



**República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional**  
Las Malvinas son argentinas

**Disposición**

**Número:**

**Referencia:** EX-2021-86572011-APN-DGA#ANMAT

---

VISTO el N° EX-2021-86572011-APN-DGA#ANMAT del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma **CHEMTEST ARGENTINA S.A.** solicita autorización para la venta del Producto médico para diagnóstico *in vitro* denominado: **CHEMLIS® Chagas R-iELISA**.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia y corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico para diagnóstico *in vitro* objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico *in vitro* **CHEMLIS® Chagas R-iELISA** de acuerdo con lo solicitado por CHEMTEST ARGENTINA S.A., con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulos y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-113808211-APN-INPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM 2360-2”, con exclusión de toda otra leyenda no autorizada y/o contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4°.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5°.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica a los nuevos productos. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4°. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

**NOMBRE COMERCIAL: CHEMLIS® Chagas R-iELISA.**

**MODELO: REF: 15-CL01.**

**INDICACIÓN DE USO:** Kit de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) indirecto para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el *Trypanosoma cruzi*, agente causante de la enfermedad de Chagas, en muestras de suero o plasma obtenido con heparina, citrato de sodio o EDTA.

**FORMA DE PRESENTACIÓN:** Envases por 192 o 384 determinaciones conteniendo:

	<b>REF:15-CL01-2P</b>	<b>REF:15-CL01-4P</b>
Componentes	2 placas por 192 determinaciones	4 placas por 384 determinaciones
Microplaca de análisis	2 microplacas con 96 pocillos (12 strips x 8 pocillos con marco) cada una	4 microplacas con 96 pocillos (12 strips x 8 pocillos con marco) cada una
Conjugado Liofilizado	2 unidades	4 unidades

Solución sustrato-cromógeno	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de frenado	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de lavado	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)
Diluyente de muestra	1 x 120 ml	2 x 120 ml
Control positivo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Control negativo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Bolsa de polietileno	1 unidad	1 unidad

**PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN:** 12 (DOCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C.

**NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** CHEMTEST ARGENTINA S.A., Av. 25 de Mayo 1021, Edificio de la Fundación Argentina de Nanotecnología, San Martín, Buenos Aires (ARGENTINA).

**CONDICIÓN DE USO/CATEGORÍA:** USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Nº EX-2021-86572011-APN-DGA#ANMAT

AM



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
Las Malvinas son argentinas

**Certificado - Redacción libre**

**Número:**

**Referencia:** EX-2021- 86572011-APN-DGA#ANMAT

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN

PRODUCTOS MEDICOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

Nº EX-2021- 86572011-APN-DGA#ANMAT

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que, de acuerdo con lo solicitado por la firma **CHEMTEST ARGENTINA S.A.**, se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto médico para diagnóstico in vitro con los siguientes datos identificatorios característicos:

**NOMBRE COMERCIAL:** CHEMLIS® Chagas R-iELISA.

**MODELO:** REF: 15-CL01.

**INDICACIÓN DE USO:** Kit de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) indirecto para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el Trypanosoma cruzi, agente causante de la enfermedad de Chagas, en muestras de suero o plasma obtenido con heparina, citrato de sodio o EDTA.

**FORMA DE PRESENTACIÓN:** Envases por 192 o 384 determinaciones conteniendo:

	<b>REF:15-CL01-2P</b>	<b>REF:15-CL01-4P</b>
Componentes	2 placas por 192 determinaciones	4 placas por 384 determinaciones
Microplaca de análisis	2 microplacas con 96 pocillos (12 strips x 8 pocillos con marco) cada una	4 microplacas con 96 pocillos (12 strips x 8 pocillos con marco) cada una

Conjugado Liofilizado	2 unidades	4 unidades
Solución sustrato-cromógeno	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de frenado	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de lavado	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)
Diluyente de muestra	1 x 120 ml	2 x 120 ml
Control positivo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Control negativo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Bolsa de polietileno	1 unidad	1 unidad

**PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN:** 12 (DOCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C.

**NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** CHEMTEST ARGENTINA S.A., Av. 25 de Mayo 1021, Edificio de la Fundación Argentina de Nanotecnología, San Martín, Buenos Aires (ARGENTINA).

**CONDICIÓN DE USO/CATEGORÍA:** USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del

**PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 2360-2.**

Nº EX-2021-86572011 -APN-DGA#ANMAT

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2022.11.03 18:25:06 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.11.03 18:25:07 -03:00


## CHEMLIS® Chagas R-iELISA

### Rótulos externos e internos

#### -Presentación 2 microplacas (REF: 15-CL01-2P)

#### Rótulos externos

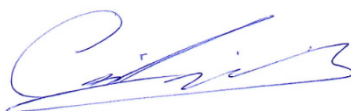
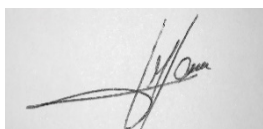
A) Principal (arriba) (166 mm x 95 mm): etiqueta principal con la denominación, números de referencia y lote, número de determinaciones, fecha de vencimiento y temperatura de conservación.












The image shows a rectangular label for the CHEMLIS® Chagas R-iELISA kit. The label is white with a blue border and contains the following information:

- Top Right:** CHEMTEST logo (three blue curved lines).
- Top Left:** CHEMLIS® Chagas R-iELISA in large black font.
- Center:** Kit para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en muestras de suero y plasma de humanos. Below it, the English translation: *Kit for the detection of antibodies against Trypanosoma cruzi in human serum and plasma*.
- Below Center:** Autorizado por ANMAT PM 2360-02. Below that, a blue box with the text: IVD Diagnóstico in vitro / In vitro diagnostics.
- Bottom Section (Blue Background):**
  - Left:** ELISA logo (four white circles) and Humanos logo (white person icon).
  - Center:** REF 15-CL01-2P and LOT 15-CL01/2003-1.
  - Right:** 192 (with a downward arrow icon), 03/2021 (with a calendar icon), and 20°C to 8°C (with a thermometer icon).
  - Bottom Right:** Chemtest Argentina S.A. Director Técnico: Andrés E. Ciocchini. Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina. info@chemtest.net - chemtest.net.

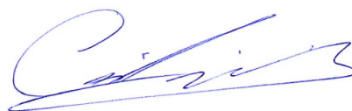
B) Etiqueta lateral (140 mm x 80 mm): tabla con los logos que se usan y su significado en español e inglés.



CHEMLIS®	
Símbolo / Symbol	
	Fecha de vencimiento / Expiration date
	Número de catálogo / Catalog number
	Lote / Batch code
	Para diagnóstico in vitro / For in vitro diagnostic use only
	Límites de temperatura / Temperature limits
	Consultar instrucciones para su uso / See instructions for use
	Número de determinaciones / Number of determinations
	Fabricante / Manufacturer
	Riesgo biológico / Biological risks

**C) Etiqueta lateral (140 mm x 80 mm):** tabla con los componentes del kit según presentación en español e inglés.

esp			eng		
CHEMLIS® Chagas R-iELISA			CHEMLIS® Chagas R-iELISA		
Componentes / Presentaciones			Kit components / Presentations		
Componentes	REF: 15-CL01-2P	REF: 15-CL01-4P	Components	REF: 15-CL01-2P	REF: 15-CL01-4P
Microplaca de análisis	2 microplacas (192 deter.)	4 microplacas (384 deter.)	Microplates	2 microplates (192 tests)	4 microplates (384 tests)
Conjugado	2 unidades	4 unidades	Conjugate	2 units	4 units
Solución sustrato-cromógeno	1 x 30 ml	1 x 60 ml	Substrate-chromogen solution	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de frenado	1 x 30 ml	1 x 60 ml	Stop solution	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de lavado	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)	Wash solution	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 liters)	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 liters)
Diluyente de muestra	1 x 120 ml	2 x 120 ml	Sample diluent	1 x 120 ml	2 x 120 ml
Control positivo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml	Positive control	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Control negativo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml	Negative control	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Bolsa de polietileno	1 unidad	1 unidad	Polyethylene bag	1 unit	1 unit
Manual de instrucciones	1 unidad	1 unidad	Instruction manual	1 unit	1 unit

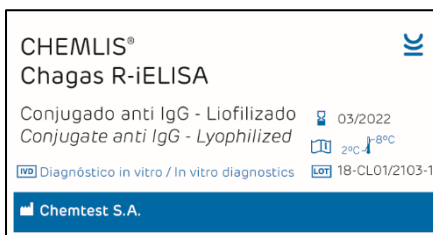


## Rótulos internos

### A) CONTROLES (35 mm x 20 mm):



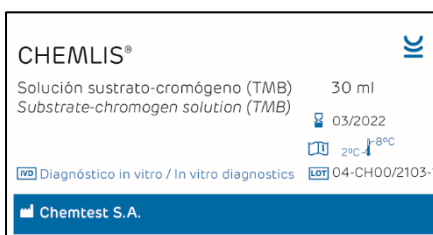
### B) CONJUGADO (58 mm x 30 mm): x2



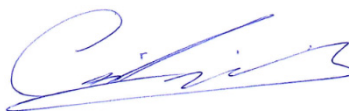
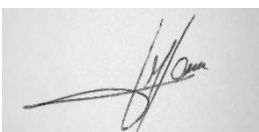
### C) SOLUCION DE LAVADO (58 mm x 30 mm):

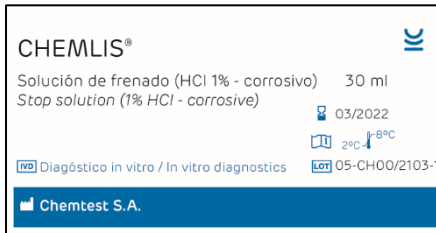


### D) SOLUCION SUSTRATO-CROMOGENO (58 mm x 30 mm):



### E) SOLUCION DE FRENADO (58 mm x 30 mm):

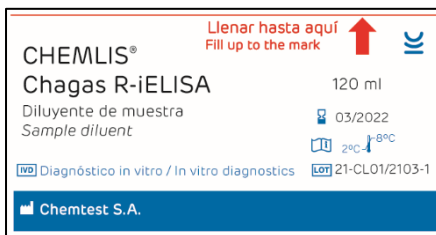




**F) MICROPLACA (58 mm x 30 mm): x2**



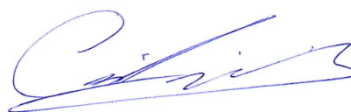
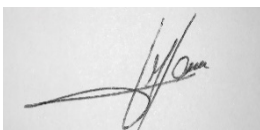
**G) DILUYENTE DE MUESTRA (58 mm x 30 mm):**




**-Presentación 4 microplacas (REF: 15-CL01-4P)**

**Rótulos externos**

**A) Principal (arriba) (166 mm x 95 mm): etiqueta principal con la denominación, números de referencia y lote, número de determinaciones, fecha de vencimiento y temperatura de conservación.**






## CHEMLIS® Chagas R-iELISA

Kit para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en muestras de suero y plasma de humanos


*Kit for the detection of antibodies against Trypanosoma cruzi in human serum and plasma*

Autorizado por ANMAT PM 2360-02

IVD Diagnóstico in vitro / In vitro diagnostics



ELISA




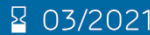
Humanos



REF

 15-CL01-4P  

LOT


 15-CL01/2003-1

 384  
 03/2021

 2°C - 8°C  








Chemtest Argentina S.A. Director Técnico: Andrés E. Ciocchini.  
 Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.  
 info@chemtest.net - chemtest.net

**B) Etiqueta lateral (140 mm x 80 mm):** tabla con los logos que se usan y su significado en español e inglés.

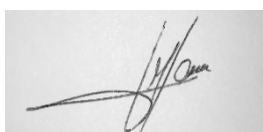
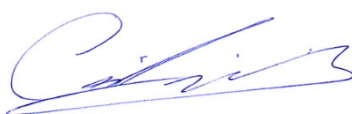


## CHEMLIS®

Símbolo / Symbol

	Fecha de vencimiento / Expiration date
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	Número de catálogo / Catalog number
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">LOT</span>	Lote / Batch code
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	Para diagnóstico in vitro / For in vitro diagnostic use only
	Límites de temperatura / Temperature limits
	Consultar instrucciones para su uso / See instructions for use
	Número de determinaciones / Number of determinations
	Fabricante / Manufacturer
	Riesgo biológico / Biological risks

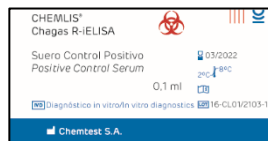
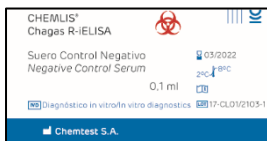
**C) Etiqueta lateral (140 mm x 80 mm):** tabla con los componentes del kit según presentación en español e inglés.

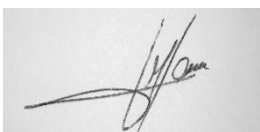
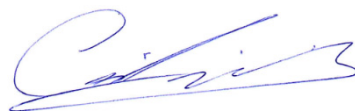
esp CHEMLIS® Chagas R-iELISA Componentes / Presentaciones			eng CHEMLIS® Chagas R-iELISA Kit components / Presentations		
Componentes	REF: 15-CL01-2P	REF: 15-CL01-4P	Components	REF: 15-CL01-2P	REF: 15-CL01-4P
Microplaca de análisis	2 microplacas (192 deter.)	4 microplacas (384 deter.)	Microplates	2 microplates (192 tests)	4 microplates (384 tests)
Conjugado	2 unidades	4 unidades	Conjugate	2 units	4 units
Solución sustrato-cromógeno	1 x 30 ml	1 x 60 ml	Substrate-chromogen solution	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de frenado	1 x 30 ml	1 x 60 ml	Stop solution	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de lavado	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)	Wash solution	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 liters)	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 liters)
Diluyente de muestra	1 x 120 ml	2 x 120 ml	Sample diluent	1 x 120 ml	2 x 120 ml
Control positivo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml	Positive control	1 x 0.1 ml	1 x 0.1 ml
Control negativo	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml	Negative control	1 x 0.1 ml	1 x 0.1 ml
Bolsa de polietileno	1 unidad	1 unidad	Polyethylene bag	1 unit	1 unit
Manual de instrucciones	1 unidad	1 unidad	Instruction manual	1 unit	1 unit

## Rótulos internos

### A) CONTROLES (35 mm x 20 mm):



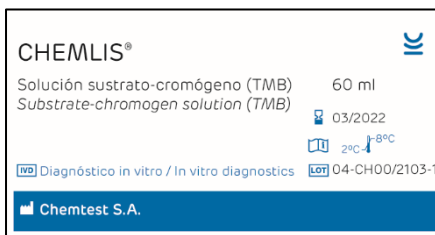
### B) CONJUGADO (58 mm x 30 mm): x4

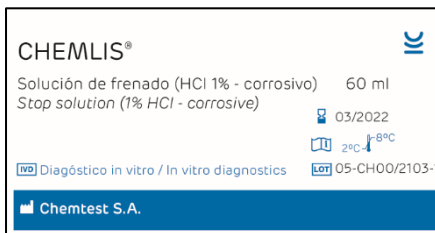
**C) SOLUCION DE LAVADO (58 mm x 30 mm):**



**D) SOLUCION SUSTRATO-CROMOGENO (58 mm x 30 mm):**



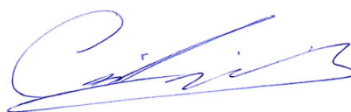
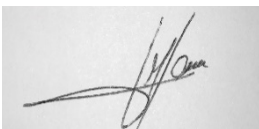
**E) SOLUCION DE FRENADO (58 mm x 30 mm):**



**F) MICROPLACA (58 mm x 30 mm): x4**

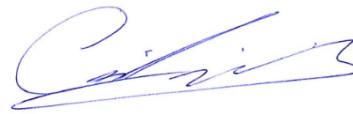


**G) DILUYENTE DE MUESTRA (58 mm x 30 mm): x 2**





Juan Manual Capece  
Presidente



Andrés E. Ciochini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

# CHEMLIS® Chagas R-iELISA



Kit de ELISA indirecto para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en muestras de suero y plasma de humanos.

*Indirect ELISA kit for the detection of anti *Trypanosoma cruzi* antibodies in human serum and plasma.*

Juan Manuel Capece  
Presidente

Andrés E. Ciocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

Autorizado por ANMAT PM 2360-02



ELISA



Humanos



Chemtest Argentina S. A.  
Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.  
info@chemtest.net - chemtest.net

CHEMLIS®  
Chagas R-iELISA

## Componentes / Presentaciones

Componentes	Descripción	REF: 15-CLO1-2P Presentación 2 placas	REF: 15-CLO1-4P Presentación 4 placas
Microplaca de análisis	Microplacas de 96 pocillos (12 strips x 8 pocillos con marco) recubiertas con los antígenos, selladas y almacenadas en seco	2 microplacas (192 determinaciones)	4 microplacas (384 determinaciones)
Conjugado	Liofilizado (anticuerpos anti-IgG humana conjugados con peroxidasa de rábano)	2 unidades	4 unidades
Solución sustrato-cromógeno	Lista para usar [3,3',5,5'-Tetrametilbencidina en solución de sustrato con peróxido de hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )] – CONSERVAR EN OSCURIDAD	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de frenado	Lista para usar (contiene ácido clorhídrico 1%) - CORROSIVO	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de lavado	Concentrada 10X	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)	1 x 120 ml, 10X (c. s. p. 1,2 litros)
Diluyente de muestra	Para reconstituir - CONTIENE CONSERVANTE [Timerosal (C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> HgNaO <sub>2</sub> S) 0,01%]	1 x 120 ml	2 x 120 ml
Control positivo	Suero inactivado - CONTIENE CONSERVANTE [Timerosal (C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> HgNaO <sub>2</sub> S) 0,01%]	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Control negativo	Suero inactivado - CONTIENE CONSERVANTE [Timerosal (C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> HgNaO <sub>2</sub> S) 0,01%]	1 x 0,1 ml	1 x 0,1 ml
Bolsa de polietileno	Con cierre hermético. Reutilizable.	1 unidad	1 unidad
Manual de instrucciones		1 unidad	1 unidad






## Nombre y aplicación

### CHEMLIS® Chagas R-iELISA

Kit de ELISA indirecto para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en muestras de suero y plasma de humanos.

El kit CHEMLIS® Chagas R-iELISA es un kit de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) indirecto para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el *Trypanosoma cruzi*, agente causante de la enfermedad de Chagas, en muestras de suero o plasma obtenido con heparina, citrato de sodio o EDTA. Gracias a su exclusiva combinación de cuatro antígenos recombinantes, el kit posee un excelente desempeño diagnóstico. CHEMLIS® Chagas R-iELISA puede usarse como test de screening y/o confirmatorio.

### Introducción

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas constituye un importante problema de salud y económico en América Latina. Esta enfermedad es causada por el protozoo parásito *Trypanosoma cruzi*. Este parásito se encuentra en todo el continente americano en una variedad de reservorios mamíferos silvestres y domésticos, y se transmite por la picadura de insectos hematófagos triatomíneos infectados. Además de la transmisión vectorial, los humanos pueden infectarse con *T. cruzi* por ingestión de alimentos y líquidos contaminados, de madre a hijo durante el embarazo y mediante transfusión de sangre contaminada o trasplante de órganos. Actualmente, se estima que hay entre 10 y 12 millones de personas infectadas y 120 millones de personas que viven en áreas endémicas están en riesgo de infección y, por lo tanto, en riesgo de desarrollar patología cardíaca o intestinal normalmente asociada con la enfermedad de Chagas crónica. El aumento de los

viajes y la inmigración también ha llevado el riesgo de infección por *T. cruzi* a países no endémicos como España, Australia y los Estados Unidos, donde ya se han notificado algunos casos autóctonos de transmisión.

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas constituye un desafío importante para los médicos porque a menudo es asintomática durante la fase aguda y evoluciona a una etapa crónica que tiene diferentes formas clínicas. Además, y debido a una disminución importante en la parasitemia durante la fase crónica de la enfermedad, la detección de *T. cruzi* en muestras de sangre por examen directo, hemocultivo o xenodiagnóstico es difícil, laborioso y lento. Por lo tanto, la detección de anticuerpos anti *T. cruzi* (típicamente en muestras de sangre) sigue siendo el método más eficaz para demostrar la exposición directa al parásito. En la actualidad, los métodos serológicos más utilizados son el ensayo de hemaglutinación indirecta (IHA), la inmunofluorescencia indirecta (IIF) y el ELISA utilizando homogeneizados de parásitos totales o fracciones antigénicas semi-purificadas. A pesar de su simplicidad y bajo costo, estas pruebas muestran variaciones en su reproducibilidad y confiabilidad que pueden atribuirse a la pobre estandarización en la preparación de los antígenos. Las tecnologías del ADN recombinante y la síntesis de péptidos permite la producción y la purificación en un solo paso de grandes cantidades de antígenos inmunodominantes de *T. cruzi*. Una ventaja adicional de los antígenos recombinantes y los péptidos sintéticos es que minimizan los problemas de especificidad, uno de los principales inconvenientes del inmunodiagnóstico de la enfermedad de Chagas.

### Principio de la técnica

El kit CHEMLIS® Chagas R-iELISA es un ensayo inmunoenzimático indirecto en fase sólida basado en la detección de IgG contra *Trypanosoma cruzi*. En este



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Clocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

ensayo los anticuerpos presentes en la muestra reaccionan con los antígenos recombinantes (combinación exclusiva de cuatro proteínas recombinantes) que recubren los pocillos. Si la muestra contiene anticuerpos contra estas proteínas de *Trypanosoma cruzi*, estos se unen al pocillo. Al añadir los anticuerpos anti-IgG humana conjugados a peroxidasa de rábano (HRP), se forma un complejo con los anticuerpos IgG unidos al pocillo. El material libre es eliminado mediante lavados antes de agregar la solución sustrato-cromógeno. El color azul que aparece es el producto de la reacción del sustrato-cromógeno con el conjugado y la intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra que reaccionan con los antígenos. Cuanto mayor es el título de anticuerpos presentes en la muestra, más intenso es el desarrollo de color en los pocillos de ensayo. La reacción se detiene mediante el agregado de la solución de frenado y se observa un cambio de color al amarillo. La lectura de los resultados se realiza en un espectrofotómetro de microplacas midiendo la absorbancia (Abs) a 450 nm.

## Almacenamiento y vencimiento

Conservación: entre 2 y 8°C.

Temperatura de transporte: 4 a 15°C hasta 72 horas.

La conservación correcta de todos los componentes del kit permitirá el uso del mismo hasta la fecha de caducidad.

Período de vida útil: 12 meses. No utilizar componentes de diferentes lotes o después de la fecha de vencimiento.

## Materiales necesarios que no se suministran

- Pipeta multicanal y micropipetas (10, 100 y 1000 µl) de alta precisión.
- Contenedores para pipeta multicanal.
- Puntas de pipetas desechables.
- Lector de microplacas capaz de medir la absorbancia (Abs) a 450 nm.

- Agitador orbital.
- Cronómetro.
- Tubos para la dilución de los controles y muestras.
- Recipiente (probeta) para preparación de solución de lavado.
- Agua destilada (Tipo II) o ultrapura (Tipo I).
- Cobertor para microplacas (tapa, papel aluminio o film adhesivo).

## Precauciones de uso

1. Leer atentamente y seguir todas las instrucciones de uso ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el manual de instrucciones incluido en el kit.
2. Conservar el kit y todos sus componentes a 2-8°C.
3. Antes de usar dejar que todos los componentes del kit alcancen la temperatura ambiente (20-25°C), y colocar nuevamente a 2-8°C después de su uso.
4. Manipular todos los reactivos siguiendo la Buenas Prácticas de Laboratorio.
5. Las muestras, como así también los controles positivo y negativo, deben considerarse potencialmente infecciosas y, por lo tanto, estas y los componentes del kit que las contactan deben manipularse con guantes y descartarse como residuo patológico según normativa legal vigente. La Solución de frenado contiene ácido clorhídrico (corrosivo). Su contacto con la piel genera irritación y debe manipularse con guantes. El resto de los componentes del kit no representan ningún riesgo potencial para la salud y el medio ambiente.
6. No usar el kit pasada la fecha de caducidad o si los componentes no fueron conservados en las condiciones indicadas arriba.
7. No mezclar componentes o manuales de instrucciones de kits de distintos lotes.
8. Manipule los componentes del kit con cuidado para evitar la contaminación de los mismos.
9. Si se reutilizan los contenedores para pipeta multicanal, los



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Clocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

mismos deben ser lavados de forma exhaustiva con agua de alta calidad e identificados para ser reutilizados con la misma solución.

10. Usar puntas de pipetas distintas para cada reactivo y para cada muestra.

11. Incluir los controles positivo y negativo, y el blanco de muestra al menos por duplicado en cada serie de análisis.

12. Para la reconstitución de los reactivos usar solamente agua destilada (Tipo II) o ultrapura (Tipo I).

### **Preparación de reactivos para una microplaca de análisis (96 reacciones)**

#### **a. Solución de lavado 1X**

Llevar la Solución de lavado concentrada 10X a temperatura ambiente (20- 25°C) y agitar muy bien para garantizar la completa disolución de posibles precipitados.

La Solución de lavado concentrada 10X debe diluirse 1/10 con agua destilada (Tipo II) o ultrapura (Tipo I); por ejemplo, agregando 30 ml de Solución de lavado 10X a 270 ml de agua (cantidad suficiente de Solución de lavado 1X para procesar una microplaca: 13 ml para reconstituir el conjugado IgG, 120 ml para reconstituir el Diluyente de muestra y el resto para los lavados). Mezclar muy bien antes de usar. Una vez preparada, la Solución de lavado 1X se puede conservar a 2-8°C durante 7 días.

Se recomienda preparar c.s.p. procesar las placas del día.

#### **b. Conjugado**

Reconstituir el conjugado liofilizado añadiendo 13 ml (por frasco) de la Solución de lavado 1X preparada previamente (ver ítem anterior). Añadir la solución de lavado cuidadosamente. Dejar reposar el frasco un minuto y mezclar muy bien. Preparar inmediatamente antes de usar.

Para una mayor exactitud, se recomienda pipetear los 13 ml utilizando dos marcas

de graduación de la pipeta (por ejemplo: pipeteando dos veces de cero a 6,5 ml.

La solución de conjugado sobrante se puede alicuotar en tubos tipo eppendorf y conservar a -20°C (no se puede conservar en el refrigerador) durante un tiempo máximo de 3 meses. En este período de tiempo cada alícuota se puede congelar y descongelar una sola vez.

#### **c. Diluyente de muestra**

Reconstituir el Diluyente de muestra agregando la Solución de lavado 1X preparada previamente hasta el nivel indicado en el frasco correspondiente (120 ml) y mezclar muy bien hasta lograr una completa disolución. Preparar inmediatamente antes de usar.

El Diluyente de muestra remanente se puede conservar en el refrigerador (2 a 8°C) hasta 3 meses o a -20°C durante un año. Antes de usar, descongelar totalmente, llevar a temperatura ambiente y mezclar muy bien hasta completa disolución.

### **Preparación de los controles para una microplaca de análisis (96 reacciones)**

#### **a. Control positivo (CP) y control negativo (CN)**

Los controles (CP y CN) deben diluirse 1:200 utilizando el Diluyente de muestra.

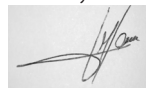
Agregar 2 µl del control correspondiente a 400 µl de Diluyente de muestra (dilución 1:200) y mezclar bien. Usar 100 µl de cada control diluido por pocillo y por duplicado.

#### **b. Blanco de muestra (BM)**

En cada placa se debe agregar un blanco de muestra (BM) constituido por el Diluyente de muestra. Dispensar directamente y por duplicado 100 µl por pocillo del Diluyente de muestra.

### **Preparación de las muestras**

Las muestras de suero o plasma deben diluirse 1:200 utilizando el Diluyente de muestra. Para



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Clocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

ello, agregar 2 µl de muestra a 400 µl de Diluyente de muestra. Se utilizan 100 µl de muestra diluida por pocillo.

#### Notas:

-Se recomienda analizar muestras de suero o plasma (obtenidas con heparina, citrato de sodio o EDTA como anticoagulante) recientemente obtenidas (frescas) y libres de turbidez.

-Si las muestras contienen partículas o un alto contenido de triglicéridos deberán clarificarse mediante centrifugación.

-Si las muestras no se analizan en forma inmediata estas se pueden conservar refrigeradas en la heladera (2 a 8 °C) hasta 72 hs. Para una conservación más prolongada conservar a -20°C (-15 a -20°C) teniendo en cuenta que durante la conservación y como consecuencia del proceso de congelado y descongelado el título de anticuerpos puede cambiar y producir resultados erróneos. Si las muestras se congelan, estas se deben descongelar totalmente, homogeneizar y centrifugar antes de realizar el análisis.

-Se recomienda analizar las muestras al menos por duplicado.

-Las muestras contaminadas y/o en mal estado pueden producir resultados erróneos.

## Procedimiento de la prueba

1. Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20-25°C). No retirar la placa de su envoltorio hasta que la misma haya alcanzado la temperatura ambiente. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los strips de 8 pocillos necesarios para analizar los controles y las muestras. Guardar el resto de los strips, junto con los desecantes, en la bolsa de polietileno con cierre hermético incluida en el kit y volver a almacenar en el refrigerador (2-8°C).

Nota: una vez abierto el envoltorio original de la placa los strips se pueden conservar en la bolsa de polietileno herméticamente cerrada y con los desecantes, y en el refrigerador (2-8°C) hasta 4 meses mientras no supere la fecha de vencimiento indicada en la caja.

2. Agregar por duplicado 100 µl por pocillo del control positivo, control negativo y blanco de muestra. Ver ítem-Preparación de los controles.

3. Agregar 100 µl por pocillo de cada muestra. Ver ítem-Preparación de las muestras.

4. Cubrir la placa e incubar a temperatura ambiente (20-25°C) con agitación orbital suave durante 1 hora.

5. Lavar 4 veces con 200 µl de Solución de lavado 1X por pocillo. Ver ítem Preparación de reactivos.

Nota: retirar el líquido completamente después de cada lavado por volcado y golpeando la placa sobre material absorbente o aspiración con pipeta. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de agregar el reactivo siguiente.

6. Agregar 100 µl del Conjugado a cada pocillo. Ver ítem-Preparación del conjugado. Cubrir la placa e incubar a temperatura ambiente (20-25°C) con agitación orbital suave durante 1 hora.

7. Repetir el paso 5.

8. Agregar 100 µl de Solución sustrato-cromógeno en cada pocillo e incubar con agitación orbital suave durante 10 minutos ( $\pm 1$  minuto) a temperatura ambiente (20-25°C) y en oscuridad (por ejemplo, cubrir la placa con papel aluminio). Comenzar a contar el tiempo luego de llenar el primer pocillo.

9. Detener la reacción agregando 100 µl de Solución de frenado en cada pocillo y mezclar cuidadosamente aplicando ligeros golpes en los bordes de la placa. La Solución de frenado debe agregarse en el mismo orden y velocidad que la Solución sustrato-cromógeno (ver paso 8).

10. Medir la absorbancia a 450 nm utilizando un espectrofotómetro de placas. No es necesario realizar una lectura de blanco. Realizar la lectura dentro de los 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

Nota: muestras con altos valores de reactividad pueden dar lugar a la aparición de un precipitado del color negro debido a la precipitación del sustrato.

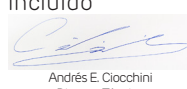
## Cálculos

### Expresión de los resultados

Los resultados se expresan como porcentaje de reactividad (PR) con respecto al control positivo incluido



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Clocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

en cada ensayo ( $PR_{CP} = 100\%$ ). Los valores de absorbancia medidos a 450 nm ( $Abs_{450}$ ) de cada muestra y del control negativo (CN) se relacionan con el valor de  $Abs_{450}$  del control positivo (CP) de la siguiente forma:

$$PR_{Muestra} = \frac{Abs_{450} \text{ Muestra}^*}{\text{Promedio } Abs_{450} \text{ CP}} \times 100$$

\*  $Abs_{450}$  promedio en caso de procesar las muestras por duplicado.

### Criterios de validez de la prueba

Para confirmar la validez del ensayo deben cumplirse los siguientes criterios:

- El valor del promedio de  $Abs_{450}$  del CP debe ser mayor a 1,6 (Promedio  $Abs_{450}$  CP > 1,6).
- Los valores de  $Abs_{450}$  de los duplicados de los controles (CP y CN) y las muestras no deben diferir en más del 20% con respecto al promedio del duplicado.
- Los valores de  $Abs_{450}$  del Blanco de muestra (Bic Mtra) deben ser inferiores a 0,1 ( $Abs_{450}$  Bic Mtra < 0,1).
- El valor promedio de la  $Abs_{450}$  del CN debe ser menor a 0,15 (Promedio  $Abs_{450}$  CN < 0,15).
- La relación Promedio  $Abs_{450}$  CP / Promedio  $Abs_{450}$  CN debe ser mayor a 10,5 (Promedio  $Abs_{450}$  CP / Promedio  $Abs_{450}$  CN > 10,5).

Si no se cumple alguno de estos criterios, la prueba no se puede considerar válida. En este caso la prueba debe repetirse ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el manual de instrucciones incluido en el kit.

### Interpretación de los resultados

Los resultados de las muestras deben interpretarse de la siguiente manera:

Muestra (dilución 1:200)

PR	Interpretación
≤ 21 %	No Reactivo
> 21 ≤ 25,5 %	Indeterminado
> 25,5 %	Reactivo

En caso de obtener un resultado "Indeterminado" la prueba se debe repetir con la misma muestra. Si el resultado es todavía indeterminado, se recomienda ensayar una segunda muestra obtenida después de un período de, por lo menos, 3 semanas. Si con la nueva muestra se obtiene nuevamente un resultado indeterminado, debería contemplarse la situación epidemiológica y analizar la muestra con otra técnica si esto fuera posible.

### Evaluación de desempeño

#### Sensibilidad y especificidad diagnóstica

Para determinar la sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo, se analizaron más de 390 muestras de suero obtenidas de pacientes con diagnóstico de Chagas agudo o crónico y de individuos sanos. A partir de los resultados obtenidos con estas muestras se realizó un análisis por curvas ROC (receiver-operating-analysis) y se determinó que tomando un valor de corte (cut-off) de 23% CHEMLIS® Chagas R-iELISA tiene una sensibilidad diagnóstica del 100% y una especificidad del 100%.

#### Efecto hook

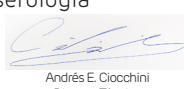
A partir del análisis de muestras con altos títulos de anticuerpos específicos anti T. cruzi se determinó que el kit CHEMLIS® Chagas R-iELISA no presenta efecto hook en la detección de anticuerpos IgG.

#### Reactividad cruzada

La reactividad cruzada de CHEMLIS® Chagas R-iELISA se evaluó analizando muestras clínicas obtenidas de pacientes con otras afecciones. Se analizaron m u e s t r a s con serología



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Clocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

positiva obtenidas de pacientes con las siguientes enfermedades o infecciones bacterianas, parasitarias y virales:

-Bacterianas: infección por *Escherichia coli* O157, O145 y O121, Brucelosis humana, Tuberculosis, Sífilis, infección por *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii*.

-Virales: Dengue, VHB, VHC, HTLV I/II, HIV, Hantavirus.

-Parasitarias: Leishmaniasis y Toxoplasmosis.

-Enfermedades autoinmunes: artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y vasculitis autoinmune.

CHEMLIS® Chagas R-iELISA presenta un alto nivel de especificidad ya que no se observó reactividad cruzada con excepción de una muestra de un paciente con tuberculosis y de otro paciente con Dengue.

#### *Sustancias interferentes*

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes no tienen ningún impacto en el desempeño de CHEMLIS® Chagas R-iELISA (las concentraciones de prueba finales de las sustancias interferentes se indican entre paréntesis):

-Ácido oxálico (0,6 mg/ml)

-Albumina bovina (20 mg/ml)

-Inmunoglobulina G Humana (hIgG) (2 mg/ml)

-Inmunoglobulina M Humana (hIgG) (2 mg/ml)

-Inmunoglobulina A Humana (hIgG) (2 mg/ml)

-Colesterol (5 mg/ml)

-Hemoglobina (10 mg/ml)

-Bilirrubina (2 mg/ml)

#### *Repetibilidad y reproducibilidad*

La repetibilidad y reproducibilidad de CHEMLIS® Chagas R-iELISA se estableció utilizando paneles de referencia internos que contienen muestras negativas y una variedad de muestras positivas. No se observaron diferencias dentro de las evaluaciones, entre evaluaciones, entre lotes, entre sitios y entre días.

## Referencias

-Cortina, María E.; Melli, Luciano J.; Roberti, Mariano; Mass, Mijal I.; Longinotti, Gloria; Tropea, Salvador; Lloret, Paulina; Rey Serantes, Diego; Salomón, Francisco; Lloret, Matías; Caillava, Ana J.; Restuccia, Sabrina; Altcheh, Jaime M.; Buscaglia, Carlos A.; Malatto, Laura; Ugalde, Juan E.; Fraigi, Liliana; Moina, Carlos; Ybarra, Gabriel; Ciocchini, Andrés E. and Comerci, Diego J.

Electrochemical magnetic microbeads-based biosensor for point-of-care serodiagnosis of infectious diseases. *Biosensors & Bioelectronics*; 80; 6-2016; 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.021>.

## Advertencias

-Para uso exclusivo profesional.

-Mantener fuera del alcance de los niños y animales domésticos. Centro Nacional de Intoxicaciones: Tel. 0800-333-0160.

## ANMAT

-Autorizado por ANMAT PM 2360-02.

Chemtest Argentina S.A. Legajo N° 2360.

-Director Técnico: Andrés E. Ciocchini.

## Para asistencia técnica

Ante cualquier consulta por favor contactar al tel (+54 11) 5353 6066 o a través de [info@chemtest.net](mailto:info@chemtest.net) / [chemtest.net](http://chemtest.net)



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Ciocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Ciocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

**CHEMLIS®**  
**Chagas R-iELISA**

Kit components / Presentations

Components	Description	REF: 15-CL01-2P Presentation 2 microplates	REF: 15-CL01-4P Presentation 4 microplates
Microplate	96-well microtitre plate (12 x 8 strip wells with strip holder) coated with the antigens, sealed and stored dry	2 microplates (192 tests)	4 microplates (384 tests)
Conjugate	Lyophilized (horseradish peroxidase conjugated anti-bovine IgG antibodies)	2 units	4 units
Substrate-chromogen solution	Ready to use [3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine in substrate buffer containing hydrogen peroxide (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )]- STORE IN THE DARK	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Stop solution	Ready to use (contains HCl 1%) - CORROSIVE	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Wash solution	10X concentrate	1 x 120 ml, 10X (sufficient for 1.2 liters)	1 x 120 ml, 10X (sufficient for 1.2 liters)
Sample diluent	To reconstitute - CONTAINS PRESERVATIVE [Thimerosal (C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> HgNaO <sub>2</sub> S) 0.01%].	1 x 120 ml	2 x 120 ml
Positive control	Inactivated serum – CONTAINS PRESERVATIVE [Thimerosal (C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> HgNaO <sub>2</sub> S) 0.01%]	1 x 0.1 ml	1 x 0.1 ml
Negative control	Inactivated serum – CONTAINS PRESERVATIVE [Thimerosal (C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> HgNaO <sub>2</sub> S) 0.01%]	1 x 0.1 ml	1 x 0.1 ml
Polyethylene bag	With hermetic closure. Reusable.	1 unit	1 unit
Instruction manual		1 unit	1 unit

## Name and application

### CHEMLIS® Chagas R-iELISA

Indirect ELISA kit for the detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in human serum and plasma.

CHEMLIS® Chagas R-iELISA is an indirect ELISA kit (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) for the detection of IgG specific antibodies against *Trypanosoma cruzi*, causative agent of Chagas disease, in human serum samples or plasma obtained with heparin, sodium citrate or EDTA. Thanks to its exclusive combination of four recombinant antigens, the kit has an excellent diagnostic performance. CHEMLIS® Chagas R-iELISA can be used as a screening and/or a confirmatory test.

### Introduction

American Trypanosomiasis or Chagas disease is a major health and economic problem in Latin America caused by the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. This parasite is found throughout the American continent in a variety of wild and domestic mammalian reservoirs and transmitted by the bite of infected, hematophagous triatomine insects. Apart from vectorial transmission, humans can become infected with *T. cruzi* by ingestion of contaminated food and fluids, from mother to child during pregnancy and through contaminated blood transfusion or organ transplantation. It is estimated that 10-12 million people are currently infected and that up to 120 million individuals living in endemic areas are at risk of infection, and thus at risk of developing cardiac or gut pathology normally associated with chronic Chagas Disease. Increasing travel and immigration has also brought the risk of *T. cruzi* infection into non-endemic countries such as Spain, Australia and the U.S., where some autochthonous cases of transmis-

sion have already been reported. Diagnosis of Chagas disease is challenging because it is often asymptomatic during the acute phase, and evolves into a chronic stage that has different clinical forms. In addition, and due to a major decline in parasitemia during the chronic phase of the disease, *T. cruzi* detection in blood samples by direct examination, blood-culture or xenodiagnosis is difficult as well as labor- and time-consuming. Therefore, detection of anti-*T. cruzi* antibodies in body fluids (typically blood samples) is still the most effective method for demonstrating direct exposure to the parasite. At present, the most widely used serologic methods are indirect hemagglutination assay (IHA), indirect immunofluorescence (IIF), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using total parasite homogenates or semi-purified antigenic fractions. In spite of their simplicity and low cost, these tests show variations in their reproducibility and reliability that can be attributed to the poor standardization of the antigens. The advent of recombinant DNA and peptide synthesis technologies allowed the production and one-step purification of large amounts of highly pure *T. cruzi* immunodominant antigens. An additional advantage of both recombinant antigens and synthetic peptides is that they minimize specificity problems, one of the major drawbacks of immunodiagnosis of Chagas disease.

### Principles of the technique

CHEMLIS® Chagas R-iELISA kit is a solid phase enzyme immunoassay for the detection IgG antibodies against *Trypanosoma cruzi* in human serum or plasma samples. In this assay the antibodies present in the sample react with the recombinant antigens (exclusive combination of four recombinant proteins) that coat the wells. If the sample contains antibodies against these *Trypanosoma cruzi* proteins, they bind to the well. Upon addition of the horse-



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Clocchini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227



radish peroxidase (HRP) conjugated antibody, a complex is formed with the IgG antibodies attached to the antigen. Free antibodies are removed by washing before adding the substrate-chromogen solution. The blue color that appears is the product of the reaction of the substrate-chromogen with the conjugate and color intensity is directly proportional to the amount of antibodies present in the sample reacting with the antigens. The higher the antibody titer present in the sample, the more intense color develops in the test wells. Adding the stop solution, upon which a color change to yellow is observed, stops the reaction. The results are measured in a microplate spectrophotometer determining the absorbance (Abs) at 450 nm.

### Storage and expiration

Storage: between 2 and 8°C.

Transport temperature: 4 to 15°C for 72 hours.

Proper storage of the kit and all reagents will allow the use until the expiration date.

Shelf life: 12 months. Do not use reagents from different lots or after the expiration date.

### Materials needed but not provided

- High precision multichannel pipette and micropipettes (10, 100 and 1000 µl).
- Containers for multichannel pipette.
- Disposable pipette tips.
- Microplate reader for absorbance determination at 450 nm.
- Orbital rotator.
- Timer.
- Tubes for the dilutions of the controls and samples.
- Container (graduated cylinder) for the preparation of the wash solution.
- Distilled water (Type II) or ultrapure water (Type I).
- Microplate covers (lid, aluminium foil or adhesive).

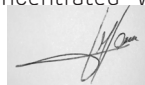
### Precautions

1. Carefully read and strictly follow all instructions detailed in the leaflet included in the kit.
2. Store the kit and all reagents at 2-8 °C.
3. All reagents should equilibrate at room temperature (20-25°C) before use, and return to 2-8 °C following use.
4. Handle all materials and reagents according to the Good Laboratory Practices.
5. The samples, as well as positive and negative controls, should be considered potentially infectious and, therefore, the kit components that contact them should be handled with gloves and disposed as pathological waste according to legal regulations. The stop solution contains hydrochloric acid (corrosive). Skin contact generates irritation and should be handled with gloves. The rest of the kit components does not represent any potential risk for health and the environment.
6. Do not use the kit beyond expiration date or if the kit components were not kept in the conditions indicated above.
7. Do not mix components or instruction manuals from different test kits batches.
8. Care should be taken to avoid contamination of kit components.
9. If multichannel pipette containers are reused, they should be washed thoroughly with high quality water for reuse and identified to be used with the same solution.
10. Use different pipettes tips for each reagent and for each sample.
11. Include positive and negative controls, and the target sample in duplicate in each test.
12. For reconstitution of the reagents use only distilled water (Type II) or ultrapure water (Type I).


### Preparation of reagents

#### a. Wash solution 1X

The 10X concentrated Wash solution



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Ciochini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

should be brought to room temperature (20-25°C) and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts.

The 10X concentrated Wash solution must be diluted 1/10 with distilled (Type II) or ultrapure (Type I) water; for example, adding 30 ml of 10X Wash solution to 270 ml of water (sufficient quantity of Wash solution 1X to process one microplate: 13 ml to reconstitute the IgG conjugate, 120 ml to reconstitute the Sample diluent and the rest for the washes). Mix very well before using. Once prepared, the 1X Wash solution can be stored at 2-8 °C for up to 7 days

It is recommended to prepare sufficient quantity to process the plates of the day.

#### b. Conjugate

Reconstitute the conjugate by adding 13 ml (per flask) of 1X Wash solution previously prepared (see previous item). Add the Washing solution carefully. Allow to stand for a minute and mix well. Prepare immediately before use.

For greater accuracy it is recommended to pipet the 13 ml using two graduation marks of the pipette (for example: pipetting twice from zero to 6.5 ml).

The remaining conjugate can be aliquoted in eppendorf type tubes and stored at -20°C (cannot be stored in the refrigerator) for up to 3 months. During this period of time each aliquot can be thaw and re-frozen one time.

#### c. Sample diluent

Reconstitute the Sample diluent by adding the 1X Wash solution previously prepared (see previous item) up to the level indicated in the corresponding bottle (120 ml) and mix very well. Prepare immediately before use.

The remaining Sample diluent can be stored in the refrigerator (2 to 8°C) up to 3 months or at -20°C for a year. Thaw it completely, bring to room temperature

and mix very well until complete dissolution before using.

### Preparation of controls

#### a. Positive (PC) and negative (NC) controls

Controls (PC and NC) should be diluted 1:200 using the Sample diluent.

Add 2 µl of the corresponding control to 400 µl of Sample diluent (dilution 1:200) and mix well. Use 100 µl of each diluted control per well and in duplicate.

#### b. Sample blank (SB)

On each plate a sample blank consisting of Sample diluent should be added. Dispense directly and in duplicate 100 µl per well of Sample diluent.

### Sample preparation

Samples (serum or plasma) should be diluted 1:200 using the Sample diluent.

Add 2 µl of the sample (serum or plasma) to 400 µl of Sample diluent (dilution 1:200) and mix well. Use 100 µl of the diluted sample per well.

#### Notes:

-It is recommended to analyze serum or plasma (obtained using heparin, sodium citrate or EDTA as anticoagulant) samples recently obtained (fresh) and free of turbidity.

-If the samples contain particles or a high content of triglycerides, they should be clarified by centrifugation.

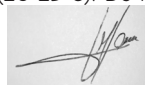
-If the samples are not analyzed immediately, they can be kept refrigerated (2 to 8 °C) for up to 72 hs. For longer storage, store at -20°C (-15 to -20°C), taking into account that during storage and as a consequence of the freezing and thawing process, the antibody titer may change. If samples are frozen, they must be completely thawed, homogenized and centrifuged before testing.

-It is recommended to analyze the samples at least in duplicate.


-Samples contaminated and/or not well conserved may produce erroneous results.

### Test procedure

1. Allow the reagents equilibrate to room temperature (20-25°C). Do not remove the



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Ciochini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227

plate from its pouch until it has reached room temperature. If the entire plate is not used, separate only the 8-well strips needed to analyze the controls and samples. Store the rest of the strips, together with the desiccants, in the polyethylene bag with hermetic seal included in the kit and store it again in the refrigerator (2-8°C).

Note: once the original packaging of the plate has been opened, the strips can be stored in the hermetically sealed polyethylene bag with the desiccants, and in the refrigerator (2-8°C) for up to 4 months, as long as the indicated expiration date is not exceeded.

2. Add in duplicate 100 µl per well of the positive control, negative control and sample blank. See Item Preparation of controls.

3. Add 100 µl per well of each sample. See Item Sample preparation.

4. Cover the plate and incubate at room temperature (20-25°C) with gentle orbital shaking for 1 hour.

5. Wash/rinse the plates 4 times with 200 µl of 1X Wash Solution per well. See item Reagents preparation.

Note: remove the liquid completely after each washing by dump and tapping onto absorbent material or aspiration with pipette. Avoid plate drying between plate washings and before adding the next reagent.

6. Add 100 µl of Conjugate to each well. See item Preparation of the conjugate. Cover the plate and incubate at room temperature (20-25°C) with gentle orbital shaking for 1 hour.

7. Repeat step 5.

8. Add 100 µl of Substrate-chromogen solution to each well, and incubated with gentle orbital shaking for 10 minutes (± 1 min) at room temperature (20-25°C) and in the dark (for example, cover the plate with aluminum foil). Start counting the time after filling the first well.

9. Stop the reaction by adding 100 µl of Stop solution into each well and mix thoroughly by lightly tapping the edges of the plate. This solution must be added in the same order and speed as the Substrate-chromogen solution (see Step 8).

10. Measure the absorbance at 450 nm using a plate spectrophotometer. There is no need to perform a blank reading. Perform the reading within 15 minutes after adding the stop solution.

Note: samples with high reactivity values can lead to the appearance of a black precipitate due to the precipitation of the substrate.

## Calculations

### Expression of results

Results are expressed as the percentage of reactivity ( $PR_{PC} = 100\%$ ) with respect to the positive control included in each test. The absorbance values measured at 450 nm ( $Abs_{450}$ ) of each sample are related to the  $Abs_{450}$  value of the positive control (PC) as follows:

$$PR_{Sample} = \frac{Abs_{450} \text{ Sample}^*}{Average Abs_{450} \text{ PC}} \times 100$$

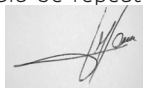
\* If the sample was run in duplicate, consider the average of the  $Abs_{450}$  value.

### Validity criteria

To confirm the validity of the test the following criteria must be met:

- The average value of the PC ( $Abs_{450}$ ) must be higher than 1.6 ( $Abs_{450} \text{ PC} > 1.6$ ).
- The  $Abs_{450}$  values of the controls (PC and NC) and samples duplicates must not differ by more than 20% of the corresponding average.
- The  $Abs_{450}$  values of the blank sample must be less than 0.1 ( $Abs_{450} \text{ Blank sample} < 0.1$ ).
- The average  $Abs_{450}$  value of the NC must be less than 0.15 (Average  $Abs_{450} \text{ NC} < 0.15$ ).
- The Average  $Abs_{450} \text{ PC} / \text{Average } Abs_{450} \text{ NC}$  ratio must be higher than 10.5 (Average  $Abs_{450} \text{ PC} / \text{Average } Abs_{450} \text{ NC} > 10.5$ ).

If any of these criteria is not fulfilled, the test is considered invalid. In this case, the test should be repeated strictly fol-




lowing the instructions detailed in the Instruction manual included in the kit.

### Interpretation of results

The test sample results should be interpreted as follows:

Sample (dilution 1:200)

PR	Interpretation
≤ 21 %	Non-Reactive
> 21 ≤ 25,5 %	Indeterminate
> 25,5 %	Reactive

In the case of obtaining an "Indeterminate" result, the sample should be re-tested. If the result is still indeterminate, it is recommended to test a second sample obtained after a period of at least three weeks. If the new sample is indeterminate again, the epidemiological situation should be considered and the sample should be analyzed with another technique if available.

### Performance characteristics

#### *Diagnostic sensitivity and specificity*

More than 390 serum samples obtained from patients with acute or chronic Chagas disease and from healthy donors were analyzed to determine the diagnostic sensitivity and specificity of the assay. Based on these results, a ROC (receiver-operating-analysis) curve analysis was performed and it was determined that taking a cut-off value of 23%, CHEMLIS® Chagas R-iELISA has a diagnostic sensitivity of 100% and a specificity of 100%.

#### *Hook effect*

Based on the analysis of samples with high titers of specific anti-T. cruzi antibodies, it was determined that the CHEMLIS® Chagas R-iELISA kit does not have a hook effect in the detection of IgG antibodies.

#### *Cross reactivity*

Cross-reactivity of CHEMLIS® Chagas R-iELISA was evaluated by testing clinical

samples obtained from patients with other conditions. Samples with positive serology obtained from patients with the following diseases or bacterial, parasitic, and viral infections were analyzed:

-Bacterial: Escherichia coli O157, O145 and O121 infections, Human Brucellosis, Tuberculosis, Syphilis, Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae and Acinetobacter baumannii infections.

-Viral: Dengue, VHB, VHC, HTLV I/II, HIV, Hantavirus.

-Parasitic: Leishmaniasis y Toxoplasmosis.

-Autoimmune diseases: rheumatoid arthritis, Systemic Lupus Erythematosus and autoimmune vasculitis.

CHEMLIS® Chagas R-iELISA has a high level of specificity since no cross-reactivity was observed with the exception of a sample from a patient with tuberculosis and another patient with Dengue.

#### *Interfering substances*

The following potentially interfering substances have no impact on the performance of CHEMLIS® Chagas R-iELISA (final test concentrations of interfering substances are indicated in parentheses):

-Oxalic acid (0.6 mg/ml)

-Bovine albumin (20 mg/ml)

-Human Immunoglobulin G (hIgG) (2 mg/ml)

-Human Immunoglobulin M (hIgG) (2 mg/ml)

-Human Immunoglobulin A (hIgG) (2 mg/ml)

-Cholesterol (5 mg/ml)

-Hemoglobin (10 mg/ml)

-Bilirubin (2 mg/ml)

#### *Repeatability and Reproducibility*

Repeatability and reproducibility of CHEMLIS® Chagas R-iELISA was established using in-house reference panels containing negative specimens and a range of positive specimens. There were no differences observed within-run, between-run, between-lots, between-sites, and between-days.



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Ciochini  
Director Técnico

Matrícula Número 7227

## References

-Cortina, María E.; Melli, Luciano J.; Roberti, Mariano; Mass, Mijal I.; Longinotti, Gloria; Tropea, Salvador; Lloret, Paulina; Rey Serantes, Diego; Salomón, Francisco; Lloret, Matías; Caillava, Ana J.; Restuccia, Sabrina; Altcheh, Jaime M.; Buscaglia, Carlos A.; Malatto, Laura; Ugalde, Juan E.; Fraigi, Liliana; Moina, Carlos; Ybarra, Gabriel; Ciocchini, Andrés E. and Comerci, Diego J.

Electrochemical magnetic microbeads-based biosensor for point-of-care serodiagnosis of infectious diseases.

Biosensors & Bioelectronics; 80; 6-2016; 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.021>.










## For technical assistance

Tel: (54-11) 5353-6066

[info@chemtest.net](mailto:info@chemtest.net)

[chemtest.net](http://chemtest.net)

## Indice de símbolos / Symbol index

	Fecha de vencimiento / Expiration date
	Número de catálogo / Catalog number
	Lote / Batch code
	Para diagnóstico in vitro / For in vitro diagnostic use only
	Límites de temperatura / Temperature limits
	Consultar instrucciones para su uso / See instructions for use
	Número de determinaciones / Number of determinations
	Fabricante / Manufacturer
	Riesgo biológico / Biological risk


 Chemtest Argentina S. A.

Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.

[info@chemtest.net](mailto:info@chemtest.net) - [chemtest.net](http://chemtest.net)



Juan Manuel Capece  
Presidente



Andrés E. Ciocchini  
Director Técnico

Matrícula Número 7227

Juan Manuel Capece  
Presidente


Andrés E. Ciochini  
Director Técnico  
Matrícula Número 7227



ELISA



Humanos

 Chemtest Argentina S. A.  
Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.  
[info@chemtest.net](mailto:info@chemtest.net) - [chemtest.net](http://chemtest.net)



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
Las Malvinas son argentinas

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Informe gráfico**

**Número:**

**Referencia:** RÓTULOS Y MANUAL DE INSTRUCCIONES EX-2021-86572011- -APN-DGA#ANMAT

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 24 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica  
Date: 2022.10.25 10:00:37 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental  
Electronica  
Date: 2022.10.25 10:00:38 -03:00