



CHAGATEK
ELISA
RECOMBINANTE

Contenido

- 1. Datos del producto**
- 2. Especificaciones del producto**
- 3. Material del envase**
- 4. Rótulos**
- 5. Inserto**
- 6. Estudios de estabilidad**
- 7. Validación de desempeño del producto**



1. Datos del producto

DATOS DEL PRODUCTO

a.-**Nombre comercial:** CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

b.-**País de fabricación:** Argentina

c.-**Aplicación:** CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE es un enzimoimmunoensayo (ELISA) de tercera generación para la detección de anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, en suero o plasma humano.

d.-**Presentación:** El producto se comercializa en sus dos presentaciones para realizar 96 determinaciones (Cod. R96) ó 192 determinaciones (Cod. R192) de acuerdo al caso.

e.- **Relación de los componentes, si tuviera varios:** La relación de los componentes de acuerdo a su forma de presentación es la siguiente:

Microplaca con tiras de pocillos: Microplaca(s) de 12x8 tiras con pocillos rompibles sensibilizados con antígenos recombinantes de Trypanosoma cruzi. La microplaca está envasada en una bolsa tipo aluminio sellada con silicagel como desecante en su interior. Llevar a temperatura ambiente antes de abrir para prevenir la formación de humedad.

Nº de microplacas Cod. R96 1 Cod. R192 2

Control Positivo: Dilución de suero humano reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 0,6 ml Cod. R192 0,8 ml

Control Negativo: Dilución de suero humano no reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 0,6 ml Cod. R192 0,8 ml

Diluyente de Muestras: Suspensión proteica para la dilución de las muestras, estabilizada buffereada con P.B.S., con inhibidores de inespecificidad, con conservadores. Agitar antes de usar.

Volumen Cod. R96 25 ml Cod. R192 50 ml

Solución para Lavado 25X: Solución para lavado de los pocillos concentrada 25X para ser diluida con Agua Destilada o Desionizada antes de usar. Contiene un buffer fosfato concentrado y un agente surfactante.

Volumen Cod. R96 50 ml Cod. R192 100 ml

Conjugado 10X: Solución proteica buffereada que contiene un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado con peroxidasa (HRP), concentrado 10X. Contiene estabilizadores de proteínas y conservadores. Diluir 1:10 antes de usar con el Diluyente de Conjugado provisto.

Volumen Cod. R96 2,5 ml Cod. R192 3,5 ml

Diluyente de Conjugado: Suspensión proteica para la dilución del conjugado concentrado 10X, estabilizada buffereada con P.B.S., con conservadores. Agitar antes de usar.

Volumen Cod. R96 15 ml Cod. R192 30 ml

Sustrato: Solución que contiene peróxido de hidrógeno tamponado. Para mezclar con el Cromógeno.

Volumen Cod. R96 9 ml Cod. R192 15 ml

Cromógeno: Solución que contiene 3,3',5,5', Tetrametilbenzidina (TMB) con estabilizadores. Para mezclar con el Sustrato. *Advertencia: Almacenar y manipular protegida de la luz.*

Volumen Cod. R96 9 ml Cod. R192 15 ml

Solución Stop: Solución de Ácido Sulfúrico 1M. Reactivo corrosivo. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 15 ml Cod. R192 30 ml

Manual de Instrucciones: Uno por kit.

f.-Método y Valor diagnóstico: Es un enzimoimmunoanálisis de tercera generación basado en el Método Indirecto para la detección de anticuerpos específicos para ser utilizado como auxiliar en el diagnóstico de casos presuntivos de Enfermedad de Chagas, para ensayos epidemiológicos o tamiz serológico.

g.-Principio del método.

Es un ensayo inmunoenzimático, heterogéneo, no competitivo, basado en el método indirecto de tercera generación debido al uso de antígenos recombinantes para la detección de anticuerpos contra el T.cruzi en muestras de suero ó plasma humano. Los antígenos se obtienen por técnica de ADN recombinante y representan epitopes inmunodominantes correspondientes a los estadíos epimastigote y trypomastigote de diferentes cepas del Trypanosoma cruzi.

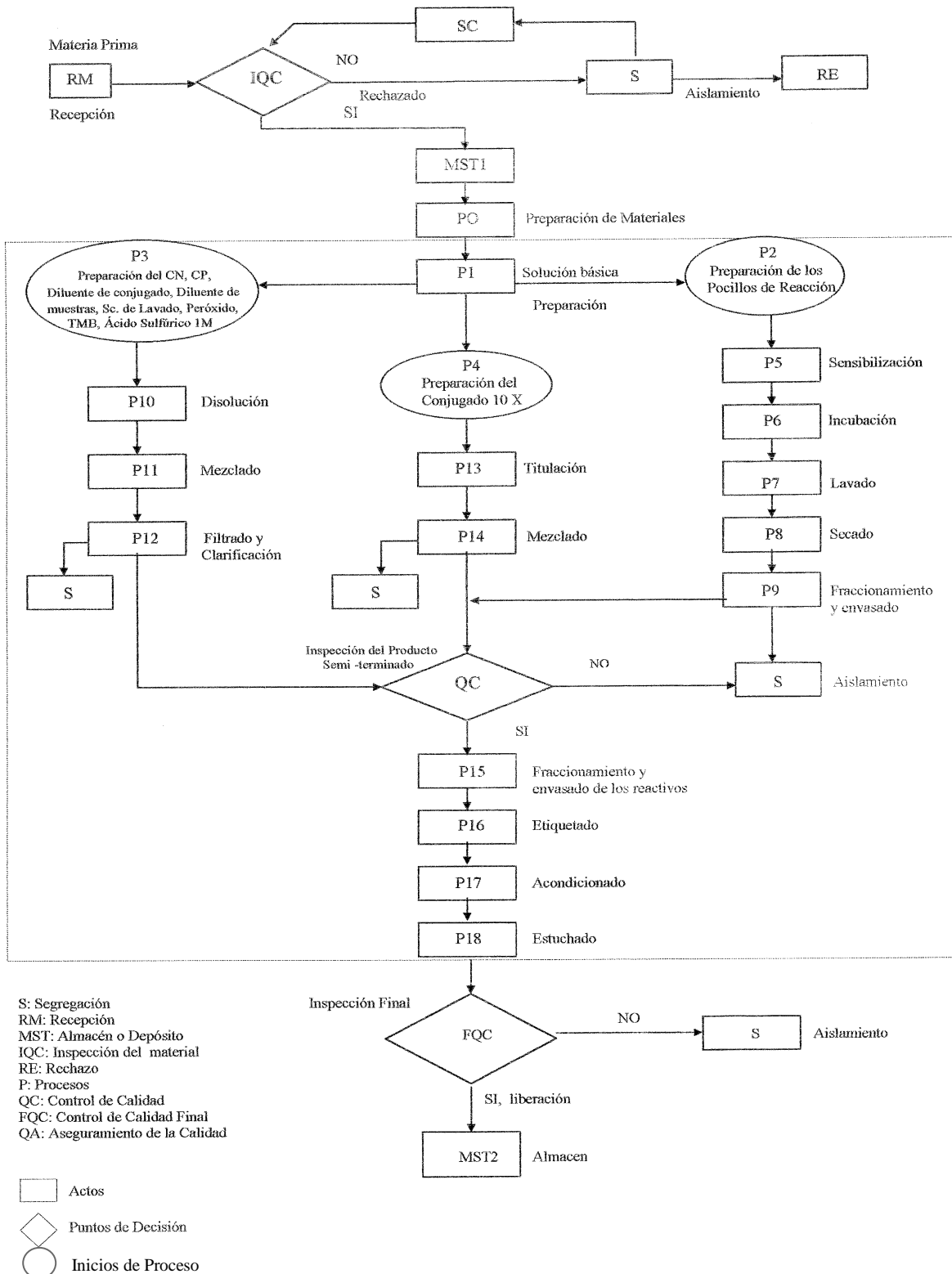
Una dilución apropiada de las muestras se incuba en pocillos de poliestireno, recubiertos con antígenos purificados de T.cruzi. Los anticuerpos contra T.cruzi son específicamente capturados por esos antígenos, quedando unidos a la fase sólida. Luego de varios lavados, a fin de eliminar las inmunoglobulinas no capturadas, el sistema se incuba con un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado a peroxidasa. Este conjugado reacciona específicamente con los anticuerpos contra T.cruzi inmunocapturados. El conjugado no unido se desecha por lavado y se revela la presencia de peroxidasa mediante el agregado de peróxido de hidrógeno/tetrametilbencidina como sustrato cromogénico. Esta incubación da como resultado la aparición de un color azul cuya intensidad depende de la concentración y de la afinidad de los anticuerpos contra T.cruzi de la muestra. La reacción enzimática puede ser detenida mediante el agregado de ácido sulfúrico, lo que produce un viraje de color hacia el amarillo espectrofotométricamente cuantificable.

La utilización del producto no está relacionada con algún equipo en particular.

h.-Flujograma de Manufactura

La elaboración y control del Producto se realiza bajo normas GMP en nuestra planta habilitada para tal fin.

Diagrama de Flujo : Tecnología general de fabricación de ELISA





2. Especificaciones del producto

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

Nombre: CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE.

Uso al que está destinado: Es un enzimoimmunoensayo (ELISA) de tercera generación para la detección de anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, en suero o plasma humano para ser utilizado como auxiliar en el diagnóstico de casos presuntivos de Enfermedad de Chagas, para ensayos epidemiológicos o tamiz serológico.

Características funcionales:

Completado el procedimiento de prueba, visualmente, el Control Negativo debe ser incoloro o puede presentar una coloración celeste tenue. El Control Positivo, debe ser de color celeste ó azul diferenciable del Control Negativo.

Las muestras incoloras o con coloración celeste tenue similar a la del Control Negativo, se considerarían presumiblemente **no reactivas** para anticuerpos contra T.cruzi. Las muestras que evidencien una coloración azul o celeste claramente distinguible del Control Negativo se considerarían presumiblemente **reactivas** para anticuerpos contra T.cruzi.

Con un lector de ELISA luego del agregado de la Solución Stop, se homogeneiza durante 10 segundos y se mide la densidad óptica (D.O.) de cada pocillo a 450 nm ó a 450 nm y 620-630 nm como filtro de referencia, empleando blanco de aire, dentro de los 30 minutos de agregada la solución. La presencia o ausencia de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi, se analiza teniendo en cuenta el límite de decisión (cut-off value) $\pm 10\%$ de zona gris.

Límite de decisión o cut-off value = D.O. promedio del Control Negativo + 0.100

Una muestra se consideraría presumiblemente no reactiva para anticuerpos contra T.cruzi si su valor de DO es menor que el límite inferior de la zona gris.

Una muestra se consideraría presumiblemente reactiva para anticuerpos contra T.cruzi si su valor de DO es mayor que el límite superior de la zona gris.

Toda muestra que ha sido reactiva o en zona gris en una primera prueba debería ser ensayada nuevamente para su confirmación. Si el resultado es negativo en el segundo ensayo, la muestra se consideraría no reactiva.

SENSIBILIDAD: La sensibilidad se ha determinado en ensayos clínicos empleando muestras comprobadamente reactivas del Centro Nacional de Referencia para la Enfermedad de Chagas de Argentina. También el equipo fue enfrentado con miembros de un panel interno reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi por los métodos de HAI, IFI y otros ELISA. En todos los estudios se obtuvo una concordancia del 100%.

ESPECIFICIDAD: Se ha calculado empleando paneles de muestras no reactivas pertenecientes a hemodadores y de muestras que presentan potencialmente reactividad cruzada con otras parasitosis, mujeres embarazadas y factor reumatoideo obteniéndose una especificidad superior al 99% sobre suero y plasma.

REPRODUCIBILIDAD: Se ha calculado con el Control Positivo y el Control Negativo repetidamente probados en días diferentes. Se obtuvieron CV% intraensayos e interensayos menores que el 20% para ambos Controles.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. La técnica de ELISA, como cualquier otra técnica serológica, no puede ser concebida como un método de diagnóstico definitivo ya que éste debe basarse en la correlación de los resultados de más de un test con los datos clínicos y epidemiológicos. En ese sentido, todo resultado debe ser interpretado como una probabilidad mayor o menor de acierto en relación al caso estudiado, dentro de la población normal o parasitada.

Toda muestra reactiva para ELISA tiene que ser confirmada por un método alternativo.

Un resultado no reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección por el *Trypanosoma cruzi*. En infecciones muy recientes (menos de 30/45 días de evolución) la técnica puede presentar resultados no reactivos o reactividades muy bajas.

Condiciones de almacenamiento y Período de validez.

1. El equipo tiene que ser conservado entre 2 y 8°C siempre en posición vertical y usarse antes de la fecha de vencimiento declarada en los rótulos. No congelar.
2. La microplaca debe ser llevada a temperatura ambiente antes de abrir su envase. Saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde los restantes en su propio envase en presencia del desecante. Cierrelo herméticamente y colóquelas nuevamente entre 2 y 8 °C.
3. La Solución de Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.
4. Todos los otros reactivos son estables entre 2 y 8°C siempre que se hayan manipulado cuidadosamente para evitar la contaminación.

El producto tal como se presenta conservado en estas condiciones tiene un período de validez de 12 meses desde su elaboración.

Precauciones:

1. Todos los reactivos contenidos en el equipo son sólo para uso diagnóstico “in vitro”.
2. No utilice el equipo o los reactivos después de la fecha del vencimiento declarada en los rótulos. El equipo tiene que ser conservado entre 2 y 8°C.
3. Los procedimientos deben realizarse cuidadosamente para obtener resultados e interpretaciones clínicas fiables.
4. Evite cualquier contaminación de los reactivos al sacarlos de sus recipientes. Nosotros recomendamos utilizar pipetas automáticas con puntas descartables. Cuando dispense los reactivos no toque las paredes y el fondo de los pocillos.
5. No mezcle reactivos de lotes diferentes. No intercambie la tapa entre los diferentes reactivos componentes del equipo.
6. Asegúrese que el Sustrato/Cromógeno no entre en contacto con agentes oxidantes o con superficies metálicas; evite su exposición a la luz durante la etapa de incubación o en su manipulación. Cuando utilice el reactivo hágalo sólo en recipientes y materiales plásticos descartables, perfectamente limpios o estériles.

7. Muestras y materiales potencialmente infecciosos tienen que ser manejados con cuidado siguiendo las normas de bioseguridad vigentes.
8. Todos los objetos en contacto directo con las muestras y los residuos del ensayo deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los procedimientos más efectivos para la inactivación son el tratamiento con autoclave a 121°C durante 30 minutos o con Hipoclorito de Sodio a una concentración final de 2.5% durante 24 horas.
9. Evite cualquier contacto de líquidos con la piel y mucosas. Siempre use para su protección guantes, lentes, etc., según las normas de bioseguridad.
10. La Solución Stop es Irritante por lo tanto manipúlela con cuidado.

Requisitos de calidad:

La inclusión de un Control Positivo y Negativo permite verificar la reproductibilidad del ensayo, la estabilidad de los reactivos y llamar la atención sobre posibles errores de técnica.

El ensayo es considerado válido si:

1. El valor de DO 450nm promedio del Control Negativo (CN) es < 0.250 . Valores anormales se observan si el sistema de lavado es defectuoso o no se observaron las “Instrucciones de Lavado” descriptas en la sección correspondiente.
2. El valor de DO 450nm del Control Positivo (CP) es ≥ 0.500 . Valores diferentes se observan en caso de mantenimiento incorrecto del equipo.

En caso de que no se cumpla alguna de las especificaciones mencionadas anteriormente, antes de repetir el test, verifique la fecha de vencimiento del equipo, el correcto funcionamiento de los instrumentos usados en el ensayo, el procedimiento de distribución de Controles y Muestras o cualquier falla operativa.

Métodos de ensayo y límites de aceptación

Sobre los equipos muestreados se realizan los Controles siguiendo estrictamente las indicaciones del manual de instrucciones asignándole un N° de análisis, a saber:

Sensibilidad:

Debe existir total concordancia entre los resultados del ensayo y la referencia utilizando sueros reactivos para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi tomados del Panel Interno (Seroteca).

Especificidad:

Debe existir $> 99\%$ de concordancia entre los resultados del ensayo y la referencia utilizando sueros no reactivos para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi tomados del Panel Interno.

Reproducibilidad:

Calculada empleando los Controles Negativos y Positivos repetidamente probados en días diferentes. Se acepta como apto coeficientes de variación intraensayo e interensayo porcentual (CV%) $\leq 20\%$.

ESPECIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES:

Características Físicas (aspecto, color, transparencia, humedad residual)

Microplaca con tiras de Pocillos: Tiras de poliestireno cristal con 8 pocillos cada una con fondo plano en un marco porta tiras, envasadas herméticamente en papel aluminio con recubrimiento de polietileno en presencia de silicagel como desecante.

Diluyente de Muestras: Suspensión salina isotónica incolora, translúcida.
Diluyente de Conjugado: Suspensión salina isotónica incolora, translúcida.
Conjugado 10X: Solución proteica color rojo translúcida.
Solución Stop: Solución corrosiva incolora, transparente.
Sustrato: Solución incolora transparente.
Cromógeno: Solución incolora transparente.
Control Positivo: Solución viscosa amarillenta aspecto sérico.
Control Negativo. Solución viscosa amarillenta aspecto sérico.
Solución para lavado 25X: Solución salina isotónica incolora translúcida.

Características Químicas

Microplaca con tiras de Pocillos: 12x8 tiras con pocillos rompibles sensibilizados con antígenos recombinantes de Trypanosoma cruzi. La microplaca está envasada en una bolsa tipo aluminio sellada con silicagel como desecante en su interior.
Control Positivo (+): Dilución de suero humano reactivo para anticuerpos contra T.cruzi, inactivado químicamente, con estabilizadores proteicos, con conservadores. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.
Control Negativo (-): Dilución de suero humano no reactivo para anticuerpos contra T.cruzi, inactivado químicamente, con estabilizadores proteicos, con conservadores. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.
Buffer de lavado concentrado 25X: Solución amortiguadora de buffer fosfato y agente surfactante, concentrada 25 veces.
Diluyente de Muestras: Suspensión salina proteica buffereada con P.B.S. con inhibidores de inespecificidad, con conservadores. Agitar antes de usar.
Conjugado concentrado 10X: Solución proteica buffereada que contiene un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado con peroxidasa (HRP), concentrado 10X. Contiene estabilizadores de proteínas y conservadores, concentrada 10 veces.
Diluyente de conjugado: Suspensión salina proteica buffereada con P.B.S., con conservadores. Agitar antes de usar.
Sustrato: Solución de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) tamponado. Listo para usar.
Cromógeno: Solución de 3,3', 5,5' tetrametilbencidina (TMB), estabilizada. Listo para usar.
Solución Stop: Solución de Ácido Sulfúrico 1 mol/litro. Reactivo corrosivo. Listo para usar.

Calidad microbiológica

Microbiológicamente no controlado.



3. Material del envase

MATERIAL DEL ENVASE

Por desarrollo y estudios de estabilidad de cada una de los componentes que integran el Kit de ELISA se ha determinado la compatibilidad física y química con los materiales utilizados para su envasado. En todos los casos deben ser inertes con el producto a envasar, garantizar su estabilidad e integridad, sin fugas, hasta su fecha de vencimiento en las condiciones de conservación indicadas.

Como conclusión de estos estudios se han determinado las especificaciones para cada caso:

Envases Primarios (Elemento del sistema de envase que está en contacto con el contenido):

Microplaca con Pocillos: Con el objeto de evitar su deterioro por la luz, el calor o la humedad están envasados en Bolsas de polipropileno cristal laminadas con polipropileno metalizado cerrados herméticamente por termosellado en presencia de silicagel como desecante.

Cromógeno Tetrametilbencidina: Con el objeto de evitar su deterioro por la luz, siendo que es una sustancia fotosensible, está envasado en un frasco de poliestireno de alta densidad de color marrón con tapa de color azul con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor.

Conjugado: Como medida precautiva, dado que es el componente limitante de la estabilidad del Kit está envasado en un frasco de poliestireno de mediana densidad de color marrón para evitar su posible deterioro por la luz, con tapas con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor.

Sustrato Peróxido de Hidrógeno está envasado en frascos de poliestireno de alta densidad de color natural con tapas de color blanco con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor.

Solución Stop está envasado en frascos de poliestireno de alta densidad de color natural de boca ancha con tapas de color rojo con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor

Diluyente de Muestras está envasado en frascos de poliestireno de alta densidad de color natural de boca ancha con tapas de color verde con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor

Diluyente de conjugado y Solución para Lavado están envasados en frascos de poliestireno de alta densidad de color natural de boca ancha con tapas con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor.

Los Controles Positivo y Negativo están envasados en frascos naturales de poliestireno de alta densidad con boca a rosca y tapa de polipropileno verde con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor para el Control Negativo y tapa de polipropileno roja con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor para el Control Positivo.

Envases secundarios (Elemento del sistema de envase que contiene el envase primario):



Los componentes del equipo están acondicionados sobre una placa de espuma de goma con orificios, material que por su elasticidad le confiere resistencia al impacto.

Los rótulos internos están constituidos por etiquetas autoadhesivas de tamaño adecuado según el envase, de un material brillante resistente a los cambios de temperatura y humedad en lo que respecta a su integridad y adhesividad.

Los estuches son de cartulina Duplex de 280 g sobre microcorrugado dorso blanco laminados con plietileno materiales que le confieren al producto integridad, resistencia a los cambios de temperatura y humedad y resistencia al impacto.

El instructivo son libritos de formato 8,5 por 13 cm encuadernados con tapa, impreso en dos colores frente y dorso sobre papel Chambril de 57 g.

4. Rótulos

ROTULOS

ENVASE PRIMARIO
Equipo por 96 determinaciones

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
MICROPLACA CON TIRAS CON POCILLOS

96 Pocillos

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

CONTROL POSITIVO

0,6 ml. Listo para usar.

Material potencialmente infeccioso

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

CONTROL NEGATIVO

0,6 ml. Listo para usar.

Material potencialmente infeccioso

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

SOLUCION PARA LAVADO 25X

50 ml. Diluir 1:25 con agua destilada o desionizada antes de usar

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

DILUENTE DE MUESTRAS

25 ml. Agitar antes de usar.

Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
CONJUGADO 10X
2,5 ml. Diluir 1:10 con Diluyente de conjugado antes de usar
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
DILUENTE DE CONJUGADO
15 ml. Agitar antes de usar.
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
SUSTRATO
(H₂O₂) 9 ml. Listo para usar.
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
CROMÓGENO
(TMB) 9 ml. Listo para usar.
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
SOLUCION STOP
15 ml. Lista para usar.

Reactivo corrosivo
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

Equipo por 192 determinaciones
CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
MICROPLACA CON TIRAS CON POCILLOS
96 Pocillos
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
MICROPLACA CON TIRAS CON POCILLOS
96 Pocillos
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
CONTROL POSITIVO
0,8 ml. Listo para usar.
Material potencialmente infectivo
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE
CONTROL NEGATIVO
0,8 ml. Listo para usar.
Material potencialmente infectivo
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

SOLUCION PARA LAVADO 25X

100 ml. Diluir 1:25 con agua destilada o desionizada antes de usar

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

DILUENTE DE MUESTRAS

50 ml. Agitar antes de usar.

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

CONJUGADO 10X

3,5 ml. Diluir 1:10 con Diluyente de conjugado antes de usar

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

DILUENTE DE CONJUGADO

30 ml. Agitar antes de usar.

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

SUSTRATO

(H₂O₂) 15 ml. Listo para usar.

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro". Industria Argentina

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

CROMÓGENO

(TMB) 15 ml. Listo para usar.

Conservar entre 2 y 8 °C
 Uso "In Vitro". Industria Argentina
 LABORATORIO LEMOS S.R.L.
 Lote: Vencimiento:

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

SOLUCION STOP

30 ml. Lista para usar
 Reactivo corrosivo
 Conservar entre 2 y 8 °C
 Uso "In Vitro". Industria Argentina
 LABORATORIO LEMOS S.R.L.
 Lote: Vencimiento:


ENVASE SECUNDARIO-ESTUCHE

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

Enzimoinmunoensayo (ELISA) de tercera generación para la detección de anticuerpos específicos contra el Trypanosoma cruzi en suero o plasma humano.

Sólo para uso diagnóstico "in vitro"

Contenido del Equipo: (según presentación)	96 determinaciones	192 determinaciones
Microplaca con tiras con pocillos.	1x12x8 con Antígenos Recombinantes de Trypanosoma cruzi	2x12x8 con Antígenos Recombinantes de Trypanosoma cruzi
Control Positivo	0.6 ml	0.8 ml
Control Negativo	0.6 ml	0.8 ml
Diluyente de Muestras	25 ml	50 ml
Solución para Lavado 25X	50 ml	100 ml
Conjugado 10X	2.5 ml	3.5 ml
Diluyente de Conjugado	15 ml	30 ml
Sustrato	9 ml	15 ml
Cromógeno	9 ml	15 ml
Solución Stop	15 ml	30 ml
Instructivo	1	1

 Conservar entre 2 y 8 °C.

Ver instrucciones de uso leyendo cuidadosamente el instructivo adjunto.

Lote:

Vencimiento:

Elaborado por:

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Director Técnico: Jorge O. Carradori, Bioquím. y Farm.

Santiago del Estero 1162. C1075AAX. C.A.B.A. Argentina. Telefax: (5411) 4304-2204/2374.

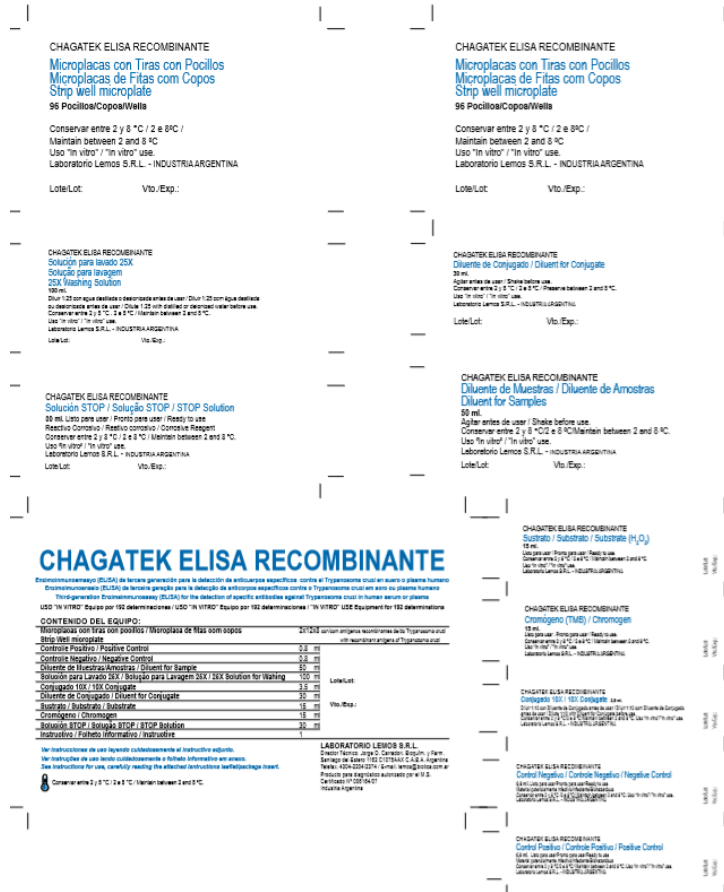
E-mail: info@lab-lemos.com.ar

Producto para Diagnóstico autorizado por el M.S. Certificado N°: 006159 / 07.

Industria Argentina

IMÁGENES

Chagatek Elisa Recombinante x 192 determinaciones;



Chagatek Elisa Recombinante x 96 determinaciones

<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Microplacas con Tiras con Pociillos Microplacas de Fitas com Copos Strip well microplate 96 Pociillos/Copos/Wells</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8°C / Maintain between 2 and 8 °C Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#:Lot. Vta./Exp.:</p>	<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Diluyente de Conjugado / Diluent for Conjugate 16 ml.</p> <p>Agitar antes de usar / Shake before use. Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C. Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#: Lot. Vta./Exp.:</p>																								
<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Solución para lavado 25X Solução para lavagem 25X 25X Washing Solution 18 ml.</p> <p>Diluir 1:25 con agua destilada o desionizada antes de usar / Diluir 1:25 con água destilada ou desionizada antes de usar / Dilue 1:25 with distilled or deionized water before use. Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C. Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#: Lot. Vta./Exp.:</p>	<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Diluyente de Muestras / Diluyente de Amostras Diluent for Samples 26 ml.</p> <p>Agitar antes de usar / Shake before use. Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C. Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#: Lot. Vta./Exp.:</p>																								
<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Solución STOP / Solução STOP / STOP Solution 16 ml. Listo para usar / Pronto para usar / Ready to use</p> <p>Reactivo Conservado / Reativo conservado / Conserved Reagent Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C. Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#: Lot. Vta./Exp.:</p>	<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Substrato / Substrato / Substrate (H₂O₂) 9 ml.</p> <p>Listo para usar / Pronto para usar / Ready to use. Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C. Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#: Lot. Vta./Exp.:</p>																								
<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE</p> <p>Ensayo inmunoenzimático (ELISA) de lectura rápida para la detección de anticuerpos específicos contra el Tryptosoma anal en suero o plasma humano Ensayo inmunoenzimático (ELISA) de lectura rápida para la detección de anticuerpos específicos contra el Tryptosoma anal em soro ou plasma humano Thin-layered Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the detection of specific antibodies against Tryptosoma anal in human serum or plasma</p> <p>Kit para diagnóstico "in vitro" / 96 determinaciones Kit para uso diagnóstico "in vitro" / 96 determinaciones Only for "in vitro" diagnostic use / 96 determinations</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>CONTENIDO DEL EQUIPO / CONTEÚDO DO KIT / CONTENTS OF THE KIT</th> <th>96 determinaciones</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Microplacas con tiras con pocillos / Microplaca de fitas com copos / Strip well microplate</td> <td>1 x 96</td> </tr> <tr> <td>Control Positivo / Positive Control</td> <td>0,8 ml</td> </tr> <tr> <td>Control Negativo / Negative Control</td> <td>0,8 ml</td> </tr> <tr> <td>Diluyente de Muestras/Amostras / Diluent for Samples</td> <td>26 ml</td> </tr> <tr> <td>Solución para Lavado 25X / Solução para Lavagem 25X / 25X Solution for Washing</td> <td>50 ml</td> </tr> <tr> <td>Conjugado 1:1K / 1:1K Conjugate</td> <td>2,5 ml</td> </tr> <tr> <td>Diluyente de Conjugado / Diluent for Conjugate</td> <td>16 ml</td> </tr> <tr> <td>Substrato / Substrato / Substrate</td> <td>9 ml</td> </tr> <tr> <td>Cromógeno / Chromogen</td> <td>9 ml</td> </tr> <tr> <td>Solución STOP / Solução STOP / STOP Solution</td> <td>16 ml</td> </tr> <tr> <td>Instruccion / Folheto Informativo / Instruction</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table> <p>Ver instrucciones de uso y reactivos a utilizar en el instructivo adjunto. Ver instruções de uso e reativos a utilizar no manual informativo em anexo. See instructions for use, reagents used in the attached/information leaflet/instruction leaflet.</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C</p> <p>LABORATORIO LEMOS S.R.L. Director Técnico: Jorge C. Lemos, Biotecnólogo, Dip. en Serología de la UNIC. COTRAX S.A. Argentina Teléfono: 4304-2204/2374 E-mail: lemos@lemos.com.ar Producto para diagnóstico autorizado por el M.S. Certificado Nº 201/0407 Instituto Argentino.</p>	CONTENIDO DEL EQUIPO / CONTEÚDO DO KIT / CONTENTS OF THE KIT	96 determinaciones	Microplacas con tiras con pocillos / Microplaca de fitas com copos / Strip well microplate	1 x 96	Control Positivo / Positive Control	0,8 ml	Control Negativo / Negative Control	0,8 ml	Diluyente de Muestras/Amostras / Diluent for Samples	26 ml	Solución para Lavado 25X / Solução para Lavagem 25X / 25X Solution for Washing	50 ml	Conjugado 1:1K / 1:1K Conjugate	2,5 ml	Diluyente de Conjugado / Diluent for Conjugate	16 ml	Substrato / Substrato / Substrate	9 ml	Cromógeno / Chromogen	9 ml	Solución STOP / Solução STOP / STOP Solution	16 ml	Instruccion / Folheto Informativo / Instruction	1	<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Control Negativo / Controle Negativo Negative Control 0,8 ml.</p> <p>Listo para usar / Pronto para usar / Ready to use. Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C. Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#: Lot. Vta./Exp.:</p>
CONTENIDO DEL EQUIPO / CONTEÚDO DO KIT / CONTENTS OF THE KIT	96 determinaciones																								
Microplacas con tiras con pocillos / Microplaca de fitas com copos / Strip well microplate	1 x 96																								
Control Positivo / Positive Control	0,8 ml																								
Control Negativo / Negative Control	0,8 ml																								
Diluyente de Muestras/Amostras / Diluent for Samples	26 ml																								
Solución para Lavado 25X / Solução para Lavagem 25X / 25X Solution for Washing	50 ml																								
Conjugado 1:1K / 1:1K Conjugate	2,5 ml																								
Diluyente de Conjugado / Diluent for Conjugate	16 ml																								
Substrato / Substrato / Substrate	9 ml																								
Cromógeno / Chromogen	9 ml																								
Solución STOP / Solução STOP / STOP Solution	16 ml																								
Instruccion / Folheto Informativo / Instruction	1																								
	<p>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE Control Positivo / Controle Positivo Positive Control 0,8 ml.</p> <p>Listo para usar / Pronto para usar / Ready to use. Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Maintain between 2 and 8 °C. Uso "in vitro" / "in vitro" use. Laboratorio Lemos S.R.L. - INDUSTRIA ARGENTINA</p> <p>Lot#: Lot. Vta./Exp.:</p>																								



5. Inserto

INSERTO

CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

Enzimoimmunoensayo (ELISA) de tercera generación para la detección de anticuerpos específicos contra el Trypanosoma cruzi en suero o plasma humano
Sólo para uso diagnóstico “in vitro”

PRESENTACIONES: Equipos por 96 determinaciones (Cod. R96)
Equipos por 192 determinaciones (Cod. R192)

ASPECTO CLÍNICO Y USO AL QUE ESTA DESTINADO

La Enfermedad de Chagas es causada por el protozoo flagelado Trypanosoma cruzi afectando principalmente a los países de Latinoamérica. Las vías de transmisión del Trypanosoma cruzi pueden ser vectorial a través de las heces infectadas del insecto vector del género Triatominae, congénita por la ruta transplacentaria, transfusional por contacto con sangre infectada, por trasplante de órganos o por accidente laboral. Se reconocen tres períodos evolutivos de la enfermedad. El período agudo, generalmente visto en niños es usualmente asintomático. La mayoría de los casos agudos se resuelve en dos a tres meses. Le sigue el período indeterminado donde la seropositividad es la evidencia de la existencia de la enfermedad. La enfermedad crónica se manifiesta principalmente por la falla cardíaca que puede conducir a la muerte súbita. Los tests basados en la detección de anticuerpos específicos son los más comúnmente usados como ensayos de rutina para inferir la infección por el Trypanosoma cruzi, desarrollándose principalmente técnicas de HAI, IFI y ELISA.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Es un ensayo inmunoenzimático, heterogéneo, no competitivo, basado en el método indirecto de tercera generación debido al uso de antígenos recombinantes para la detección de anticuerpos contra el T.cruzi en muestras de suero ó plasma humano. Los antígenos se obtienen por técnica de ADN recombinante y representan epitopes inmunodominantes correspondientes a los estadios epimastigote y trypomastigote de diferentes cepas del Trypanosoma cruzi.

Una dilución apropiada de las muestras se incuba en pocillos de poliestireno, recubiertos con antígenos purificados de T.cruzi. Los anticuerpos contra T.cruzi son específicamente capturados por esos antígenos, quedando unidos a la fase sólida. Luego de varios lavados, a fin de eliminar las inmunoglobulinas no capturadas, el sistema se incuba con un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado a peroxidasa. Este conjugado reacciona específicamente con los anticuerpos contra T.cruzi inmunocapturados. El conjugado no unido se desecha por lavado y se revela la presencia de peroxidasa mediante el agregado de peróxido de hidrógeno/tetrametilbencidina como sustrato cromogénico. Esta incubación da como resultado la aparición de un color azul cuya intensidad depende de la concentración y de la afinidad de los anticuerpos contra T.cruzi de la muestra. La reacción enzimática puede ser detenida mediante el agregado de ácido sulfúrico, lo que produce un viraje de color hacia el amarillo espectralmente cuantificable.

CONTENIDO DEL EQUIPO

Microplaca con tiras de pocillos: Microplaca(s) de 12x8 tiras con pocillos rompibles sensibilizados con antígenos recombinantes de *Trypanosoma cruzi*. La microplaca está envasada en una bolsa tipo aluminio sellada con silicagel como desecante en su interior. Llevar a temperatura ambiente antes de abrir para prevenir la formación de humedad.

N° de microplacas Cod. R96 1 Cod. R192 2

Control Positivo: Dilución de suero humano reactivo para anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 0,6 ml Cod. R192 0,8 ml

Control Negativo: Dilución de suero humano no reactivo para anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 0,6 ml Cod. R192 0,8 ml

Diluyente de Muestras: Suspensión proteica para la dilución de las muestras, estabilizada buffereada con P.B.S., con inhibidores de inespecificidad, con conservadores. Agitar antes de usar.

Volumen Cod. R96 25 ml Cod. R192 50 ml

Solución para Lavado 25X: Solución para lavado de los pocillos concentrada 25X para ser diluida con Agua Destilada o Desionizada antes de usar. Contiene un buffer fosfato concentrado y un agente surfactante.

Volumen Cod. R96 50 ml Cod. R192 100 ml

Conjugado 10X: Solución proteica buffereada que contiene un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado con peroxidasa (HRP), concentrado 10X. Contiene estabilizadores de proteínas y conservadores. Diluir 1:10 antes de usar con el Diluyente de Conjugado provisto.

Volumen Cod. R96 2,5 ml Cod. R192 3,5 ml

Diluyente de Conjugado: Suspensión proteica para la dilución del conjugado concentrado 10X, estabilizada buffereada con P.B.S., con conservadores. Agitar antes de usar.

Volumen Cod. R96 15 ml Cod. R192 30 ml

Sustrato: Solución que contiene peróxido de hidrógeno tamponado. Para mezclar con el Cromógeno.

Volumen Cod. R96 9 ml Cod. R192 15 ml

Cromógeno: Solución que contiene 3,3',5,5', Tetrametilbenzidina (TMB) con estabilizadores. Para mezclar con el Sustrato. *Advertencia: Almacenar y manipular protegida de la luz.*

Volumen Cod. R96 9 ml Cod. R192 15 ml

Solución Stop: Solución de Acido Sulfúrico 1M. Reactivo corrosivo. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 15 ml Cod. R192 30 ml

Manual de Instrucciones: El presente documento.

Nota: *Control Positivo y Negativo* se preparan a partir de suero humano no reactivo para HBsAg y para anticuerpos contra HCV y HIV, adecuadamente inactivado. Sin embargo, por ser derivados de la sangre humana deben manejarse con precaución.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

1. Micropipetas de 10-20, 100, 200 y 1000 μ l con puntas descartables.
2. Material volumétrico de vidrio.
3. Cronómetro y papeles absorbentes.
4. Agua Destilada o Desionizada.
5. Incubador de microplacas de ELISA termostatzado a 37 ± 1 °C.
6. Sistema lavador microplacas automático o manual capaz aspirar y dispensar volúmenes de 300-400 μ l con recipiente colector de desechos potencialmente infectivos.
7. Lector fotométrico de ELISA lineal con filtro de 450nm o bicromático provisto con filtros de 450nm y 620-630 nm. (de uso alternativo).
8. Materiales de bioseguridad.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. El equipo tiene que ser conservado entre 2 y 8°C siempre en posición vertical y usarse antes de la fecha de vencimiento declarada en los rótulos. No congelar.
2. La microplaca debe ser llevada a temperatura ambiente antes de abrir su envase. Saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde los restantes en su propio envase en presencia del desecante. Ciérrelo herméticamente y colóquelas nuevamente entre 2 y 8 °C.
3. La Solución de Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.
4. Todos los otros reactivos son estables entre 2 y 8°C siempre que se hayan manipulado cuidadosamente para evitar la contaminación.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

1. Todos los reactivos contenidos en el equipo son sólo para uso diagnóstico “in vitro”.
2. No utilice el equipo o los reactivos después de la fecha del vencimiento declarada en los rótulos. El equipo tiene que ser conservado entre 2 y 8°C.
3. Los procedimientos deben realizarse cuidadosamente para obtener resultados e interpretaciones clínicas fiables.
4. Evite cualquier contaminación de los reactivos al sacarlos de sus recipientes. Nosotros recomendamos utilizar pipetas automáticas con puntas descartables. Cuando dispense los reactivos no toque las paredes y el fondo de los pocillos.
5. No mezcle reactivos de lotes diferentes. No intercambie la tapa entre los diferentes reactivos componentes del equipo.
6. Asegúrese que el Sustrato/Cromógeno no entre en contacto con agentes oxidantes o con superficies metálicas; evite su exposición a la luz durante la etapa de incubación o en su manipulación. Cuando utilice el reactivo hágalo sólo en recipientes y materiales plásticos descartables, perfectamente limpios o estériles.
7. Muestras y materiales potencialmente infecciosos tienen que ser manejados con cuidado siguiendo las normas de bioseguridad vigentes.
8. Todos los objetos en contacto directo con las muestras y los residuos del ensayo deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los procedimientos más efectivos para la inactivación son el tratamiento con autoclave a 121°C durante 30 minutos o con Hipoclorito de Sodio a una concentración final de 2.5% durante 24 horas.

9. Evite cualquier contacto de líquidos con la piel y mucosas. Siempre use para su protección guantes, lentes, etc., según las normas de bioseguridad.
10. La Solución Stop es Irritante por lo tanto manipúlela con cuidado.

PRECAUCIONES TÉCNICAS

- Coloque todos los reactivos a temperatura ambiente al menos 1 hora antes de comenzar con la prueba.
- Saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde los restantes en su propio envase que contiene el desecante. Obture firmemente el envase con cinta antes de guardarlas entre 2 y 8°C.
- Los tiempos de distribución e incubación deben ser los mismos para todos los pocillos; evite interrupciones entre los pasos del ensayo.
- En el procedimiento de lavado, use sólo la Solución para Lavado proporcionada con el equipo y siga cuidadosamente las indicaciones expresadas en la sección “Instrucciones de Lavado”.
- Elimine el exceso de Solución de lavado de los pocillos golpeándolos en forma invertida sobre papel absorbente.
- El color desarrollado en la última incubación es estable como máximo 30 minutos en la oscuridad.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Puede utilizarse suero fresco o plasma (EDTA, Heparina, Citrato) humano. La sangre se extraerá de un paciente preferentemente en ayunas siguiendo las normas generales.

Las muestras deben ser límpidas. Ante la presencia de turbiedad, precipitados o coágulos recomendamos centrifugar a 2000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente o filtrar con membranas de 0.22µ. No utilizar muestras con contaminación bacteriana dado que pueden producir falsos resultados.

Muestras altamente lipémicas, ictéricas o hemolizadas no deberían ser usadas ya que pueden dar falsos resultados en el ensayo. No utilice muestras inactivadas por calor.

Si las muestras no son usadas inmediatamente pueden guardarse entre 2 y 8°C durante 1 semana. En caso de almacenamiento prolongado congélelas a -20°C. Evite congelamientos y descongelamientos reiterados. Muestras congeladas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de usar.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Diluyente de Muestras y Diluyente de Conjugado: Agitar antes de usar.

Solución para Lavado: La Solución para Lavado concentrada 25X tiene que ser diluida 1:25 con Agua Destilada o Desionizada antes de usar. Homogeneizar bien. La Solución para Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.

Conjugado 10X: Minutos antes de usar diluya el Conjugado concentrado 1:10 con el Diluyente de Conjugado provisto. Homogeneizar la solución suavemente. Preparar sólo la cantidad necesaria para las pruebas en curso.

Sustrato/Cromógeno: Aproximadamente 5 minutos antes de usar mezcle un volumen de Sustrato con un volumen de Cromógeno en un recipiente de plástico descartable, en cantidad necesaria de acuerdo a las necesidades. Esta solución es estable durante 1 hora a temperatura ambiente protegido de la luz.

INSTRUCCIONES DE LAVADO

Un buen procedimiento de lavado es esencial para obtener datos analíticos correctos y precisos.

Recomendamos que utilice un equipo lavador automático de microplacas de Elisa, calibrado y en buen funcionamiento. Normalmente 6 ciclos de lavado automático de 300-400 µl/pocillo cada uno, con un reposo de 30 segundos entre cada ciclo, son suficientes para remover falsos positivos y ruido de fondo. Recomendamos calibrar el sistema de lavado sobre el propio equipo para tener reproducibilidad en el desarrollo analítico.

En caso de lavado manual, se sugiere realizar 6 ciclos, distribuyendo y aspirando 300-400 µl/pocillo por ciclo.

En todos los casos, los desechos potencialmente infectivos del lavado de las microplacas tienen que ser inactivados con Hipoclorito de Sodio al 2.5% en concentración final durante 24 horas y desechados según la legislación vigente como residuos patogénicos.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Por lo menos 1 hora antes de usar coloque todos los reactivos necesarios para la prueba a temperatura ambiente. Agite antes de usar el Diluyente de Muestras y el Diluyente de Conjugado.

1. Extraer del envase la cantidad de Pocillos de Reacción necesarios para el ensayo considerando como mínimo dos Controles Negativos y uno Positivo.
2. Agregar a cada pocillo 200 µl de Diluyente de Muestras (ver Preparación de los Reactivos).
3. Dispensar 10µl de cada Muestra y los Controles en el Diluyente de Muestras anteriormente agregado. Luego de cada dispensado homogeneizar bien por carga y descarga de la micropipeta.
4. Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos.
5. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
6. Descartar el contenido total de los pocillos por aspiración y lavarlos 6 veces con la Solución para Lavado diluida (ver Preparación de los Reactivos) según las instrucciones indicadas en *Instrucciones de lavado*. Por último invertir los pocillos y golpearlos sobre papel absorbente para eliminar el líquido residual.
7. Durante la incubación y minutos antes de usar preparar la solución de conjugado diluido (ver Preparación de los Reactivos).
8. Dispensar en cada pocillo 100µl de la solución de conjugado diluido.
9. Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos.
10. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
11. Descartar la solución de conjugado y lavar 6 veces como se indicó en el punto 6.
12. Prepara la solución de Sustrato/Cromógeno (ver Preparación de los Reactivos). Agregar 100 µl de Sustrato /Cromógeno a todos los pocillos. Homogeneizar bien durante 10 segundos aplicando sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales
13. Incubar a 37 °C y oscuridad durante 30 minutos.
14. Retirar del incubador y leer los resultados en forma visual inmediatamente ó alternativamente frenar la reacción enzimática con el agregado de 100 µl de Solución Stop, homogeneizar bien durante 10 segundos y medir la Densidad Óptica a 450 nm con un lector de ELISA empleando blanco de aire, dentro de los 30 minutos de agregada la solución.

Esquema del procedimiento de ensayo:

<i>Posición</i>	<i>Controles/Muestras</i>
A1+B1	Control Negativo
C1	Control Positivo
D1..... H12	Muestras

<i>Reactivos</i>	<i>Controles</i>	<i>Muestras</i>
Controles	200µl	-
Diluyente de Muestras (Ver Preparación de los Reactivos)	-	200µl
Muestras	-	10µl
<i>Homogeneizar 10 segundos e incubar durante 30 minutos a 37 °C.</i>		
Lavar 6 veces con Solución para Lavado diluida (Ver Preparación de los Reactivos)		
Diluir cantidad necesaria de Conjugado 10X		
Conjugado diluido (Ver Preparación de los Reactivos)	100µl	100µl
<i>Homogeneizar 10 segundos e incubar durante 30 minutos a 37 °C.</i>		
Lavar 6 veces con Solución para Lavado diluida (Ver Preparación de los Reactivos)		
Preparar cantidad necesaria de Sustrato/Cromógeno		
Sustrato/Cromógeno (Ver Preparación de los Reactivos)	100µl	100µl
<i>Homogeneizar 10 segundos e incubar durante 30 minutos a 37 °C y oscuridad.</i>		
Leer inmediatamente los resultados en forma visual o frenar la reacción.		
Solución Stop	100µl	100µl
Homogeneizar 10 segundos y leer espectrofotométricamente a 450 nm contra blanco de aire dentro de los 30 minutos de agregada la Solución.		

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS EN FORMA VISUAL

El Control Negativo debe ser incoloro o puede presentar una coloración celeste tenue. El Control Positivo, debe ser de color celeste o azul diferenciable del Control Negativo.

Las muestras incoloras o con coloración celeste tenue similar a la del Control Negativo, se considerarían presumiblemente **no reactivas** para anticuerpos contra T.cruzi. Las muestras que evidencien una coloración azul o celeste claramente distinguible del Control Negativo se considerarían presumiblemente **reactivas** para anticuerpos contra T.cruzi.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS CON UN LECTOR DE ELISA

Luego del agregado de la Solución Stop, homogeneizar durante 10 segundos y medir la densidad óptica (D.O.) de cada pocillo con un lector fotométrico de ELISA lineal con filtro de 450nm o alternativamente bicromático provisto con filtros de 450nm y 620-630 nm, empleando blanco de aire, dentro de los 30 minutos de agregada la solución.

VALIDEZ DEL ENSAYO

El ensayo es considerado válido si:

6. El valor de DO 450nm promedio del Control Negativo (CN) es < 0.250 . Valores anormales se observan si el sistema de lavado es defectuoso o no se observaron las “Instrucciones de Lavado” descriptas en la sección correspondiente.
7. El valor de DO 450nm del Control Positivo (CP) es ≥ 0.500 . Valores diferentes se observan en caso de mantenimiento incorrecto del equipo.

En caso de que no se cumpla alguna de las especificaciones mencionadas anteriormente, antes de repetir el test, verifique la fecha de vencimiento del equipo, el correcto funcionamiento de los instrumentos usados en el ensayo, el procedimiento de distribución de Controles y Muestras o cualquier falla operativa.

CÁLCULO DE RESULTADOS

La presencia o ausencia presumible de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi, debe ser analizada teniendo en cuenta el Límite de Decisión (Cut-off value).

Calcule el valor promedio de densidad óptica (DO) del Control Negativo, verifique la validez del ensayo como se describió y aplique la fórmula siguiente:

$$\text{Límite de Decisión o Cut-off value} = \text{DO promedio del Control Negativo} + 0.100$$

Muestras con un valor de DO 450nm dentro del valor del Cut-off $\pm 10\%$ se considerarían en zona gris.

Las muestras con un valor de DO 450nm por debajo del límite inferior de la zona gris se considerarían no reactivas para anticuerpos contra Trypanosoma cruzi.

Muestras con un valor de DO 450nm más alto que el límite superior de la zona gris se considerarían reactivas para anticuerpos contra Trypanosoma cruzi.

Ejemplo de cálculo

Control Negativo promedio DO 450nm 0.160

Control Positivo DO 450nm 1.700

Cut-off = CN + 0.100 = 0.260

Zona gris: Entre 0.234 y 0.286

Muestra #1 DO 450nm = 0.085 No reactiva

Muestra #2 DO 450nm = 1.158 Reactiva

CONCLUSIONES

Toda muestra que ha sido reactiva y las correspondientes a la zona gris en una primera prueba deberían ser ensayadas nuevamente para su confirmación. Si el resultado es negativo en el segundo ensayo, la muestra se consideraría no reactiva.

Resultados no reproducibles en la reactividad de las muestras o de los controles podrían deberse a algunas de las siguientes causas:

- Lavado incorrecto de los pocillos de reacción.
- Contaminación cruzada de una muestra no reactiva con una muestra reactiva adyacente.
- Contaminación del Sustrato y Cromógeno con agentes oxidantes (como por ejemplo cloro).
- Contaminación de la Solución Stop.
- Contaminación de la Solución para Lavado diluida.
- Conservación inadecuada de los pocillos de reacción no utilizados.
- Mal dispensado y homogeneizado de las muestras.
- Incorrecto funcionamiento de los equipos y materiales utilizados para el desarrollo de la reacción.
- Usar materiales no provistos potencialmente contaminados o mal lavados.
- Usar recipientes para la preparación de los reactivos potencialmente contaminados o mal lavados.
- Insuficiente atemperado del equipo al retirarlo de su temperatura de conservación antes de realizar la prueba.
- Inobservancia del procedimiento especialmente en la temperatura y tiempo de incubación.
- Otras.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

SENSIBILIDAD: La sensibilidad se ha determinado en ensayos clínicos empleando muestras comprobadamente reactivas del Centro Nacional de Referencia para la Enfermedad de Chagas de Argentina. También el equipo fue enfrentado con miembros de un panel interno reactivo para anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* por los métodos de HAI, IFI y otros ELISA. En todos los estudios se obtuvo una concordancia del 100%.

ESPECIFICIDAD: Se ha calculado empleando paneles de muestras no reactivas pertenecientes a hemodadores y de muestras que presentan potencialmente reactividad cruzada con otras parasitosis, mujeres embarazadas y factor reumatoideo obteniéndose una especificidad superior al 99% sobre suero y plasma.

REPRODUCIBILIDAD: Se ha calculado con el Control Positivo y el Control Negativo repetidamente probados en días diferentes. Se obtuvieron CV% intraensayos e interensayos menores que el 20% para ambos Controles.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. La técnica de ELISA, como cualquier otra técnica serológica, no puede ser concebida como un método de diagnóstico definitivo ya que éste debe basarse en la correlación de los resultados de más de un test con los datos clínicos y epidemiológicos. En ese sentido, todo resultado debe ser interpretado como una probabilidad mayor o menor de acierto en relación al caso estudiado, dentro de la población normal o parasitada.

Toda muestra reactiva para ELISA tiene que ser confirmada por un método alternativo.

Un resultado no reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección por el *Trypanosoma cruzi*. En infecciones muy recientes (menos de 30/45 días de evolución) la técnica puede presentar resultados no reactivos o reactividades muy bajas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Franco da Silveira, J.; Umezawa, E. and Luquetti, A.: Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi*

- antigens for serological diagnosis. Review Trends in Parasitology. Vol. 17 N° 6 June 2001.
2. Houghton, R.; Benson, D.; Reynolds, L. and col.: Multiepitope Synthetic Peptide and Recombinant Protein for the detection of Antibodies to Trypanosoma cruzi in Patients with Treated or Untreated Chagas' Disease. Journal of Infectious Diseases 181:325-30 (2000).
 3. Houghton, R.; Benson, D.; Reynolds, L. and col.: A multi-Epitope Synthetic Peptide and Recombinant Protein for the Detection of Antibodies to Trypanosoma cruzi in Radioimmunoprecipitation-Confirmed and Consensus-Positive Sera. Journal of Infectious Diseases 179:1226-34 (1999).
 4. Venkatesan, P. and Wakelin, D.: Techniques Elisas for parasitologists: or Lies, Damned Lies and Elisas. Parasitology Today 9(6): 228-232 (1993).
 5. Cantarero, L.A.; Butler, J.E. and Osborne, J.W.: The adsorptive characteristics of proteins for polystyrene and their significance in solid-phase immunoassays. Analytical Biochemistry 105: 375-382 (1980).
 6. Hillyer, G.V. and Kagan, I.G.: New advances in the immunodiagnosis of parasitic infections. I. The enzyme-linked immunosorbent assay. Bol. Asoc. Med. P. Rico 71(10): 366-377 (Octubre 1979).
 7. Voller, A.; Bidwell, D.E. and Bartlett, A.: The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): a guide with abstracts of microplate applications. Fowline Press, Guernsey, Channel Islands 1-125 (1979).
 8. Engvall, E.; Perlmann, P.: Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. The Journal of Immunology. 109(1): 129-135 (July 1972).

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Director Técnico: Jorge O. Carradori. Bioquím. y Farm.

Producción, Administración y Ventas:

Santiago del Estero 1162

(C1075AAX) Buenos Aires. Argentina.

Telefax: (5411) 4304-2204/2374.

E-mail: lemos@biotica.com.ar

Producto para Diagnóstico autorizado por el M.S. Certificado N°: 006159/07.

Industria Argentina



6. Estudios de estabilidad

ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Objetivo: Estudiar y validar el desempeño del producto bajo condiciones de estabilidad acelerada.

El propósito de los estudios de estabilidad de un reactivo utilizado en serodiagnóstico es, proveer evidencias sobre como varía la calidad del producto con el tiempo, bajo la influencia de diferentes factores tales como la temperatura y poder así establecer las condiciones de almacenamiento y su período de vida útil determinando la compatibilidad física y química con los materiales utilizados para su envasado.

Introducción: Desarrollado el producto se necesita establecer parámetros de Control de calidad que permitan evaluar y estandarizar los sucesivos lotes producidos, asegurando así la reproducibilidad de los mismos.

Control de Calidad aplicado al Estudio de Estabilidad de CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE en la etapa de desarrollo.

Tres lotes consecutivos del producto fueron sometidos al estudio de estabilidad tomados en cantidad suficiente para evaluar los parámetros de reactividad, especificidad y reproducibilidad en cada lote durante un período de tiempo de un año y medio para los Kits almacenados en condiciones preferenciales (temperatura entre 2-8°C) y de un mes para los Kits almacenados en condiciones de stress (temperatura 42°C)

Especificaciones del Control de Calidad aplicado al Estudio de Estabilidad de CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE en la etapa de desarrollo.

Sensibilidad:

Debe conservar el 100% de reactividad utilizando muestras reactivas para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi estudiadas en los diferentes períodos de tiempo durante todo el plazo fijado de un año, almacenados en las condiciones preferenciales, es decir entre 2-8°C.

Debe conservar >90 % de reactividad utilizando una muestras reactivas para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi estudiadas durante todo el plazo fijado de un mes con el kit almacenado en las condiciones de stress es decir a 42°C.

Especificidad:

Debe existir una concordancia >99 % en la detección de muestras no reactivas para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi estudiadas en los diferentes períodos de tiempo durante todo el plazo fijado de un año, almacenados en las condiciones preferenciales, es decir entre 2-8°C.

Debe existir una concordancia >99 % en la detección de muestras no muestras reactivas para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi estudiadas durante todo el plazo fijado de un mes con el kit almacenado en las condiciones de stress es decir a 42°C.

Reproducibilidad:

Por estudio repetitivo empleando el Control Positivo y el Control Negativo provisto en el kit en un mismo ensayo y en ensayos largados a diferentes tiempos se acepta como apto un coeficiente de variación menor o igual al 20 % durante un año para los Kits almacenados entre 2-8°C y de un mes para los Kits almacenados a 42°C.

Conclusión

Los tres lotes consecutivos evaluados han sido sometidos al procedimiento de estabilidad y han cumplido con las especificaciones.

Se ha determinado la compatibilidad física y química con los materiales utilizados para su envasado. En todos los casos deben ser inertes con el producto a envasar, garantizar su estabilidad e integridad, sin fugas, hasta su fecha de vencimiento en las condiciones de conservación indicadas.

El período de estabilidad del producto se fijó en 12 meses conservado entre 2 y 8 °C.

Se ha comprobado que el Conjugado 10X es el reactivo limitante de la estabilidad. Por lo tanto el vencimiento otorgado de 12 meses se fija desde la fecha de elaboración del Conjugado 10X.

Basándose en este estudio el Departamento de Control de Calidad elaboró un procedimiento operativo para la vigilancia de cada lote producido, a saber:

Control de Calidad aplicado al Estudio de Estabilidad de CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE en la actualidad.

Por cada lote elaborado se realizan estudios de estabilidad acelerada a 42 °C a la semana o al mes de elaboración para decidir su comercialización y estudios de estabilidad real entre 2 y 8 °C hasta el vencimiento, utilizando equipos que han sido muestreados de cada lote. Para ello se compara la reactividad del kit almacenado a 42 °C frente al kit almacenado entre 2 y 8 °C y se expresan los resultados como porcentaje de actividad conservada. Un lote se considera estabilizado si conserva $\geq 90\%$ de la reactividad conservado a 42 °C durante una semana y $\geq 70\%$ de la reactividad conservado a 42 °C durante un mes. Los estudios de estabilidad real al vencimiento conservado entre 2 y 8 °C deben dar total concordancia con los datos emanados de las muestras utilizadas como referencias.

Realiza un examen visual del estado físico de los estuches, rótulos internos y externos, impresión de lotes y vencimiento y del material de embalaje primario del Producto Terminado. Sus especificaciones son que los estuches que contienen todos los reactivos deben estar en perfecto estado y permanecer íntegros, sin deteriorarse o despegarse, durante todo el período de Vida Útil del Producto Terminado en las condiciones de conservación declaradas por el fabricante; los rótulos internos deben estar perfectamente adheridos y su gráfica debe permanecer íntegra, sin borronearse, durante todo el período de Vida Útil del Producto Terminado en las condiciones de conservación declaradas por el fabricante; la gráfica de los rótulos externos debe permanecer íntegra, sin borronearse, durante todo el período de Vida Útil del Producto Terminado en las condiciones de conservación declaradas por el fabricante; los lotes y vencimientos colocados en los Productos Terminados deben permanecer claros y no manifestar signos de deterioro por la permanencia del mismo en sus condiciones de conservación; el embalaje primario no debe manifestar signos de deterioro y garantizar la hermeticidad durante todo el período de Vida Útil del Producto Terminado en las condiciones de conservación declaradas por el fabricante.

Bibliografía:

1-Kagan I.G.,Goldsmith R.S., Zárata-Castañeda R., "Evaluation on serologic test for studies on Chagas Disease". Bulletin of the Pan American Health Organization Vol. XII N°4,1978.



2-Wesgard J., Barry P. Y Hunt M. “A multi-rule Shewhard Chant for Quality Control in Clinical Chemistry”.
Clinical Chemistry, Vol 27 N°3 –1981.

3-Palmer D. And Cavallo J. “Some concepts of Quality Control in Immunoserology” Chapter 121- Manual of
Clinical Immunology. Ed.: Rose Noel, Friedman Herman- American Society for Microbiology-1976.



7. Validación de desempeño del producto

VALIDACIÓN DE DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

SENSIBILIDAD:

Se realizó un estudio sobre un total de 100 muestras de sueros de pacientes del Instituto Nacional de Parasitología (INP) “Dr. Mario Fatała Chaben” (2006). Las muestras son consideradas reactivas para la serología de anticuerpos específicos contra el *Trypanosoma cruzi* en dos de tres de las técnicas desarrolladas en el propio Instituto siendo las mismas ELISA, HAI, e IFI.

Con nuestro producto se obtuvo una concordancia del 100%.

Se realizó un estudio sobre un total de 190 muestras de sueros de pacientes con serología reactiva para anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* que concurren a la Sección Cardiología del Hospital Alvarez, Buenos Aires, Argentina. (2007). Con nuestro producto se obtuvo una concordancia del 100% respecto a las otras técnicas estudiadas.

Se analizaron 653 muestras de pacientes que formaron parte de un estudio doble ciego realizado en el Centro de Referencia Nacional para el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas de Argentina “Instituto Dr. Mario Fatała Chabén” (2013). De las muestras analizadas, 308 muestras fueron (47 %) consideradas positivas y 345 negativas (53 %), de acuerdo a los resultados del Centro de Referencia Nacional y los obtenidos con productos comerciales de ELISA en el Laboratorio Lemos S.R.L. Se utilizó como referencia para determinar si las muestras eran positivas el resultado reactivo de dos de los tres ensayos diagnósticos realizados de rutina por el Centro de Referencia (HAI, IFI y ELISA), y negativas el resultado no reactivo de los tres ensayos diagnósticos realizados de rutina por el Centro de Referencia en combinación con los resultados de cuatro productos comerciales de tipo ELISA, dos de ellos basados en la utilización de antígeno total y dos basados en la utilización de antígeno recombinante. Con nuestro producto se obtuvo una concordancia del 100% en las muestras consideradas reactivas y > 99% de concordancia en las muestras consideradas no reactivas.

ESPECIFICIDAD:

Se ha calculado empleando muestras de una población de hemodadores comprobadamente no reactiva para anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* para ELISA y HAI con equipos aprobados por las autoridades sanitarias de Argentina disponibles comercialmente. Las muestras de hemodadores son provistas en forma habitual por el Servicio de Hemoterapia del Hospital de Clínicas “José de San Martín” Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, una vez concluidos los estudios serológicos correspondientes y son individuos considerados aptos como donantes. Son No Reactivos para anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* y el resto de la serología de Banco de Sangre. Las edades de los pacientes oscilan entre 20 y 60 años de ambos sexos y pertenecen a una población de las zonas urbanas de la Ciudad de Buenos Aires. Sobre aproximadamente 7880 muestras no reactivas tomadas desde el año 2007 hasta la actualidad el ensayo muestra una especificidad > 99%.

Nº de Muestras No Reactivas	Resultado Reactivo	No	Resultado Reactivo
8225	8147		78
Nº de Muestras Reactivas	Resultado Reactivo	No	Resultado Reactivo
598	0		598

		<i>Diagnóstico Verdadero</i>	
--	--	------------------------------	--

		Positiva	Negativa	Totales
<i>CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE</i>	Positiva	598	78	676
	Negativa	0	8147	8147
	Totales	598	8225	8823

$$\text{Sensibilidad} = \frac{598}{598 + 0} \times 100 = 100.0$$

$$\text{Especificidad} = \frac{8225}{8225 + 78} \times 100 = 99.1$$

$$\text{VPP} = \frac{598}{598 + 78} \times 100 = 88.5$$

$$\text{VPN} = \frac{7685}{7685 + 0} \times 100 = 100.0$$

REPRODUCIBILIDAD

El Coeficiente de Variación Intra y Entrensayo porcentual se determinó por estudio repetitivo del Control Negativo (24 replicados) y del Control Positivo (24 replicados) dentro de un mismo ensayo (Intraensayo) en comparación con otros ensayos largados en diferentes días (Entrensayo).

En todos los casos se obtuvieron valores de OD que cumplieron con el criterio de validación, esto es: OD 450 nm CN promedio < 0.250 y OD 450 nm CP ³ 0.500.

Se calculó el Coeficiente de Variación Porcentual Intraensayo y el Coeficiente de Variación Porcentual Entrensayos como sigue:

$$\text{CV\%} = \frac{100 \cdot \text{DS}}{\text{X}}$$

Referencias: CV%: Coeficiente de Variación Porcentual; DS: Desvío Standard; X: Valor Medio de Densidad Optica de los controles

Se obtuvieron valores para el Coeficiente de Variación Porcentual Intraensayo y el Coeficiente de Variación Porcentual Entrensayos menores que 20 %.

Buenos Aires, revisado el 05 de abril de 2019
Dr. Jorge O. Carradori
Director Técnico