA de modo de determinar la reactividad cruzada.

Enfermedad	Número de muestras	Numero de positivos	% de Especificidad [95% intervalo de confianza]*
Virus Epstein- Barr	3	0	100% [43.9-100%]

Bioq. Hernán Sialino  
 Co-Dirección Técnica  
 No. N. 7899  
 PROMOTION S.R.L.



96231

Anticuerpo anti-nuclear	3	0	100% [43.9-100%]
Factor reumatoideo	3	0	100% [43.9-100%]
Virus Herpes simple	3	0	100% [43.9-100%]
Virus de la inmunodeficiencia humana	3	0	100% [43.9-100%]
Virus Hepatitis C	3	0	100% [43.9-100%]
Virus del Nilo Occidental	6	0	100% [61.0-100%]
Virus encefalitis de La Crosse	3	0	100% [43.9-100%]
Virus encefalitis equina del este	3	3	0% [0-56.1%]

REFOLIADO N°	148
Dirac. Nac.	Prod. Méd.

### Estudio de interferencia

Se ensayaron cuatro sustancias potencialmente interferentes, que comúnmente están presentes en el suero, para observar su efecto sobre el equipo CHIKjj Detect IgG ELISA. Además de los controles positivo, negativo y de valor de corte, se ensayó un panel de cuatro muestras clínicas simuladas, en el rango de negativo a positivo débil y a positivo fuerte. Las cinco sustancias potencialmente interferentes fueron Bilirrubina (0.2 mg/ml), colesterol (5 mg/ml), triglicéridos (30 mg/ml), y hemoglobina (160 mg/ml). No hubo ningún efecto estadísticamente significativo de ninguna de las sustancias en las concentraciones ensayadas. Todas las sustancias fueron ensayadas por encima de los niveles fisiológicos normales.

### LIMITACIONES

- Sólo para uso diagnóstico in vitro. No para la venta o distribución en Estados Unidos de América.
- Debe considerarse la reactividad cruzada con otras muestras de alfavirus. Determinados sueros (por ej. EEE-positivo, HAMA-positivo, etc.) pueden dar resultados falsos positivos. Por lo tanto, cualquier suero positivo debe ser confirmado por otras técnicas.

### REFERENCIAS

1. S. C. Weaver, J. E. Osorio, J. A. Livengood, R. Chen and D. T. Stinchcomb, "Chikungunya virus and prospects for a vaccine," *Expert Rev. Vaccines*, vol. 11, no. 9, pp. 1087-1101, 2012.
2. B. L. Tang, "The cell biology of Chikungunya virus infection," *Cellular Microbiology*, vol. 14, no. 9, pp. 1354-1363, 2012.
3. J. E. Staples, R. F. Breiman and A. M. Powers, "Chikungunya Fever: An Epidemiological Review of a Re-Emerging Infectious Disease," *Emerging Infections*, vol. 49, pp. 942-948, 2009.
4. S. C. Weaver, "Arrival of Chikungunya Virus in the New World: Prospects for Spread and Impact on Public Health," *PLOST Neglected Tropical Diseases*, vol. 8, no. 6, p. e2921, 2014.
5. F. Nasar, G. Palacios, R. V. Gorchakov, H. Guzman, A. P. Travassos Da Rosa, N. Savji, V. L. Popov, M. B. Sherman, W. I. Lipkin, R. B. Tesh and S. C. Weaver, "Eilat virus, a unique alphavirus with host range restricted to insects by RNA replication," *PNAS*, vol. 109, no. 36, pp. 14622-14627, 2012.
6. Nasar F, Gorchakov RV, Tesh RB, Weaver SC. Eilat Virus Host Range Restriction Is Present at Multiple Levels of the Virus Life Cycle. *J Virol*. 2015;89(2):1404-18.
7. Pal P, Dowd KA, Brien JD, Edeling MA, Gorlatov S, Johnson S, Lee I, Akahata W, Nabel GJ, Richter MK, Smit JM, Fremont DH, Pierson TC, Heise MT, Diamond MS. Development of a highly protective combination monoclonal antibody therapy against Chikungunya virus. *PLoS Pathog*. 2013;9(4):e1003312.

Bled Hernán Sialino  
 CA-Dirección Técnica  
 M. N. 7899  
 CROMOION S.R.L.

0623



REFOLIADO N°  
Direc. Nac. Prod. Méd.



InBios International, Inc.  
562 1<sup>st</sup> Avenue South, Suite 600  
Seattle, WA 98104 USA  
[www.inbios.com](http://www.inbios.com)

Toll Free USA- 1-866-INBIOS1  
206-344-5821 (International)

Inserto Parte N°: 900193-00  
Fecha de vigencia: 12/07/2015

REF CHKG-C

EC REP

Representante autorizado en Europa  
CEpartner4U, Esdoornlaan 13, 3951DB Maarn  
Países Bajos

IVD



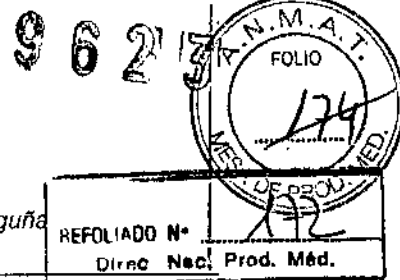
Biol. Hernán Stalino  
Co-Dirección Técnica  
M.A. 1899  
CRONDION S.R.L.

# InBios

## CHIKjj Detect™ IgM ELISA

Para la detección de anticuerpos IgM contra los antígenos del virus chikunguña

Sólo para Uso Diagnóstico in vitro



### USO A QUE ESTA DESTINADO

El CHIKjj Detect™ IgM ELISA está diseñado para la detección cualitativa de los anticuerpos IgM presentes en suero humano, contra las proteínas E2/E1 del virus chikunguña.

Este ensayo es para el diagnóstico presuntivo de la infección a virus de chikunguña, en el laboratorio clínico. Esta prueba está indicada sólo para uso en pacientes con síntomas clínicos compatibles con infección a chikunguña. Los resultados positivos deben confirmarse mediante el seguimiento de las directivas recomendadas por el CDC, para esta enfermedad.

Las características de performance del ensayo no se establecieron para el ensayo en sangre de cordón, para el ensayo en neonatos, para screening neonatal, o para screening general en la población. Este ensayo no está aprobado por la FDA para la prueba en donantes de sangre o plasma. Este equipo es sólo para uso en exportación. No está disponible para la venta o distribución en los Estados Unidos de América.

### RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

El virus Chikunguña (CHIKV) es un alfavirus transmitido por los mosquitos, aislado por primera vez, durante una epidemia en Tanzania en 1953 [1] [2]. Los síntomas agudos de la enfermedad son fácilmente confundidos con la fiebre del dengue, e incluyen la aparición repentina de fiebre alta y poliartralgia. La artralgia puede ser debilitante y puede durar por períodos de meses o incluso años, después de la infección inicial [3] [4]. Como el chikunguña puede coexistir con otras enfermedades transmitidas por mosquitos *Aedes spp.* (por ej. dengue y fiebre amarilla), puede ser difícil diagnosticar la enfermedad con rapidez y precisión. CHIKV resurgió en los últimos años en varios países, causando brotes en Kenia, India, Italia y las Américas, dando como resultado consecuencias significativas para la salud. Brotes en poblaciones insulares (Lamu, La Unión de las Comoras) dieron lugar a epidemias que infectaron a más del 50 % de la población [3].

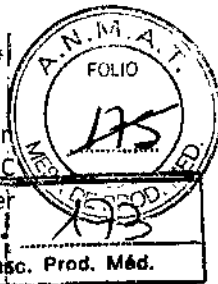
El CHIKjj Detect™ IgM ELISA es un ensayo de tipo sándwich para la detección de anticuerpos IgM humanos dirigidos a las glicoproteínas de envoltura del CHIKV E2/E1. Los pocillos de microtitulación de poliestireno están pre-cubiertos con anticuerpos de captura para IgM humana. El Control Positivo, el Control Valor de Corte, el Control Negativo y las muestras a ensayar desconocidas se diluyen en un buffer de dilución de muestras y luego se adicionan a la placa ELISA. Después de la incubación y el lavado, un antígeno CHIKV listo para uso [5] [6] se adiciona a cada pocillo. Después de un paso siguiente de incubación y lavado, un complejo de anticuerpos monoclonales específicos para CHIKV E2/E1 conjugado con HRP [7] se adiciona a cada pocillo. Después del lavado, los pocillos se incuban con un sustrato tetrametilbencidina (TMB). Una solución ácida de finalización se adiciona luego y el grado de turnover enzimático se determina por la medida de la absorbancia (densidad óptica) a 450 nanómetros. Si los anticuerpos IgM humanos dirigidos a las glicoproteínas de la envoltura del CHIKV están presentes, se forma un complejo que consiste en IgM, antígeno y conjugado. Si los anticuerpos IgM humanos dirigidos a las glicoproteínas de la envoltura del CHIKV no están presentes, a continuación el complejo del antígeno y el conjugado son lavados.

### MATERIALES PROVISTOS

El CHIKjj Detect™ IgM ELISA contiene reactivos suficientes para una placa de 96 pocillos (12 x 8 tiras) para IgM humana dirigida al CHIKV. Esto es suficiente para ensayar un máximo de 90 muestras desconocidas para IgM humana, con los controles incluidos por duplicado.

**Advertencia: No utilice ningún reactivo en el cual haya ocurrido daño en el envase.**

1. **Tiras de ensayo de microtitulación recubiertas para IgM (1 placa conteniendo 12, 1 x 8 tiras para IgM humana):** soporte de placa de tiras ELISA con 96 (12 x 8 tiras) pocillos de microtitulación de poliestireno recubiertos. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
2. **Control Negativo IgM Chikunguña (1 x 50 ul):** El control negativo ayudará en la verificación de la validez del equipo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de su uso para sedimentar cualquier precipitado.
3. **Control Positivo IgM Chikunguña (1 x 50 ul):** El control positivo ayudará en la verificación de la validez del equipo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de su uso para sedimentar cualquier precipitado.



4. **Control de Valor de Corte IgM Chikunguña (1 x 50 ul):** El control de valor de corte ayudará en la verificación de la validez del equipo y en el establecimiento del umbral para las muestras reactivas. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento. Centrifugue brevemente antes de su uso para sedimentar cualquier precipitado.
5. **Buffer de dilución de muestra para Chikunguña (2 x 25 ml):** Esta solución se usa para diluir todas las muestras de suero y controles, antes de su uso en el ELISA. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
6. **Antígeno Chikunguña (1 x 9 ml):** Este vial contiene el antígeno chikunguña listo para uso que comprende las glicoproteínas de envoltura del chikunguña.

**ESTE COMPONENTE DEBE SER REMOVIDO DEL ENVASE DEL EQUIPO Y ALMACENADO CONGELADO.**

Descongele a temperatura ambiente antes de su uso. Después de cada uso, el antígeno debe ser almacenado de -20°C a -80°C hasta la fecha de vencimiento. Evite ciclos de congelamiento-descongelamiento reiterados (no más de 5).

7. **Diluyente de conjugado para Chikunguña (1 x 9 ml):** Esta solución se usa para adicionar el conjugado enzimático para el ensayo ELISA. No utilice sin primero adicionar el Conjugado 100X, según se describe en la sección **Preparación de Reactivos**. Almacene a 2-8°C antes de la fecha de vencimiento.
8. **100 X Conjugado para Chikunguña (1 x 150 ul):** Este contiene anticuerpo monoclonal marcado con enzima peroxidasa de rábano picante dirigido hacia el virus chikunguña. Mezcle bien antes de su uso. El Conjugado 100 x se adiciona al Diluyente de conjugado antes de su uso. Almacene el conjugado 100 x no diluido a 2-8°C hasta su fecha de vencimiento.
9. **10 x Buffer de lavado (1 x 120 ml):** Un frasco de buffer de lavado concentrado 10 X a usarse según lo indicado en el procedimiento de ensayo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.
10. **Sustrato TMB Líquido (1 x 12 ml):** Se utiliza según lo indicado en el Procedimiento de ensayo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.

**Nota:** Este sustrato es sensible a la luz y debe ser almacenado en el frasco original.

11. **Solución de finalización (1 x 9 ml):** Se utiliza para finalizar la reacción tal como lo indica el Procedimiento de ensayo. Almacene a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento.

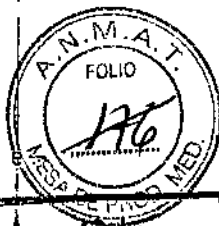
**Precaución:** Este es un ácido fuerte, use guantes de protección, máscara y anteojos de seguridad. Descarte todos los materiales de acuerdo a las reglas de seguridad y a las regulaciones.

**MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS**

- Espectrofotómetro ELISA capaz de medir absorbancia a 450 nm.
- Agua de alto grado de calidad o grado biología molecular.
- Bomba de vacío.
- Lavador de placa automático.
- Incubador a 37°C sin suministro de CO<sub>2</sub> o humidificación.
- 1-10 ul de pipetas de único canal, 50-200 ul de pipetas de simple o multi canal.
- Tubos de polipropileno o placas de microtitulación de 96 pocillos.
- 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 dado negativo para los anticuerpos dirigidos a HIV 1&2, Hepatitis C y Antígeno de superficie de Hepatitis B. Sin embargo, no todos los métodos de ensayo pueden asegurar una eficiencia o sensibilidad del 100%. Por lo tanto, todos los controles humanos y el antígeno deberían ser manipulados como 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. Se obtendrán resultados confiables 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.


 REFOLIADO N° 176  
 Ins. Prod. Méd.

- Evite la exposición de los reactivos al calor excesivo o a la luz directa durante el almacenamiento 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 suero, 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.
- Evite la contaminación de la solución de sustrato TMB con el Conjugado HRP Enzimático.
- Use ropa de protección, gafas protectoras y guantes descartables mientras 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 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 usarse 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

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.

**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 DESCRIPTAS EN EL INSERTO DEL ENVASE. MODIFICACIONES AL PROTOCOLO DE ESTOS SISTEMAS Y/O A DIFERENTES VOLÚMENES DE REACTIVOS PUEDE SER REQUERIDA.

#### Preparación de los reactivos

 RUO CHIK<sub>ij</sub> Detect™ IgM ELISA

Insert Part No. 900192-00 Effective Date: 12/07/2015

Page 3 of 12

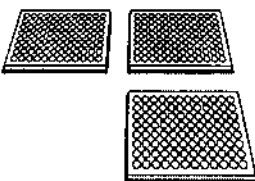
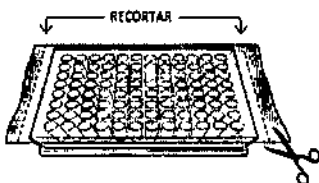


- Preparación del Buffer de lavado 1 X.  
Diluir el Buffer de lavado 10 x a 1 x, usando agua de alta calidad o de grado biológico. Para preparar una solución buffer de lavado 1 x, mezcle 120 ml de buffer de lavado 10 x, con 1080 ml de agua destilada (desionizada). Mezcle a fondo para asegurar que cualquier precipitado se disuelva y que la solución sea uniforme. Después de diluir a 1x, la solución se puede almacenar a temperatura ambiente, por hasta 6 meses. Chequee por contaminación, antes de su uso. Descarte si sospecha contaminación.
- Pocillos de microtitulación  
Seleccione las tiras correspondientes dependiendo del número de muestras a ensayar. Examine la placa para asegurar que las tiras estén alineadas apropiadamente y niveladas a la placa. El remanente de los pocillos no usados debería ser rápidamente colocado otra vez en el envase y sellado, luego almacenado a 2-8°C, hasta que esté listo para usar o hasta el vencimiento.
- Preparación del Conjugado enzimático para Chikunguña, listo para uso  
Adicione 90 ul de Conjugado para Chikunguña 100 X directamente al frasco de 9 ml de Diluyente de Conjugado para Chikunguña (1 parte: 100 partes). Mezcle varias veces por inversión de la solución. Para volúmenes más pequeños, deberá alicuotar el volumen requerido del diluyente de conjugado dentro de un tubo de ensayo de polipropileno individual, limpio y adicionar el volumen apropiado de Conjugado para Chikunguña 100X, al diluyente en el tubo de ensayo. Prepare sólo la cantidad requerida y necesaria para la corrida de ensayo particular.

### Procedimiento de ensayo

1. Controles positivos, de valor de corte y negativos deberían ser ensayados en duplicado (y correrlos cada vez que el ensayo se realice sobre cada placa). Las muestras de suero desconocidas pueden ser probadas individualmente. Sin embargo, se recomienda correr las muestras en duplicado hasta que el operador se familiarice con el ensayo.
2. Diluya los controles y las muestras de suero desconocidas en el Buffer de dilución de muestras para Chikunguña. Las muestras deberían diluirse 1/100 dentro del pocillo de la placa de dilución limpio ó en un tubo de ensayo de polipropileno individual y limpio. Por ejemplo, diluya 4 ul de muestra en 396 ul de buffer de dilución de muestra. Mezcle bien pipeteando arriba y abajo, varias veces.
3. Adicione 50 ul de las muestras de suero desconocidas y los controles diluidos 1/100 a los correspondientes pocillos de la placa ELISA.
4. Cubra la placa con parafilm, según se muestra abajo.

*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.*



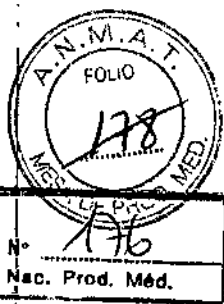
### **MÉTODO CORRECTO**

RUO CHIKij Detect™ IgM ELISA

Insert Part No. 900192-00 Effective Date: 12/07/2015

Page 4 of 12

96231



*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.*

5. Incube a 37° C por 30 minutos (+/- 1 minuto) en una incubadora. La incubadora debería ser apropiadamente calibrada y verificada para mantener 37° C +/- 2 °C usando un termómetro de referencia externo.
6. 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.
7. Agregue 50 ul de Antígeno Chikunguña a cada pocillo de la placa ELISA. Devuelva cualquier resto de Antígeno Chikunguña a las condiciones de almacenamiento apropiadas (-20°C a -80°C).
8. Cubra la placa con parafilm.
9. Incube la placa a 37 °C durante 30 minutos (+/- 1 minuto) en una incubadora.
10. Durante la incubación, prepare un volumen fresco de Conjugado enzimático listo para uso según se describe en la sección de Preparación de los Reactivos (por ej., adicione 90 ul de Conjugado 100X directamente al frasco de 9 ml de Diluyente de Conjugado para Chikunguña, 1 parte: 100 partes). Prepare sólo la cantidad mínima de conjugado enzimático listo para su uso necesario para la corrida del ensayo.
11. 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.
12. Agregue 50 ul de Conjugado enzimático listo para uso a cada pocillo de la placa ELISA.
13. Cubra la placa con parafilm.
14. Incube a 37° C por 30 minutos (+/- 1 minuto) en una incubadora.
15. Después de 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.
16. Agregue 75 ul de sustrato TMB líquido dentro de todos los pocillos mediante pipeta de varios canales. *Nota: El TMB líquido es sensible a la luz. Evite la exposición a fuentes de luz innecesarias.*
17. Incube la placa a temperatura ambiente en un lugar oscuro por 10 minutos (+/- 30 segundos).
18. Adicione 50 ul de solución de finalización dentro de todos los pocillos con una pipeta multicanal y deje la placa reposar a temperatura ambiente por 1 minuto, sin ningún recubrimiento.
19. Lea los valores de DO a 450 nm, con un lector de microplacas. NO SUSTRAYA O NORMALICE CUALQUIER VALOR DE BLANCO O DE POCILLOS VACIOS.
20. Analice los datos según se muestra en la sección de control de calidad y en la sección de interpretación de resultados.

Bioq. Hernán Sialino  
 Co-Dirección Técnica  
 A.N. 7899  
 LABORATORIO S.R.L.

**Guía de referencia rápida**

FFO 1400 N°  
Reg. Nac. Prod. Méd.

Diluya Controles y Muestras 1/100 en Buffer de Dilución de muestras (4 ul: 396 ul). Los controles deberían ensayarse por duplicado.

Adicione 50 ul de Controles diluidos y Muestras a los correspondientes pocillos de la placa ELISA.

Cubra con parafilm, incube 30 minutos, 37°C.

Lave la placa 6 veces. Adicione 50 ul de Antígeno Chikunguña a cada pocillo de la placa ELISA. Cerciórese de devolver el antígeno a almacenamiento entre -20 °C a -80 °C.

Cubra con parafilm, incube 30 minutos, 37°C.

Prepare un volumen fresco de Conjugado Enzimático listo para uso (por ej., adicione 90 ul de Conjugado 100 X para Chikunguña directamente al frasco de 9 ml de Diluyente de Conjugado para Chikunguña). Prepare sólo el volumen necesario mínimo para la corrida del ensayo.

Lave la placa 6 veces. Adicione 50 ul de Conjugado Enzimático listo para uso a cada pocillo de la placa ELISA.

Cubra con parafilm, incube 30 minutos, 37°C.

Lave la placa 6 veces. Adicione 75 ul de TMB a los pocillos. Evite la exposición a la luz. Incube por 10 minutos a temperatura ambiente.

Adicione 50 ul de solución de finalización a cada pocillo. Mida la DO450 (no substraiga el background o longitudes de onda de referencia).

9623



**CONTROL DE CALIDAD**

Cada equipo contiene sueros control positivo, control valor de corte y control negativo. Los controles positivo de valor de corte y negativo deben correrse sobre cada placa ensayada. Los valores de densidad óptica aceptables (DO) para estos controles se encuentran en la tabla de especificación de abajo. Los controles negativo y positivo están destinados a monitorear las fallas sustanciales de los reactivos. El ensayo es inválido y debe repetirse si cualquiera de los controles no cumple con las especificaciones. El control de valor de corte se provee para establecer un umbral a partir del cual una muestra es considerada reactiva. Los procedimientos de control de calidad (QC) deben realizarse en conformidad con las regulaciones o los requerimientos de acreditación y los procedimientos de control de calidad estándares propios de cada laboratorio. Se recomienda que el usuario se refiera al CLSI C24-A y al 42 CFR 493.1256 para guía sobre las prácticas apropiadas de control de calidad. Los resultados que se dan abajo son sólo estrictamente con el propósito de guía. El análisis es aplicable sólo cuando se usan lecturas espectrofotométricas RAW y cuando la substracción del agua o los reactivos blancos no se emplean.

REPOLADO N° 178  
Diréc. Nac. Prod. Méd.

**Cálculo del valor medio (Media) del Control Negativo Chikunguña IgM.**

**Ejemplo 1: Media del control Negativo**

DO450	
Replicado 1	0.084
Replicado 2	0.094
Total	0.178

**Media DO<sub>450</sub> = 0.178 ÷ 2 = 0.089**

**Cálculo del valor medio (Media) del Control Positivo Chikunguña IgM.**

**Ejemplo 2: Media del control Positivo**

DO450	
Replicado 1	1.540
Replicado 2	1.378
Total	2.918

**Media DO<sub>450</sub> = 2.918 ÷ 2 = 1.459**

Ing. Hernán Stalino  
Co-Director Técnica  
M.A. 899  
TRONOVAN S.R.L.



**Cálculo del valor medio (Media) del Control Valor de Corte Chikunguña IgM.**

**Ejemplo 3: Media del control de valor de corte**

**DO450**

Replicado 1	0.182
Replicado 2	0.194
<b>Total</b>	<b>0.376</b>

**Media DO<sub>450</sub> = 0.376 + 2 = 0.188**  
**Valor del Control del valor de corte = 0.188**

REFOLIADO N° 179  
 Direc. Nac. Prod. Méd.

**Cálculo de la Capacidad de discriminación del Chikunguña IgM:** La capacidad de discriminación ( $R_{PC/NC}$ ) para el ELISA se define como la relación del Control Positivo con el control negativo.

**Ejemplo 4: Capacidad de Discriminación ( $R_{PC/NC}$ )**

**DO450**

Media Positivo DO <sub>450</sub>	1.459
Media Negativo DO <sub>450</sub>	0.089
<b>Relación</b>	<b>16.39</b>

**$R_{PC/NC} = 1.459 + 0.089 = 16.39$**

**Requerimientos de control de calidad:** Se deben cumplir los siguientes criterios para el CHIKj Detect IgM ELISA para que el ensayo se considere válido.

**Requerimientos de Control de Calidad**

	<b>Requerimiento</b>
Media Negativo DO <sub>450</sub>	$\leq$ 0.200
Media Positivo DO <sub>450</sub>	$\geq$ 0.500
Media Valor de Corte DO <sub>450</sub>	> Media Control Neg. DO <sub>450</sub>
$R_{PC/NC}$	$\geq$ 5.00

*Hernán Stalino*  
 Dirección Técnica  
 T.L. 7999  
 PROMOCION S.R.L.

9 6 2 5



**PARA RESULTADOS EXACTOS NO SUBSTRAYA LOS VALORES DE LOS POCILLOS "BLANCO" O LAS LONGITUDES DE ONDA DE REFERENCIA**

**INTERPRETACION DE RESULTADOS**

REFOLIADO N° 180  
Direc. Nac. Prod. Méd.

**Cálculo del Valor de la Relación del Estado Inmune (ISR) para Chikunguña IgM:** El valor ISR para cada muestra se define como la relación entre la DO<sub>450</sub> de la muestra ensayada y la media del valor del Control de Valor de Corte.

**Ejemplo 5: ISR**

DO <sub>450</sub>	
Media muestra ensayada DO <sub>450</sub>	0.876
Valor de Control de Valor de Corte	0.188

**ISR = 0.876 + 0.188 = 4.66**

- Las muestras con valores ISR  $\geq 1.0$  son consideradas "Reactivas" y las muestras con valores ISR  $< 1.0$  son consideradas "No-Reactivas". Cualquier muestra en el rango de valor de  $0.9 < \text{Valor ISR} < 1.10$  debería reensayarse y evaluarse en duplicado para verificar el estado de la muestra.

Valor ISR Interpretación

$< 1.0$	"No Reactiva". Muestra que se considera no tiene anticuerpos IgM específicos para chikunguña.
$\geq 1.0$	"Reactiva". Muestra que se considera tiene anticuerpos IgM específicos para chikunguña.
0.9-1.10	Repetir la muestra ensayada en duplicado para verificar el resultado.

**CARACTERISTICAS DE PERFORMANCE**

**Estudios de sensibilidad y especificidad:**

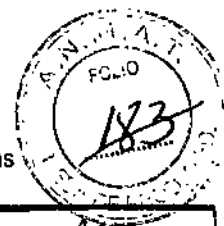
Sitio 1 – Un estudio retrospectivo utilizó muestras archivadas de individuos que mostraron signos y síntomas de infección a chikunguña. Las muestras fueron ensayadas tanto en el equipo CHIKjj Detect™ IgM ELISA como en el ensayo de neutralización en un laboratorio en Europa.

		Test de neutralización		
		Positivo	Negativo	Total
CHIKjj IgM ELISA	Positivo	10	0	10
	Negativo	0	5	5
	Total	10	5	15

% de Concordancia Positivos: 100% [95% CI:72.2-100%]\*  
 % de Concordancia Negativo: 100% [95% CI:56.6-100%]\*

\*Método Score Wilson para cálculo de los intervalos de confianza 95%.

Bioq Hernan Sialino  
Co-Dirección Técnica  
M.N. 7899  
PROMOION S.R.L.



Sitio 2 – Un estudio retrospectivo utilizó muestras archivadas de individuos que mostraron signos y síntomas de infección a chikunguña. Las muestras fueron ensayadas tanto en el equipo CHIKjj Detect™ IgM ELISA como en el ensayo de referencia compuesto ELISA/IFA en un laboratorio en el este de Estados Unidos.

REFOLIADO N° 181  
 Direc. Nec. Prod. Méd.

		Ensayo compuesto ELISA e IFA		
		Positivo	Negativo	Total
CHIKjj IgM ELISA	Positivo	7	0	7
	Negativo	0	12	12
	Total	7	12	19

% de Concordancia Positivos: 100% [95% CI:64.6-100%]\*

% de Concordancia Negativo: 100% [95% CI:75.8-100%]\*

\*Método Score Wilson para cálculo de los intervalos de confianza 95%.

Sitio 3 – Un estudio retrospectivo utilizó muestras archivadas de individuos que mostraron signos y síntomas de infección a chikunguña. Las muestras fueron ensayadas tanto en el equipo CHIKjj Detect™ IgM ELISA como con el ensayo IFA en un laboratorio en el este de Estados Unidos.

		IFA		
		Positivo	Negativo	Total
CHIKjj IgM ELISA	Positivo	22	1	23
	Negativo	0	0	0
	Total	22	1	23

% de Concordancia Positivos: 100% [95% CI:85.1-100%]\*

\*Método Score Wilson para cálculo de los intervalos de confianza 95%.

**Estudios de reproducibilidad:**

El estudio de reproducibilidad fue corrido en InBios International, Inc. 3 personas diferentes corrieron pruebas en 5 días diferentes cada uno. Los operadores ensayaron el mismo panel de muestras en triplicado usando el mismo lote de CHIKjj Detect™ IgM ELISA. Todos los ensayos fueron realizados de acuerdo al inserto del equipo. El panel consistió en muestras clínicas de suero diluido en una matriz analito-negativa, e incluyó una muestra positiva, dos muestras positivas débiles y una muestra negativa. Las diluciones de suero seleccionadas también aseguraron que la concentración del analito en las muestras representara un rango clínico relevante. El CV% de la precisión total (de la desviación estándar "total" de los resultados de los triplicados) para la DO cruda y los valores ISR se muestran en la tabla de abajo. El CV% de la precisión total del CHIKjj Detect IgM ELISA (de la desviación estándar "total" de los resultados de los triplicados) para los valores DO crudos varió entre el 15-28%, dependiendo de la muestra. El CV% de la precisión total - ISR varió entre 12-17.5 %, dependiendo de la muestra. Esta medida de variabilidad inherente incluyó el ruido debido a la variación de operador a operador.

	%CV <sub>Total</sub> - DO450	%CV <sub>Total</sub> - ISR
Control Positivo	21.347	12.096
Control Negativo	15.023	17.018
Control Valor de corte	17.757	0.000
Panel # 1	17.231	11.828
Panel # 2	27.328	17.143
Panel # 3	26.591	15.610
Panel # 4	24.895	16.613

Bloq. Herman Sialino  
 Co-Dirección Técnica  
 M. N. 7899  
 PROMOCION S.R.L.

9623



**Estudio de reactividad cruzada**

Los sueros que fueron positivos para otros patógenos de reactividad cruzada potencial fueron evaluados con el CHIKkj Detect IgM ELISA de modo de determinar la reactividad cruzada.

REFOLIADO N° 182  
 Direc. Nac. Prod. Méd.

Enfermedad	Número de muestras	Numero de positivos	% de Especificidad [95% intervalo de confianza]*
Virus Epstein-Barr	3	1	66.7% [20.8-93.9%]
Anticuerpo anti-nuclear	3	0	100% [43.9-100%]
Factor reumatoideo	3	0	100% [43.9-100%]
Virus Herpes simple	3	0	100% [43.9-100%]
Virus de la inmunodeficiencia humana	3	0	100% [43.9-100%]
Virus Hepatitis C	3	0	100% [43.9-100%]
Virus del Nilo Occidental	16	0	100% [80.6-100%]
Virus Dengue	30	0	100% [88.6-100%]
Virus encefalitis japonesa	14	0	100% [78.5-100%]
Virus encefalitis de San Luis	16	0	100% [80.6-100%]
Virus encefalitis de La Crosse	3	0	100% [43.9-100%]
Virus encefalitis equina del este	12	3	0% [0-56.1%]

**Estudio de interferencia**

Se ensayaron cuatro sustancias potencialmente interferentes, que comúnmente están presentes en el suero, para observar su efecto sobre el equipo CHIKkj Detect™ IgM ELISA. Además de los controles positivo, negativo y de valor de corte, se ensayó un panel de cuatro muestras clínicas simuladas, en el rango de negativo a positivo débil y a positivo fuerte. Las cinco sustancias potencialmente interferentes fueron Bilirrubina (0.2 mg/ml), colesterol (5 mg/ml), triglicéridos (30 mg/ml), y hemoglobina (160 mg/ml). No hubo ningún efecto estadísticamente significativo de ninguna de las sustancias en las concentraciones ensayadas. Todas las sustancias fueron ensayadas por encima de los niveles fisiológicos normales.

**LIMITACIONES**

- Sólo para uso diagnóstico in vitro. No para la venta o distribución en Estados Unidos de América.
- Debe considerarse la reactividad cruzada con otras muestras de alfavirus. Determinados sueros (por ej. EEE-positivo, HAMA-positivo, etc.) pueden dar resultados falsos positivos. Por lo tanto, cualquier suero positivo debe ser confirmado por otras técnicas.

Bioq. Hernán Stalino  
 C. Dirección Técnica  
 M.N. 7899



9 6 2 3



REFERENCIAS

1. S. C. Weaver, J. E. Osorio, J. A. Livengood, R. Chen and D. T. Stinchcomb, "Chikungunya virus and prospects for a vaccine," *Expert Rev. Vaccines*, vol. 11, no. 9, pp. 1087-1101, 2012.
2. B. L. Tang, "The cell biology of Chikungunya virus infection," *Cellular Microbiology*, vol. 14, no. 9, pp. 1354-1368, 2012.
3. J. E. Staples, R. F. Breiman and A. M. Powers, "Chikungunya Fever: An Epidemiological Review of a Re-Emerging Infectious Disease," *Emerging Infections*, vol. 49, pp. 942-948, 2009.
4. S. C. Weaver, "Arrival of Chikungunya Virus in the New World: Prospects for Spread and Impact on Public Health," *PLoS Neglected Tropical Diseases*, vol. 8, no. 6, p. e2921, 2014.
5. F. Nasar, G. Palacios, R. V. Gorchakov, H. Guzman, A. P. Travassos Da Rosa, N. Savji, V. L. Popov, M. B. Sherman, W. I. Lipkin, R. B. Tesh and S. C. Weaver, "Eilat virus, a unique alphavirus with host range restricted to insects by RNA replication," *PNAS*, vol. 109, no. 36, pp. 14622-14627, 2012.
6. Nasar F, Gorchakov RV, Tesh RB, Weaver SC. Eilat Virus Host Range Restriction Is Present at Multiple Levels of the Virus Life Cycle. *J Virol*. 2015;89(2):1404-18.
7. Pal P, Dowd KA, Brien JD, Edeling MA, Gorlatov S, Johnson S, Lee J, Akahata W, Nabel GJ, Richter MK, Smit JM, Fremont DH, Pierson TC, Heise MT, Diamond MS. Development of a highly protective combination monoclonal antibody therapy against Chikungunya virus. *PLoS Pathog*. 2013;9(4):e1003312.

REFOLIADO N° 183  
Nac. Prod. Méd.



InBios International, Inc.  
562 1<sup>st</sup> Avenue South, Suite 600  
Seattle, WA 98104 USA  
[www.inbios.com](http://www.inbios.com)

Toll Free USA- 1-866-INBIOS1  
206-344-5821 (International)

Inserto Parte N°: 900192-00  
Fecha de vigencia: 12/07/2015

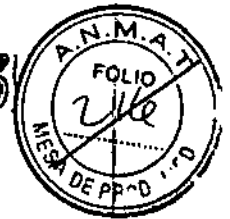
REF CHKM-C



Representante autorizado en Europa  
CEpartner4U, Esdoornlaan 13, 3951DB Maarn  
Países Bajos

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

9 6 2 3



**RÓTULOS EXTERNOS**

REFOLIADO N° 214  
 Direc. Nac. Prod. Méd.

IVD

## CHIKj Detect™

### IgG ELISA

*For In Vitro Diagnostic Use*

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

REF: CHKG-C LOT: XX0000 00/00/0000

**IMPORTANT!**  
 Store antigen at -20°C or below  
 Store all other components at 2-8°C

CE CEpartner4U, Esdoornlaan 13  
 3951DB Maarn, The Netherlands

## CHIKj Detect™ IgG ELISA

Catalog No. CHKG-C

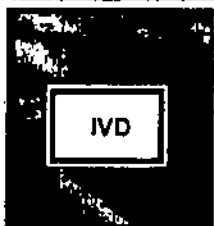
### Kit Contents

Quantity	Description	Storage
1	Coated Microtiter Test Strips for IgG, 96 Wells	2-8°C
1	Chikungunya IgG Negative Control, 50µL	2-8°C
1	Chikungunya IgG Positive Control, 50µL	2-8°C
1	Chikungunya IgG Cut-Off Control, 50µL	2-8°C
2	Sample Dilution Buffer for Chikungunya, 25mL	2-8°C
1	Chikungunya Antigen, 0mL	-20°C to -80°C
1	Conjugate Diluent for Chikungunya, 0mL	2-8°C
1	100X Conjugate for Chikungunya, 150µL	2-8°C
1	10X Wash Buffer, 120mL	2-8°C
1	Liquid TMB Substrate, 12mL	2-8°C
1	Stop Solution, 0mL	2-8°C

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.  
 Opus 6135 (C14082CA) C.A.S.A. - Argentina  
 Tel/Fax (011) 4644-2025/01  
 Legajo empresa 808  
 Dirección Técnica: Dra. Cecilia Arnaboldi  
 Productos Médicos - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos  
 Uso Diagnóstico In Vitro  
 Cero / PM  
 Autorizado por la ANMAT  
 Ministerio de Salud - República Argentina  
 VER INSTRUCCIONES DE USO

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

9 6 2 3



**CHIKjj Detect™**  
**IgM ELISA**  
*For In Vitro Diagnostic Use*

REFOLIADO N° 1 215  
 Direc. Nac. Prod. Méd.

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

REF CHKM-C LOT XX0000 00/00/0000

**IMPORTANT!**  
 Store antigen at -20°C or below  
 Store all other components at 2-8°C

CE CC REP CEpartner4U, Esdoornlaan 13  
 3951DB Maarn, The Netherlands



**CHIKjj Detect™ IgM ELISA**  
 Catalog No. CHKM-C  
 Kit Contents

Quantity	Description	Storage
1	Coated Microtiter Test Strips for IgM, 66 Wells	2-8°C
1	Chikungunya IgM Negative Control, 50µL	2-8°C
1	Chikungunya IgM Positive Control, 50µL	2-8°C
1	Chikungunya IgM Cut-Off Control, 50µL	2-8°C
2	Sample Dilution Buffer for Chikungunya, 25mL	2-8°C
1	Chikungunya Antigen, 0mL	-20°C to -80°C
1	Conjugate Diluent for Chikungunya, 0mL	2-8°C
1	100X Conjugate for Chikungunya, 150µL	2-8°C
1	10X Wash Buffer, 120mL	2-8°C
1	Liquid TMB Substrate, 12mL	2-8°C
1	Stop Solution, 0mL	2-8°C

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR CROMOION S.R.L.  
 Caseros 8125 (C1409DEA) C.A.B.A. - Argentina  
 Tel/Fax (011) 4644-8205/204  
 Legales empresa 908  
 Director Técnico Dra. Cecilia Arnaboldi  
 Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos  
 Uso Diagnóstico In Vitro  
 Códig / Pdv  
 Autorizado por la ANMAT  
 Ministerio de Salud - Presidencia Argentina  
 VER INSTRUCCIONES DE USO

*E*

*A*

*Chefoldi*

**CROMOION s.r.l.**  
 Farm. Cecilia A. Arnaboldi  
 M.P. 16533 • M.N. 13795  
 Dirección Técnica



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

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

Expediente nº:1-47-3110-1359/16-0


Se autoriza a la firma CROMOION S.R.L a importar y comercializar los Productos para Diagnóstico de uso "in vitro" denominados 1) CHIKjj DETECT™ IgG ELISA/ ENSAYO DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE LOS ANTICUERPOS IgG PRESENTES EN SUERO HUMANO, CONTRA LAS PROTEÍNAS E2/E1 DEL VIRUS CHIKUNGUÑA; 2) CHIKjj DETECT™ IgM ELISA/ ENSAYO DISEÑADO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE LOS ANTICUERPOS IgM PRESENTES EN SUERO HUMANO, CONTRA LAS PROTEÍNAS E2/E1 DEL VIRUS CHIKUNGUÑA, en 1) ENVASES POR 96 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: MICROPLACA RECUBIERTA PARA IgG (1 x 12 TIRAS x 8 POCILLOS), CONTROL NEGATIVO IgG CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL POSITIVO IgG CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL DE VALOR DE CORTE IgG CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), BUFFER DE DILUCIÓN DE MUESTRA (2 x 25 ml), ANTÍGENO CHIKUNGUÑA (1 x 9 ml), DILUYENTE DE CONJUGADO (1 x 9 ml), CONJUGADO 100X (1 x 150 µl), BUFFER DE LAVADO 10X (1 x 120 ml), SUSTRATO TMB LÍQUIDO (1 x 12 ml), SOLUCIÓN DE FINALIZACIÓN (1 X 9 ml); 2) ENVASES POR 96 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: MICROPLACA RECUBIERTA PARA IgM (1 x 12 TIRAS x 8 POCILLOS), CONTROL NEGATIVO IgM CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL POSITIVO IgM CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), CONTROL DE VALOR DE CORTE IgM CHIKUNGUÑA (1 x 50 µl), BUFFER DE DILUCIÓN DE MUESTRA (2 x 25 ml),

ANTÍGENO CHIKUNGUÑA (1 x 9 ml), DILUYENTE DE CONJUGADO (1 x 9 ml),  
CONJUGADO 100X (1 x 150 µl), BUFFER DE LAVADO 10X (1 x 120 ml),  
SUSTRATO TMB LÍQUIDO (1 x 12 ml), SOLUCIÓN DE FINALIZACIÓN (1 x 9  
ml). Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por  
hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y  
Resolución M.S. y A.S. N° 145/98. Lugar de elaboración: INBIOS  
INTERNATIONAL, Inc. 562 1<sup>st</sup> Avenue South, Suite 600. Seattle, WA 98104.  
(USA). Periodo de vida útil: 1) y 2) 12 (DOCE) meses, desde la fecha de  
elaboración conservando todos los componentes entre 2 y 8 °C, excepto el  
componente ANTÍGENO CHIKUNGUÑA conservado entre -20 y -80 °C. En las  
etiquetas de los envases, anuncios y Manual de instrucciones deberá constar  
PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO DE USO "IN VITRO" USO PROFESIONAL  
EXCLUSIVO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACION NACIONAL DE  
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA.

Certificado n°: **008476**

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA  
MÉDICA.

Buenos Aires, **25 AGO 2016**

  
**Dr. ROBERTO LEBE**  
Subadministración Nacional  
A.N.M.A.T.

Firma y sello