



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Disposición

Número: DI-2018-6438-APN-ANMAT#MS

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Jueves 21 de Junio de 2018

Referencia: 1-47-3110-5178/16-0

VISTO el expediente N° 1-47-3110-5178/16-0 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOARS S.A. solicita la modificación del registro del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado: **HCV Ab** y la incorporación del nuevo producto **HCV IgM**.

Que lo solicitado se encuadra dentro de los alcances de la Disposición ANMAT N° 2674/99 y la documentación aportada ha satisfecho los requisitos de la normativa aplicable.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que se autoriza la modificación solicitada.

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 el por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la modificación del Certificado N° 5459 del producto para diagnóstico de uso in vitro denominado: **HCV Ab** y la incorporación del nuevo producto denominado: **HCV IgM**, con los datos característicos que figuran al pie de la presente.

ARTICULO 2°.- Acéptese la modificación en la forma de presentación de los envases por 480 determinaciones del producto HCV Ab, que en lo sucesivo contendrán: 5 Microplacas, Control negativo 1x10ml, Control positivo 1x10ml, Calibrador 5 viales. Tampón de lavado conc. 5x60ml, Conjugado 2x40ml, Cromógeno/ Sustrato 2x40ml, Acido Sulfúrico 2x40ml, Diluyente de muestras 5x50ml y Diluyente de ensayo 1x40ml.

ARTICULO 3°.- Practíquese la atestación de la presente disposición al Certificado de Inscripción N° 005459.

ARTICULO 4°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 5°.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con los nuevos rótulos e instrucciones de uso autorizados. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

Nombre comercial: **HCV IgM.**

Indicación de uso: Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cuantitativa/ cualitativa de anticuerpos IgM frente al virus de la hepatitis c en suero y plasma humanos.

Forma de presentación: Envases por 96 determinaciones, conteniendo: 1 Microplaca (12 tiras x 8 pocillos), CALIBRADOR 1 (CAL 1: 1 x 2 ml), CALIBRADOR 2 (CAL 2: 1 x 2 ml), CALIBRADOR 3 (CAL 3: 1 x 2 ml), CALIBRADOR 4 (CAL 4: 1 x 2 ml), CALIBRADOR 5 (CAL 5: 1 x 2 ml), CALIBRADOR 6 (CAL 6: 1 x 2 ml), Tampón de Lavado Concentrado (WASHBUF 20X: 1 x 60ml), Conjugado (CONJ: 1 x 16 ml), Cromógeno-Sustrato (SUBS TMB: 1 x 16 ml), Ácido Sulfúrico (H₂SO₄ 0.3M: 1 x 15 ml), Diluyente De Muestras (DILSPE: 2 x 60 ml) y Reactivo Neutralizante (SOLN NEUT: 1 x 8 ml)

Período de vida útil y condición de conservación: 15 (QUINCE) meses, conservado entre 2 y 8°C.

Condición de venta: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Nombre y dirección del fabricante: DIA.PRO DIAGNOSTIC BIOPROBES S.R.L. Via Carducci 27-20099 Sesto San Giovanni. (ITALIA).

Expediente N° 1-47-3110-5178/16-0

Digitally signed by LEDE Roberto Luis
Date: 2018.06.21 09:25:22 ART
Location: Ciudad Autonoma de Buenos Aires

Roberto Luis Lede
SubAdministrador
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

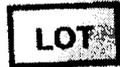


PROYECTO DE ROTULOS EXTERNOS

Nombre del producto:

HCV Ab

480 pruebas



C10T11/2 2015-11 2017-05

$\Sigma = 480$

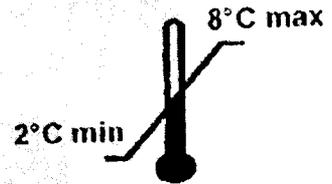
HCV Ab

CVAB.CE/IS.480

REF: CVAB.CE.480



Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl
Via Carducci, 27 - 20089 Sesto San Giovanni (MI)-Italy
tel.: +39 02 27007161 Fax: +39 02 26007726
e-mail: info@diapro.it



HCV Ab
Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

CVAB.CE/F.480

MICROPLATE	n° 5	
CONTROL -	n° 1	ml 10
CONTROL +	n° 1	ml 10
CAL	n° 5	lyoph.
WASHBUF 20X	n° 5	ml 80
CONJ	n° 2	ml 40
SUBS TMB	n° 2	ml 40
DILAS	n° 1	ml 40
DILSPE	n° 5	ml 50
H2SO4 0.3 M	n° 2	ml 40

LOT

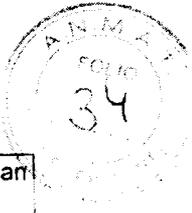
C10T11/2

CE

0318

HCV Ab/HCV IgM. Producto Dia.Pro Diagnostic BioProbes S.r.l.

IF-2018-23939445-APN-DINP/ANMAT
DIRECTOR TECNICO



Establecimiento Elaborador: DIA.PRO Diagnostic BioProbes S.r.l.; Via G. Carducci, 27 -20099- Sesto San 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° de Certificado: 005459

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOD. CLAUDIA ETCHÉVÉS
DIRECTORA TÉCNICA

HCV Ab/HCV IgM, Producto Dia.Pro Diagnostic BioProbes S.r.l.

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT



PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

Nombre del producto:

HCV Ab

480 pruebas

Microplaca	Control Negativo
<p>HCV Ab</p> <p>MICROPLATE</p> <p>CVAB.CE/C.M</p> <p>2017-05 LOT C10T11/2 2°C min 8°C max</p>	<p>HCV Ab</p> <p>CONTROL -</p> <p>CVAB.CE/C.M</p> <p>2017-05 LOT C10T11/2 2°C min 8°C max</p>
Control Positivo	Calibrador
<p>HCV Ab</p> <p>CONTROL +</p> <p>CVAB.CE/C.M</p> <p>2017-05 LOT C10T11/2 2°C min 8°C max</p>	<p>HCV Ab</p> <p>CAL 2.5 ml</p> <p>2017-05 LOT C10T11/2 2°C min 8°C max CVAB.CE/CAL</p>
Tampón de Lavado Concentrado:	Conjugado
<p>WASHBUF 20X</p> <p>ALLANS</p> <p>2017-09 LOT 0915 2°C min 8°C max</p>	<p>HCV Ab</p> <p>CONJ</p> <p>CVAB.CE/TR</p> <p>2017-05 LOT C10T11/2 2°C min 8°C max</p>
Cromógeno/Substrato	Diluyente de ensayo:

HCV Ab/ HCV IgM: Producto Dia.Pro Diagnostic BioProbes S.r.l.

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT

<p>Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl</p> <p>SUBS TMB</p> <p>ALICR</p> <p>2017-10</p> <p>LOT 1015</p> <p>2°C min</p> <p>8°C max</p>	<p>HCV Ab</p> <p>DILAS</p> <p>CVAB CEADO</p> <p>2017-05</p> <p>LOT C10T11/2</p> <p>2°C min</p> <p>8°C max</p>
<p>Acido Sulfúrico:</p> <p>Dia. Pro Diagnostic Bioprobes srl</p> <p>H₂SO₄ 0.3M</p> <p>ALISS</p> <p>2017-07</p> <p>LOT 0715</p> <p>! (Warning symbol)</p> <p>P315-P319 P280 P302+P352 P332+P313 P305+P351+P338 P337+P313 P362+P363</p>	<p>HCV Ab</p> <p>DILSPE</p> <p>CVAB CEISO</p> <p>2017-05</p> <p>LOT C10T11/2</p> <p>2°C min</p> <p>8°C max</p>



*Nota: El productor DIA.Pro (Diagnostic Bioprobes) detalla el volumen de cada componente en el rótulo externo del producto y en el manual de Instrucciones

Establecimiento Elaborador: DIA.PRO Diagnostic BioProbes S.r.l.; Via G. Carducci, 27 -20099- Sesto San 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° de Certificado: 005459

Claudia E. Etchevés

BIOARS S.A.
 BIOQUÍMICA ETCHÉVÉS
 DIRECTORA TÉCNICA

HCV Ab/ HCV IgM; Producto Dia Pro Diagnostic BioProbes S.r.l.

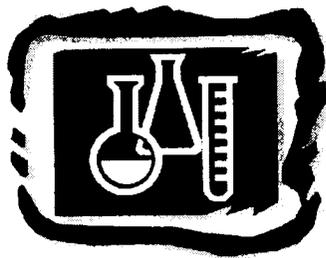
IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT



HCV Ab

**Versión 4.0 del Ensayo
Inmunoenzimático para la determinación
de anticuerpos frente Virus de la
Hepatitis C
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 CVAB.CE

96/192/480/960 pruebas

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT



HCV Ab

A. OBJETIVO DEL EQUIPO.

Versión 4.0 del Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para la determinación de anticuerpos al virus de la Hepatitis C en plasma y suero humanos.

El equipo está diseñado para el cribado en unidades de sangre así como para el seguimiento de pacientes infectados con HCV. Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro".

B. INTRODUCCIÓN.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la infección por el virus de la Hepatitis C como:

" La Hepatitis C es una infección viral del hígado, definida como hepatitis de transmisión parenteral " no A no B " hasta el descubrimiento del agente causal en 1989. El descubrimiento y la caracterización del virus de la hepatitis C (HCV) ha permitido comprender su papel primario en la hepatitis post-transfusional y su tendencia a inducir la infección persistente. El virus de la hepatitis C es la causa principal de hepatitis aguda y enfermedad hepática crónica, incluyendo cirrosis y cáncer de hígado. A nivel mundial se estima que 170 millones de personas estén infectadas de forma crónica con HCV y que de 3 a 4 millones se infecten cada año.

El virus se transmite por contacto directo con sangre humana. Las causas principales de infección por HCV en el mundo son las transfusiones sanguíneas no controladas y la reutilización de jeringuillas y agujas sin una correcta esterilización previa. En la actualidad aún no existe una vacuna eficaz contra el virus y el tratamiento para la hepatitis C crónica es demasiado costoso para la mayoría de las personas en países en vías de desarrollo. Desde una perspectiva global, el mayor impacto contra la hepatitis C puede lograrse a través de esfuerzos orientados hacia la prevención y el control de la transmisión por exposiciones nosocomiales (como las transfusiones sanguíneas y las prácticas invasoras inseguras) y los comportamientos que conllevan alto riesgo (como el consumo de drogas inyectables).

El virus de la hepatitis C aparece en la mayoría de los casos de hepatitis viral. Es un virus RNA envuelto, perteneciente a la familia Flaviviridae y que parece tener un estrecho margen de huéspedes. Humanos y chimpancés son las únicas especies susceptibles conocidas y ambas desarrollan una enfermedad similar. Una característica importante del virus es su variabilidad genómica, la cual pudiera estar relacionada a su elevada capacidad (80%) de inducir infección crónica. El HCV ha sido agrupado por genotipos, lo cual puede ser útil para determinar la gravedad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

El período de incubación varía desde 15 hasta 150 días. En la infección aguda los síntomas más comunes son fatiga e ictericia, sin embargo la mayoría de los casos (entre el 60% y el 70%), incluso aquellos que desarrollan la infección crónica, son asintomáticos. Cerca del 80% de los nuevos pacientes infectados progresan a la infección crónica. Del 10 al 20% de las personas con infección crónica desarrollan cirrosis, mientras que el cáncer de hígado lo presentan entre el 1 y el 5% de las personas con este tipo de infección, en un período de 20 a 30 años. Muchos pacientes que padecen cáncer de hígado y no están infectados por el virus de la hepatitis B, presentan evidencias de infección por el virus de la hepatitis C. Los mecanismos que relacionan la infección por HCV y el desarrollo de cáncer hepático no han sido aún esclarecidos. La hepatitis C

puede exacerbar la gravedad de una enfermedad subyacente del hígado cuando coexiste con otras disfunciones hepáticas; particularmente la enfermedad progresa más rápidamente en personas alcohólicas e infectadas por HCV. Las formas de transmisión más frecuentes son a través de transfusiones sanguíneas sin controlar y por la reutilización de agujas, jeringuillas y material médico contaminados. La transmisión sexual y perinatal puede suceder aunque es menos frecuente. Determinadas prácticas y comportamientos sociales y culturales (perforaciones en orejas y otras partes del cuerpo (piercing), circuncisiones y tatuajes) pueden constituir modos de transmisión si existe una inadecuada esterilización de los instrumentos usados. El HCV no se transmite por estornudos, tos, abrazos, agua o alimentos, estrechar la mano, compartir cubiertos o en general por contactos casuales. Tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo, los grupos de alto riesgo incluyen drogadictos, receptores de transfusiones sin analizar, hemofílicos, pacientes sometidos a diálisis y personas con actividad sexual promiscua y sin la debida protección. En los países desarrollados, se ha estimado que el 90% de las personas con infección crónica por HCV son o han sido drogadictos o han recibido donaciones de sangre o hemoderivados contaminados. En muchos países en vías de desarrollo, donde aún se utilizan transfusiones o hemoderivados sin analizar los principales medios de transmisión son los instrumentos para inyecciones y las transfusiones sin analizar.

La OMS estima que cerca de 170 millones de personas, es decir el 3% de la población mundial, están infectadas por el HCV y bajo riesgo de desarrollar cirrosis y/o cáncer hepático. La prevalencia de la infección por HCV en países de África, Mediterráneo oriental, Sudeste Asiático y el Pacífico Occidental es alta, comparada con países de Norteamérica y Europa.

Las pruebas de diagnóstico para el HCV contribuyen a prevenir la infección mediante el cribado de la sangre y plasma del donante, son útiles para establecer un diagnóstico clínico y en el seguimiento de los pacientes. Las pruebas de diagnóstico comerciales disponibles en la actualidad, se basan en ensayos enzimáticos de inmunoabsorción (EIA) para la detección de anticuerpos específicos contra HCV. Estos métodos pueden detectar más del 95% de los pacientes con infección crónica, pero solo entre el 50 y el 70% de las infecciones agudas. Para confirmar los resultados positivos por EIA se usa frecuentemente el sistema inmunoblot recombinante (RIBA), el cual identifica anticuerpos contra los antígenos individuales del HCV. Por otra parte, algunas técnicas de biología molecular (amplificación de ácidos nucleicos: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y DNA ramificado) han sido utilizadas para confirmar los resultados serológicos así como para determinar la efectividad de la terapia antiviral. Un resultado positivo indica la presencia de una infección activa, de una fuente potencial de transmisión y/o del desarrollo de una enfermedad hepática crónica.

Para el tratamiento de personas con hepatitis C crónica se emplean fármacos antivirales como el interferón (administrado solo o en combinación con la ribavirina), pero el costo del tratamiento es elevado. Si se emplea solo el tratamiento con interferón, la eficacia en los pacientes es de 10 a 20%, mientras que en combinación con la ribavirina es eficaz en cerca del 30-50% de los casos. El tratamiento solo con ribavirina no parece ser efectivo.

No existe en la actualidad una vacuna contra HCV, debido en parte, a la alta frecuencia de mutaciones del virus. El escaso conocimiento de la respuesta inmune protectora que sigue a la infección por HCV ha dificultado el desarrollo de la vacuna. No se conoce tampoco acerca de los mecanismos del sistema inmune para la eliminación del virus. Algunos estudios, sin embargo, han demostrado la aparición de anticuerpos neutralizantes en pacientes con infección HCV. En ausencia de la vacuna, es conveniente tomar todas las medidas posibles para prevenir la infección (a) cribado y análisis de sangre y órganos de donantes; (b) inactivación del virus en productos derivados del plasma; (c) implementación y mantenimiento de



las prácticas para el control de la infección incluyendo la esterilización del material médico y dental; (d) promover cambios en la conducta entre el público en general y el personal sanitario para evitar las prácticas incorrectas y (e) vigilancia de los grupos de riesgo (personas con promiscuidad sexual y drogadictos)."

El genoma codifica para componentes estructurales: una proteína de la nucleocápside y dos glicoproteínas de la envoltura, así como para proteínas funcionales involucradas en la replicación viral y la síntesis de proteínas. La región que codifica para la nucleocápside parece estar altamente conservada entre los aislamientos obtenidos en todo el mundo.

C. PRINCIPIOS DEL ENSAYO.

Las microplacas están recubiertas con antígenos específicos del HCV correspondientes a las regiones del "core" y "ns" que codifican para determinantes antigénicos inmunodominantes y conservados (peptido del core y péptidos recombinantes NS3, NS4 y NS5).

Se añade la muestra diluida y los anticuerpos contra HCV, presentes en la muestra, son capturados por los antígenos de la fase sólida.

Después del lavado, en la 2ª incubación, los anticuerpos IgG e IgM son detectados mediante anticuerpos policlonales específicos anti-IgG/IgM humanos, conjugados con Peroxidasa (HPR).

La enzima capturada en la fase sólida combinada con la mezcla sustrato/cromógeno, genera una señal óptica proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-HCV presentes en la muestra. Posteriormente, mediante un valor de corte calculado, las densidades ópticas pueden interpretarse como resultados negativos o positivos a la presencia de anticuerpos al HCV.

D. COMPONENTES.

Cada equipo (Código CVAB.CE) contiene reactivos suficientes para realizar: 192 pruebas

1. Microplaca: MICROPLATE

n° 2 microplacas
12 tiras de 8 pocillos recubiertos con péptidos recombinantes para el "core" y para NS3, NS4 y NS5. Las placas están empaquetadas en bolsas selladas con desecante.

2. Control Negativo: CONTROL

1x4.0ml/vial.
Listo para el uso. Contiene 1% de proteínas del suero de cabra, tampón Citrato sódico 10mM pH 6.0 +/-0.1, 0.5% de Tween 20, además de azida sódica 0.09% y Kathon GC 0.1% como conservantes. El control negativo está codificado con el color verde olivo.

3. Control Positivo: CONTROL+

1x4.0ml/vial
Listo para el uso. Contiene 1% de proteínas del suero de cabra, anticuerpos humanos anti-HCV, tampón Citrato sódico 10mM pH 6.0 +/-0.1, 0.5% de Tween 20, así como azida sódica 0.09% y Kathon GC 0.1% como conservantes. El control positivo está codificado con el color azul.

4. Calibrador: CAL

n° 2 viales
Liofilizado. Para disolver en agua calidad EIA como se indica en la etiqueta. Contiene suero fetal bovino, anticuerpos humanos al HCV, calibrados según el código Estándar de Trabajo de NIBSC 99/583-003-VII, tampón Citrato sódico 10mM pH 6.0 +/-0.1, además de sulfato de gentamicina 0.3 mg/ml y Kathon GC 0.1% como conservantes.

Nota: El volumen necesario para disolver el contenido del frasco varía en cada lote. Se recomienda usar el volumen indicado en la etiqueta.

5. Tampón de Lavado Concentrado: WASHBUF 20X

2x60ml/botella. Solución concentrada 20x.
Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7.0 +/- 0.2, Tween 20 al 0.05% y Kathon GC al 1%.

6. Conjugado: CONJ

2x16ml/vial. Solución lista para el uso. Contiene 5% de albúmina de suero bovino, tampón Tris 10mM a pH 6.8 +/- 0.1, anticuerpo policlonal de cabra anti-IgM/IgG humanos conjugado con peroxidasa (HPR) en presencia de 0.2% de sulfato de gentamicina y Kathon GC 0.1% como conservantes. El conjugado está codificado con el color rosa/rojo.

7. Cromógeno/Substrato: SUBS TMB

2x16ml/vial. Contiene una solución tamponada citrato-fosfato 50mM pH 3.5-3.8, tetra-metil-benzidina (TMB) 0.03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0.02% así como dimetilsulfóxido 4%.

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

8. Diluyente de ensayo: DILAS

1x15ml/vial. Contiene una solución tamponada Tris 10 mM pH 8.0 +/- 0.1 y 0.1% de Kathon GC para el pre-tratamiento de muestras y controles, bloquea posibles interferencias.

Nota: Usar todo el contenido del vial antes de abrir un segundo. El reactivo es sensible a oxidación.

9. Ácido Sulfúrico: H₂SO₄ 0.3 M

1x32ml/vial. Contiene solución de H₂SO₄ 0.3M.
Atención. Irritante (H315, H319; P280, P302+P352 P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

10. Diluyente de muestras: DILSPE

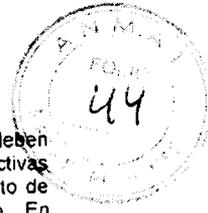
2x50ml. Contiene una solución tamponada citrato sódico 10 mM pH 6.0 +/- 0.1, 1% de proteínas del suero de cabra, 0.5% de Tween 20, azida sódica 0.09% y 0.1% Kathon GC como conservantes. Se usa para diluir las muestras.

11. Sellador adhesivo, n° 4

12. Manual de instrucciones, n° 1

Nota importante: A solicitud del cliente, Dia.Pro puede suministrar reactivos para realizar 96, 480 ó 960 pruebas, según se reporta a continuación:

1 Microplaca	n°1	n°5	n°10
2 Control Negativo	1x2.0ml/vial	1x10ml/vial	1x20 ml/vial
3 Control Positivo	1x2.0ml/vial	1x10ml/vial	1x20 ml/vial
4 Calibrador	n° 1 vial	n° 5 viales	n° 10 viales
5 Soluc. Lav. conc	1x80ml/bot.	5x60ml/frasc	4x150ml/frasc
6 Conjugado	1x16ml/vial	2x40ml/frasc	4x40ml/frasc
7 Cromógeno/Subs	1x16ml/vial	2x40ml/frasc	4x40ml/frasc
8 Diluent. ensayo	1x8ml/vial	1x40ml/frasc	1x80ml/frasc
9 Acido Sulfurico	1x15ml/vial	2x40ml/frasc	2x30ml/frasc
10 Diluent. muestr.	1x50ml/vial	5x50ml/frasc	4x125ml/frasc
11 Sellador adhes.	n° 2	n° 10	n° 20
12 Manual de instrucciones	n° 1	n° 1	n° 1
Número de pruebas	96	480	960
Código	CVAB.CE.96	CVAB.CE.480	CVAB.CE.960



E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.

1. Micropipetas calibradas (200,µl y 10,µl) y puntas plásticas desechables.
2. Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para remover químicos oxidantes usados como desinfectantes).
3. Timer con un rango de 60 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.
5. Incubador termostático de microplacas ELISA, calibrado (en seco o húmedo) fijo a 37°C.
6. Lector calibrado de microplacas de ELISA con filtros de 450nm (lectura) y de filtros de 620-630 nm.
7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Vórtex o similar.

F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

1. El equipo debe ser usado por personal técnico adecuadamente entrenado, bajo la supervisión de un doctor responsable del laboratorio.
2. Cuando el equipo es usado para cribado en unidades de sangre, el laboratorio debe estar certificado y calificado para realizar este tipo de análisis (Ministerio de Salud o entidad similar).
3. Todas las personas encargadas de la realización de las pruebas deben llevar las ropas protectoras adecuadas de laboratorio, guantes y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). El personal debe ser adiestrado en procedimientos de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
4. Todo el personal involucrado en el manejo de muestras debe estar vacunado contra HBV y HAV, para lo cual existen vacunas disponibles, seguras y eficaces.
5. Se debe controlar el ambiente del laboratorio para evitar la contaminación de los componentes con polvo o agentes microbianos cuando se abran los equipos, así como durante la realización del ensayo. Evitar la exposición del sustrato a la luz y las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
6. Conservar el equipo a temperaturas entre 2-8 °C, en un refrigerador con temperatura regulada o en cámara fría.
7. No intercambiar reactivos de diferentes lotes ni tampoco de diferentes equipos.
8. Comprobar que los reactivos no contienen precipitados ni agregados en el momento del uso. De darse el caso, informar al responsable para realizar el procedimiento pertinente y reemplazar el equipo.
9. Evitar contaminación cruzada entre muestras de suero/plasma usando puntas desechables y cambiáncolas después de cada uso.
10. Evitar contaminación cruzada entre los reactivos del equipo usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
11. No usar el producto después de la fecha de caducidad indicada en el equipo e internamente en los reactivos. Según estudios realizados, no se ha detectado pérdida relevante de actividad en equipos abiertos, en uso por un periodo de hasta 6 meses.
12. Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras de suero humano deben ser manipuladas al nivel 2 de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
13. Se recomienda el uso de material plástico desechable para la preparación de las soluciones de lavado y para la transferencia de los reactivos a los diferentes equipos automatizados a fin de evitar contaminaciones.

14. Los desechos producidos durante el uso del equipo deben ser eliminados según lo establecido por las directivas nacionales y las leyes relacionadas con el tratamiento de los residuos químicos y biológicos de laboratorio. En particular, los desechos líquidos provenientes del proceso de lavado deben ser tratados como potencialmente infecciosos y deben ser inactivados. Se recomienda la inactivación con lejía al 10% de 16 a 18 horas o el uso de la autoclave a 121°C por 20 minutos.
15. En caso de derrame accidental de algún producto, se debe utilizar papel absorbente embebido en agua. El papel debe eliminarse en contenedores designados para este fin en hospitales y laboratorios.
16. El ácido sulfúrico es irritante. En caso de derrame, se debe lavar la superficie con abundante agua.
17. Otros materiales de desecho generados durante la utilización del equipo (por ejemplo: puntas usadas en la manipulación de las muestras y controles, microplacas usadas) deben ser manipuladas como fuentes potenciales de infección de acuerdo a las directivas nacionales y leyes para el tratamiento de residuos de laboratorio.

G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y RECOMENDACIONES.

1. Extraer la sangre asépticamente por punción venosa y preparar el suero o plasma según las técnicas estándar de los laboratorios de análisis clínico. No se ha detectado que el tratamiento con citrato, EDTA o heparina afecte las muestras.
2. Evitar el uso de conservantes, en particular azida sódica, ya que pudiera afectar la actividad enzimática del conjugado generando resultados falsos negativos.
3. Las muestras deben estar identificadas claramente mediante código de barras o nombres, a fin de evitar errores en los resultados. Cuando el equipo se emplea para el cribado en unidades de sangre, se recomienda el uso del código de barras.
4. Las muestras hemolizadas (color rojo) o hiperlipémicas (aspecto lechoso) deben ser descartadas para evitar falsos resultados, al igual que aquellas donde se observe la presencia de precipitados, restos de fibrina o filamentos microbianos.
5. Suero y plasma pueden conservarse hasta 7 días, a partir del momento de la extracción, a una temperatura entre 2 y 8°C. Para periodos de conservación más largos, las muestras deben almacenarse a -20°C, evitando después descongelar cada muestra más de una vez.
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.

Según estudios realizados, no se ha detectado pérdida relevante de actividad en equipos abiertos, utilizados hasta 6 veces, en un periodo de hasta 6 meses.

1. Microplacas:

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



2. Control Negativo

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

3. Control Positivo

Listo para el uso. Mezclar bien con la ayuda de un vórtex, antes de usar. Manipule este reactivo como potencialmente infeccioso, aunque las partículas virales presentes en el control han sido inactivadas químicamente.

4. Calibrador

Disolver cuidadosamente el contenido del vial en el volumen de agua de calidad EIA indicado en la etiqueta. Mezclar bien con el vórtex antes de usar.

Manipule este reactivo como potencialmente infeccioso, aunque las partículas virales presentes en el control han sido inactivadas químicamente.

Nota: Una vez reconstituida, la solución no es estable. Se recomienda mantenerla congelada en alícuotas a -20°C.

5. Solución de Lavado Concentrada:

Todo el contenido de la solución concentrada 20x debe diluirse con agua bidestilada fino a 1200 ml y mezclarse suavemente antes de usarse.

Por que en los frascos pueden estar presente los cristales, cuando se prepara la solución prestar mucha atención en diluir todo el contenido. Durante la preparación evitar la formación de espuma y burbujas, lo que podría influir en la eficiencia de los ciclos de lavado.

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

6. 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 reactivo, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

7. 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.

8. Diluyente de ensayo:

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

9. 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.

10. Diluyente de muestras :

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

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

- Las micropipetas deben ser calibradas para dispensar correctamente el volumen requerido en el ensayo y sometidas a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra o los reactivos (lejía 10%, de calidad de los desinfectantes hospitalarios). Deben además, ser regularmente revisadas para mantener una precisión del 1% y una confiabilidad de +/- 2%. Deben descontaminarse periódicamente los residuos de los componentes del equipo.
- La incubadora de ELISA debe ser ajustada a 37°C (+/- 0.5°C) y controlada 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 de ELISA es extremadamente importante para la realización del ensayo. Antes de emplearse en los ensayos de rutina del laboratorio, debe ser cuidadosamente optimizado y validado usando los controles/calibrador y paneles de referencia pertinentes. Para asegurar que el ensayo se realiza conforme lo esperado, normalmente basta con 4-5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350 µl pocillo de solución de lavado = 1 ciclo). Se recomienda un tiempo entre ciclos de 20-30 segundos. Para establecer correctamente el número de lavados se recomienda efectuar el ensayo con los controles/calibrador del equipo, el calibrador así como sueros positivos y negativos de referencia tratando de ajustarlos a los valores indicados en las secciones "Control interno de calidad" y "Procedimiento del ensayo". La calibración periódica del volumen a dispensar (descontaminación y lavado de las agujas) debe hacerse 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 450nm y de un segundo filtro (620-630nm recomendado) para reducir interferencias en la lectura. El procedimiento estándar debe contemplar: a) Ancho de banda <= 10nm 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 ser calibrado periódicamente para garantizar la correcta medición de la densidad óptica, según las normas del fabricante.
- En caso de usar un sistema automatizado de ELISA, los pasos críticos (dispensado, incubación, lavado, lectura, agitación 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 ser instalado en el sistema operativo de la unidad y validado tanto para el lavador como para el lector. Por otro lado, la parte del sistema que maneja los líquidos (dispensado y lavado) debe ser validada y fijada correctamente. Debe prestarse particular atención a evitar el arrastre por las agujas de dispensación y de lavado, a fin de minimizar la posibilidad de ocurrencia de falsos positivos por contaminación de los pocillos adyacentes por muestras fuertemente reactivas. Se recomienda el uso de sistemas automatizados para el cribado en unidades de sangre y cuando la cantidad de muestras supera las 20-30 unidades por ensayo.

IF-2018-23939445-APN-DNPM/ANMAT

BIOQ. CLAUDIA ETCHEVE
 DIRECTORA TÉCNICA



7. Cuando se utilizan instrumentos automáticos, en el caso en que los contenedores para los frascos del instrumento no sean adecuados a los frascos del kit, transferir la solución en ellos contenida en frascos idóneos al instrumento y etiquetarlos con la misma etiqueta utilizada en el frasco original. Esta operación es importante para evitar el cambio del contenido de los frascos durante el transferencia. Cuando el test a terminado colocar los contenedores secundarios etiquetados y tapados a 2-8°C
8. El servicio de atención al cliente en Dia.Pro. ofrece apoyo al usuario para calibrar, ajustar e instalar los equipos a usar en combinación con el equipo, con el propósito de asegurar el cumplimiento de los requerimientos descritos.

Dispensar 200µl de controles/Calibrador en los pocillos correspondientes.

Nota importante: Controle a simple vista que las muestras han sido diluidas y dispensadas en los pocillos adecuados, para lo cual el color de las muestras dispensadas debe ser verde azul oscuro, mientras que el del control negativo debe permanecer verde olivo.

Para las operaciones siguientes, consulte las instrucciones que aparecen debajo para el Ensayo Manual. Es muy importante comprobar que el tiempo entre el dispensado de la primera y la última muestra sea calculado por el instrumento y considerado para los lavados

L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

1. Compruebe la fecha de caducidad indicada en la parte externa del equipo (envase primario). No usar si ha caducado.
2. Compruebe que los componentes líquidos no están contaminados con partículas o agregados visibles. Asegúrese de que el cromógeno (TMB) es incoloro o azul pálido, aspirando un pequeño volumen de este con una pipeta estéril de plástico. Compruebe que no han ocurrido rupturas ni derrames de líquido dentro de la caja (envase primario) durante el transporte. Asegurarse de que la bolsa de aluminio que contiene la microplaca no esté rota o dañada
3. Diluir totalmente la solución de lavado concentrada 20X, como se ha descrito anteriormente.
4. Disolver el Calibrador como se ha descrito anteriormente y mezclar suavemente.
5. Dejar los componentes restantes alcanzar la temperatura ambiente (aprox. 1 hora), mezclar luego suavemente en el vórtex todos los reactivos líquidos
6. Ajustar la incubadora de ELISA a 37°C y cebar 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.
7. Comprobar que el lector de ELISA esté conectado al menos 20 minutos antes de realizar la lectura
8. En caso de trabajar automáticamente, conectar el equipo y comprobar que los protocolos estén correctamente programados.
9. Comprobar que las micropipetas estén fijadas en el volumen requerido
10. Asegurarse de que el equipamiento a usar esté en perfecto estado, disponible y listo para el uso
11. En caso de surgir algún problema, se debe detener el ensayo y avisar al responsable.

Ensayo Manual.

1. Poner el número de tiras necesarias en el soporte de plástico. Dejar el primer pocillo vacío para el blanco.
2. Dispensar 200µl del Control Negativo, por triplicado, 200µl de Calibrador por duplicado y 200µl del Control Positivo. No diluir el Calibrador ni los controles ya que están listos para el uso!
3. Dispensar 200µl del Diluyente de muestras (DILSPE) a todos los pocillos de muestras, después dispensar 10 µl de cada muestra en su pocillo correspondiente. Resuspender suavemente evitando la formación de espuma y la contaminación de los pocillos adyacentes.

Nota importante: Comprobar que el color del Diluyente de muestras, después de adicionada la misma, cambia de verde a verde azul oscuro

4. Dispensar 50 ul de Diluyente de ensayo (DILAS) en los pocillos de los controles/Calibrador y muestras. Compruebe que el color de las muestras sea azul oscuro.
5. Incubar la microplaca 45 min a +37°C

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

6. Lavar la microplaca con el lavador automático dispensando y aspirando 350 µl/pocillo de solución de lavado diluida, según según se indica (sección 1.3).
7. Dispensar 100µl del Conjugado en todos los pocillos, excepto en el A1 y cubrir con el sellador. Compruebe que este reactivo de color rosa/rojo ha sido añadido en todos los pocillos excepto el A1.

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

8. Incubar la microplaca 45 min a +37°C.
9. Lavar la microplaca, de igual forma que en el paso 6.
10. Dispensar 100µl del Cromógeno/Substrato en todos los pocillos, incluido el A1. Incubar la microplaca a temperatura ambiente (18-24°C) durante 15 minutos.

Nota importante: No exponer directamente a fuerte iluminación, de lo contrario se generan interferencias.

11. Dispensar 100µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos para detener la reacción enzimática, usar la misma secuencia que en el paso 10. La adición de la solución de parada cambia el color del Control Positivo y las muestras positivas de azul a amarillo/marrón.
12. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se indica en la sección 1.5, con un filtro de 450 nm (lectura) y otro de 620-630 nm (substracción del fondo, recomendado), calibrando el instrumento con el pocillo A1 (blanco).

M. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

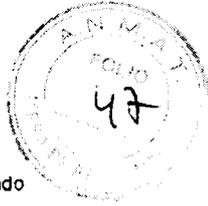
El ensayo debe realizarse según las instrucciones que siguen a continuación, es importante mantener en todas las muestras el mismo tiempo de incubación.

Ensayos Automatizados.

En el caso de que el ensayo se realice de manera automatizada con un sistema ELISA, se recomienda programar al equipo para aspirar 200,µl de Diluyente de Muestras, y posteriormente 10µl de muestra.

La mezcla debe ser dispensada cuidadosamente en los pocillos correspondientes a cada muestra. Antes de aspirar la muestra siguiente, las agujas deben lavarse debidamente para evitar cualquier contaminación cruzada entre las muestras.

No diluir el Calibrador ni los controles ya que están listos para el uso.



13. Notas importantes:

1. Si no se puede utilizar el segundo filtro, asegurarse de que no hay impresiones digitales ni polvo en el fondo de los pocillos antes de leer a 450nm. 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 después de su adición. Se podría producir auto oxidación del cromógeno causando un elevado fondo.
3. Se ha probado que la agitación a 350 +/- 150 rpm, durante la incubación, aumenta en un 20% la sensibilidad del ensayo.
4. El calibrador (CAL) no afecta al cálculo del valor de corte y, por lo tanto, no afecta al cálculo de los resultados de la prueba. El calibrador (CAL) se usa solo si la gestión requiere un control interno de calidad del laboratorio.

Si los resultados del ensayo coinciden con lo establecido anteriormente, pase a la siguiente sección.

En caso contrario, detenga el ensayo y compruebe:

N. ESQUEMA DEL ENSAYO.

Método	Operaciones
Controles & Calibrador	200 µl
Muestras	200µl dil.+10µl
Diluyente de ensayo (DILAS)	50 µl
1ª incubación	45 min
Temperatura	+37°C
Lavado	4-5 ciclos
Conjugado	100 µl
2ª incubación	45 min
Temperatura	+37°C
Lavado	4-5 ciclos
TMB/H ₂ O ₂	100 µl
3ª incubación	15 min
Temperatura	18-24°C
Acido Sulfúrico	100 µl
Lectura D.O.	450nm

A continuación se describe un ejemplo del esquema de dispensado

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

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

O. CONTROL DE CALIDAD INTERNO.

Se realiza un grupo de pruebas con los controles/calibrador cada vez que se usa el equipo para verificar si los valores DO450nm son los esperados. Asegurar el cumplimiento de los siguientes parámetros:

Parámetro	Exigencia
Pocillo Blanco	Valor < 0.100 DO450nm
Control Negativo (CN)	Valor medio < 0.050 DO450nm después de leer el blanco
Calibrador	M/Co > 1.1
Control Positivo	Valor > 1.000 DO450nm

Problema	Compruebe que
Pocillo blanco > 0.100DO450nm	la solución cromógeno/substrato no se ha contaminado durante el ensayo.
Control Negativo (CN) > 0.050 DO450nm después de leer el blanco	<ol style="list-style-type: none"> 1. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 2. se ha usado la solución de lavado apropiada y que el lavador ha sido cebado con la misma antes del uso. 3. no se han cometido errores en el procedimiento (dispensar el control positivo en lugar del negativo). 4. no ha existido contaminación del control negativo o de sus pocillos debido a muestras positivas derramadas, o al conjugado. 5. las micropipetas no se han contaminado con muestras positivas o con el conjugado. 6. las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas.
Calibrador M/Co < 1.1	<ol style="list-style-type: none"> 1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no ha habido errores durante su distribución (dispensar el control negativo en lugar del calibrador). 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del calibrador.
Control Positivo < 1.000 DO450nm	<ol style="list-style-type: none"> 1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no se han cometido errores en el procedimiento (dispensar el control negativo en lugar del positivo). En este caso el control negativo debe tener un valor de DO450nm > 0.150. 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del control positivo.

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

P. CÁLCULO DEL VALOR DE CORTE.

Los resultados se calculan por medio de un valor de corte (cut-off) hallado con la siguiente fórmula:

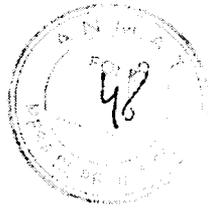
$$\text{Valor de corte} = \text{CN medio DO450nm} + 0.350$$

El valor encontrado para el ensayo se usa para la interpretación de los resultados, según se describe a continuación:

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

IF-2018-23939445-APN-DNDPM#ANMAT

CLAUDETA ETCHEVEZ
DIRECTOR TÉCNICO



Q. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

La interpretación de los resultados se realiza mediante la razón entre las DO a 450nm de las muestras 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	Equivoco
> 1.1	Positivo

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

Notas importantes:

1. La interpretación de los resultados debe hacerse bajo la vigilancia del responsable del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio y de interpretación.
2. Antes de formular un diagnóstico de hepatitis viral, los resultados positivos deben comprobarse a través de un método alternativo: capaz de detectar anticuerpos IgG e IgM (prueba confirmatoria).
3. Según se demuestra en la Evaluación del Performance del producto, el ensayo es capaz de detectar los anticuerpos anti HCV core, en etapas más tempranas en comparación con otros equipos comerciales. Sin embargo, un resultado positivo, no confirmado con estos equipos comerciales, no debe necesariamente considerarse como falso positivo. Es necesario realizar una prueba de confirmación (suministrada, bajo solicitud del cliente, por Dia.pro srl, Codificada CCCNF).
4. Como el ensayo es capaz de detectar además anticuerpos IgM, pueden presentarse resultados discrepantes (pérdida de reactividad IgM) con respecto a otros productos comerciales para la detección de anticuerpos anti-HCV. La positividad real de una muestra debe confirmarse probando la reactividad IgM, lo cual resulta muy importante para el diagnóstico de infección por HCV.
5. Cuando se transmiten los resultados de la prueba, del laboratorio a otras instalaciones, debe ponerse mucha atención para evitar el traspaso de datos erróneos.
6. El diagnóstico de infección con un virus de la hepatitis debe ser evaluado y comunicado al paciente por un médico calificado.

A continuación, un ejemplo de los cálculos a realizar

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

Control Negativo: 0.019 - 0.020 - 0.021 DO450nm
 Valor medio: 0.020 DO450nm
 Menor de 0.050 - Válido

Control Positivo: 2.189 DO450nm
 Mayor de 1.000 - Válido
 Valor de corte = 0.020 + 0.350 = 0.370

Calibrador 0.550 - 0.530 DO450nm

Valor medio: 0.540 DO450nm M/Co = 1.4
 M/Co Mayor de 1.1 - Válido

Muestra 1: 0.070 DO450nm
 Muestra 2: 1.690 DO450nm
 Muestra 1 M/Co < 0.9 = negativa
 Muestra 2 M/Co > 1.1 = positiva

R. FUNCIONAMIENTO.

La evaluación del funcionamiento ha sido realizada según lo reportado en las Especificaciones Técnicas Comunes (ETC) (art. 5, Capítulo 3 de las Directivas IVD 98/79/EC)

1. LÍMITE DE DETECCIÓN.

El límite de detección ha sido calculado por medio del estándar de trabajo británico anti-HCV NIBSC, código 99/558-003-WI). La siguiente tabla muestra los valores medios de DO450nm de este estándar diluido en plasma negativo y examinado:

Dilución	Lote # 1 M/Co	Lote # 2 M/Co
1 X	2.0	2.0
2 X	1.1	1.2
4 X	0.7	0.8
8 X	0.5	0.5
Plasma Negativo	0.3	0.3

Se evaluó además la muestra Accurun 1 -serie 3000- suministrado por Boston Biomedica Inc., Estados Unidos.

Los resultados son los siguientes:

CVAB.CE Lote ID	Accurun 1 Serie	M/Co
1201	3000	1.5
0602	3000	1.5
1202	3000	1.9

Por otra parte, un total de 7 muestras, positivas para HCVAB según Ortho HCV 3.0 SAVE, código 930820, lote # EXE065-1, fueron diluidas en plasma negativo a HCVAB con el fin de obtener diluciones limitantes y luego fueron probadas nuevamente en CVAB.CE, lote # 1202, y Ortho.

Las tablas siguientes reflejan los resultados obtenidos:

Muestra n	Dilución Límite	CVAB.CE M/Co	Ortho 3.0 M/Co
1	256 X	1.9	1.3
2	256 X	1.9	0.7
3	256 X	2.4	1.0
4	128 X	2.5	3.2
5	85 X	3.3	1.4
6	128 X	2.2	0.8
7	135 X	3.2	2.2

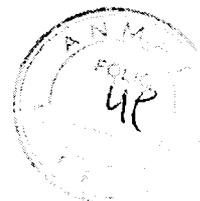
2. ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD DIAGNÓSTICAS.

La evaluación del procedimiento diagnóstico se realizó mediante un ensayo con más de 5000 muestras.

2.1 Especificidad Diagnóstica:

Se define como la probabilidad del ensayo de detectar negativos en ausencia del analito específico.

BRUNO J. A.
 SIOGA CLAUDIA ETOHEVEZ
 DIRECTOR TECNICO



Además del primer estudio, donde se examinaron en total 5043 muestras de donantes de sangre no seleccionados, (incluyendo donantes por 1ª vez), 210 muestras de pacientes hospitalizados y 162 muestras que pudieran provocar interferencia (otras enfermedades infecciosas, positivas para anticuerpos de E. coli, pacientes con enfermedades hepáticas no virales, pacientes en diálisis, mujeres embarazadas, hemolizadas, lipémicas, etc.), la especificidad diagnóstica se evaluó recientemente examinando un total de 2876 muestras de donantes de sangre negativas en seis lotes distintos. Se observó un valor de especificidad de 100%.

Se emplearon además, plasma sometido a métodos de tratamiento estándar (citrato, EDTA y heparina) y suero humano. No se ha observado falsa reactividad debida a los métodos de tratamiento de muestras.

Por último se analizaron muestras congeladas, para determinar posibles interferencias debidas a la toma de muestra y al almacenamiento. No se observaron interferencias.

2.2 Sensibilidad Diagnóstica.

Se define como la probabilidad del ensayo de detectar positivos en presencia del analito específico.

La sensibilidad diagnóstica ha sido estimada de forma externa en un total de 359 muestras, el valor obtenido fue de 100%. Mas de 50 muestras positivas fueron probadas de forma interna, en este caso el resultado fue también de 100%.

Se evaluaron además, muestras positivas producto de infecciones por diferentes genotipos de HCV, así como también se estudió gran parte de los paneles de seroconversión de Boston Biomedica Inc (PHV) y Zeptomatrix USA (HCV), disponibles.

Los resultados para algunos de ellos se describen a continuación:

Panel	Nº samples	DiaPro*	Ortho**
PHV 901	11	9	9
PHV 904	7	2	4
PHV 905	9	3	4
PHV 906	7	7	7
PHV 907	7	3	2
PHV 908	13	10	8
PHV 909	3	2	2
PHV 910	5	3	3
PHV 911	5	3	3
PHV 912	3	1	1
PHV 913	4	2	2
PHV 914	9	5	5
PHV 915	4	3	0
PHV 916	8	4	3
PHV 917	10	6	6
PHV 918	8	2	0
PHV 919	7	3	3
PHV 920	10	6	6
HCV 10039	5	2	0
HCV 6212	9	6	7
HCV 10165	9	5	4

Note: * Positive samples detected

** HCV v.3.0

Por último, el producto ha sido probado contra el panel EFS Ac HCV, lote n° 01/08 03.22C/01/A, suministrado por Etablissement Francais Du Sang (EFS), Francia, obteniéndose los siguientes resultados:

EFS Panel Ac HCV

Muestra	Lote # 1 M/Co	Lote # 2 M/Co	Lote # 3 M/Co	Resultados esperados
HCV 1	2.2	2.4	2.6	positivo
HCV 2	1.6	2.0	2.1	positivo
HCV 3	1.5	1.7	1.6	positivo
HCV 4	5.2	6.5	5.5	positivo
HCV 5	1.6	1.8	1.6	positivo
HCV 6	0.4	0.4	0.4	negativo

3. PRECISIÓN.

Ha sido calculada utilizando dos muestras, una negativa y una débil positiva, examinadas en 16 réplicas en tres corridas separadas.

Los resultados se muestran a continuación:

Lote # 1202

Muestra Negativa (N = 16)

Valores medidos	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.094	0.099	0.096	0.096
Desviación estándar	0.008	0.007	0.008	0.007
CV %	8.7	6.6	7.9	7.7

Cal # 2 - 7K (N = 16)

Valores medidos	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.396	0.403	0.418	0.406
Desviación estándar	0.023	0.029	0.027	0.026
CV %	5.9	7.1	6.4	6.5
M/Co	1.1	1.1	1.2	1.1

Lote # 0602

Muestra Negativa (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.097	0.096	0.094	0.096
Desviación estándar	0.009	0.010	0.008	0.009
CV %	8.9	10.1	8.4	9.1

Cal # 2 - 7K (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.400	0.395	0.393	0.396
Desviación estándar	0.021	0.025	0.026	0.024
CV %	5.4	6.2	6.6	6.1
M/Co	1.2	1.2	1.1	1.2

Lote # 0602/2

Muestra Negativa (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.087	0.091	0.088	0.089
Desviación estándar	0.009	0.007	0.008	0.008
CV %	10.0	8.2	8.6	8.9

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT



Cal # 2 - 7K (N = 16)

Valores medios	1 ^a	2 ^a	3 ^a	Valor Promedio
	corrida	corrida	corrida	
DO 450nm	0.386	0.390	0.391	0.389
Desviación estándar	0.023	0.021	0.023	0.022
CV %	6.0	5.3	5.8	5.7
M/Co	1.1	1.2	1.2	1.2

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

S. LIMITACIONES.

Los falsos positivos repetibles, no confirmados por RIBA o similares técnicas de confirmación, fueron estimados como menos del 0.1% de la población normal.

Las muestras que después de ser descongeladas presentan partículas de fibrina o partículas agregadas, generan algunos resultados falsos positivos.

BIBLIOGRAFIA

- 1 CDC Public Health Service inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and semen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. MMWR 1991;40(No. RR-4):1-17.
- 2 Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. Hepatology 1997;26:82S-5S.
- 3 McQuillan GM, Alter MJ, Moyer LA, Lambert SB, Margolis HS. A population based serologic study of hepatitis C virus infection in the United States. In Rizzetto M, Purcell RH, Gerin JL, Verme G, eds. Viral Hepatitis and Liver Disease. Edizioni Minerva Medica, Turin 1997, 267-70.
- 4 Dufour MC. Chronic liver disease and cirrhosis. In Everhart JE, ed. Digestive diseases in the United States: epidemiology and impact. US Department of Health and Human Services Public Health Service, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Washington, DC: US Government Printing Office, 1994; NIH publication no. 94-1447. 515-45.
- 5 Alter MJ, Hadler SC, Judson FN, et al. Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. JAMA 1990;264:2231-35.
- 6 Alter HJ, Holland PV, Purcell RH, et al. Posttransfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis-B antigen-positive donors. Ann Intern Med 1972;77:691-9.
- 7 Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Feinstone SM, Morrow AG, Montsugu Y. Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. Lancet 1975;2:838-41.
- 8 Seeff LB, Wright EC, Zimmerman HJ, McCoilum RW. VA Cooperative Studies Group. VA cooperative study of post-transfusion hepatitis and responsible risk factors. Am J Med Sci 1975;270:355-62.
- 9 Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. N Engl J Med 1975;292:767-70.
- 10 Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 1989;244:359-62.
- 11 Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. Science 1989;244:362-4.
- 12 Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with

acute and chronic non-A, non-B hepatitis. N Engl J Med 1989;321:1494-1500.

- 13 Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB, et al. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first- and second-generation assays. N Engl J Med 1991;325:1325-9.
- 14 Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. N Engl J Med 1992;327:1899-1905.
- 15 Alter, MJ. Epidemiology of hepatitis C in the west. Semin Liver Dis 1995;15:5-14.
- 16 Donahue JG, Nelson KE, Muñoz A, et al. Antibody to hepatitis C virus among cardiac surgery patients, homosexual men, and intravenous drug users in Baltimore, Maryland. Am J Epidemiol 1991;134:1206-11.
- 17 Zeldis JB, Jain S, Kuramoto IK, et al. Seroepidemiology of viral infections among intravenous drug users in northern California. West J Med 1992;156:30-5.
- 18 Fingerhuth MI, Jasinski DR, Sullivan JT. Prevalence of hepatitis C in a chemically dependent population. Arch Intern Med 1993;153:2025-30.
- 19 Garfein RS, Vlahov D, Galai N, Doherty, MC, Nelson KE. Viral infections in short-term injection drug users: the prevalence of the hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T-lymphotropic viruses. Am J Pub Health 1996;86:655-61.
- 20 Brettler DB, Alter HJ, Deinstag JL, Forsberg AD, Levine PH. Prevalence of hepatitis C virus antibody in a cohort of hemophilia patients. Blood 1990;76:254-6.
- 21 Trois CL, Hollinger FB, Hoots WK, et al. A multicenter study of viral hepatitis in a United States hemophilic population. Blood 1993;81:412-8.
- 22 Kumar A, Kulkarni R, Murray DL, et al. Serologic markers of viral hepatitis A, B, C, and D in patients with hemophilia. J Med Virology 1993;41:205-9.
- 23 Tokars JI, Miller ER, Alter MJ, Arduino MJ. National surveillance of dialysis associated diseases in the United States, 1995. ASAIO Journal 1998;44:98-107.
- 24 Osmond DH, Charlebois E, Sheppard HW, et al. Comparison of risk factors for hepatitis C and hepatitis B virus infection in homosexual men. J Infect Dis 1993;167:66-71.
- 25 Weinstock HS, Bolan G, Reingold AL, Polish LB. Hepatitis C virus infection among patients attending a clinic for sexually transmitted diseases. JAMA 1993;269:392-4.
- 26 Thomas DL, Cannon RO, Shapiro CN, Hook EW III, Alter MJ. Hepatitis C, hepatitis B, and human immunodeficiency virus infections among non-intravenous drug-using patients attending clinics for sexually transmitted diseases. J Infect Dis 1994;169:990-5.
- 27 Buchbinder SP, Katz MH, Hessol NA, Liu J, O'Malley PM, Alter, MJ. Hepatitis C virus infection in sexually active homosexual men. J Infect 1994;29:263-9.
- 28 Thomas DL, Zenilman JM, Alter HJ, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus among patients attending sexually transmitted diseases clinics in Baltimore--an analysis of 309 sex partnerships. J Infect Dis 1995;171:768-75.
- 29 Thomas DL, Factor SH, Kelen GD, Washington AS, Taylor E Jr, Quinn TC. Viral hepatitis in health care personnel at The Johns Hopkins Hospital. Arch Intern Med 1993;153:1705-12.
- 30 Cooper BW, Krusell A, Tilton RC, Goodwin R, Levitz RE. Seroprevalence of antibodies to hepatitis C virus in high-risk hospital personnel. Infect Control Hosp Epidemiol 1992;13:82-5.

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT
 BIOL. CLAUDIA BOTOEVA
 INFERM. DE TÉCNICO



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

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

CE
0318

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 San 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° de Certificado: 005459

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT
BIOARS S.A.
DRA. CLAUDIA ETCHÉVÉS
DIRECTORA TÉCNICA



PROYECTO DE ROTULOS EXTERNOS

Nombre del producto:

HCV IgM

96 pruebas







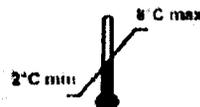

C4T1/3 2011-08 2012-09 Σ = 96

HCV IgM

CVM.CE/S

REF CVM.CE


 Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl
 Via Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI) Italy
 tel.: +39 02 27907161 Fax.: +39 02 26907756
 e-mail: info@diapro.it



HCV IgM

Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

CVM.CE/S	MICROPLATE	n° 1		LOT
	CAL	n° 6	ml 2	
	WASHBUF 20X	n° 1	ml 60	C4T1/3
	CONJ	n° 1	ml 16	
	SUBS TMB	n° 1	ml 16	
	SOLN NTR	n° 1	ml 8	
	DILSPE	n° 2	ml 60	
	H2SO4 0.3 M	n° 1	ml 15	
				CE
				0318

Establecimiento Elaborador: DIA.PRO Diagnostic BioProbes S.r.l., Via G. Carducci, 27 -20099- Sesto San Giovanni (MI), Italia.
 Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevès - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° de Certificado: 005459

HCV IgM Producto Dia.Pro Diagnostic BioProbes S.r.l

BIOARS S.A.
 DR. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT



PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

Nombre del producto:

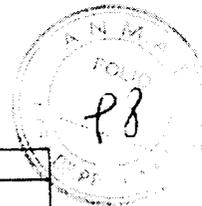
HCV IgM

96 pruebas	
<p>Microplaca HCV IgM</p> <p>MICROPLATE</p> <p>CVM/CE/CM</p> <p>2012-09 LOT C411/3</p> <p>2°C min 8°C max</p> <p>Dia Pro Diagnostic Bioprobes srl</p>	<p>Calibrador 1 HCV IgM Dia Pro srl</p> <p>2012-09 CAL 1 LOT C411/3</p> <p>2°C min 8°C max CVM/CE/S1 0 ArbU/ml</p>
<p>Calibrador 2 HCV IgM Dia Pro srl</p> <p>2012-09 CAL 2 LOT C411/3</p> <p>2°C min 8°C max CVM/CE/S2 10 ArbU/ml</p>	<p>Calibrador 3 HCV IgM Dia Pro srl</p> <p>2012-09 CAL 3 LOT C411/3</p> <p>2°C min 8°C max CVM/CE/S3 25 ArbU/ml</p>
<p>Calibrador 4 HCV IgM Dia Pro srl</p> <p>2012-09 CAL 4 LOT C411/3</p> <p>2°C min 8°C max CVM/CE/S4 50 ArbU/ml</p>	<p>Calibrador 5 HCV IgM Dia Pro srl</p> <p>2012-09 CAL 5 LOT C411/3</p> <p>2°C min 8°C max CVM/CE/S5 100 ArbU/ml</p>
<p>Calibrador 6 HCV IgM Dia Pro srl</p> <p>2012-09 CAL 6 LOT C411/3</p> <p>2°C min 8°C max CVM/CE/S6 250 ArbU/ml</p>	<p>Tampón de Lavado Concentrado Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl</p> <p>WASHBUF 20X</p> <p>ALWAYS</p> <p>2013-03 LOT 0311</p> <p>2°C min 8°C max</p>

HCV Ab/ HCV IgM: Producto Dia Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l.

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT

BIOARS S.A.
2000 CLAUDIA ETCHEVES
página 17 de 25



<p>Conjugado Enzimático</p> <p>HCV IgM</p> <p>CONJ</p> <p>CUMCEFA</p> <p>2012-09</p> <p>LOT C4T1/3</p> <p>2°C min</p> <p>5°C max</p> <p>Dia. Pro Diagnostic Bioprobes srl</p>	<p>Cromógeno/Substrato</p> <p>Dia. Pro Diagnostic Bioprobes srl</p> <p>SUBS TMB</p> <p>ALLOR</p> <p>2013-03</p> <p>LOT 0311/2</p> <p>7°C min</p> <p>8°C max</p>
<p>Acido Sulfúrico</p> <p>Dia. Pro Diagnostic Bioprobes srl</p> <p>H₂SO₄ 0.3M</p> <p>ALUSS</p> <p>2017-05</p> <p>LOT 0516</p> <p>H315-H318 P280 P302+P352 P332+P313 P365+P351+P338 P337+P313 P362+P363</p>	<p>Diluyente de muestras</p> <p>Dia. Pro Diagnostic Bioprobes srl</p> <p>DILSPE</p> <p>TORSERISD</p> <p>2013-01</p> <p>LOT 0111</p> <p>7°C min</p> <p>8°C max</p>
<p>Reactivo Neutralizante</p> <p>Dia. Pro Diagnostic Bioprobes srl</p> <p>SOLN NEUT</p> <p>MSANDWINR</p> <p>2013-05</p> <p>LOT 0511</p> <p>2°C min</p> <p>5°C max</p>	

*Nota: El productor DIA.Pro (Diagnostic Bioprobes) detalla el volumen de cada componente en el rótulo externo del producto y en el manual de Instrucciones

Establecimiento Elaborador: DIA.PRO Diagnostic BioProbes S.r.l.; Via G. Carducci, 27 -20099- Sesto San 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° de Certificado: 005459

HCV Ab/ HCV IgM, Producto Dia. Pro Diagnostic BioProbes S.r.l.

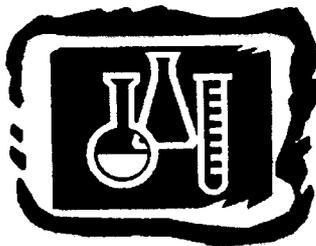
IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT
BIOARS S.A.
DRA. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO



HCV IgM

Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cuantitativa/cualitativa de anticuerpos IgM frente al Virus de la Hepatitis C en suero y plasma humanos

Uso exclusivo para diagnostico "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

Handwritten signature
DIA.PRO S.A.
SOCIETÀ PER AZIONI
SISTEMI DIAGNOSTICI

**REF CVM.CE
96 pruebas**

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT

121

HCV IgM

A. OBJETIVO DEL EQUIPO.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgM frente al virus de la hepatitis C (VHC) en plasma y suero humanos. El equipo ha sido diseñado para el seguimiento de pacientes con hepatitis C crónica sometidos a tratamiento antiviral. Para uso exclusivo de diagnóstico "in vitro".

B. INTRODUCCIÓN.

El tratamiento de los pacientes con hepatitis C crónica consiste en la administración de fármacos antivirales como el Interferón (como monoterapia o en combinación con otros, como la Ribavirina). No obstante, el coste de estos tratamientos es elevado. Cuando se utiliza el tratamiento con Interferón como monoterapia, la eficacia en los pacientes es de 10 a 20%, mientras que en combinación con la Ribavirina es eficaz aproximadamente del 30 al 50% de los casos. El tratamiento solo con ribavirina no parece ser efectivo. La producción activa de antígenos del VHC, en el hígado de pacientes con Hepatitis C crónica, genera elevaciones de anticuerpos IgM y activa enzimas específicas del hígado, similar a lo que ocurre en pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis B (VHB). La presencia de anticuerpos IgM contra el virus, generalmente se asocia a una fase de tolerancia y daño celular hepático. Durante el tratamiento con fármacos, los anticuerpos IgM frente al VHC pueden constituir un marcador para evaluar la eficacia de la droga empleada, monitorizando el equilibrio entre la eficacia de la misma y los efectos adversos, que frecuentemente son importantes en los pacientes.

C. PRINCIPIOS DEL ENSAYO.

Las microplacas están recubiertas con antígenos sintéticos inmunodominantes del VHC (péptido del core y los péptidos NS4, NS5 y NS3 recombinante). Durante la 1ª incubación se añaden a la placa las muestras diluidas. Los anticuerpos de la clase IgM presentes en la muestra quedan capturados por el antígeno de la fase sólida. Tras del lavado se eliminan el resto de los componentes de la muestra. En la 2ª incubación, se añade un anticuerpo anti-IgM humano conjugado con Peroxidasa (HPR), para detectar los anticuerpos IgM anti-VHC. 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-VHC presentes en la muestra. La presencia de IgM en la muestra se puede por lo tanto cuantificar por medio de una curva de calibración capaz de determinar el contenido del anticuerpo en arbU/ml. La neutralización de los anticuerpos IgG anti-VHC se realiza directamente en el pocillo, con el propósito de bloquear la interferencia de esta clase de anticuerpos, en la determinación de la clase IgM.

D. COMPONENTES.

Cada equipo contiene reactivos suficientes para realizar 96 pruebas.

1. Microplaca: MICROPLATE

12 tiras x 8 pocillos recubiertos con los antígenos sintéticos VHC-específicos (core péptidos NS4, NS5 y NS3 recombinante). Las placas se sellan en una bolsa con el desecante.

2. Curva de Calibración: CAL N°

6x2.0 ml/vial. Curva de Calibración lista para el uso, codificada por colores y calibrada frente a un "Gold Standard" interno (en ausencia de uno definido internacionalmente) o IGS, con el siguiente rango:

CAL 1 = 0 arbU/ml	CAL 2 = 10 arbU/ml
CAL 3 = 25 arbU/ml	CAL 4 = 50 arbU/ml
CAL 5 = 100 arbU/ml	CAL 6 = 250 arbU/ml

Contiene plasma humano positivo para VHC IgM químicamente inactivado, 100mM de Tampón Tris pH 7.4 +/- 0.1, 0.2% de Tween 20, 0.09% de Azida Sódica y 0.1% de Kathon GC como conservante.

La curva de calibración esta codificada con el color azul alimentano.

Nota Importante: Aunque el plasma esta químicamente inactivado, manejar el componente como potencialmente infeccioso.

3. Tampón de Lavado Concentrado: WASHBUF 20X

1x60ml/botella. Solución concentrada 20X. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7.0 +/- 0.2, Tween 20 al 0.05% y Kathon GC al 0.05%.

4. Conjugado Enzimático: CONJ

1x16ml/vial. Listo para su uso y codificado con el color rojo. Contiene anticuerpos policlonales anti-IgM humanos conjugados con peroxidasa (HPR), 5% BSA, tampón Tris 10mM a pH 6.8 +/- 0.1, 0.1% de Kathon GC y 0.02 % de sulfato de gentamicina como conservantes.

5. Cromógeno/Substrato SUBS TMB

1x16ml/vial. Contiene una solución tamponada citrato-fosfato 50mM pH 3.5-3.8, 4% de dimetilsulfóxido, 0.03% de tetra-metil-benzidina (TMB) y 0.02% de peróxido de hidrógeno (H₂O₂).

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

6. Ácido Sulfúrico: H2SO4 0.3M

1x15ml/vial. Contiene solución de H₂SO₄ 0.3M. Atención: Irritante (H315, H319; P280, P302+P352, P332+P313, P305+P351+P338, P337+P313, P362+P363).

7. Diluyente de muestras DILSPE

2x60ml/viales. Contiene 2% de caseína, solución tamponada de citrato sódico 10 mM pH 6.0 +/- 0.1, 0.2% de Tween 20, azida sódica 0.09% y 0.1% Kathon GC como conservantes. Se usa para diluir las muestras.

8. Reactivo Neutralizante: SOLN NEUT

1x8ml/vial. Contiene anti-IgG humana de cabra, 2% de caseína, solución tamponada de citrato sódico 10 mM pH 6.0 +/- 0.1, azida sódica 0.09% y 0.1% Kathon GC como conservantes.

9. Sellador adhesivo, n° 4

10. Manual de instrucciones, n° 1

E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.

1. Micropipetas calibradas (1000µl, 100µl y 10µl) y puntas de plástico desechables.
2. Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para eliminar sustancias químicas oxidantes usadas como desinfectantes).
3. Cronómetro con un rango de 60 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.
5. Incubador termostático de microplacas ELISA, calibrado (en seco o húmedo) fijo a 37°C (+/-0.5°C tolerancia).
6. Lector calibrado de microplacas de ELISA con filtros de 450nm (lectura) y de 620-630 nm.
7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Vórtex o similar.

IF-2018-23939445-APN-DNPM/ANMAT



F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

1. El equipo debe ser utilizado por personal técnico adecuadamente entrenado, bajo la supervisión de un facultativo responsable del laboratorio
2. Todas las personas encargadas de la realización de las pruebas deben estar provistas de material protector adecuado (ropa, guantes, gafas, etc.). Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). El personal debe ser adiestrado en procedimientos de bioseguridad, según recomienda el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y publicado por el Instituto Nacional de Salud "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
3. Todo el personal involucrado en el manejo de muestras debe estar vacunado frente a los virus de las hepatitis A y B para lo cual existen vacunas seguras y eficaces.
4. Se debe controlar el ambiente del laboratorio para evitar la contaminación de los componentes del equipo con polvo o agentes microbianos en la apertura del mismo y durante la realización del ensayo. Evitar la exposición del cromógeno (TMB/H₂O₂) a la luz y las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
5. Conservar el equipo a temperaturas entre 2-8 °C
6. No intercambiar reactivos de diferentes lotes ni tampoco de diferentes equipos.
7. Comprobar que los reactivos no contienen precipitados ni agregados en el momento del uso. Si esto ocurriese, informar al responsable para realizar el procedimiento pertinente y 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 utilizar el producto con posterioridad a la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase externo y en las etiquetas internas (viales) de los reactivos. Según estudios realizados, no se ha detectado pérdida relevante de actividad en equipos abiertos hasta 6 veces, durante un periodo de hasta 6 meses
11. Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras de suero humano deben ser manipuladas en un nivel 2 de bioseguridad, según recomienda el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos y publicado por el Instituto Nacional de Salud "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
12. Se recomienda el uso de material plástico desechable para la preparación de las soluciones de lavado y para la transferencia de los reactivos a los diferentes equipos, a fin de evitar la contaminación.
13. Los desechos producidos durante el uso del equipo deben ser eliminados según lo establecido por las directivas nacionales y las leyes relacionadas con el tratamiento de los residuos químicos y biológicos de laboratorio. En particular, los desechos líquidos provenientes del proceso de lavado, así como de controles/calibradores y muestras deben ser tratados como potencialmente infecciosos y deben ser inactivados. Se recomienda la inactivación con lejía al 10% de 16 a 18 horas o el uso de la autoclave a 121°C durante 20 minutos.
14. En caso de derrame accidental de algún producto, se debe utilizar papel absorbente humedecido 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 accidental, se debe lavar la superficie con abundante agua
16. Otros materiales de desecho generados durante la utilización del equipo (por ejemplo: puntas usadas en la manipulación de las muestras y controles/calibradores.

microplacas usadas) deben ser manipuladas como fuentes potenciales de infección de acuerdo a las directivas nacionales y leyes para el tratamiento de residuos de laboratorio.

G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y RECOMENDACIONES.

1. Extraer la sangre asépticamente por punción venosa y preparar el suero o plasma según las técnicas estándar de los laboratorios de análisis clínico. No se ha detectado que el tratamiento con citrato, EDTA o heparina afecte las muestras.
2. Las muestras deben estar claramente identificadas mediante códigos o nombres a fin de evitar errores en los resultados. Se recomienda el uso del código de barras.
3. Las muestras hemolizadas (color rojo) o hiperlipémicas (aspecto lechoso) deben ser descartadas para evitar falsos resultados al igual que aquellas donde se observe la presencia de precipitados, restos de fibrina o filamentos microbianos.
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 periodos de conservación más largos, las muestras pueden almacenarse a -20°C durante varios meses, evitando posteriormente descongelar cada muestra más de una vez.
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. Compruebe que el desecante no esté de un color verde oscuro, lo que indicaría un defecto de almacenamiento. De ser así, debe solicitar el servicio de Dia.Pro: atención al cliente.

Las tiras de pocillos no utilizadas, deben guardarse herméticamente cerradas en la bolsa de aluminio con el desecante a 2-8°C. Una vez abierto el envase, las tiras sobrantes, se mantienen estables hasta que el indicador de humedad dentro de la bolsa del desecante cambie de amarillo a verde

Curva de Calibración:

Componentes listos para su uso. Mezclar cuidadosamente en el vórtex antes del uso

Solución de Lavado Concentrada:

Todo el contenido de la solución concentrada debe diluirse 20x con agua bidestilada y mezclarse suavemente 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.

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

Conjugado Enzimático:

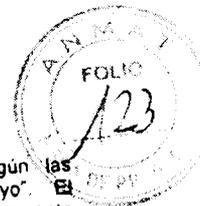
Listo para el uso. Mezclar bien en vórtex antes de usar. Evitar posible contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microorganismos. En caso de que deba transferirse el reactivo, usar preferentemente contenedores de plástico, estériles y desechables.

Cromógeno/ Substrato:

Listo para el uso. Mezclar bien en 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 preferentemente contenedores de plástico, estériles y desechables.

IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT

SECRETARÍA DE SALUD
DIRECCIÓN GENERAL DE REGISTRO Y CONTROL DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS



Diluyente de muestras :

Listo para el uso. Mezclar bien en vortex antes de usar

Reactivo Neutralizante:

Listo para el uso. Mezclar bien en vortex antes de usar.

Ácido Sulfúrico:

Listo para el uso. Mezclar bien en vortex 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 + P362 – 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 KIT.

- Las micropipetas deben ser calibradas para dispensar correctamente el volumen requerido en el ensayo y sometidas a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra o los reactivos (alcohol 70%, lejía 10%, desinfectantes de calidad hospitalaria). Deben además, ser regularmente revisadas para mantener una precisión del 1% y una fiabilidad de +/- 2%. Deben descontaminarse periódicamente los residuos de los componentes del equipo.
- El incubador para el ELISA debe ser ajustado a 37°C (+/- 0.5°C de tolerancia) y controlado periódicamente para mantener la temperatura correcta. Pueden emplearse incubadores secos o baños de agua siempre que estén validados para la incubación de pruebas de ELISA.
- El lavador de ELISA es extremadamente importante para la realización del ensayo. Antes de emplearse en los ensayos de rutina del laboratorio, debe ser cuidadosamente optimizado y validado usando los controles/calibradores y paneles de referencia pertinentes. Para asegurar que el ensayo se realiza conforme lo esperado, normalmente basta con 4-5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350µl/pocillo de solución de lavado = 1 ciclo). Se recomienda un tiempo entre ciclos de 20-30 segundos. Para establecer correctamente el número de lavados se recomienda efectuar el ensayo con los controles/calibradores del equipo así como con muestras positivas y negativas de referencia para ajustarlos a los valores indicados en la sección "Control de calidad interno". La calibración periódica del volumen a dispensar y el mantenimiento (descontaminación y lavado de las agujas) debe hacerse según las instrucciones del fabricante.
- Los tiempos de incubación deben tener un margen de $\pm 5\%$.
- El lector de microplacas ELISA debe estar provisto de un filtro de lectura de 450nm y de un segundo filtro (620-630nm, recomendado) para la determinación del blanco. Sus características estándar deben ser: a) amplitud de banda $\leq 10\text{nm}$, b) intervalo de absorción de 0 a ≥ 2.0 , c) Linealidad ≥ 2.0 .

reproducibilidad $\geq 1\%$. El blanco se determina según las instrucciones de la sección "Procedimiento del Ensayo". El sistema óptico del lector debe ser calibrado periódicamente para garantizar la correcta medición de la densidad óptica, y mantenido según las normas del fabricante.

- En caso de usar un sistema automatizado de ELISA, los pasos críticos (dispensación, incubación, lavado, lectura, agitación y procesamiento de datos) deben ser cuidadosamente fijados, calibrados, controlados y periódicamente ajustados, para garantizar los valores indicados en la sección "Control de calidad interno". El protocolo del ensayo debe ser instalado en el sistema operativo de la unidad y validado tanto para el lavador como para el lector. Por otro lado, la parte del sistema que maneja los líquidos (dispensado y lavado) debe ser validada y fijada correctamente. Para minimizar la posibilidad de falsos positivos por contaminación de muestras fuertemente reactivas situadas en pocillos adyacentes, debe prestarse particular atención a evitar el arrastre por las agujas de dispensación y de lavado. Se recomienda el uso de sistemas automatizados cuando la cantidad de muestras supera las 20-30 unidades por ensayo.
- El servicio de atención al cliente en Dia Pro. ofrece apoyo al usuario para calibrar, ajustar e instalar los aparatos a usar en combinación con el equipo, con el propósito de asegurar el cumplimiento de los requerimientos descritos.

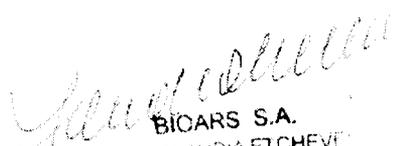
L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

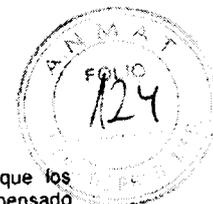
- Compruebe la fecha de caducidad indicada en la parte externa del equipo (envase primario). No usar si ha caducado.
- Compruebe que los componentes líquidos no están contaminados, con partículas o agregados visibles.
- Asegúrese de que el cromógeno (TMB) es incoloro o azul pálido, aspirando un pequeño volumen de este con una pipeta estéril de plástico.
- Compruebe que no han ocurrido rupturas ni derrames de líquido dentro de la caja (envase primario) 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.
- Dejar a los componentes restantes alcanzar la temperatura ambiente (aprox. 1 hora), mezclar luego suavemente en el vortex todos los reactivos líquidos.
- Ajustar el incubador de ELISA a 37°C y cebar 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.
- Comprobar que el lector de ELISA esté encendido al menos 20 minutos antes de realizar la lectura.
- En caso de trabajar automáticamente, encender el equipo y comprobar que los protocolos estén correctamente programados.
- Comprobar que las micropipetas estén fijadas en el volumen requerido.
- Asegurarse de que el equipamiento esté en perfecto estado, disponible y listo para el uso.
- En caso de surgir algún problema, se debe detener el ensayo y avisar al responsable.

M. PROCEDIMIENTO DE ANALISIS.

El análisis tiene que ser realizado según lo descrito a continuación, teniendo cuidado de mantener el mismo tiempo de incubación para todas las muestras de la prueba.

Los métodos de análisis son posibles, según se describe a continuación


 BICARS S.A.
 ALBA ET CHEVÉ
 IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT



M.1 ANALISIS CUANTITATIVO

1. Poner el número requerido de tiras en el soporte plástico e identificar cuidadosamente los pocillos para los calibradores y las muestras
2. Diluir las muestras 1:101 dispensando en un tubo 1 ml de diluyente y 10 µl de muestra. Mezclar bien en el vórtex antes de usar. No diluir los calibradores ya que están listos para utilizar
3. Dejar los pocillos A1+B1 vacíos para la lectura del blanco
4. Dispensar 50µl de reactivo neutralizante en todos los pocillos, excepto los pocillos A1+B1 usados para la operación del blanco y los pocillos usados para la curva de calibración.
5. En las posiciones identificadas añadir con una pipeta 100 µl de los calibradores en duplicado seguidos de 100 µl de las muestras diluidas. Comprobar que los calibradores y las muestras se hayan agregado correctamente.
6. Incubar la microplaca durante 60 min a 37°C.

Nota importante: Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado sólo cuando se hace el test manualmente. No sellar cuando se emplean equipos automatizados de ELISA.

7. Lavar la microplaca con el lavador automático según se indica en la sección 1.3
8. Pipetear 100 µl de Conjugado Enzimático en todos los pocillos excepto en A1 + B1. Incubar la microplaca durante 60 min a 37°C

Nota importante: Tener cuidado de no tocar la superficie interna del pocillo con la punta de la pipeta al dispensar el conjugado. Riesgo de contaminación.

9. Cuando ha finalizado la segunda incubación lavar la microplaca de igual forma que en el paso 1.3.
10. Dispensar 100µl del Cromógeno/Substrato en todos los pocillos, incluido el A1 + B1.

Nota importante: No exponer directamente a fuerte iluminación se generan interferencias.

11. Incubar la microplaca a temperatura ambiente (18-24°C) durante 20 minutos. Los pocillos correspondientes a muestras positivas y a los calibradores positivos, cambiarán de color claro a color azul
12. Dispensar 100µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos para detener la reacción enzimática. Usar la misma secuencia que en el paso 10. La adición de la solución de parada cambia el color de los calibradores positivos y las muestras positivas de azul a amarillo.
13. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se indica en la sección 1.5, con un filtro de 450 nm (lectura) y otro de 620-630 nm (substracción del fondo, recomendado), calibrando el instrumento con el pocillo A1 o B1 o los dos

M.2 ANALISIS CUALITATIVO

1. Poner el número requerido de tiras en el soporte plástico e identificar cuidadosamente los pocillos para los calibradores y las muestras.
2. Diluir las muestras 1:101 dispensando en un tubo 1 ml de diluyente y 10 µl de muestra. Mezclar bien en el vórtex antes de usar. No diluir los calibradores ya que están listos para utilizar
3. Dejar el A1 vacío para la lectura del blanco.
4. Dispensar 50 µl de reactivo neutralizante en todos los pocillos, excepto el A1 que se utiliza como blanco y los pocillos utilizados para los calibradores.
5. Luego pipetear 100 µl del Calibrador 0 arbU/ml dos veces, 100 µl del Calibrador 10 arbU/ml µl dos veces y

finalmente 100µl de muestras diluidas. Comprobar que los calibradores y las muestras se hayan dispensado correctamente.

6. Incubar la microplaca durante 60 minutos a 37°C.

Nota importante: Las tiras tienen que ser selladas con la hoja adhesiva, sólo cuando la prueba se realiza manualmente. No cubrir las tiras al usar los instrumentos automáticos de ELISA.

7. Cuando finaliza la primera incubación, lavar las microplacas según lo descrito previamente (sección 1.3)
8. En todos los pocillos, excepto A1 pipetear 100 µl de conjugado enzimático. Incubar la microplaca durante 60 minutos en 37°C.

Nota importante: Tener cuidado de no tocar la superficie interna del pocillo con la punta de la pipeta al dispensar el conjugado. Riesgo de contaminación.

9. Cuando finaliza la segunda incubación, lavar las microplacas según lo descrito previamente (sección 1.3)
10. Pipetear 100 µl de Cromógeno/Substrato en todos los pocillos, incluso el pocillo A1.

Nota importante: No exponer a luz directa fuerte ya que se puede generar un nivel alto de fondo.

11. Incubar la microplaca protegida de la luz a temperatura ambiente (18-24°C) durante 20 minutos. Los pocillos dispensados con las muestras positivas y con los calibradores positivos cambiarán la coloración de claro a azul.
12. Dispensar 100µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos para detener la reacción enzimática. Usar la misma secuencia que en el paso 10. La adición de la solución de parada cambia el color de los calibradores positivos y las muestras positivas de azul a amarillo.
13. Medir la intensidad del color de la solución en cada uno, según lo descrito en la sección 1.5 usando un filtro 450nm (lectura) y un filtro 620-630nm (substracción del fondo, recomendado), para la lectura del blanco en A1.

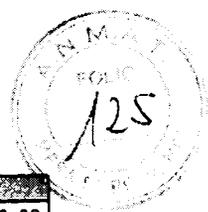
Notas importantes generales

1. Si el segundo filtro no está disponible asegurarse de que no haya huellas digitales presentes en el fondo de la microplaca antes de leer a 450nm. Las huellas digitales podrían generar resultados positivos falsos en la lectura.
2. La lectura tiene que ser realizada inmediatamente tras la adición del reactivo de parada y, en todo caso, antes de haber transcurrido 20 minutos de la misma. En ocasiones, puede ocurrir una cierta oxidación del Cromógeno de TMB produciendo un alto nivel de fondo

N. ESQUEMA DEL ENSAYO.

Método	Operaciones
Reactivo Neutralizante	50 µl
Calibradores (no SOLN NEUT)	100 µl
Muestras diluidas 1:101	100 µl
1ª incubación	60 min
Temperatura	+37°C
Lavado	4-5 ciclos
Conjugado Enzimático	100 µl
2ª incubación	60 min

BIORIS S.A.
 IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT



Temperatura	+37°C
Lavado	4-5 ciclos
TMB/H2O2	100 µl
3ª incubación	20 min
Temperatura	t a *
Ácido Sulfúrico	100 µl
Lectura D.O.	450nm

t a * temperatura ambiente

Esquema de dispensación en ensayos cuantitativos:

		Microplaca											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	CAL4	M3										
B	BL	CAL4	M4										
C	CAL1	CAL5	M5										
D	CAL1	CAL5	M6										
E	CAL2	CAL6	M7										
F	CAL2	CAL6	M8										
G	CAL3	M1	M9										
H	CAL3	M2	M10										

Leyenda BL = Blanco
 CAL = Calibrador M = Muestra

Esquema de dispensación en ensayos cualitativos

		Microplaca											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	M4											
B	CAL1	M5											
C	CAL1	M6											
D	CAL2	M7											
E	CAL2	M8											
F	M1	M9											
G	M2	M10											
H	M3	M11											

Leyenda BL = Blanco // CAL = Calibradores // M = Muestra

O. CONTROL DE CALIDAD INTERNO.

Se realiza un control de validación cada vez que se usa el equipo para verificar el adecuado funcionamiento del ensayo.

Asegurar el cumplimiento de los siguientes parámetros:

Parámetro	Exigencia
Pocillo blanco	< 0.100 OD450nm
Calibrador 0 arbU/ml	< 0.200 OD450nm después del blanco
Calibrador 10 arbU/ml	OD450nm > OD450nm CAL 0 arbU/ml + 0.100
Calibrador 250 arbU/ml	3.500 > OD450nm > 2.000

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

Problema	Compruebe que:
Pocillo blanco > 0.100 OD450nm	La solución cromógeno/substrato no se haya contaminado durante el ensayo.
Calibrador 0 arbU/ml > 0.200 OD450nm después del blanco	1. El proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de cualificación. 2. Se ha utilizado la solución de lavado apropiada y que el lavador ha sido preparado con la misma antes del uso. 3. No se han cometido errores en el procedimiento del ensayo (dispensación de un calibrador positivo en lugar del negativo). 4. No ha existido contaminación del Cal 0 arbU/ml o de sus pocillos debido a muestras positivas, a salpicaduras o al conjugado enzimático. 5. Las micropipetas no se han contaminado con muestras positivas o con el conjugado enzimático. 6. Las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas.
Calibrador 10 arbU/ml < CAL 0 + 0.100	1. El procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. No ha habido errores durante su distribución. 3. El proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de cualificación. 4. No ha ocurrido contaminación externa del calibrador.
Calibrador 250 arbU/ml < 2.000 OD450nm	1. El procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. No ha habido errores durante su distribución. 3. El proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de cualificación. 4. No ha ocurrido contaminación externa del calibrador.
Calibrador 250 arbU/ml > 3.500 OD450nm después del blanco	1. El proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de cualificación. 2. Se ha utilizado la solución de lavado apropiada y que el lavador ha sido preparado con la misma antes del uso. 3. No se han cometido errores en el procedimiento del ensayo (dispensación de un calibrador positivo en lugar del negativo). 4. No ha existido contaminación del Cal 250 arbU/ml o de sus pocillos debido a muestras positivas, a salpicaduras o al conjugado enzimático. 5. Las micropipetas no se han contaminado con muestras positivas o con el conjugado enzimático. 6. Las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas.

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

Handwritten signature



P. RESULTADOS.

Si la prueba resulta ser válida, la interpretación de los resultados se realiza en el análisis cuantitativo a partir del valor medio de la OD450nm de la curva de calibración elaborado con un sistema apropiado de ajuste a la curva (recomendación 4 parámetros).

En análisis cualitativo la interpretación de resultados se hace en el valor medio de OD450nm del calibrador 10 arU/ml (o CAL 2) por medio de la fórmula siguiente:

Valor medio OD450nm CAL 2 = Valor de corte

Nota Importante Cuando el cálculo de los resultados se halla mediante el sistema operativo de un equipo de ELISA automático, asegurarse de que la fórmula usada para el cálculo de valor de corte, y para la interpretación de los resultados sea correcta

Q. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Q.1 ANALISIS CUANTITATIVO

Las concentraciones en arU/ml son obtenidas a partir de los valores de OD450nm de las muestras sobre la curva de calibración ajustada. La concentración de IgM, según la bibliografía, se correlaciona proporcionalmente con el daño hepático producido por los anticuerpos frente a VHC como consecuencia de la replicación del virus en los hepatocitos. Una disminución de la concentración de IgM tras el tratamiento farmacológico generalmente se interpreta clínicamente como signo de mejoría y de eficacia terapéutica

Q.2 ANALISIS CUALITATIVO

Los resultados de la prueba se interpretan como un cociente del valor de la muestra OD450nm (M) y del valor de corte (Co) o M/Co, según la tabla siguiente:

M/Co	Interpretación
< 1.0	Negativo
> 1.0	Positivo

Un resultado negativo indica que el paciente no ha desarrollado los anticuerpos de IgM frente al VHC
 Un resultado positivo es indicativo de una infección activa en curso de VHC

Notas importantes:

1. La interpretación de los resultados debe hacerse bajo la vigilancia del responsable del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio y de interpretación
2. Cuando se transmiten los resultados de la prueba del laboratorio a otros sistemas, la transmisión debe ser cuidadosa para evitar el traslado de datos erróneos
3. El diagnóstico de infección con un virus de la hepatitis debe ser evaluado y comunicado al paciente por un médico cualificado.
4. Los resultados de este análisis ELISA se deben implementar junto con otras pruebas clínicas y de diagnóstico

A continuación, un ejemplo de los cálculos a realizar:

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

CAL 1: 0.060 – 0.080 OD450nm
 Valor medio: 0.070 OD450nm
 Menor que 0.200 – Valido

CAL 2: 0.200 – 0.220 OD450nm
 Valor medio: 0.210 OD450nm
 Mayor que CAL 1+0.100 = Válido
 Valor de corte o Co = 0.210

Muestra 1: 0.080 OD450nm
 Muestra 2: 1.800 OD450nm
 Muestra 1 S/Co < 1.0 = negativo
 Muestra 2 S/Co > 1.0 = positivo

R. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO.

La evaluación del funcionamiento ha sido realizada utilizando paneles seleccionados, en un centro clínico externo.

1. Límite de detección.

Hasta el momento la Comunidad Europea no ha definido un estándar internacional para la detección de anticuerpos IgM frente al HCV. En su defecto, se ha establecido un "Gold Standard" interno (IGS) a partir de un paciente con una historia de infección crónica por HCV, con el propósito de garantizar una sensibilidad óptima.

2. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICAS.

Las características de funcionamiento a nivel diagnóstico se evaluaron en un estudio llevado a cabo en un centro clínico externo, con experiencia excelente en la diagnóstico de enfermedades infecciosas y del VHC. La sensibilidad diagnóstica se estudió en aproximadamente 200 muestras, que habían resultado positivas utilizando un sistema analítico desarrollado "in house" por el laboratorio clínico en el que se llevó a cabo el estudio. Las muestras positivas se obtuvieron de pacientes con historia clínica de infección por el VHC (aguda y crónica). Además, algunos paneles del Seroconversion, procedentes de Boston Biomedica Inc. los E.E.U.U., fueron examinados. La especificidad diagnóstica fue determinada en paneles de más de 300 muestras negativas de individuos normales y de donantes de sangre clasificadas negativas frente a anticuerpos de VHC con el equipo de referencia usado en el laboratorio, incluyendo muestras potencialmente interferentes. También se examinó un panel de muestras potencialmente interferentes (RF+, hemolizadas, lipémicas, etc.) No se observó ninguna interferencia en las muestras examinadas. Para determinar la especificidad, se han usado sueros y plasmas obtenidos mediante diversas técnicas estándar de preparación (citrato, EDTA y heparina). No se ha observado falsa reactividad debido al método de preparación de las muestras. Se han analizado muestras congeladas para comprobar si la congelación de las muestras interfiere con el funcionamiento de la prueba. No se observó ninguna interferencia en muestras limpias y libres de partículas. La evaluación de funcionamiento proporcionó los valores siguientes:

Sensibilidad	> 98 %
Especificidad	> 98 %

[Handwritten signature]
 BIOMARKS S.A.
 IF-2018-23939445-APN INRM#ANMAT
 BRUNO CLAUDIO FIGUEROA
 DIRECTOR TÉCNICO



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2018-23939445-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Lunes 21 de Mayo de 2018

Referencia: 1-47-3110-5178-16-0

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 25 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=MINISTERIO DE MODERNIZACION
cu=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2018.05.21 12:55:30 -03'00'

Mariano Pablo Manenti
Jefe I

Dirección Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT
30715117564
Date: 2018.05.21 12:55:36 -03'00'