



BUENOS AIRES 12 ENE 2017

VISTO, el expediente nº 1-47-3110-6672/16-2 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma BIOARS S.A solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) **ZIKV IgG** / Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos IgG frente al virus del Zika en plasma y suero humanos. 2) **ZIKV IgM** / Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM frente al virus del Zika en plasma y suero humanos.

Que a fs. 109 y 110 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 Nº 145/98 y Disposición ANMAT Nº 2674/99.

Que se actúa en virtud a las facultades conferidas por el Decreto Nº 1490/92 y por el Decreto Nº 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.



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) **ZIKV IgG** / Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos IgG frente al virus del Zika en plasma y suero humanos. 2) **ZIKV IgM** / Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM frente al virus del Zika en plasma y suero humanos que serán elaborados por DIA.PRO Diagnostic BioProbes S.R.L., Via G. Carducci 27 -20099-Sesto San Giovanni (MI), Italia e importados por BIOARS S.A a expenderse en envases conteniendo 1) ZIKV IgG / Microplaca (MICROPLATE), 12 tiras de 8 micropocillos; Control negativo (CONTROL -), 1 vial de 2,0 ml; Control positivo alto (CONTROL + HIGH), 1 vial de 2,0 ml; Control positivo medio (CONTROL + MID), 1 vial de 2,0 ml; Solución de lavado concentrada (WASHBUF 20X), 1 botella de 60 ml; Conjugado (CONJ), 1 vial de 16 ml; Cromógeno/Substrato (SUBS TMB), 1 vial de 16 ml; Ácido sulfúrico (H2SO4 0.3 M), 1 vial de 15 ml; Diluyente de muestras (DILSPE), 2 viales de 60 ml; Sellador adhesivo, 2 unidades; Manual de instrucciones, 1 unidad. 2) ZIKV IgM / Microplaca (MICROPLATE), 12 tiras de 8 micropocillos; Control negativo (CONTROL -), 1 vial de 2,0 ml; Control positivo (CONTROL +), 1 vial de 2,0 ml; Solución de lavado concentrada (WASHBUF 20X), 1 botella de 60 ml; Conjugado (CONJ), 1 vial de



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

DISPOSICIÓN N° 0399

16 ml; Cromógeno/Substrato (SUBS TMB), 1 vial de 16 ml; Ácido sulfúrico (H₂SO₄ 0.3 M), 1 vial de 15 ml; Diluyente de muestras (DILSPE), 2 viales de 60 ml; Reactivo neutralizante (SOLN NEUT), 1 vial de 8 ml; Sellador adhesivo, 2 unidades; Manual de instrucciones, 1 unidad; cuya composición se detalla a fojas 21 a 22 con un período de vida útil de 15 (QUINCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2-8°C .

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 55 a 63 y 67 a 108, desglosándose las fojas 57 a 59 y 81 a 94 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 junto con la copia de los proyectos de rótulos , Manual de Instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente n°: 1-47-3110-6672/16-2.

DISPOSICIÓN N°: 0399

av.

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

0399

19 2 ENE 2017

ZIKV IgG

**Ensayo inmunoenzimático para la
determinación de anticuerpos IgG frente
al virus del Zika en suero y plasma
humanos**

- Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro" -



DIA.PRO
Diagnostic Bioprobes Srl
Via G. Carducci n° 27
20099 Sesto San Giovanni
(Milán) - Italia
Teléfono +39 02 27007161
Fax +39 02 26007726
e-mail: info@diapro.it

E.

REF ZIKVG.CE
96 pruebas

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
BIOARS S.A.
BIOQ CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO



ZIKV IgG

A. OBJETIVO DEL EQUIPO.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos IgG frente al virus del Zika en plasma y suero humanos. Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro".

B. INTRODUCCIÓN.

El virus del Zika pertenece a la familia *Flaviviridae* y al género *Flavivirus*, por lo que está relacionado con el virus del dengue, de la fiebre amarilla, de la encefalitis japonesa y del Nilo occidental. Al igual que otros flavivirus, el virus del Zika es un virus encapsulado e icosaédrico, y su genoma es ARN no segmentado, monocatenario positivo.

Los genes del genoma ARN codifican proteínas no estructurales y estructurales, de las cuales las más inmunogénicas son los antígenos NS1 y ENV. Las proteínas estructurales encapsulan el virus.

Existen dos linajes de virus del Zika: el linaje africano y el linaje asiático. Algunos estudios filogenéticos indican que el virus que está expandiéndose por el continente americano está más estrechamente relacionado con la cepa asiática, que circulaba por la Polinesia Francesa durante el brote de 2013.

El virus del Zika es transmitido por mosquitos con actividad diurna como su vector. Se transmite principalmente por el mosquito *Aedes aegypti* hembra con el fin de poner los huevos, pero se ha aislado en algunas especies de mosquitos arborícolas del género *Aedes*, con un período de incubación extrínseco en los mosquitos de aproximadamente 10 días.

Desde 2015, los informativos han llamado la atención sobre la propagación del Zika en América Latina y en el Caribe.

En 2015 se detectó ARN del virus del Zika en el líquido amniótico de dos mujeres embarazadas cuyos fetos tenían microcefalia, lo que indicó que el virus había cruzado la placenta y podría haber causado una infección de madre a hijo.

Según la OMS a fecha de 5 de febrero de 2016, "se sospecha fuertemente, pero aún no se ha probado científicamente" una relación causal entre el virus del Zika y la microcefalia, y "a pesar de que los casos de microcefalia en Brasil están asociados de forma espacio-temporal con el brote del Zika, se necesitan más investigaciones sólidas y estudios para entender mejor esta posible relación".

Entre las nuevas recomendaciones se incluyen ofrecer pruebas serológicas a mujeres embarazadas sin síntomas de fiebre del Zika que han vuelto de zonas con transmisión en curso del virus del Zika en las últimas 2-12 semanas; y, para las mujeres embarazadas sin síntomas del Zika que viven en dichas zonas, recomiendan realizar la prueba al principio de la atención prenatal y una prueba de seguimiento el quinto mes de embarazo.

C. PRINCIPIO DEL ENSAYO.

Las microplacas están recubiertas con antígenos sintéticos del virus del Zika.

En la 1ª incubación, la fase sólida se trata con muestras diluidas y las IgG anti virus del Zika son capturadas, si las hay, por los antígenos.

Después del lavado, que elimina el resto de los componentes de la muestra, en la 2ª incubación se detectan las IgG anti virus del Zika unidas por la adición de anticuerpo anti hIgG, marcado con peroxidasa (HRP).

La enzima capturada en la fase sólida, combinada con la mezcla sustrato/cromógeno, genera una señal óptica proporcional a la cantidad de anticuerpos IgG anti virus del Zika presentes en la muestra.

La presencia de IgG en la muestra se puede determinar, por lo tanto, mediante un valor de corte capaz de discriminar entre muestras negativas y positivas. La prueba puede ser cuantitativa trazando los resultados de los controles y determinando el contenido de IgG en Uarb/ml.

D. COMPONENTES.

El equipo contiene reactivos para realizar 96 pruebas.

1. Microplaca: MICROPLATE

12 tiras x 8 micropocillos recubiertas con antígeno sintético de ZIKV. Las placas están en una bolsa sellada con desecante.

2. Control negativo CONTROL

1x2,0 ml/vial. Listo para el uso. Contiene 1% de proteínas de suero de cabra, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0+/-0,1, 0,5% de Tween 20, azida sódica al 0,09% y Kathon GC 0,1% como conservantes. El control negativo está codificado con el color amarillo.

El control contiene 0 Uarb/ml de anticuerpos anti ZIKV.

3. Control positivo alto CONTROL + HIGH

1x2,0 ml/vial. Listo para el uso. Contiene 1% de proteínas de suero de cabra, IgG anti ZIKV humanas inactivadas, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0+/-0,1, 0,5% de Tween 20, azida sódica al 0,09% y Kathon GC 0,1% como conservantes.

El control positivo alto está codificado con color azul. Contiene 100 Uarb/ml de anticuerpos anti ZIKV.

4. Control positivo medio CONTROL + MID

1x2,0 ml/vial. Listo para el uso. Contiene 1% de proteínas de suero de cabra, IgG anti ZIKV humanas inactivadas, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0+/-0,1, 0,5% de Tween 20, azida sódica al 0,09% y Kathon GC 0,1% como conservantes.

El control positivo medio está codificado con color azul pálido. Contiene 20 Uarb/ml de anticuerpos anti ZIKV.

5. Solución de lavado concentrada: WASHBUF 20X

1x60 ml/botella solución concentrada 20x. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7,0+/-0,2, 0,05% de Tween 20 y Kathon GC al 0,05%.

6. Conjugado: CONJ

1x16 ml/vial. Listo para el uso y codificado con color rojo. Contiene anticuerpos policlonales anti IgG humana conjugados con peroxidasa (HRP), 5% de albúmina de suero bovino, tampón Tris 10 mM a pH 6,8+/-0,1, Kathon GC 0,1% y sulfato de gentamicina 0,02% como conservantes.

7. Cromógeno/Substrato: SUBS TMB

1x16 ml/vial. Contiene tampón citrato-fosfato 50 mM a pH 3,5-3,8, dimetilsulfóxido 4%, tetra-metil-benzidina (TMB) 0,03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0,02%

Nota: Evitar la exposición a la luz, la sustancia es fotosensible.

8. Ácido sulfúrico: H₂SO₄ 0.3 M

1x15 ml/vial. Contiene solución de H₂SO₄ 0,3 M. Atención: Irritante (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

9. Diluyente de muestras: DILSPE

2x60 ml/vial. Contiene 2% de caseína, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0 +/-0,1, 0,2% de Tween 20, azida sódica al 0,09% y Kathon GC 0,1% como conservantes. Utilizar para diluir la muestra.

10. Sellador adhesivo, 2 uds.

11. Manual de Instrucciones, 1 ud.

E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.

1. Micropipetas calibradas (1000, 100 y 10 µl) y puntas de plástico desechables.
2. Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para eliminar oxidantes químicos usados como desinfectantes).
3. Timer con un rango de 60 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.

Handwritten signature
BIOARS S.A.
BIOQ CLAUDIA ETCHEVEZ
DIRECTOR TÉCNICO



0399

5. Incubadora termostática de microplacas ELISA calibrada (en seco o húmedo), ajustada a +37 °C (+/-0,5 °C de tolerancia).
6. Lector calibrado de micropocillos ELISA con filtros de 450 nm (lectura) y 620-630 nm (blanco).
7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Vórtex o similar.

F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

1. El equipo solo debe usarse por personal técnico adecuadamente instruido, bajo la supervisión de un médico responsable del laboratorio.
2. Todo el personal que participe en la realización de los ensayos deberá llevar la indumentaria protectora adecuada de laboratorio, guantes sin talco y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). Todo el personal involucrado debe tener formación en procedimientos de bioseguridad, como recomienda el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y como ha publicado el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
3. Todo el personal involucrado en el manejo de muestras debe estar vacunado contra VHB y VHA, para lo cual existen vacunas disponibles, seguras y eficaces.
4. Se debe controlar el entorno del laboratorio para evitar la contaminación por polvo o agentes microbianos en el aire al abrir los viales del equipo y las microplacas, así como durante la realización del ensayo. Evitar la exposición del cromógeno/substrato a la luz intensa y las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
5. Tras la recepción, conservar el equipo a una temperatura entre 2 y 8 °C, en un refrigerador con temperatura regulada o en una cámara de refrigeración.
6. No intercambiar componentes de lotes distintos, ni tampoco de dos equipos del mismo lote.
7. Comprobar que los reactivos estén claros y no contengan partículas pesadas visibles ni agregados. Si no es así, informar al supervisor del laboratorio para realizar el procedimiento pertinente para reemplazar el equipo.
8. Evitar contaminación cruzada entre muestras de suero/plasma usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
9. Evitar la contaminación cruzada entre los reactivos del equipo usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
10. No usar el producto después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas internas (viales) y en las etiquetas del envase externo. Según estudios realizados en equipos abiertos, no se ha detectado pérdida relevante de actividad hasta 6 usos del dispositivo y hasta 6 meses.
11. Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras de suero humano deben ser manipuladas al nivel 2 de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, EE.UU., y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
12. Se recomienda utilizar material plástico desechable para preparar los componentes líquidos o transferir los componentes a los equipos automatizados, a fin de evitar contaminaciones cruzadas.
13. Los desechos producidos durante el uso del equipo deben eliminarse según lo establecido por las directivas nacionales y las leyes relacionadas con el tratamiento de los residuos químicos y biológicos de laboratorio. En particular, los desechos líquidos procedentes del proceso de lavado, de restos de controles y muestras, deben tratarse como potencialmente infecciosos y deben inactivarse antes de su eliminación. Se recomienda la inactivación con lejía al 10% de 16 a 18 horas o el uso de la autoclave a 121 °C durante 20 minutos.
14. En caso de derrame accidental de algún producto, se debe utilizar papel absorbente embebido en lejía y, posteriormente,

en agua. El papel debe eliminarse en contenedores designados para este fin en hospitales y laboratorios.

15. El ácido sulfúrico es irritante. En caso de derrame, se debe lavar la superficie con abundante agua.

16. Los demás materiales de desecho que se generan durante la utilización del equipo (por ejemplo: puntas usadas en la manipulación de las muestras y controles, microplacas usadas) deben manipularse como fuentes potenciales de infección y deben eliminarse de acuerdo con las directivas nacionales y las leyes para el tratamiento de residuos de laboratorio.

G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y RECOMENDACIONES.

1. Extraer la sangre asépticamente por punción venosa y preparar el suero o plasma según la técnica estándar del laboratorio de análisis clínico. No se ha detectado que el tratamiento con citrato, EDTA o heparina afecte a las muestras.
2. Evitar la adición de conservantes a las muestras, en particular azida sódica, ya que podría afectar a la actividad enzimática del conjugado, generando resultados falsos negativos.
3. Las muestras deben identificarse claramente mediante códigos de barras o nombres para evitar una interpretación errónea de los resultados.
4. Las muestras hemolizadas (color rojo) y visiblemente hiperlipémicas (aspecto lechoso) deben descartarse para evitar falsos resultados, al igual que aquellas que contengan restos de fibrina, partículas pesadas o filamentos y organismos microbianos.
5. El suero y el plasma pueden conservarse hasta 7 días, a partir del momento de la extracción, a una temperatura entre 2 y 8 °C. Para períodos de conservación más largos, las muestras pueden almacenarse a -20 °C durante varios meses, evitando luego descongelar cada muestra más de una vez, ya que se pueden generar partículas que podrían afectar al resultado de la prueba.
6. Si hay presencia de agregados, la muestra se puede aclarar mediante centrifugación a 2000 rpm durante 20 minutos o por filtración con un filtro de 0,2-0,8 micras.

H. PREPARACIÓN DE LOS COMPONENTES Y PRECAUCIONES.

En un estudio realizado con un equipo abierto no se ha detectado pérdida de actividad relevante utilizándolo hasta 6 veces y durante un período de hasta 6 meses.

Microplacas:

Dejar la microplaca a temperatura ambiente (aprox. 1 hora) antes de abrir el envase. Comprobar que el desecante no esté de color verde oscuro, lo que indicaría un defecto de fabricación.

De ser así, llamar al servicio de atención al cliente de Dia.Pro. Las tiras no utilizadas deben guardarse herméticamente cerradas en la bolsa de aluminio con el desecante a 2-8 °C. Cuando se abre por primera vez, las tiras sobrantes se mantienen estables hasta que el indicador de humedad dentro de la bolsa del desecante cambia de amarillo a verde.

Controles:

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

Solución de lavado concentrada:

La solución concentrada 20x debe diluirse con agua de calidad EIA hasta 1200 ml y mezclarse con cuidado antes del uso. Dado que pueden existir algunos cristales de sal en el vial, debe prestarse atención a que todo el contenido quede disuelto al preparar la solución.

Durante la preparación hay que evitar la formación de espuma y burbujas, que podrían reducir la eficiencia de lavado.

Nota: Una vez diluida, la solución de lavado es estable durante una semana a temperaturas entre 2 y 8 °C.

Guadalupe
BIOANS SIA
BIO. CLAUDIA ETCHEVE
DIRECTOR TÉCNICO

0390

Conjugado:

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar.
Evitar posible contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios.
En caso de que deba transferirse el componente, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

Cromógeno/Substrato:

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

Diluyente de muestras:

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

Ácido sulfúrico:

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar.
Atención: Irritante (H315; H319; P280; P302+P352; P332+P313; P305+P351+P338; P337+P313; P362+P363).

Leyenda:

Indicación de peligro, Frases H

H315 – Provoca irritación cutánea.
H319 – Provoca irritación ocular grave.

Consejo de prudencia, Frases P

P280 – Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P302 + P352 – EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
P332 + P313 – En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
P305 + P351 + P338 – EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
P337 + P313 – Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
P362 + P363 – Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

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

- Las micropipetas deben estar calibradas para dispensar correctamente el volumen requerido en el ensayo y sometidas a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra (alcohol al 70%, lejía al 10%, desinfectantes de calidad hospitalaria). Además, deben revisarse regularmente para mantener una precisión del 1% y una confiabilidad de +/- 2%. También se debe llevar a cabo de forma regular la descontaminación de derrames o residuos de los componentes del equipo.
- La incubadora ELISA debe ajustarse a 37 °C (+/- 0,5 °C de tolerancia) y controlarse periódicamente para mantener la temperatura correcta. Pueden emplearse incubadoras secas o baños de agua, siempre que estén validadas para la incubación de pruebas de ELISA.
- El lavador ELISA es extremadamente importante para el rendimiento global del ensayo. Antes de emplearlo en los ensayos de rutina del laboratorio, debe optimizarse y validarse cuidadosamente usando los controles y paneles de referencia pertinentes. Para asegurar que el ensayo se realiza conforme a lo esperado, normalmente basta con 4-5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350 µl/pocillo de solución de lavado = 1 ciclo). Se recomienda un tiempo

de remojo entre ciclos de 20-30 segundos. Para establecer correctamente el número, se recomienda efectuar un ensayo con los controles del equipo y muestras positivas y negativas de referencia bien caracterizadas, tratando de ajustarlos a los valores indicados en las secciones "Control interno de calidad" y "Procedimiento del ensayo". La calibración periódica del volumen para dispensar y el mantenimiento del lavador (descontaminación y lavado de las agujas) deben realizarse según las instrucciones del fabricante.

- Los tiempos de incubación deben tener un margen de ±5%.
- El lector de microplacas ELISA debe estar provisto de un filtro de lectura de 450 nm y de un segundo filtro (620-630 nm, altamente recomendado) para el blanco. El procedimiento estándar debe contemplar: a) Ancho de banda ≤ 10 nm; b) Rango de absorbancia de 0 a ≥ 2,0; c) Linealidad ≥ 2,0; d) Reproducibilidad ≥ 1%. El blanco se prueba en el pocillo indicado en la sección "Procedimiento del ensayo". El sistema óptico del lector debe calibrarse periódicamente para garantizar que se mide la densidad óptica correcta. Periódicamente se debe proceder al mantenimiento según las instrucciones del fabricante.
- En caso de usar un sistema automatizado ELISA, los pasos críticos (dispensado, incubación, lavado, lectura y procesamiento de datos) deben ser cuidadosamente fijados, calibrados, controlados y periódicamente ajustados, para garantizar los valores indicados en la sección O. "Control interno de calidad". El protocolo del ensayo debe instalarse en el sistema operativo de la unidad y validarse tanto para el lavador como para el lector. Por otro lado, la parte del sistema que maneja los líquidos (dispensado y lavado) debe validarse y fijarse correctamente. Debe prestarse especial atención para evitar el arrastre por las agujas de dispensación y de lavado, a fin de minimizar la posibilidad de contaminación de pocillos adyacentes. Se recomienda el uso de sistemas automatizados ELISA para el cribado de sangre cuando la cantidad de muestras supere las 20-30 unidades por serie.
- Cuando se utilizan instrumentos automáticos, en caso de que los contenedores para viales del instrumento no se ajusten a los viales del equipo, debe transferirse la solución a contenedores adecuados y marcarlos con la misma etiqueta despegada del vial original. Esta operación es importante para evitar la falta de coincidencia de los contenidos de los viales al transferirlos. Cuando termine la prueba, guardar los contenedores secundarios etiquetados a una temperatura de 2 a 8 °C, firmemente cerrados.
- El servicio de atención al cliente de Día.Pro ofrece apoyo al usuario para ajustar y comprobar los instrumentos usados en combinación con el equipo, con el propósito de asegurar el cumplimiento de los requisitos descritos. También se ofrece apoyo para la instalación de nuevos instrumentos para usar con el equipo.

L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

- Comprobar la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa de la caja del equipo. No usar si ha caducado.
- Comprobar que los componentes líquidos no estén contaminados con partículas o agregados visibles a simple vista. Comprobar que el cromógeno/substrato sea incoloro o azul pálido, aspirando un pequeño volumen con una pipeta estéril de plástico transparente. Comprobar que no se hayan producido roturas ni derrames de líquido dentro de la caja durante el transporte. Asegurarse de que la bolsa de aluminio que contiene la microplaca no esté rota o dañada.
- Diluir totalmente la solución de lavado concentrada 20x, como se ha descrito anteriormente.
- Disolver el calibrador como se ha indicado anteriormente.
- Esperar hasta que los componentes restantes alcancen la temperatura ambiente (aprox. 1 hora) y, a continuación, mezclar como se indica.

E
A

Clara Echeverri
BIOARS S.A
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVERRI
DIRECTORA TÉCNICA



0399

6. Ajustar la incubadora de ELISA a 37 °C y preparar el lavador de ELISA cebando con la solución de lavado diluida, según las instrucciones del fabricante. Fijar el número de ciclos de lavado de acuerdo con los parámetros de validación del instrumento para usar con el equipo.
7. Comprobar que el lector ELISA se haya encendido al menos 20 minutos antes de realizar la lectura.
8. Si se utiliza un sistema automatizado, encenderlo, comprobar los ajustes y asegurarse de que se use el protocolo de ensayo correcto.
9. Comprobar que las micropipetas estén ajustadas al volumen requerido.
10. Asegurarse de que el resto del equipamiento esté disponible y listo para el uso.
11. En caso de que surja algún problema, detener el ensayo y avisar al responsable.

M. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

El ensayo debe realizarse de acuerdo con las instrucciones que se indican a continuación, teniendo cuidado de mantener en todas las muestras el mismo tiempo de incubación.

1. Diluir las muestras 1:101 en un tubo de dilución adecuadamente definido (ejemplo: 1000 µl de diluyente de muestras + 10 µl de muestra). No diluir los controles, ya que están listos para el uso. Mezclar cuidadosamente todos los componentes líquidos en un vórtex y después proceder como se describe a continuación.
2. Poner el número necesario de micropocillos en el soporte de micropocillos. Dejar el pocillo A1 vacío para la operación de blanco.
3. Dispensar 100 µl de control negativo por triplicado, 100 µl de control positivo medio por duplicado y 100 µl de muestras diluidas en cada pocillo adecuadamente identificado.
4. Incubar la microplaca durante 60 minutos a +37 °C.

Nota importante: Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado solo cuando se hace el ensayo manualmente. No cubrir las tiras cuando se emplean equipos automatizados de ELISA.

5. Lavar la microplaca con el lavador automático como se indica más arriba (sección I.3).
6. Dispensar 100 µl de conjugado en cada pocillo, excepto en el pocillo A1, y cubrir con el sellador. Comprobar que este componente de color rojo se haya dispensado en todos los pocillos excepto el A1.

Nota importante: Tener cuidado de no tocar la pared interna de plástico del pocillo con la punta de la pipeta que contiene el conjugado. Podría producirse contaminación.

7. Incubar la microplaca durante 60 min. a +37 °C.
8. Lavar los micropocillos de igual forma que en el paso 5.
9. Dispensar 100 µl de la mezcla cromógeno/substrato en todos los pocillos, incluido el pocillo para el blanco. A continuación, incubar la microplaca a temperatura ambiente (18-24 °C) durante 20 minutos.

Nota importante: No exponer a luz intensa directa. De lo contrario, se puede generar un fondo excesivo.

10. Dispensar 100 µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos usando la misma secuencia que en el paso 10. La adición del ácido cambia el color del control positivo y las muestras positivas de azul a amarillo.
11. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se describe en la sección I.5, utilizando un filtro de 450 nm (lectura) y otro de 620-630 nm (sustracción del fondo, altamente recomendado), calibrando el instrumento con el pocillo A1 (blanco).

Notas generales importantes:

1. Si no se puede utilizar el segundo filtro, asegurarse de que no haya impresiones digitales en el fondo de los micropocillos antes de leer a 450 nm. Podrían generarse falsos positivos en la lectura.
2. La lectura debe hacerse inmediatamente después de añadir la solución de parada y, en cualquier caso, nunca transcurridos 20 minutos desde su adición. Se podría producir auto oxidación del cromógeno causando un elevado fondo.
3. Si el ensayo debe ser semicuantitativo, utilizar el valor en Uarb/ml de los controles para dibujar una curva de calibración punto a punto y medir el valor Uarb/ml de la muestra.

N. ESQUEMA DEL ENSAYO (cualitativo/semicuantitativo).

Método	Operaciones
Controles	100 µl
Muestras diluidas 1:101	100 µl
1ª Incubación	60 min.
Temperatura	+37 °C
Paso de lavado	4-5 ciclos
Conjugado	100 µl
2ª Incubación	60 min.
Temperatura	+37 °C
Paso de lavado	4-5 ciclos
TMB/H2O2	100 µl
3ª Incubación	20 min.
Temperatura	l.a.
Acido sulfúrico	100 µl
Lectura DO	450 nm.

A continuación se incluye un ejemplo del esquema de dispensado para ensayos cualitativos/semicuantitativos:

Microplaca

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	M 1	M 9									
B	CN	M 2	M 10									
C	CN	M 3	M 11									
D	CN	M 4	M 12									
E	CPM	M 5	M 13									
F	CPM	M 6	M 14									
G	CPA	M 7	M 15									
H	CPA	M 8	M 16									

Legenda. BL = Blanco, CN = Control Negativo, CPM = Control Positivo Medio CPA = Control Positivo Alto, M = Muestra

O. CONTROL INTERNO DE CALIDAD.

Se realiza una comprobación en los controles y el calibrador siempre que se utiliza el equipo, para verificar si los valores de DO 450 nm son los esperados e indicados en la siguiente tabla:

Comprobar	Requisitos
Pocillo blanco	Valor < 0,100 DO 450 nm
Control negativo (CN)	Valor medio < 0,200 DO 450 nm después de leer el blanco
Control positivo alto	DO 450 nm > 1,000
Control positivo medio	DO 450 nm > 0,400

Si los resultados del ensayo coinciden con lo establecido anteriormente, pasar a la siguiente sección. En caso contrario, no continuar y hacer lo siguiente:

Problemas	Comprobar
Pocillo blanco > 0,100 DO 450 nm	1. que la solución cromógeno/sustrato no se haya contaminado durante el ensayo.
Control negativo (CN) > 0,200 DO 450 nm después de leer el blanco	1. el proceso de lavado y los parámetros del lavador coinciden con los validados en los estudios previos de calificación; 2. se ha usado la solución de lavado apropiada y se ha alimentado con esta el lavador antes del uso; 3. que no se hayan cometido errores en el procedimiento del ensayo (dispensar el control positivo en lugar del negativo); 4. que no se haya producido contaminación del control negativo o de sus pocillos debido a muestras positivas, derrames o al conjugado; 5. que las micropipetas no se hayan contaminado con muestras positivas ni con el conjugado; 6. las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas.

E
A

[Handwritten Signature]
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA FICHEVES
DIRECTOR TÉCNICO



Control positivo alto < 1,000 DO 450 nm	1. que el procedimiento se haya ejecutado correctamente; 2. que no se hayan cometido errores en la distribución de los controles (dispensar el control negativo en lugar del control positivo alto); 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador coinciden con los validados en los estudios previos de calificación; 4. no ha ocurrido contaminación externa del control positivo.
Control positivo medio < 0,400 DO 450 nm	1. que el procedimiento se haya ejecutado correctamente; 2. que no se hayan cometido errores en la distribución de los controles (dispensar el control negativo en lugar del control positivo medio); 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador coinciden con los validados en los estudios previos de calificación; 4. no ha ocurrido contaminación externa del control positivo.

Las muestras con Uarb/ml < 9 se consideran negativas para anticuerpos IgG contra ZIKV.
Las muestras con Uarb/ml > 11 se consideran positivas.
Las muestras con Uarb/ml entre 9 y 11 se consideran equívocas y se deberá someter a los pacientes a una nueva prueba.

Si se producen esos problemas, tras la comprobación, informar al responsable de cualquier problema residual para tomar las medidas pertinentes.

P. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.
En la determinación cualitativa, calcular el valor de corte (Co) a partir del control POSITIVO MEDIO (CPM) con la siguiente fórmula:

$$\text{valor medio DO 450 nm CPM} / 2 = \text{Co}$$

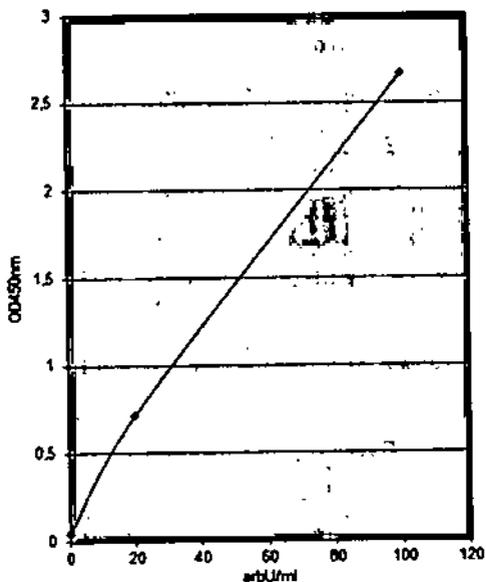
La interpretación de los resultados se realiza como la relación entre el valor de DO 450 nm de la muestra y el valor de corte (M/Co). Los resultados se interpretan según la siguiente tabla:

M/Co	Interpretación
< 0,9	Negativo
0,9 - 1,1	Equívoco
> 1,1	Positivo

Un resultado negativo indica que el paciente no está infectado por ZIKV.
Los pacientes cuya muestra resulte equívoca deben someterse a una nueva prueba con una segunda muestra tomada del paciente 1 o 2 semanas después.
Un resultado positivo es indicativo de infección por ZIKV.

En caso de determinación semicuantitativa, utilizar el valor de Uarb/ml de los controles para dibujar una curva de calibración punto a punto y, a continuación, expresar los resultados en Uarb/ml.

Ejemplo de ensayo semicuantitativo



Nota: No usar la curva de calibración anterior para hacer cálculos.

- Notas importantes:**
- La interpretación de los resultados debe hacerse bajo la supervisión del responsable del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio e interpretación.
 - Cualquier resultado positivo debe confirmarse mediante un método alternativo capaz de detectar IgG anti ZIKV (ejemplo: ensayo de neutralización).
 - Cuando se transmiten los resultados de la prueba del laboratorio a un centro informático, debe prestarse mucha atención para evitar la transferencia de datos erróneos.
 - El diagnóstico de infección por virus del Zika debe ser realizado y comunicado al paciente solo por un médico cualificado.
 - La infección de ZIKV no puede diagnosticarse basándose solamente en este ensayo ELISA.
 - Véase lo indicado en el capítulo LIMITACIONES y ADVERTENCIAS.

Q. RENDIMIENTO.
La evaluación del rendimiento se ha llevado a cabo en paneles seleccionados realizados en un centro clínico externo e internamente.

Especificidad:
Se define como la probabilidad del ensayo de detectar negativos en ausencia del analito específico. Se sometió a análisis a un total de 440 donantes de sangre no seleccionados (incluyendo donantes por 1ª vez) y pacientes sin ZIKV. Se obtuvo un valor de especificidad del 98%.
Se examinaron unas 88 mujeres embarazadas sanas y muestras potencialmente interferentes (hemolizadas, lipémicas, etc.); no se observaron interferencias.
No se ha observado falsa reactividad debida a los métodos de tratamiento de muestras. Se emplearon además plasma sometido a métodos de tratamiento estándar (citrato, EDTA y heparina) y suero para determinar el valor de especificidad. Además, se comprobaron muestras congeladas para determinar las interferencias debidas a la extracción y al almacenamiento. No se han observado interferencias.
Se analizó un panel de muestras positivas para anticuerpos frente a otros flavivirus (en particular, anticuerpos contra el virus del dengue y el virus del Nilo occidental) y el virus del chikunguña; se observó cierto grado de reacción cruzada, especialmente con el virus del chikunguña.

Sensibilidad:
Se define como la probabilidad del ensayo de detectar positivos en presencia del analito específico.
La sensibilidad se determinó mediante un panel de 148 muestras positivas con un equipo de referencia ELISA con marca CE; se obtuvo un valor de correlación del 100%.

Precisión:
Se calculó con dos muestras, examinadas en réplicas en distintas series. Se encontraron valores de CV% que oscilaban entre 2-16%, dependiendo de los valores DO 450 nm.

R. LIMITACIONES y ADVERTENCIAS.
A causa de la consabida alta homología genética existente entre el ZIKV y los demás virus de la misma familia de flavivirus y con el virus del chikunguña, se han observado reacciones cruzadas en las poblaciones a las que afectan tales infecciones (principalmente personas de Sudamérica que podrían estar infectadas por el virus del dengue y el virus del chikunguña desde hace años).

E
f

[Handwritten Signature]
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA FICHEVI
DIRECCIÓN TÉCNICA

0399

En principio, el ensayo solo debería utilizarse en personas que cumplan los requisitos clínicos (p. ej., signos y síntomas clínicos asociados con la infección por el virus del Zika) y/o epidemiológicos (p. ej., haber residido o viajado a una región geográfica con riesgo real de contagio del virus del Zika durante el período del viaje, u otros criterios epidemiológicos de detección de este virus) del centro de epidemiología (CDC) relacionados con el virus del Zika.

Los resultados del ensayo son útiles para la supuesta identificación de anticuerpos IgG frente al virus del Zika. Los resultados positivos y dudosos por sí solos no se consideran concluyentes en el diagnóstico de la infección por el virus del Zika. Estos resultados deben confirmarse con arreglo a las indicaciones del CDC (en particular, mediante un ensayo de neutralización).

Según estimaciones, se obtuvieron falsos positivos repetibles, no confirmados mediante otro ensayo ELISA, en menos del 2% de la población exenta de flavivirus normales y del virus del chikunguña a causa de sustancias interferentes no identificadas.

Se ha observado que las muestras congeladas que contienen partículas de fibrina o agregados tras descongelarse generan algunos resultados falsos. Estas muestras solo deben analizarse tras aclararlas por filtración o centrifugado.

BIBLIOGRAFÍA.

Deng Y, Zeng L, Bao W, Xu P, Zhong G. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. 2016 Feb;28(2):106-9. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.005.

Ginier M, Neumayr A, Günther S, Schmidt-Chanasit J, Blum J. Travel Med Infect Dis. 2016 Jan-Feb;14(1):16-20. doi: 10.1016/j.tmaid.2016.01.012. Epub 2016 Feb 5.

Goorhuis A, von Eije KJ, Douma RA, Rijnberg N, van Vugt M, Stijns C, Grobusch MP. Travel Med Infect Dis. 2016 Jan-Feb;14(1):13-5. doi: 10.1016/j.tmaid.2016.01.008. Epub 2016 Jan 27.

de Paula Freitas B, de Oliveira Dias JR, Prazeres J, Sacramento GA, Ko AJ, Maia M, Belfort R Jr. JAMA Ophthalmol. 2016 Feb 9. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0267.

Check Hayden E. Nature. 2016 Feb 11;530(7589):142-3. doi: 10.1038/530142a.

Pinto Junior VL, Luz K, Parreira R, Ferrinho P. Acta Med Port. 2015 Nov-Dec;28(6):780-5. Epub 2015 Dec 31.

Butler D. Nature. 2016 Feb 4;530(7588):13-4. doi: 10.1038/nature.2016.19259.

Valeyrie-Allanore L. Ann Dermatol Venereol. 2015 Dec;142(12 Suppl):S1-7. doi: 10.1016/S0151-9838(16)30001-1.

Cameiro LA, Travassos LH. Microbes Infect. 2016 Jan 14. pii: S1286-4579(16)00004-6. doi: 10.1016/j.micinf.2015.12.006.

Fauci AS, Morens DM. N Engl J Med. 2016 Feb 18;374(7):601-4. doi: 10.1056/NEJMp1600297. Epub 2016 Jan 13.

Calvet GA, Filippis AM, Mendonça MC, Sequeira PC, Siqueira AM, Veloso VG, Nogueira RM, Brasil P. J Clin Virol. 2016 Jan;74:1-3. doi: 10.1016/j.jcv.2015.11.014. Epub 2015 Nov 23.

Tognarelli J, Ulloa S, Villagra E, Lagos J, Aguayo C, Fasce R, Parra B, Mora J, Becerra N, Lagos N, Vera L, Olivares B, Vilches M, Fernández J. Arch Virol. 2016 Mar;161(3):665-8. doi: 10.1007/s00705-015-2695-5. Epub 2015 Nov 26.

Leung GH, Baird RW, Druce J, Anstey NM. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2015 May;46(3):460-4.

Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI.

Emerg Infect Dis. 2015 Oct;21(10):1885-6. doi: 10.3201/eid2110.150847.

Zammarchi L, Tappe D, Fortuna C, Remoli ME, Günther S, Venturi G, Bartoloni A, Schmidt-Chanasit J. Euro Surveill. 2015 Jun 11;20(23). pii: 21153.

Todos los productos IVD que fabrica la empresa están sujetos a control mediante un sistema de gestión de calidad certificado conforme con la norma ISO 13485. Cada lote se somete a un control de calidad y se comercializa solamente si cumple las especificaciones técnicas y los criterios de aceptación de la CE.

Fabricante:
Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l.
Via G. Carducci n° 27 – Sesto San Giovanni (MI) - Italy

CE

INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento elaborador: Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l. – Via G. Carducci, 27 - 20099 Sesto S. Giovanni (Mi) Italia.
Establecimiento Importador: BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica-Matricula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° Certificado:


BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVÉS

E
+



ORIGINAL
0399

ZIKV IgM

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM frente al virus del Zika en plasma y suero humanos

- Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro" -



DIA.PRO

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

Teléfono +39 02 27007161
Fax +39 02 26007726
e-mail: info@diapro.it

REF ZIKVM.CE
96 pruebas

Medi...
BIOARKS S.A.
BIOO. CLAUDIA FICHEVES
DIRECTOR TECNICO

C
f



0390

ZIKV IgM

A. OBJETIVO DEL EQUIPO.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM frente al virus del Zika (ZIKV) en plasma y suero humanos. Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro".

B. INTRODUCCIÓN.

El virus del Zika pertenece a la familia *Flaviviridae* y al género *Flavivirus*, por lo que está relacionado con el virus del dengue, de la fiebre amarilla, de la encefalitis japonesa y del Nilo occidental. Al igual que otros flavivirus, el virus del Zika es un virus encapsulado e icosaédrico, y su genoma es ARN no segmentado, monocatenario positivo.

Los genes del genoma ARN codifican proteínas no estructurales y estructurales, de las cuales las más inmunogénicas son los antígenos NS1 y ENV. Las proteínas estructurales encapsulan el virus.

Existen dos linajes de virus del Zika: el linaje africano y el linaje asiático. Algunos estudios filogenéticos indican que el virus que está expandiéndose por el continente americano está más estrechamente relacionado con la cepa asiática, que circulaba por la Polinesia Francesa durante el brote de 2013.

El virus del Zika es transmitido por mosquitos con actividad diurna como su vector. Se transmite principalmente por el mosquito *Aedes aegypti* hembra con el fin de poner los huevos, pero se ha aislado en algunas especies de mosquitos arborícolas del género *Aedes*, con un período de incubación extrínseco en los mosquitos de aproximadamente 10 días.

Desde 2015, los informativos han llamado la atención sobre la propagación del Zika en América Latina y en el Caribe.

En 2015 se detectó ARN del virus del Zika en el líquido amniótico de dos mujeres embarazadas cuyos fetos tenían microcefalia, lo que indicó que el virus había cruzado la placenta y podría haber causado una infección de madre a hijo. Según la OMS a fecha de 5 de febrero de 2016, "se sospecha fuertemente, pero aún no se ha probado científicamente" una relación causal entre el virus del Zika y la microcefalia, y "a pesar de que los casos de microcefalia en Brasil están asociados de forma espacio-temporal con el brote del Zika, se necesitan más investigaciones sólidas y estudios para entender mejor esta posible relación".

Entre las nuevas recomendaciones se incluyen ofrecer pruebas serológicas a mujeres embarazadas sin síntomas de fiebre del Zika que han vuelto de zonas con transmisión en curso del virus del Zika en las últimas 2-12 semanas; y, para las mujeres embarazadas sin síntomas del Zika que viven en dichas zonas, recomiendan realizar la prueba al principio de la atención prenatal y una prueba de seguimiento el quinto mes de embarazo.

C. PRINCIPIO DEL ENSAYO.

Las microplacas están recubiertas con antígenos sintéticos NS1 del virus del Zika que muestran una reactividad cruzada mínima con otros flavivirus.

En la 1ª incubación, la fase sólida se trata con muestras diluidas y las IgM anti ZIKV son capturadas, si las hay, por los antígenos.

Después del lavado, que elimina el resto de los componentes de la muestra, en la 2ª incubación se detectan los anticuerpos IgM anti ZIKV unidos mediante la adición de anticuerpo anti hIgM, marcado con peroxidasa (HRP). La enzima capturada en la fase sólida, combinada con la mezcla sustrato/cromógeno, genera una señal óptica

proporcional a la cantidad de anticuerpos IgM anti ZIKV presentes en la muestra.

La neutralización de IgG anti ZIKV, que se lleva a cabo directamente en el pocillo, se realiza en el ensayo para bloquear interferencias debidas a esta clase de anticuerpos en la determinación de IgM.

D. COMPONENTES.

Cada equipo contiene reactivos suficientes para realizar 96 pruebas.

1. Microplaca: **MICROPLATE**

12 tiras de 8 micropocillos recubiertos con antígenos NS1 sintéticos específicos de ZIKV. Las placas están en una bolsa sellada con desecante.

2. Control negativo **CONTROL-**

1x2,0 ml/vial. Listo para el uso. Contiene 1% de proteínas de suero de cabra, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0 +/- 0,1, 0,5% de Tween 20, azida sódica al 0,09% y Kathon GC 0,1% como conservantes. El control negativo está codificado con el color amarillo.

3. Control positivo **CONTROL+**

1x2,0 ml/vial. Listo para el uso. Contiene 1% de proteínas de suero de cabra, IgM anti ZIKV humanas inactivadas, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0 +/- 0,1, 0,5% de Tween 20, azida sódica al 0,09% y Kathon GC 0,1% como conservantes. El control positivo está codificado con el color verde oscuro

4. Solución de lavado concentrada: **WASHBUF 20X**

1x60 ml/botella solución concentrada 20x. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7,0 +/- 0,2, 0,05% de Tween 20 y Kathon GC al 0,05%.

5. Conjugado: **CONJ**

1x16 ml/vial. Listo para el uso y codificado con color rojo. Contiene anticuerpos policlonales anti IgM humana conjugados con peroxidasa (HRP), 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón Tris 10 mM a pH 6,8 +/- 0,1, Kathon GC al 0,1% y sulfato de gentamicina al 0,02% como conservantes.

6. Cromógeno/Substrato: **SUBS TMB**

1x16 ml/vial. Contiene tampón citrato-fosfato 50 mM a pH 3,5-3,8, dimetilsulfóxido 4%, tetra-metil-benzidina (TMB) 0,03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0,02%.

Nota: Evitar la exposición a la luz, la sustancia es fotosensible.

7. Ácido sulfúrico: **H2SO4 0.3 M**

1x15 ml/vial. Contiene solución de H₂SO₄ 0,3 M. Atención: Irritante (H315, H319, P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

8. Diluyente de muestras: **DILSPE**

2x60 ml/vial. Contiene 2% de caseína, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0 +/- 0,1, 0,2% de Tween 20, azida sódica al 0,09% y Kathon GC 0,1% como conservantes. Utilizar para diluir la muestra.

9. Reactivo neutralizante: **SOLN NEUT**

1x8 ml/vial. Contiene anti hIgG de cabra, 2% de caseína, tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0 +/- 0,1, azida sódica al 0,09% y Kathon GC al 0,1% como conservantes.

10. Sellador adhesivo, 2 uds.

11. Manual de instrucciones, 1 ud.

E
f

[Firma manuscrita]



0399

E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.

1. Micropipetas calibradas (1000, 100 y 10 µl) y puntas de plástico desechables.
2. Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para eliminar oxidantes químicos usados como desinfectantes).
3. Timer con un rango de 60 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.
5. Incubadora termostática de microplacas ELISA calibrada (en seco o húmedo), ajustada a +37 °C (+/-0,5 °C de tolerancia).
6. Lector calibrado de micropocillos ELISA con filtros de 450 nm (lectura) y 620-630 nm (blanco).
7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Vórtex o similar.

F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

1. El equipo solo debe usarse por personal técnico adecuadamente instruido, bajo la supervisión de un médico responsable del laboratorio.
2. Todo el personal que participe en la realización de los ensayos deberá llevar la indumentaria protectora adecuada de laboratorio, guantes sin talco y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). Todo el personal involucrado debe tener formación en procedimientos de bioseguridad, como recomienda el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y como ha publicado el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
3. Todo el personal involucrado en el manejo de muestras debe estar vacunado contra VHB y VHA, para lo cual existen vacunas disponibles, seguras y eficaces.
4. Se debe controlar el entorno del laboratorio para evitar la contaminación por polvo o agentes microbianos en el aire al abrir los viales del equipo y las microplacas, así como durante la realización del ensayo. Evitar la exposición del cromógeno/substrato (o TMB) a la luz intensa y las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
5. Tras la recepción, conservar el equipo a una temperatura entre 2 y 8 °C, en un refrigerador con temperatura regulada o en una cámara de refrigeración.
6. No intercambiar componentes de lotes distintos, ni tampoco de dos equipos del mismo lote.
7. Comprobar que los reactivos estén claros y no contengan partículas pesadas visibles ni agregados. Si no es así, informar al supervisor del laboratorio para realizar el procedimiento pertinente para reemplazar el equipo.
8. Evitar contaminación cruzada entre muestras de suero/plasma usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
9. Evitar contaminación cruzada entre los reactivos del equipo usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
10. No usar el producto después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas internas (viales) y en las etiquetas del envase externo. Según estudios realizados en equipos abiertos, no se ha detectado pérdida relevante de actividad hasta 6 usos del dispositivo y hasta 6 meses.
11. Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras de suero humano deben ser manipuladas al nivel 2 de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, EE.UU., y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
12. Se recomienda utilizar material plástico desechable para preparar los componentes líquidos o transferir los componentes a los equipos automatizados, a fin de evitar contaminaciones cruzadas.
13. Los desechos producidos durante el uso del equipo deben eliminarse según lo establecido por las directivas nacionales y las leyes relacionadas con el tratamiento de los residuos químicos y biológicos de laboratorio. En particular, los

desechos líquidos procedentes del proceso de lavado y de restos de controles/calibradores y muestras, deben tratarse como potencialmente infecciosos y deben inactivarse antes de su eliminación. Se recomienda la inactivación con lejía al 10% de 16 a 18 horas o el uso de la autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

14. En caso de derrame accidental de algún producto, se debe utilizar papel absorbente embebido en lejía y, posteriormente, en agua. El papel debe eliminarse en contenedores designados para este fin en hospitales y laboratorios.
15. El ácido sulfúrico es irritante. En caso de derrame, lavar la superficie con abundante agua.
16. Los demás materiales de desecho que se generan durante la utilización del equipo (por ejemplo: puntas usadas en la manipulación de las muestras y controles/calibradores, microplacas usadas) deben manipularse como fuentes potenciales de infección y deben eliminarse de acuerdo con las directivas nacionales y las leyes para el tratamiento de residuos de laboratorio.

G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y ADVERTENCIAS.

1. Extraer el suero asépticamente por punción venosa y preparar el suero o plasma según la técnica estándar del laboratorio de análisis clínico. No se ha detectado que el tratamiento con citrato, EDTA o heparina afecte a las muestras.
2. Las muestras deben identificarse claramente mediante códigos de barras o nombres, a fin de evitar una interpretación errónea de los resultados. Se recomienda el uso de código de barras y lectura electrónica.
3. Las muestras hemolizadas (color rojo) o hiperlipémicas (aspecto lechoso) deben ser descartadas para evitar falsos resultados, al igual que aquellas que contengan restos de fibrina, partículas pesadas o filamentos y organismos microbianos.
4. Suero y plasma pueden conservarse hasta 5 días, a partir del momento de la extracción, a una temperatura entre 2 y 8 °C. Para períodos de conservación más largos, las muestras pueden almacenarse a -20 °C durante varios meses, evitando luego descongelar cada muestra más de una vez, ya que se pueden generar partículas que podrían afectar al resultado de la prueba.
5. Si hay presencia de agregados, la muestra se puede aclarar mediante centrifugación a 2000 rpm durante 20 minutos o por filtración con un filtro de 0,2-0,8 micras.

H. PREPARACIÓN DE LOS COMPONENTES Y PRECAUCIONES.

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

Controles:
Componentes listos para el uso. Mezclar cuidadosamente en un vórtex antes de usar. ¡No diluir!

Solución de lavado concentrada:
Todo el contenido de la solución concentrada debe diluirse 20x con agua bidestilada y mezclarse con cuidado antes de usarse. Durante la preparación, evitar la formación de espuma y burbujas, lo que podría influir en la eficiencia de los ciclos de lavado.

E
J

[Firma]
BIOARS S.A.
BIOO CLAUDIA ETCHEVEZ
DIRECTOR TÉCNICO



0399

Nota: Una vez diluida, la solución de lavado es estable durante una semana a temperaturas entre 2 y 8 °C.

Conjugado:

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar.
Evitar posible contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios.
En caso de que deba transferirse el componente, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

Cromógeno/Substrato:

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

Diluyente de muestras:

Componente listo para usar. Mezclar cuidadosamente en un vórtex antes de usar.

Reactivo neutralizante:

Componente listo para usar. Mezclar cuidadosamente en un vórtex antes de usar.

Ácido sulfúrico:

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar.
Atención: Imitante (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

Leyenda:

Indicación de peligro, Frases H

H315 – Provoca irritación cutánea.
H319 – Provoca irritación ocular grave.

Consejo de prudencia, Frases P

P280 – Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P302 + P352 – EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
P332 + P313 – En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
P305 + P351 + P338 – EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
P337 + P313 – Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
P362 + P363 – Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

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

- Las micropipetas deben estar calibradas para dispensar el volumen correcto requerido en el ensayo y deben someterse a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra (alcohol de uso doméstico, lejía al 10%, desinfectantes de calidad hospitalaria). Además, deben revisarse regularmente para mantener una precisión del 1% y una confiabilidad de +/-2%. También se debe llevar a cabo de forma regular la descontaminación de derrames o residuos de los componentes del equipo.
- La incubadora ELISA debe ajustarse a 37 °C (+/-0,5 °C de tolerancia) y controlarse periódicamente para mantener la temperatura correcta. Pueden emplearse incubadoras

secas o baños de agua, siempre que estén validados para la incubación de pruebas de ELISA.

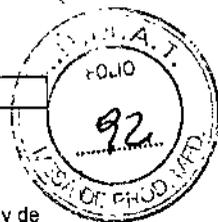
- El lavador ELISA es extremadamente importante para el rendimiento global del ensayo. Antes de emplearse en los ensayos de rutina del laboratorio, el lavador debe validarse cuidadosamente y optimizarse de forma correcta usando los controles/calibradores del equipo y los paneles de referencia pertinentes. Para asegurar que el ensayo se realiza conforme a lo esperado, normalmente basta con 4-5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350 µl/pocillo de solución de lavado = 1 ciclo). Se recomienda un tiempo de remojo entre ciclos de 20-30 segundos. Para establecer correctamente el número, se recomienda efectuar el ensayo con los controles/calibradores del equipo y muestras positivas y negativas de referencia bien caracterizadas, tratando de ajustarlos a los valores indicados en la sección "Control interno de calidad". La calibración periódica del volumen a dispensar y el mantenimiento del lavador (descontaminación y lavado de las agujas) deben realizarse según las instrucciones del fabricante.
- Los tiempos de incubación deben tener un margen de ±5%.
- El lector de microplacas ELISA debe estar provisto de un filtro de lectura de 450 nm y de un segundo filtro (620-630 nm, altamente recomendado) para el blanco. El procedimiento estándar debe contemplar: a) Ancho de banda ≤ 10 nm; b) Rango de absorbancia de 0 a ≥ 2,0; c) Linealidad ≥ 2,0; Reproducibilidad ≥ 1%. El blanco se prueba en el pocillo indicado en la sección "Procedimiento del ensayo". El sistema óptico del lector debe calibrarse periódicamente para garantizar que se mide la densidad óptica correcta. Periódicamente se debe proceder al mantenimiento según las instrucciones del fabricante.
- En caso de usar un sistema automatizado ELISA, los pasos críticos (dispensado, incubación, lavado, lectura y procesamiento de datos) deben ser cuidadosamente fijados, calibrados, controlados y periódicamente ajustados, para garantizar los valores indicados en la sección "Control interno de calidad". El protocolo del ensayo debe instalarse en el sistema operativo de la unidad y validarse tanto para el lavador como para el lector. Por otro lado, la parte del sistema que maneja los líquidos (dispensado y lavado) debe validarse y fijarse correctamente. Debe prestarse especial atención para evitar el arrastre por las agujas de dispensación y de lavado, a fin de minimizar la posibilidad de contaminación de pocillos adyacentes. Se recomienda el uso de sistemas automatizados ELISA cuando la cantidad de muestras supera las 20-30 unidades por ensayo.
- El servicio de atención al cliente de Dia.Pro ofrece apoyo al usuario para ajustar y comprobar los instrumentos usados en combinación con el equipo, con el propósito de asegurar el cumplimiento de los requisitos descritos. También se ofrece apoyo para la instalación de nuevos instrumentos para usar con el equipo.

L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

- Comprobar la fecha de caducidad indicada en la parte externa del equipo (envase primario). No usar si ha caducado.
- Comprobar que los componentes líquidos no estén contaminados con partículas o agregados visibles.
- Asegurarse de que el cromógeno/substrato sea incoloro o azul pálido, aspirando un pequeño volumen de este con una pipeta estéril de plástico.
- Comprobar que no se hayan producido roturas ni derrames de líquido dentro de la caja durante el transporte (envase primario). Comprobar que la bolsa de aluminio que contiene la microplaca no esté perforada ni dañada.
- Diluir todo el contenido de la solución de lavado concentrada 20x como se ha descrito anteriormente.

E
f

[Handwritten Signature]
BIOARS S.A
BIOQ. CLAUDIA FICHEVES
DIRECTOR TÉCNICO



0599

6. Dejar los componentes restantes hasta alcanzar la temperatura ambiente (aprox. 1 hora), mezclar luego suavemente en el vórtex todos los reactivos líquidos.
7. Ajustar la incubadora de ELISA a 37 °C y alimentar el lavador de ELISA utilizando la solución de lavado, según las instrucciones del fabricante. Fijar el número de ciclos de lavado de acuerdo a los parámetros de validación del instrumento para usar con el equipo.
8. Comprobar que el lector de ELISA esté encendido al menos 20 minutos antes de realizar la lectura.
9. En caso de trabajar automáticamente, encender el equipo y comprobar que los protocolos estén correctamente programados.
10. Comprobar que las micropipetas estén ajustadas al volumen requerido.
11. Asegurarse de que el resto del equipamiento esté disponible y listo para el uso.
12. En caso de que surja algún problema, detener el ensayo y avisar al responsable.

M. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

El ensayo debe realizarse de acuerdo con las instrucciones que se indican a continuación, teniendo cuidado de mantener en todas las muestras el mismo tiempo de incubación.

1. Poner el número de tiras necesarias en el soporte de plástico e identificar cuidadosamente los pocillos para calibradores y muestras.
2. Diluir las muestras 1:101 dispensando en un tubo desechable 1 ml de diluyente de muestras y 10 µl de muestra; mezclar con vórtex antes de usar. No diluir los controles, ya que están listos para el uso.
3. Dejar el pocillo A1 vacío para el blanco.
4. Dispensar 50 µl de reactivo neutralizante en todos los pocillos, excepto en A1, que se utiliza para operaciones de blanco.
5. En las posiciones identificadas, dispensar 100 µl del control negativo por triplicado, 100 µl del control positivo una sola vez y, a continuación, 100 µl de las muestras diluidas.
6. Incubar la microplaca durante 60 min. a +37 °C.

Nota importante: Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado solo cuando se hace el ensayo manualmente. No cubrir las tiras cuando se emplean equipos automatizados de ELISA.

7. Tras la primera incubación, lavar los pocillos como se ha descrito previamente (sección I.3).
8. Dispensar 100 µl de conjugado en todos los pocillos, excepto el A1. Incubar la microplaca durante 60 min. a +37 °C.

Nota importante: Tener cuidado de no tocar la pared interna de plástico del pocillo con la punta de la pipeta que contiene el conjugado. Podría producirse contaminación.

9. Tras la segunda incubación, lavar los pocillos como se ha descrito previamente (sección I.3).
10. Dispensar 100 µl de cromógeno/substrato en todos los pocillos, incluido el A1.

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

11. Incubar la microplaca protegida de la luz a temperatura ambiente (18-24 °C) durante 20 minutos. Los pocillos con muestras positivas y con calibradores positivos pasarán de un tono claro a azul.
12. Dispensar 100 µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos usando la misma secuencia que en el paso 10 para bloquear la reacción enzimática. La adición de la solución

de parada cambia el color de los calibradores positivos y de las muestras positivas de azul a amarillo.

13. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se describe en la sección I.5, utilizando un filtro de 450 nm (lectura) y otro de 620-630 nm (sustracción del fondo, altamente recomendado), calibrando el instrumento con el pocillo A1, B1 o ambos.

Notas generales importantes:

1. Si no se puede utilizar el segundo filtro, asegurarse de que no haya impresiones digitales en el fondo de los micropocillos antes de leer a 450 nm. Podrían generarse falsos positivos en la lectura.
2. La lectura debe hacerse inmediatamente después de añadir la solución de parada y, en cualquier caso, nunca transcurridos 20 minutos desde su adición. Se podría producir auto oxidación del cromógeno causando un elevado fondo.
3. Cualquier resultado positivo en principio debería confirmarse mediante un método serológico alternativo (por ejemplo: IFA).
4. Cuando se transmiten los resultados de la prueba del laboratorio a un centro informático, debe prestarse mucha atención para evitar la transferencia de datos erróneos.
5. El diagnóstico de infección por virus del Zika debe ser realizado y comunicado al paciente solo por un médico cualificado, tras haber confirmado el evento con un método alternativo (por ejemplo: PCR para ARN del virus del Zika).

N. ESQUEMA DEL ENSAYO.

Método	Operaciones
Reactivo neutralizante	50 µl
Controles	100 µl
Muestras diluidas 1:101	100 µl
1ª Incubación	60 min.
Temperatura	+37 °C
Paso de lavado	4-5 ciclos
Conjugado	100 µl
2ª Incubación	60 min.
Temperatura	+37 °C
Paso de lavado	4-5 ciclos
TMB/H2O2	100 µl
3ª Incubación	20 min.
Temperatura	1 a
Acido sulfúrico	100 µl
Lectura DO	450 nm

A continuación se incluye un ejemplo del esquema de dispensado en ensayos cuantitativos:

Microplaca

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
C	BL	M4										
	NEG	M5										
	NEG	M6										
D	NEG	M7										
	POS	M8										
	M1	M9										
E	M2	M10										
	M3	M11										

Leyenda: BL = Blanco # NEG = CTRL- # POS = CTRL+ # M = Muestra

O. CONTROL INTERNO DE CALIDAD.

Se realiza una comprobación siempre que se utiliza el equipo, para verificar si el rendimiento del ensayo es el homologado. Controlar que coincidan los datos siguientes:

Claudia F. Chevi

BIOAKS S.A.
BIOQ. CLAUDIA F. CHEVI
DIRECTOR TÉCNICO

E
f



0399

Parámetro	Requisitos
Pocillo blanco	< 0,100 DO 450 nm
Control negativo	< 0,200 DO 450 nm después de leer el blanco
Control positivo	DO 450 nm > 0,500

M/Co	Interpretación
< 0,9	Negativo
0,9 – 1,1	Equívoco
> 1,1	Positivo

Si los resultados del ensayo coinciden con lo establecido anteriormente, pasar a la siguiente sección.
En caso contrario, detener el ensayo y comprobar lo siguiente:

Un resultado negativo indica que el paciente no ha desarrollado anticuerpos IgM frente a ZIKV
Un resultado positivo es indicativo de infección por ZIKV en curso.

Problema	Comprobar
Pocillo blanco > 0,100 DO 450 nm	1. la solución cromógeno/substrato no se ha contaminado durante el ensayo.
Control negativo > 0,200 DO 450 nm después de leer el blanco	1. el proceso de lavado y los parámetros del lavador coinciden con los validados en los estudios previos de calificación; 2. se ha usado la solución de lavado apropiada y se ha alimentado con esta el lavador antes del uso; 3. no se han cometido errores en el procedimiento del ensayo (dispensar el control positivo en lugar del negativo); 4. no ha existido contaminación del control o de sus pocillos debido a muestras positivas, a derrames o al conjugado; 5. las micropipetas no se han contaminado con muestras positivas o con el conjugado; 6. las agujas del lavador no están bloqueadas o parcialmente obstruidas.
Control positivo < 0,500 DO 450 nm después de leer el blanco	1. el proceso de lavado y los parámetros del lavador coinciden con los validados en los estudios previos de calificación; 2. se ha usado la solución de lavado apropiada y se ha alimentado con esta el lavador antes del uso; 3. no se han cometido errores en el procedimiento de ensayo; 4. no se ha usado erróneamente control negativo en lugar del positivo; 5. no se ha usado una microplaca errónea.

R. CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO.

La evaluación del rendimiento se ha llevado a cabo en paneles seleccionados realizados en un centro clínico externo e internamente.

1. Límite de detección:

La Comunidad Europea no ha definido ningún estándar internacional para la detección de anticuerpos IgM frente a ZIKV hasta el momento.
Con el objetivo de garantizar una excelente y constante sensibilidad del dispositivo, se definió un estándar de oro interno (IGS) a partir de un paciente con historial de infección crónica por ZIKV

2. Sensibilidad y especificidad:

La evaluación del rendimiento se realizó en un estudio llevado a cabo en centros clínicos externos, con una experiencia excelente en el diagnóstico de enfermedades infecciosas y ZIKV.
La sensibilidad se determinó mediante un panel de 28 muestras positivas con un equipo de referencia ELISA con marca CE; se obtuvo un valor de correlación del 100%.
La especificidad se determinó utilizando paneles de 400 muestras negativas, procedentes de individuos sanos y donantes de sangre.
También se examinó un panel de muestras potencialmente interferentes (RF+, hemolizadas, lipémicas, etc.). No se observaron interferencias en las muestras examinadas.
Se empleó además plasma sometido a distintos métodos de preparación estándar (citrato, EDTA y heparina) y suero para determinar la especificidad. No se ha observado falsa reactividad debida a los métodos de tratamiento de muestras.

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

En la evaluación del rendimiento se obtuvieron los siguientes valores:

P. CÁLCULO DEL VALOR DE CORTE.

Los resultados de las pruebas se calculan a partir de un valor de corte determinado con la fórmula siguiente sobre el valor medio de DO 450 nm del control negativo (CN):

Sensibilidad	> 98 %
Especificidad	> 98 %

CN + 0,250 = Valor de corte (Co)

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

3. Reproducibilidad:

Se ha calculado con dos muestras, examinadas en réplicas en distintas series. Los resultados se muestran a continuación, resumidos en una tabla:

Nota importante:

Cuando el cálculo de los resultados se realiza mediante el sistema operativo de un equipo ELISA automático, hay que asegurarse de que la formulación usada para la interpretación de los resultados sea correcta.

Valores promedio N=48	Muestra negativa	Muestra positiva
DO 450 nm	0,077	1,758
Desviación estándar	0,007	0,071
CV %	9,4	4,0

Q. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

La interpretación de los resultados se realiza mediante la relación entre el valor de DO 450 nm de la muestra (M) y el valor de corte (Co), o M/Co. Los resultados se interpretan según la siguiente tabla:

BIOARS S.A
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVE
DIRECTOR TÉCNICO

S. LIMITACIONES.

A causa de la consabida alta homología genética existente entre el ZIKV y los demás virus de la misma familia de flavivirus y con el virus del chikunguña, se han observado reacciones cruzadas en las poblaciones a las que afectan tales infecciones (principalmente personas de Sudamérica infectadas por el virus del dengue y el virus del chikunguña desde hace años).

En principio, el ensayo solo debería utilizarse en personas que cumplan los requisitos clínicos (p. ej., signos y síntomas clínicos asociados con la infección por el virus del Zika) y/o epidemiológicos (p. ej., haber residido o viajado a una región geográfica con riesgo real de contagio del virus del Zika durante el período del viaje, u otros criterios epidemiológicos de detección de este virus) del centro de epidemiología (CDC) relacionados con el virus del Zika.

Los resultados del ensayo son útiles para la supuesta identificación de anticuerpos IgM frente al virus del Zika. Los resultados positivos y dudosos por sí solos no se consideran concluyentes en el diagnóstico de la infección por el virus del Zika. Estos resultados deben confirmarse con arreglo a las indicaciones del CDC (en particular, mediante un ensayo de neutralización).

Según estimaciones, se obtuvieron falsos positivos repetibles, no confirmados mediante otro ensayo ELISA, en menos del 2% de la población exenta de flavivirus normales y del virus del chikunguña a causa de sustancias interferentes no identificadas.

Se ha observado que las muestras congeladas que contienen partículas de fibrina o agregados tras descongelarse generan algunos resultados falsos. Estas muestras solo deben analizarse tras aclararlas por filtración o centrifugado.

Los falsos positivos se han determinado en menos del 2% de la población normal, debido principalmente a altos títulos de RF.

BIBLIOGRAFÍA.

- Deng Y, Zeng L, Bao W, Xu P, Zhong G. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. 2016 Feb;28(2):106-9. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.005.
- Ginier M, Neumayr A, Günther S, Schmidt-Chanasit J, Blum J. Travel Med Infect Dis. 2016 Jan-Feb;14(1):16-20. doi: 10.1016/j.tmaid.2016.01.012. Epub 2016 Feb 5.
- Goorhuis A, von Eije KJ, Douma RA, Rijnberg N, van Vugt M, Stijns C, Grobusch MP. Travel Med Infect Dis. 2016 Jan-Feb;14(1):13-5. doi: 10.1016/j.tmaid.2016.01.008. Epub 2016 Jan 27.
- de Paula Freitas B, de Oliveira Dias JR, Prazeres J, Sacramento GA, Ko AI, Maia M, Belfort R Jr. JAMA Ophthalmol. 2016 Feb 9. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0267.
- Check Hayden E. Nature. 2016 Feb 11;530(7589):142-3. doi: 10.1038/530142a.
- Pinto Junior VL, Luz K, Parreira R, Ferrinho P. Acta Med Port. 2015 Nov-Dec;28(6):760-5. Epub 2015 Dec 31.
- Butler D. Nature. 2016 Feb 4;530(7588):13-4. doi: 10.1038/nature.2016.19259.
- Valeyrie-Allanore L. Ann Dermatol Venereol. 2015 Dec;142(12 Suppl):S1-7. doi: 10.1016/S0151-9638(16)30001-1.
- Carneiro LA, Travassos LH. Microbes Infect. 2016 Jan 14. pii: S1286-4579(16)00004-6. doi: 10.1016/j.micinf.2015.12.006
- Fauci AS, Morens DM. N Engl J Med. 2016 Feb 18;374(7):601-4. doi: 10.1056/NEJMp1600297. Epub 2016 Jan 13.
- Calvet GA, Filippis AM, Mendonça MC, Sequeira PC, Siqueira AM, Veloso VG, Nogueira RM, Brasil P. J Clin Virol. 2016 Jan;74:1-3. doi: 10.1016/j.jcv.2015.11.014. Epub 2015 Nov 23.

Tognarelli J, Ulloa S, Villagra E, Lagos J, Aguayo C, Fasce R, Parra B, Mora J, Becerra N, Lagos N, Vera L, Olivares B, Vilches M, Fernández J.

Arch Virol. 2016 Mar;161(3):665-8. doi: 10.1007/s00705-015-2695-5. Epub 2015 Nov 26.

Leung GH, Baird RW, Druce J, Anstey NM. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2015 May;46(3):460-4.

Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Emerg Infect Dis. 2015 Oct;21(10):1885-6. doi: 10.3201/eid2110.150847.

Zammarchi L, Tappe D, Fortuna C, Remoli ME, Günther S, Venturi G, Bartoloni A, Schmidt-Chanasit J. Euro Surveill. 2015 Jun 11;20(23). pii: 21153.

Todos los productos IVD que fabrica la empresa están sujetos a control mediante un sistema de gestión de calidad certificado conforme con la norma ISO 13485. Cada lote se somete a un control de calidad y se comercializa solamente si cumple las especificaciones técnicas y los criterios de aceptación de la CE.

Fabricante:

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l.
Via G. Carducci n° 27 – Sesto San Giovanni (MI) – Italy

**INDICACIÓN AL CONSUMIDOR**

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento elaborador: Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l. – Via G. Carducci, 27 - 20099 Sesto S. Giovanni (Mi) Italia.
Establecimiento Importador: BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica-Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° Certificado:

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVÉS
DIRECTORA TÉCNICA

TRIPPLICADO

0399



PROYECTO DE ROTULOS EXTERNOS

Nombre del producto:

ZIKV IgG

IVD LOT 0316 2016-03 2017-06

ZIKV IgG

REF ZIKVG.CE

8°C max

Dia.Pro Diagnostico BioProbes srl
Via G. Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI) Italy
Tel. +39 02 27007763 Fax +39 02 26007728
www.bio.prodiagnostico.it

2°C.min

ZIKV IgG

Reagents/Reagents/Reagents/Reagents/Reagents/Reagents

LOT 0316

CE

n°1	ml 2
n°1	ml 2
n°1	ml 2
n°1	ml 80
n°1	ml 16
n°1	ml 16
n°1	ml 80
n°2	ml 80
n°1	ml 15

MICROPLATE
CONTROL -
CONTROL + H
CONTROL + M
WASHBUF 20X
CONJ
SUBS TMB
DILSPE
H2SO4 0.3 M

ZIKVG.CEP

ZIKV IgM

IVD LOT 0316 2016-03 2017-06

ZIKV IgM

REF ZIKVM.CE

8°C max

Dia.Pro Diagnostico BioProbes srl
Via G. Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI) Italy
Tel. +39 02 27007763 Fax +39 02 26007728
www.bio.prodiagnostico.it

2°C.min

ZIKV IgM

Reagents/Reagents/Reagents/Reagents/Reagents/Reagents

LOT 0316

CE

n°1	ml 2
n°1	ml 2
n°1	ml 80
n°1	ml 16
n°1	ml 8
n°1	ml 16
n°2	ml 80
n°1	ml 15

MICROPLATE
CONTROL -
CONTROL +
WASHBUF 20X
CONJ
SOLN NEUT
SUBS TMB
DILSPE
H2SO4 0.3 M

ZIKVM.CEP

Establecimiento Elaborador: Dia.Pro Diagnostico BioProbes S.r.l. – Via G. Carducci, 27 - 20099 Sesto S. Giovanni (MI) Italia.
 Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°

ZIKV IgG- ZIKV IgM- Producto Dia.Pro Diagnostico BioProbes S.r.l.

E.
f.

Claudia E. Etchevés
 B'OARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVÉS
 DIRECTOR TECN.CO

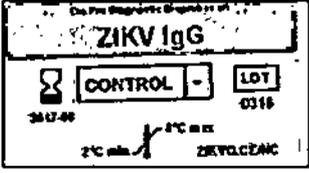
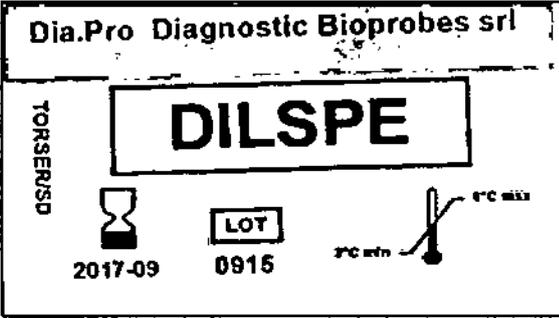
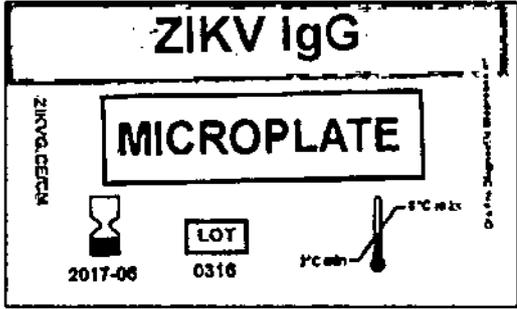
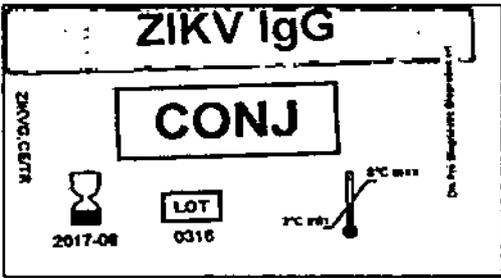
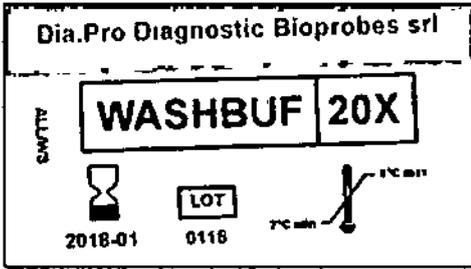
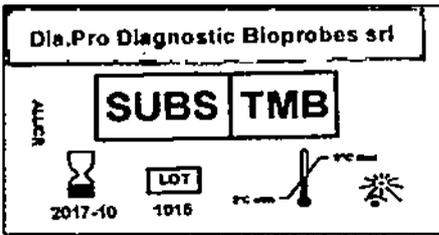
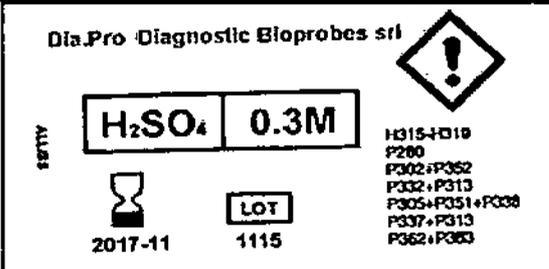
ORIGINAL
0399



PROYECTO DE ROTULOS INTERNOS

Nombre del producto:

ZIKV IgG

<p>Control Negativo</p> 	<p>Control Positivo Medio</p> 	<p>Control Positivo Alto</p> 
<p>Diluyente de Muestras</p> 	<p>Microplaca</p> 	
<p>Conjugado</p> 	<p>Solución de lavado concentrada</p> 	
<p>Cromógeno/sustrato</p> 	<p>Acido sulfúrico</p> 	

ZIKV IgG-ZIKV IgM. Producto DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl.

[Handwritten Signature]
BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVE
 DIRECTOR DE N.I.C.



ZIKV IgM	
Control Negativo 	Control Positivo
Solución Neutralizante 	
Diluyente de Muestras 	Microplaca
Conjugado 	Solución de lavado concentrada
Cromógeno/sustrato 	Acido sulfúrico

Establecimiento Elaborador: DIA.PRO Diagnostic Bioprobes S.r.l. Via G. Carducci, 27- 20099- Sesto San Giovanni (Milán), Italia.
 Establecimiento Importador BIOARS S.A. - Santo Domingo 2578/80 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. Certificado N°

ZIKV IgG-ZIKV IgM. Producto DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl.

[Handwritten Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVÉS
 DIRECTOR TÉCNICO



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:1-47-3110-6672/16-2

Se autoriza a la firma BIOARS S.A a importar y comercializar los Productos para Diagnóstico de uso "in vitro" denominados 1) **ZIKV IgG** / Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos IgG frente al virus del Zika en plasma y suero humanos. 2) **ZIKV IgM** / Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM frente al virus del Zika en plasma y suero humanos, en envases conteniendo 1) ZIKV IgG / Microplaca (MICROPLATE), 12 tiras de 8 micropocillos; Control negativo (CONTROL -), 1 vial de 2,0 ml; Control positivo alto (CONTROL + HIGH), 1 vial de 2,0 ml; Control positivo medio (CONTROL + MID), 1 vial de 2,0 ml; Solución de lavado concentrada (WASHBUF 20X), 1 botella de 60 ml; Conjugado (CONJ), 1 vial de 16 ml; Cromógeno/Substrato (SUBS TMB), 1 vial de 16 ml; Ácido sulfúrico (H₂SO₄ 0.3 M), 1 vial de 15 ml; Diluyente de muestras (DILSPE), 2 viales de 60 ml; Sellador adhesivo, 2 unidades; Manual de instrucciones, 1 unidad. 2) ZIKV IgM / Microplaca (MICROPLATE), 12 tiras de 8 micropocillos; Control negativo (CONTROL -), 1 vial de 2,0 ml; Control positivo (CONTROL +), 1 vial de 2,0 ml; Solución de lavado concentrada (WASHBUF 20X), 1 botella de 60 ml; Conjugado (CONJ), 1 vial de 16 ml; Cromógeno/Substrato (SUBS TMB), 1 vial de 16 ml; Ácido sulfúrico (H₂SO₄ 0.3 M), 1 vial de 15 ml; Diluyente de muestras (DILSPE), 2 viales de 60 ml; Reactivo neutralizante (SOLN NEUT), 1 vial de 8 ml; Sellador adhesivo, 2 unidades; Manual de instrucciones, 1

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

Certificado n°: **008508**

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA.

Buenos Aires, **12 ENE 2017,**

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

Firma y sello