



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004727-23-8

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-004727-23-8 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones BIOARS S.A. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: Determinación cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) frente al *Treponema pallidum* (Tp).

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización ; y que se deberá comunicar por nota al Servicio de Productos para Diagnóstico de uso In Vitro, la primera importación realizada del producto de referencia, con el objetivo de efectuar la evaluación del primer lote en el país quedando sujeta la comercialización de este a los resultados obtenidos en dicha evaluación.

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 y normas complementarias.

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

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- 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 de uso in vitro, Nombre descriptivo: Determinación cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) frente al Treponema pallidum (Tp), de acuerdo con lo solicitado por BIOARS S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N° IF-2023-111790200-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1127-308 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbase 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 rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Determinación cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) frente al Treponema pallidum (Tp).

Marca comercial: DIA.PRO Diagnostic BioProbes

Modelos:

Syphilis Ab Version ULTRA

Indicación/es de uso:

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) frente al Treponema pallidum (Tp).

El equipo está diseñado para el cribado de unidades de sangre y el seguimiento de pacientes infectados por Tp.

Forma de presentación: Cada equipo contiene reactivos suficientes para realizar 96, 192, 480 o 960 determinaciones:

Componentes:

1. Microplaca: MICROPLATE (96 tests: 1; 192 tests: 2; 480 tests: 5; 960 tests: 10)

12 tiras de 8 pocillos divisibles. Se han recubierto las microplacas con antígenos sintéticos purificados de *Treponema pallidum* (p15, p17 y p47). Las placas están en una bolsa sellada con desecante.

2. Control negativo: CONTROL - (96 tests: 1x2mL; 192 tests: 1x4 mL; 480 tests: 1x10 mL; 960 tests: 1x20 mL)

Listo para el uso. Contiene 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón fosfato 10 mM a pH 7,4 +/- 0,1, azida sódica 0,09% y ProClin 300 al 0,045% como conservantes.

3. Control positivo: CONTROL + (96 tests: 1x2mL; 192 tests: 1x4 mL; 480 tests: 1x10 mL; 960 tests: 1x20 mL)

Listo para el uso. Contiene suero humano inactivado positivo a Tp, 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón fosfato 10 mM a pH 7,4 +/- 0,1, azida sódica 0,09% y ProClin 300 al 0,045% como conservantes.

4. Calibrador: CAL...ml (96 tests: 1 vial; 192 tests: 2 viales; 480 tests: 5 viales; 960 tests: 10 viales)

Calibrador liofilizado. Contiene anticuerpos inactivados anti Tp, calibrados contra el 1er Estándar Internacional de la O.M.S. para plasma sífilítico humano IgG e IgM NIBSC código: 05/132, 4% albúmina de suero bovino (BSA), 2% de manitol, tampón Tris 50mM a pH 7,8, 0,2 mg/ml de sulfato de gentamicina y ProClin 300 al 0,045%.

5. Solución de lavado concentrada: WASHBUF 20X (96 tests: 1x60 mL; 192 tests: 2x60 mL; 480 tests: 5x60 mL; 960 tests: 4x150 mL)

Solución concentrada 20x que contiene ProClin 300 al 0,045% como conservante. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7,0 +/- 0,2 y Tween 20 al 0,05%.

6. Conjugado: CONJ (96 tests: 1x16 mL; 192 tests: 1x25 mL; 480 tests: 2x40 mL; 960 tests: 4x40 mL)

Solución lista para el uso. Contiene antígenos sintéticos de Tp, marcados con HRP, tampón Tris suplementado con Kathon GC al 0,05%, Tween 20 y BSA

7. Cromógeno/sustrato: SUBS TMB (96 tests: 1x16 mL; 192 tests: 1x25 mL; 480 tests: 2x40 mL; 960 tests: 4x40 mL)

Componente listo para el uso. Contiene tampón citrato-fosfato 50 mM a pH 3,5-3,8, dimetilsulfóxido 4%, tetrametil-benzidina (TMB) 0,03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0,02%.

8. Ácido sulfúrico: H₂SO₄ 0.3 M (96 tests: 1x15 mL; 192 tests: 1x25 mL; 480 tests: 2x40 mL; 960 tests: 2x80 mL)

Contiene solución de H₂SO₄ 0,3 M.

9. Sellador adhesivo (96 tests: 2; 192 tests: 4; 480 tests: 10; 960 tests: 20)

10. Manual de instrucciones (96 tests: 1; 192 tests: 1; 480 tests: 1; 960 tests: 1)

Período de vida útil y condición de conservación: 15 meses, conservado a 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l.

Lugar de elaboración:

Via G. Carducci, 27 – 20099 Sesto San Giovanni (Mi) – Italia.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-004727-23-8

N° Identificador Trámite: 51620

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.10.09 16:33:32 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.10.09 16:33:35 -03:00

Proyecto de rótulos externos

Nombre del producto:

Syphilis Ab Version ULTRA

96 determinaciones

IVD LOT 0222/A 2022-02 2023-05 Σ = 96

Syphilis Ab
Version ULTRA

REF: SIABULTRA.CE.96

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl
Via Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI)-Italy
tel.: +39 02 27007161 Fax.: +39 02 44386771
e-mail: info@diapro.it

2°C 8°C

Syphilis Ab Version ULTRA
Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

| | | | |
|-----------------|-------------|-------------|--------|
| SIABULTRA.CE.96 | MICROPLATE | n° 1 | LOT |
| | CONTROL - | n° 1 ml 2 | 0222/A |
| | CONTROL + | n° 1 ml 2 | |
| | CAL | n° 1 lyoph. | CE |
| | WASHBUF 20X | n° 1 ml 60 | |
| | CONJ | n° 1 ml 16 | |
| | SUBS TMB | n° 1 ml 16 | |
| H2SO4 0.3 M | n° 1 ml 15 | | |

Sobrerótulo:

ba Importador: **BIOARS S.A.** Estomba 961 - C.A.B.A.
C.P.: C1427COU Tel.: (011) 4555 4601
bioars www.bioars.com.ar

SIABULTRA.CE.96 Syphilis Ab

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
Autorizado por la A.N.M.A.T. - Certificado N° PM-1127-308
Directora Técnica: Dra. Claudia E. Etchevés (m.n. 7028)

SIABULTRA . CE . 96 LOTE123 MM . DD . AA

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

192 determinaciones

IVD LOT 0222/A 2022-02 2023-05 $\Sigma = 192$

Syphilis Ab

Version ULTRA

REF: SIABULTRA.CE

SIABULTRA.CE/S:192

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl
Via Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI)-Italy
tel.: +39 02 27007161 Fax.: +39 02 44386771
e-mail: info@diapro.it

2°C 8°C

| Syphilis Ab Version ULTRA | | | |
|---|-------------|-------------|---------------|
| Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes | | | |
| SIABULTRA.CE/S:192 | MICROPLATE | n° 2 | |
| | CONTROL - | n° 1 ml 4 | LOT 0222/A |
| | CONTROL + | n° 1 ml 4 | |
| | CAL | n° 2 lyoph. | |
| | WASHBUF 20X | n° 2 ml 60 | |
| | CONJ | n° 1 ml 25 | |
| | SUBS TMB | n° 1 ml 25 | CE |
| | H2SO4 0.3 M | n° 1 ml 25 | |

Sobrerótulo:

ba Importador: **BIOARS S.A.** Estomba 961 - C.A.B.A.
C.P.: C1427COU Tel.: (011) 4555 4601
bioars **www.bioars.com.ar**

SIABULTRA.CE Syphilis Ab

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
Autorizado por la A.N.M.A.T. - Certificado N° PM-1127-308
Directora Técnica: Dra. Claudia E. Etchevés (m.n. 7028)



SIABULTRA.CE LOTE123 MM.DD.AA

Claudia Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

480 determinaciones

IVD LOT 0222/A 2022-02 2023-05 $\Sigma = 480$

Syphilis Ab

Version ULTRA

REF: SIABULTRA.CE.480

SIABULTRA.CE/S.480

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl
Via Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI)-Italy
tel.: +39 02 27007161 Fax.: +39 02 44386771
e-mail: info@diapro.it

2°C 8°C


| Syphilis Ab Version ULTRA | | | |
|---|-------------|-------------|--------|
| Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes | | | |
| SIABULTRA.CE/S.480 | MICROPLATE | n° 5 | LOT |
| | CONTROL - | n° 1 ml 10 | 0222/A |
| | CONTROL + | n° 1 ml 10 | |
| | CAL | n° 5 lyoph. | CE |
| | WASHBUF 20X | n° 5 ml 60 | |
| | CONJ | n° 2 ml 40 | |
| | SUBS TMB | n° 2 ml 40 | |
| | H2SO4 0.3 M | n° 2 ml 40 | |

Sobrerótulo:

ba Importador: BIOARS S.A. Estomba 961 - C.A.B.A.
bioars C.P.: C1427COU Tel.: (011) 4555 4601
www.bioars.com.ar

SIABULTRA.CE.480 Syphilis Ab

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
Autorizado por la A.N.M.A.T. - Certificado N° PM-1127-308
Directora Técnica: Dra. Claudia E. Etchevés (m.n. 7028)



SIABULTRA.CE.480 LOTE123 MM.DD.AA

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

Por 960 determinaciones

IVD LOT 0222/A 2022-02 2023-05 $\Sigma = 960$

Syphilis Ab
Version ULTRA
REF: SIABULTRA.CE.960

SIABULTRA.CE.960

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes srl
Via Carducci, 27 - 20099 Sesto San Giovanni (MI)-Italy
tel.: +39 02 27007161 Fax.: +39 02 44386771
e-mail: info@diapro.it

2°C 8°C

Syphilis Ab Version ULTRA
Reagents/Reagenti/Reactifs/Reagenzien/Reactivos/Reagentes

| | | |
|-------------|--------------|--------|
| MICROPLATE | n° 10 | LOT |
| CONTROL - | n° 1 ml 20 | 0222/A |
| CONTROL + | n° 1 ml 20 | |
| CAL | n° 10 lyoph. | |
| WASHBUF 20X | n° 4 ml 150 | |
| CONJ | n° 4 ml 40 | |
| SUBS TMB | n° 4 ml 40 | |
| H2SO4 0.3 M | n° 2 ml 80 | CE |

Sobrerótulo:

ba Importador: **BIOARS S.A.** Estomba 961 - C.A.B.A.
C.P.: C1427COU Tel.: (011) 4555 4601
bioars www.bioars.com.ar

SIABULTRA.CE.960 Syphilis Ab

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO
Autorizado por la A.N.M.A.T. - Certificado N° PM-1127-308
Directora Técnica: Dra. Claudia E. Etchevés (m.n. 7028)


SIABULTRA.CE.960 LOTE123 MM.DD.AA

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO

Proyecto de rótulos internos

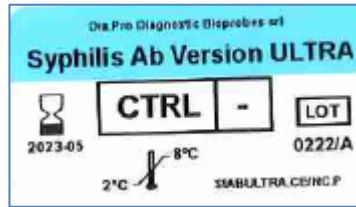
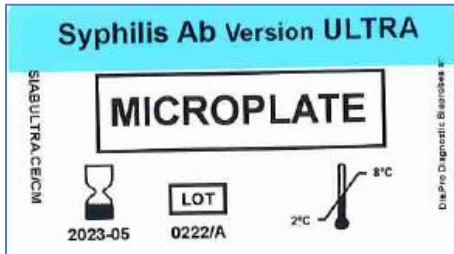
Nombre del producto:

Syphilis Ab Version ULTRA

Microplaca

96-192-480 y 960 determinaciones
Control negativo

Control positivo



Calibrador

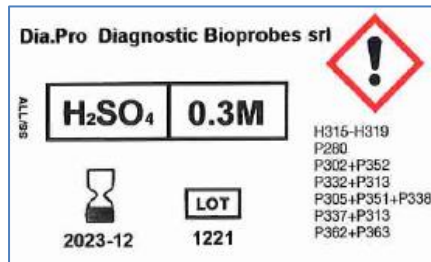
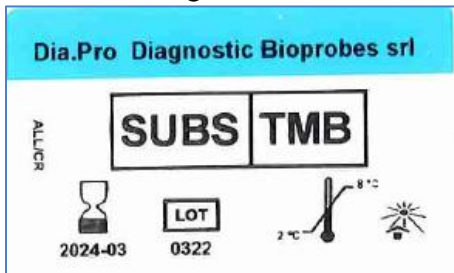
Solución de lavado concentrada

Conjugado



Cromógeno/sustrato

Ácido sulfúrico



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

Syphilis Ab

Version **ULTRA**

**Ensayo inmunoenzimático para la
determinación de anticuerpos frente al
Treponema pallidum
en suero y plasma**

- Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro"-



DIA.PRO

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

Teléfono +39 02 27007161

Fax +39 02 44386771

Correo electrónico: info@diapro.it

REF SIABULTRA.CE
96/192/480/960 pruebas

Ac sífilis ULTRA

A. OBJETIVO DEL EQUIPO.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) frente al *Treponema pallidum*.

El equipo está diseñado para el cribado de unidades de sangre y el seguimiento de pacientes infectados por Tp. Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro".

B. INTRODUCCIÓN.

El sífilis es una enfermedad de transmisión sexual causada por el *Treponema pallidum* o Tp, bacteria perteneciente a la familia de Spirochaetaceae. El Tp es Gram negativo, se considera estrictamente anaerobio y muestra una movilidad característica debida a flagelos periplásmicos. Una pared celular y una membrana citoplasmática engloban el contenido citoplasmático. El sífilis es una enfermedad infecciosa compleja, aguda y crónica, con distintas manifestaciones clínicas, dependiendo del estado de la infección y de la respuesta individual. El período de incubación oscila entre 10 días y 3 meses, y los anticuerpos suelen detectarse después de 2-4 semanas desde la lesión primaria.

Se han llevado a cabo numerosos ensayos para la detección inmunológica del T. pallidum en el pasado (VDRL, TPHA, RPR), que siguen en uso actualmente en el laboratorio de diagnóstico. Recientemente se han aplicado técnicas ELISA al cribado de anticuerpos de sífilis en bancos de sangre y departamentos de enfermedades infecciosas, permitiendo a los clínicos utilizar instrumentos de análisis automáticos y registros de lecturas ópticas.

C. PRINCIPIOS DEL ENSAYO.

Se han recubierto las microplacas con antígenos sintéticos purificados de *Treponema pallidum* (p15, p17 and p47).

La fase sólida se trata primero con la muestra y se capturan los anticuerpos anti Tp, si existen, mediante los antígenos recubiertos en la microplaca.

Después del lavado, que elimina el resto de los componentes de la muestra, en la segunda incubación se detectan anticuerpos totales anti Tp unidos por la adición de antígenos sintéticos de Tp marcados con peroxidasa (HRP).

La enzima capturada en la fase sólida, combinada con la mezcla sustrato/cromógeno, genera una señal óptica proporcional a la cantidad de anticuerpos anti Tp presentes en la muestra. Tras bloquear la reacción enzimática, su densidad óptica se mide mediante un lector ELISA.

La versión ULTRA resulta especialmente adecuada para cribados automatizados.

D. COMPONENTES.

La configuración estándar del equipo contiene reactivos suficientes para realizar 192 pruebas.

1. Microplaca: MICROPLATE

2 microplacas. 12 tiras de 8 pocillos rompibles. Se han recubierto las microplacas con antígenos sintéticos purificados de *Treponema pallidum* (p15, p17 and p47).

Las placas están en una bolsa sellada con desecante. Dejar la microplaca a temperatura ambiente antes de abrirla; sellar las tiras sobrantes en la bolsa con el desecante y conservar a 4 °C.

2. Control negativo CONTROL

1 vial de 4,0 ml. Listo para el uso. Contiene 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón fosfato 10 mM a pH 7,4 +/- 0,1, azida sódica 0,09% y ProClin 300 al 0,045% como conservantes. Codificado con color amarillo.

3. Control positivo CONTROL+

1 vial de 4,0 ml. Listo para el uso. Contiene suero humano inactivado positivo a Tp, 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón fosfato 10 mM a pH 7,4 +/- 0,1, azida sódica 0,09% y ProClin 300 al 0,045% como conservantes. Codificado con color verde.

4. Calibrador: CAL...ml

2 viales. Calibrador liofilizado. Contiene anticuerpos inactivados anti Tp, calibrados contra el 1^{er} Estándar Internacional de la O.M.S. para plasma sífilítico humano IgG e IgM NIBSC código: 05/132, 4% albúmina de suero bovino (BSA), 2% de manitol, tampón Tris 50mM a pH 7,8, 0,2 mg/ml de sulfato de gentamicina y ProClin 300 al 0,045%.

Nota: El volumen necesario para disolver el contenido del frasco puede variar en cada lote. Usar el volumen correcto indicado en la etiqueta.

5. Solución de lavado concentrada WASHBUF 20X

2 botellas de 60 ml. Solución concentrada 20x que contiene ProClin 300 al 0,045% como conservante. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7,0 +/- 0,2 y Tween 20 al 0,05%.

6. Conjugado: CONJ

1 botella de 25,0 ml. Solución lista para el uso. Contiene antígenos sintéticos de Tp, marcados con HRP, tampón Tris suplementado con ProClin 300 al 0,045%, Tween 20 y BSA. Codificado con color rojo.

7. Cromógeno/sustrato SUBS TMB

1 botella de 25 ml. Componente listo para el uso. Contiene tampón citrato-fosfato 50 mM a pH 3,5-3,8, dimetilsulfóxido 4%, tetra-metil-benzidina (TMB) 0,03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0,02%.

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

8. Ácido sulfúrico: H₂SO₄ 0.3 M

1 botella de 25 ml. Contiene solución de H₂SO₄ 0,3 M. Atención: Irritante (H315, H319; P280, P302+P352, 332+P313, P305+ P351+P338, P337+P313, P362+P363).

9. Sellador adhesivo, 4 uds.

10. Manual de instrucciones, 1 ud.

Nota importante: Solo a petición del cliente, Dia.Pro puede suministrar reactivos para 96, 480, 960 pruebas, como se describe a continuación:

| Número de pruebas | 96 | 480 | 960 |
|-----------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Código | SIABULTRA.CE.96 | SIABULTRA.CE.480 | SIABULTRA.CE.960 |
| 1. Microplaca | 1 ud. | 5 uds. | 10 uds. |
| 2. Control negativo | 1 vial de 2,0 ml | 1 vial de 10 ml | 1 vial de 20 ml |
| 3. Control positivo | 1 vial de 2,0 ml | 1 vial de 10 ml | 1 vial de 20 ml |
| 4. Calibrador | 1 vial | 5 viales | 10 viales |
| 5. Soluc. lav. conc. | 1 botella x 60 ml | 5 botellas x 60 ml | 4 botellas x 150 ml |
| 6. Conjugado | 1 vial de 16 ml | 2 botellas x 40 ml | 4 botellas x 40 ml |
| 7. Cromóg./subs. | 1 vial de 16 ml | 2 botellas x 40 ml | 4 botellas x 40 ml |
| 9. Ácido sulfúrico | 1 vial de 15 ml | 2 botellas x 40 ml | 2 botellas x 80 ml |
| 10. Sellador adhesiv. | 2 uds. | 10 uds. | 20 uds. |
| 11. Manual instrucc. | 1 ud. | 1 ud. | 1 ud. |

E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.

1. Micropipetas calibradas (100 µl) y puntas plásticas desechables.
2. Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para eliminar oxidantes químicos usados como desinfectantes).
3. Timer con un rango de 45 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.
5. Incubadora termostática de microplacas ELISA, calibrada, capaz de proporcionar una temperatura de +37 °C.

| | | | | | |
|-------|----------------------|--------|--------|---------|----------------|
| Doc.: | INS SIABULTRA.CE/esp | Página | 3 de 8 | Rev.: 5 | Fecha: 2019/11 |
|-------|----------------------|--------|--------|---------|----------------|

6. Lector calibrado de micropocillos ELISA con filtros de 450 nm (lectura) y 620-630 nm (blanco).
7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Vórtex o similar.

F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

1. El equipo solo debe usarse por personal técnico adecuadamente instruido, bajo la supervisión de un médico responsable del laboratorio.
2. Cuando el equipo se utiliza para el cribado de unidades de sangre y componentes sanguíneos, debe utilizarse en un laboratorio certificado y homologado por la autoridad nacional en ese campo (Ministerio de Sanidad o entidad similar) para realizar dicho tipo de análisis.
3. Todo el personal que participe en la realización de los ensayos deberá llevar la indumentaria protectora adecuada de laboratorio, guantes sin talco y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). Todo el personal involucrado debe tener formación en procedimientos de bioseguridad, como recomienda el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, EE. UU., y como ha publicado 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 VHB y VHA, para lo cual existen vacunas disponibles, seguras y eficaces.
5. Se debe controlar el entorno del laboratorio para evitar la contaminación por polvo o agentes microbianos en el aire al abrir los viales del equipo y las microplacas, así como durante la realización del ensayo. Evitar la exposición del cromógeno/substrato a la luz intensa y las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
6. Tras la recepción, conservar el equipo a una temperatura entre 2 y 8 °C, en un refrigerador con temperatura regulada o en una cámara de refrigeración.
7. No intercambiar componentes de lotes de equipos distintos ni tampoco de dos equipos del mismo lote.
8. Comprobar que los reactivos estén claros y no contengan partículas pesadas visibles ni agregados. Si no es así, informar al supervisor del laboratorio para realizar el procedimiento pertinente para reemplazar el equipo.
9. Evitar contaminación cruzada entre muestras de suero/plasma usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso. No reutilizar puntas desechables.
10. Evitar contaminación cruzada entre los reactivos del equipo usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso. No reutilizar puntas desechables.
11. No usar el producto después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas internas (viales) y en las etiquetas del envase externo.
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, EE. UU., y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
13. Se recomienda utilizar material plástico desechable para preparar los componentes líquidos o transferir los componentes a los equipos automatizados, a fin de evitar contaminaciones cruzadas.
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 procedentes del proceso de lavado, de restos de controles y muestras, deben tratarse como potencialmente infecciosos y deben inactivarse antes de su eliminación. Se recomienda la inactivación con lejía al 10% de 16 a 18 horas o el uso de la autoclave a 121 °C durante 20 minutos.
15. En caso de derrame accidental de algún producto, se debe utilizar papel absorbente embebido en lejía y,

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

16. El ácido sulfúrico es irritante. En caso de derrame, lavar la superficie con abundante agua. Los 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 manipularse como fuentes potenciales de infección de acuerdo con las directivas nacionales y las leyes para el tratamiento de residuos de laboratorio.

G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y RECOMENDACIONES.

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

H. PREPARACIÓN DE LOS COMPONENTES Y PRECAUCIONES.

Microplacas:

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

De ser así, contactar con el servicio de atención al cliente de Dia.Pro.

Las tiras no utilizadas deben guardarse en la bolsa de aluminio con el desecante herméticamente cerrada a una temperatura de 2 a 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 cambia de amarillo a verde.

Controles negativo y positivo:

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

Calibrador:

Añadir al polvo liofilizado el volumen de agua de calidad ELISA indicado en la etiqueta. Dejar disolver completamente y después mezclar con cuidado en el vórtex.

Nota: El calibrador no es estable tras la disolución. Almacenar congelado en alícuotas a -20 °C.

Solución de lavado concentrada:

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

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

Conjugado:

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

Cromógeno/Substrato:

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

Ácido sulfúrico:

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

Leyenda:

Indicación de peligro, Frases H

H315 – Provoca irritación cutánea.

H319 – Provoca irritación ocular grave.

Consejo de prudencia, Frases P

P280 – Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P302 + P352 – EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P332 + P313 – En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.

P305 + P351 + P338 – EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P337 + P313 – Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

P362 + P363 – Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

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

- Las micropipetas deben estar calibradas para dispensar correctamente el volumen requerido en el ensayo y sometidas a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra (alcohol al 70%, lejía al 10%, desinfectantes de calidad hospitalaria). Además, deben revisarse regularmente para mantener una precisión del 1% y una confiabilidad de +/- 2%. También se debe llevar a cabo de forma regular la descontaminación de derrames o residuos de los componentes del equipo.
- La incubadora ELISA debe ajustarse a 37 °C (+/- 0,5 °C de tolerancia) y controlarse periódicamente para mantener la temperatura correcta. Pueden emplearse incubadoras secas o baños de agua, siempre que estén validadas para la incubación de pruebas de ELISA.
- El **lavador ELISA** es extremadamente importante para el rendimiento global del ensayo. El lavador debe ser validado de forma minuciosa previamente, revisado para comprobar que suministra el volumen de dispensación correcto y enviado regularmente a mantenimiento de acuerdo con las

instrucciones de uso del fabricante. En particular, deben lavarse minuciosamente las sales con agua desionizada del lavador al final de la carga de trabajo diaria. Antes del uso, debe suministrarse extensivamente solución de lavado diluida al lavador. Debe enviarse el instrumento semanalmente a descontaminación según se indica en su manual (se recomienda descontaminación con NaOH 0.1 M). Para asegurar que el ensayo se realiza conforme a los rendimientos declarados, basta con 5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350 µl/pocillo de solución de lavado + 20 segundos de remojo = 1 ciclo). Si no es posible remojar, añadir un ciclo de lavado adicional. Un ciclo de lavado incorrecto o agujas obstruidas con sal son las principales causas de falsas reacciones positivas.

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

L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

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

5. Esperar hasta que los componentes restantes alcancen la temperatura ambiente (aprox. 1 hora) y, a continuación, mezclar como se indica.
6. Ajustar la incubadora de ELISA a 37 °C y preparar el lavador de ELISA cebando con la solución de lavado diluida, según las instrucciones del fabricante. Fijar el número de ciclos de lavado según se indica en la sección específica.
7. Comprobar que el lector ELISA se haya encendido al menos 20 minutos antes de realizar la lectura.
8. Si se utiliza un sistema automatizado, encenderlo, comprobar los ajustes y asegurarse de que se use el protocolo de ensayo correcto.
9. Comprobar que las micropipetas estén ajustadas al volumen requerido.
10. Asegurarse de que el resto del equipamiento esté disponible y listo para el uso.
11. En caso de que surja algún problema, detener el ensayo y avisar al responsable.

M. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

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

El procedimiento del ensayo puede realizarse, con igual rendimiento, siguiendo dos protocolos de tiempo de incubación. Elegir el requerido por la normativa oficial nacional o del laboratorio:

1. Incubación larga (1ª incubación 60 minutos, 2ª y 3ª incubación 30 minutos)
2. Incubación corta (1ª, 2ª incubación 45 minutos y 3ª incubación 15 minutos)

Ensayo automatizado:

En caso de que se use un equipo automático, asegurarse en primer lugar de que el instrumento esté validado de acuerdo con el punto I.6.

A continuación, ajustar el mismo procedimiento que para el ensayo manual, según el funcionamiento del equipo automático.

1. Incubación larga - Ensayo manual:

1. Poner el número necesario de micropocillos en el soporte demicropocillos. Guardar las tiras restantes en la bolsa con desecante a 2-8 °C, sellada. Dejar el pocillo A1 vacío para la operación de blanco.
2. Dispensar 100 µl de control negativo por triplicado, 100 µl de calibrador por duplicado y 100 µl de control positivo individual en los pocillos apropiados, seguidos de 100 µl de cada muestra.
¡No diluir los controles ni el calibrador, están prediluid y listos para el uso!
Comprobar la presencia de muestras en los pocillos a simple vista (hay una diferencia de color notable entre los pocillos vacíos y llenos) o mediante una lectura a 450/620 nm. (las muestras presentan valores DO superiores a 0,100).

Nota importante:

Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado solo cuando se hace el ensayo manualmente. No sellar cuando se empleen equipos automatizados de ELISA.

3. Incubar la microplaca durante **60 minutos a 37 °C**.
4. Lavar la microplaca con el lavador automático como se indica en la sección I.3.
5. Dispensar 100µl de conjugado en cada pocillo, excepto en el 1º pocillo de blanco, y cubrir con el sellador. Comprobar que este componente de color rojo se haya dispensado en todos los pocillos, excepto A1.

Notas importantes: *Hay que tener cuidado de no tocar la pared interna del pocillo con la punta de la pipeta al dispensar el conjugado. Podría producirse contaminación.*

6. Incubar la microplaca durante **30 minutos a 37 °C**.
7. Lavar la microplaca con el lavador automático como se indica en el paso 4.
8. Dispensar 100 µl de mezcla de TMB/H₂O₂ en cada pocillo, incluido el pocillo del blanco.
Comprobar que se haya añadido correctamente el reactivo.
9. Incubar la microplaca durante **30 minutos a temperatura ambiente (18-24 °C)**.

Nota importante: *No exponer a luz intensa directa, ya que se podría generar un fondo excesivo.*

10. Dispensar 100 µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos usando la misma secuencia que en el paso 8 para detener la reacción enzimática.

La adición del ácido cambia el color del control positivo y las muestras positivas de azul a amarillo/marrón.

11. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, como se indica en la sección I.5, con un lector demicroplacas a 450 nm (lectura) y a 620-630 nm (substracción del fondo) (obligatorio), calibrando el instrumento con el pocillo A1 (blanco).

1. Incubación corta - Ensayo manual:

1. Poner el número necesario de micropocillos en el soporte de micropocillos. Guardar las tiras restantes en la bolsa con desecante a 2-8 °C, sellada.
Dejar el pocillo A1 vacío para la operación de blanco.
2. Dispensar 100 µl de control negativo por triplicado, 100 µl de calibrador por duplicado y 100 µl de control positivo individual en los pocillos apropiados, seguidos de 100 µl de cada muestra.
¡No diluir los controles ni el calibrador, están prediluidos y listos para el uso!
Comprobar la presencia de muestras en los pocillos a simple vista (hay una diferencia de color notable entre los pocillos vacíos y llenos) o mediante una lectura a 450/620 nm. (la muestras presentan valores DO superiores a 0,100).

Nota importante:

Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado solo cuando se hace el ensayo manualmente. No sellar cuando se empleen equipos automatizados de ELISA.

3. Incubar la microplaca durante **45 minutos a 37 °C**.
4. Lavar la microplaca con el lavador automático como se indica en la sección I.3.
5. Dispensar 100µl de conjugado en cada pocillo, excepto en el 1º pocillo de blanco, y cubrir con el sellador. Comprobar que este componente de color rojo se haya dispensado en todos los pocillos, excepto A1.

Notas importantes:

Hay que tener cuidado de no tocar la pared interna del pocillo con la punta de la pipeta al dispensar el conjugado. Podría producirse contaminación.

6. Incubar la microplaca durante **45 minutos a 37 °C**.
7. Lavar la microplaca con el lavador automático como se indica en el paso 4.

8. Dispensar 100 µl de mezcla de TMB/H₂O₂ en cada pocillo, incluido el pocillo del blanco.
Comprobar que se haya añadido correctamente el reactivo.

9. Incubar la microplaca durante **15 minutos** a **temperatura ambiente (18-24 °C)**.

Nota importante: No exponer a luz intensa directa, ya que se podría generar un fondo excesivo.

10. Dispensar 100 µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos usando la misma secuencia que en el paso 8 para detener la reacción enzimática.

La adición del ácido cambia el color del control positivo y las muestras positivas de azul a amarillo/marrón.

11. Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, como se indica en la sección I.5, con un lector de microplacas a 450 nm (lectura) y a 620-630 nm (substracción del fondo, obligatorio), calibrando el instrumento con el pocillo A1 (blanco).

Notas importantes:

Asegurarse de que no haya impresiones digitales en el fondo de los pocillos antes de leer. Podrían generarse falsos positivos en la lectura.

La lectura debe hacerse inmediatamente después de añadir la solución de parada y, en cualquier caso, nunca transcurridos 20 minutos desde su adición. Se podría producir auto oxidación del cromógeno causando un elevado fondo.

N. ESQUEMA DEL ENSAYO.

| Método | Operaciones (Incubación larga) | Operaciones (Incubación corta) |
|-----------------------------------|--|--|
| Controles y Calibrador (*) | 100 µl | 100 µl |
| Muestras | 100 µl | 100 µl |
| 1ª incubación | 60 min | 45 min |
| Temperatura | +37 °C | +37 °C |
| Paso de lavado | 5 ciclos con 20" de remojo o 6 ciclos sin remojo | 5 ciclos con 20" de remojo o 6 ciclos sin remojo |
| Conjugado | 100 µl | 100 µl |
| 2ª incubación | 30 min | 45 min |
| Temperatura | +37 °C | +37 °C |
| Paso de lavado | 5 ciclos con 20" de remojo o 6 ciclos sin remojo | 5 ciclos con 20" de remojo o 6 ciclos sin remojo |
| TMB/H ₂ O ₂ | 100 µl | 100 µl |
| 3ª incubación | 30 min | 15 min |
| Temperatura | t.a. | t.a. |
| Ácido sulfúrico | 100 µl | 100 µl |
| Lectura DO | 450 nm / 630-630nm | 450 nm/ 620-630 nm |

Notas importantes:

El rendimiento de los ensayos no cambia con los distintos protocolos de incubación.

- (*) 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.

A continuación se incluye 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 | M1 | M9 | | | | | | | | | | |

Leyenda: BL = Blanco CN = Control Negativo

CP = Control positivo M = Muestra

CAL(*) = Calibrador - No obligatorio

O. CONTROL DE CALIDAD INTERNO.

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

| Comprobar | Requisitos |
|-----------------------|---|
| Pocillo blanco | Valor < 0,050 DO 450 nm |
| Control negativo (CN) | Valor medio < 0,200 DO 450 nm después de leer el blanco |
| Control positivo (CP) | Valor > 1,000 DO 450 nm |

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

En caso contrario, no continuar y hacer lo siguiente:

| Problema | Comprobar |
|---|---|
| Pocillo blanco > 0,050 DO 450 nm | 1. que la solución cromógeno/substrato no se haya contaminado durante el ensayo; |
| Control negativo (CN) > 0,200 DO 450 nm después de leer el blanco | 1. que el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación; 2. que se haya usado la solución de lavado apropiada y que se haya alimentado con esta el lavador antes del uso; 3. que no se hayan cometido errores en el procedimiento del ensayo (dispensar el control positivo en lugar del negativo); 4. que no se haya producido contaminación del control negativo o de sus pocillos debido a muestras positivas, derrames o al conjugado; 5. que las micropipetas no se hayan contaminado con muestras positivas ni con el conjugado; 6. que las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas; |

| | |
|--|--|
| Control positivo < 1,000 DO 450 nm | <ol style="list-style-type: none"> que el procedimiento se haya ejecutado correctamente; que no se hayan cometido errores en la distribución de controles (dispensar el control negativo en lugar del positivo). En este caso, el control negativo también tendrá un valor de DO 450 nm > 0,150; que el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación; que no se haya producido contaminación externa del control positivo. |
|--|--|

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

**** Nota:**

Si se ha usado el calibrador, comprobar los siguientes datos:

| Comprobar | Requisitos |
|------------------|------------|
| Calibrador (CAL) | M/Co > 1,1 |

Si los resultados de la prueba no se corresponden con los requisitos indicados anteriormente, proceder del siguiente modo:

| Problema | Comprobar |
|-------------------------------------|---|
| Calibrador M/Co < 1,1 | <ol style="list-style-type: none"> que el procedimiento se haya ejecutado correctamente; que no se hayan cometido errores en su distribución (por ejemplo, dispensar el control negativo en lugar del calibrador); que el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación; que no haya ocurrido contaminación externa del calibrador. |

En cualquier caso, si todos los demás parámetros (blanco, control negativo, control positivo) se corresponden con los requisitos establecidos, la prueba puede considerarse válida.

P. CÁLCULO DEL VALOR DE CORTE.

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

$$CN + 0,200 = \text{Valor de corte (Co)}$$

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

Nota importante: Cuando el cálculo de los resultados se realiza mediante el sistema operativo de un sistema automatizado ELISA, es necesario asegurarse de que la formulación usada para el cálculo del valor de corte y para la interpretación de los resultados sea correcta.

Q. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

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

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

Un resultado **negativo** indica que el paciente no está infectado por *Treponema pallidum* o que la unidad de sangre se puede transfundir.

Los pacientes cuya muestra resulte **equivoca** deben someterse a una nueva prueba con una segunda muestra tomada del paciente 1 o 2 semanas después. La unidad de sangre no se puede transfundir.

Un resultado **positivo** indica infección por Tp y, por lo tanto, el paciente debe ser tratado en consecuencia o la unidad de sangre debe descartarse.

Notas importantes:

- La interpretación de los resultados debe hacerse bajo la supervisión del responsable del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio e interpretación.
- Cualquier resultado positivo debe confirmarse mediante un método alternativo capaz de detectar anticuerpos anti Tp (TPHA, VDRL) antes de formular un diagnóstico de infección por Tp.
- Cuando se transmiten los resultados de la prueba del laboratorio a un centro informático, debe prestarse mucha atención para evitar la transferencia de datos erróneos.
- El diagnóstico de infección por Tp debe ser realizado y comunicado al paciente solo por un médico cualificado.

A continuación se incluye un ejemplo de los cálculos:

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

Control negativo: 0,039 – 0,040 – 0,039 DO 450 nm
 Valor medio: 0,039 DO 450 nm
 Menor de 0,200 – Válido

Control positivo: 2,589 DO 450 nm
 Mayor de 1,000 – Válido
 Valor de corte = 0,080 + 0,200 = 0,280

Calibrador: 1,030 - 1,036 DO 450 nm
 Valor medio: 1,033 DO 450 nm M/Co = 3,7
 M/Co mayor de 1,1 – Válido

Muestra 1: 0,070 DO 450 nm
 Muestra 2: 1,690 DO 450 nm
 Muestra 1 M/Co < 0,9 = negativa
 Muestra 2 M/Co > 1,1 = positiva

R. RENDIMIENTO.

La evaluación del rendimiento se ha realizado de acuerdo con lo indicado en las Especificaciones técnicas internas (ITS) y siguiendo las directivas de tratamiento para centros de control y

prevención de enfermedades de transmisión sexual (*Centers for Disease Control and Prevention of sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2002*).

El rendimiento del ensayo se ha estudiado extensamente usando los dos protocolos distintos (largo y corto), y se han obtenido resultados equivalentes.

1. SENSIBILIDAD ANALÍTICA.

El límite de detección del ensayo se ha calculado mediante el 1^{er} Estándar internacional de la O.M.S. para plasma sifilítico humano IgG e IgM NIBSC código: 05/132.

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos para este material con tres lotes de productos.

Se diluyó O.M.S. en el control negativo y se examinó en 4 réplicas.

| 1 ^{er} Est. Int. O.M.S. IU/ml | SIABULTRA.CE Lote 0313 DO 450 nm | SIABULTRA.CE Lote 0313/2 DO 450 nm | SIABULTRA.CE Lote 0313/3 DO 450 nm |
|--|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 0,01 | 1,149 | 1,240 | 1,046 |
| 0,005 | 0,576 | 0,574 | 0,506 |
| 0,0025 | 0,298 | 0,275 | 0,241 |
| 0,00125 | 0,141 | 0,143 | 0,123 |
| Control negativo | 0,016 | 0,017 | 0,024 |

El producto SIABULTRA.CE muestra una sensibilidad analítica superior a 0,0025 IU/ml.

2. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA.

La evaluación del rendimiento del dispositivo se llevó a cabo en una prueba realizada en más de un total de 200 muestras positivas y más de 2000 muestras negativas.

2.1 Especificidad diagnóstica.

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

Además del primer estudio, donde se examinaron 2.000 muestras, incluyendo donantes no seleccionados, pacientes hospitalizados y especímenes que podían presentar potencialmente reactividad cruzada, la especificidad diagnóstica se evaluó recientemente examinando un total de 2150 muestras negativas en cuatro lotes diferentes. Se observó un valor de especificidad del 100%.

También se comprobaron tanto plasma sometido a métodos de preparación estándar (citrato, EDTA y heparina) como suero para asegurar que no había interferencias debidas a la preparación de la muestra.

Además, se comprobaron muestras congeladas para determinar las interferencias debidas a la extracción y al almacenamiento.

No se han observado interferencias si la muestra está limpia, libre de partículas y no contaminada.

2.2 Sensibilidad diagnóstica.

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

La sensibilidad diagnóstica se estimó en la evaluación del rendimiento interna en un total de más de 200 muestras procedentes de infección por Tp.

La sensibilidad diagnóstica también se evaluó en:

- el panel con código PSS 202(M) suministrado por BBI, EE. UU.;
- dos paneles de origen europeo producidos por EFS, Francia, y basados en muestras de origen europeo: lote # 08.150830, lote # 09/171002
- panel de calificación de sífilis QSS701 suministrado por Seracare
- control positivo de reagina (sífilis) de BBI Diagnostics Accurun 156, suministrado por Seracare

frente a un equipo con marca CE ya presente en el mercado.

Se encontró un sensibilidad diagnóstica del 100%.

3. PRECISIÓN.

El control negativo (CN), el calibrador (CAL) y el control positivo (CP) del dispositivo se examinaron en 16 réplicas tres veces (total n = 48) en tres lotes distintos del producto.

Se calcularon los coeficientes de variación (% CV).

De los valores obtenidos de DO 450 nm se derivaron los siguientes valores medios:

| | CN | CAL | CP |
|---------------------|-------|-------|-------|
| DO 450 nm | 0,033 | 0,790 | 2,649 |
| Desviación estándar | 0,004 | 0,034 | 0,159 |
| CV% | 13,2 | 4,7 | 5,8 |

La variabilidad mostrada en la tabla no lleva a errores de interpretación, especialmente de una muestra próxima al umbral de diagnóstico del ensayo.

S. LIMITACIONES.

Se evaluaron resultados falsos positivos repetibles, no confirmados por Western Blot o técnicas de confirmación similares, en menos del 0,1% de la población normal.

Se ha observado que las muestras congeladas que contienen partículas de fibrina o agregados tras descongelarse generan algunos resultados falsos.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Zhonghua yi xue za zhi 87:24 2007 Jun 26 pg 1721-2 Wang LN, Zheng HY, Li J, Wang XF, Liu XR Sensitivity and specificity of ELISA based on recombinant Treponema pallidum antigen and rapid plasma reagin test in diagnosis of syphilis: a comparative study.
2. Dermatol Clin. 1998 Oct;16(4):691-8.Syphilis. Serology. Young H.
3. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against Treponema pallidum. Castro R, Prieto ES, Santo I, Azevedo J, Exposto Fda L. J Clin Microbiol. 2003 Jan; 41(1):250-3.
4. Are Treponema pallidum Specific Rapid and Point-of-Care Tests for Syphilis Accurate Enough for Screening in Resource Limited Settings? Evidence from a Meta-Analysis. Jafari Y, Peeling RW, Shivkumar S, Claessens C, Joseph L, Pai NP. PLoS One. 2013; 8(2):e54695. Epub 2013 Feb 26.

Todos los productos de diagnóstico in vitro fabricados por la empresa son controlados por un sistema certificado de control de calidad aprobado conforme a la norma ISO 13485. 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 (MI) – Italia





República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: Bioars S.A. - PM-1127-308

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 13 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.09.21 12:33:07 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.09.21 12:33:08 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004727-23-8

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-004727-23-8

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por BIOARS S.A. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Determinación cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) frente al *Treponema pallidum* (Tp).

Marca comercial: DIA.PRO Diagnostic BioProbes

Modelos:

Syphilis Ab Version ULTRA

Indicación/es de uso:

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) frente al

Treponema pallidum (Tp).

El equipo está diseñado para el cribado de unidades de sangre y el seguimiento de pacientes infectados por Tp.

Forma de presentación: Cada equipo contiene reactivos suficientes para realizar 96, 192, 480 o 960 determinaciones:

Componentes:

1. Microplaca: MICROPLATE (96 tests: 1; 192 tests: 2; 480 tests: 5; 960 tests: 10)

12 tiras de 8 pocillos divisibles. Se han recubierto las microplacas con antígenos sintéticos purificados de Treponema pallidum (p15, p17 y p47). Las placas están en una bolsa sellada con desecante.

2. Control negativo: CONTROL - (96 tests: 1x2mL; 192 tests: 1x4 mL; 480 tests: 1x10 mL; 960 tests: 1x20 mL)

Listo para el uso. Contiene 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón fosfato 10 mM a pH 7,4 +/- 0,1, azida sódica 0,09% y ProClin 300 al 0,045% como conservantes.

3. Control positivo: CONTROL + (96 tests: 1x2mL; 192 tests: 1x4 mL; 480 tests: 1x10 mL; 960 tests: 1x20 mL)

Listo para el uso. Contiene suero humano inactivado positivo a Tp, 5% de albúmina de suero bovino (BSA), tampón fosfato 10 mM a pH 7,4 +/- 0,1, azida sódica 0,09% y ProClin 300 al 0,045% como conservantes.

4. Calibrador: CAL...ml (96 tests: 1 vial; 192 tests: 2 viales; 480 tests: 5 viales; 960 tests: 10 viales)

Calibrador liofilizado. Contiene anticuerpos inactivados anti Tp, calibrados contra el 1er Estándar Internacional de la O.M.S. para plasma sifilítico humano IgG e IgM NIBSC código: 05/132, 4% albúmina de suero bovino (BSA), 2% de manitol, tampón Tris 50mM a pH 7,8, 0,2 mg/ml de sulfato de gentamicina y ProClin 300 al 0,045%.

5. Solución de lavado concentrada: WASHBUF 20X (96 tests: 1x60 mL; 192 tests: 2x60 mL; 480 tests: 5x60 mL; 960 tests: 4x150 mL)

Solución concentrada 20x que contiene ProClin 300 al 0,045% como conservante. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7,0 +/- 0,2 y Tween 20 al 0,05%.

6. Conjugado: CONJ (96 tests: 1x16 mL; 192 tests: 1x25 mL; 480 tests: 2x40 mL; 960 tests: 4x40 mL)

Solución lista para el uso. Contiene antígenos sintéticos de Tp, marcados con HRP, tampón Tris suplementado con Kathon GC al 0,05%, Tween 20 y BSA

7. Cromógeno/sustrato: SUBS TMB (96 tests: 1x16 mL; 192 tests: 1x25 mL; 480 tests: 2x40 mL; 960 tests: 4x40 mL)

Componente listo para el uso. Contiene tampón citrato-fosfato 50 mM a pH 3,5-3,8, dimetilsulfóxido 4%, tetrametil-benzidina (TMB) 0,03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0,02%.

8. Ácido sulfúrico: H₂SO₄ 0.3 M (96 tests: 1x15 mL; 192 tests: 1x25 mL; 480 tests: 2x40 mL; 960 tests: 2x80 mL)

Contiene solución de H₂SO₄ 0,3 M.

9. Sellador adhesivo (96 tests: 2; 192 tests: 4; 480 tests: 10; 960 tests: 20)

10. Manual de instrucciones (96 tests: 1; 192 tests: 1; 480 tests: 1; 960 tests: 1)

Período de vida útil: 15 meses, conservado a 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l.

Lugar de elaboración:

Via G. Carducci, 27 – 20099 Sesto San Giovanni (Mi) – Italia.

Grupo de Riesgo: Grupo D

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 1127-308 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-004727-23-8

N° Identificadorio Trámite: 51620

AM

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.10.09 16:19:57 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.10.09 16:19:58 -03:00