



CHAGATEK
ELISA

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

b.-**País de fabricación:** Argentina

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

d.-**Presentación:** El producto se comercializa en sus dos presentaciones para realizar 96 determinaciones (Cod. 96) ó 192 determinaciones (Cod. 192) 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:

Microplacas: Microplaca(s) con tiras rompibles con pocillos sensibilizados con antígenos purificados de Trypanosoma cruzi. La microplaca está envasada en una bolsa de polietileno metalizado con base de aluminio sellada conteniendo silicagel como desecante.

Nº de microplacas Cod. 96 1 Cod. 192 2

Control Positivo: Suero reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, de bajo título, con conservadores. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.

Volumen Cod. 96 0,6 ml Cod. 192 0,8 ml

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

Volumen Cod. 96 0,6 ml Cod. 192 0,8 ml

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

Volumen Cod. 96 25 ml Cod. 192 50 ml

Solución para Lavado concentrada 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. 96 50 ml Cod. 192 100 ml

Conjugado concentrado 10X: Anticuerpo monoclonal anti-IgG 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. 96 2,5 ml Cod. 192 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. 96 15 ml Cod. 192 30 ml

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

Volumen Cod. 96 9 ml Cod. 192 15 ml

Cromógeno TMB: 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. 96 9 ml Cod. 192 15 ml

Ácido Sulfúrico: Solución de Ácido Sulfúrico 1M en agua destilada. Reactivo corrosivo. Listo para usar.

Volumen Cod. 96 15 ml Cod. 192 30 ml

Manual de Instrucciones: Uno por kit.

f.-Método y Valor diagnóstico: Es un enzimoimmunoanálisis 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 para la detección de anticuerpos contra el T.cruzi en muestras de suero ó plasma humano.

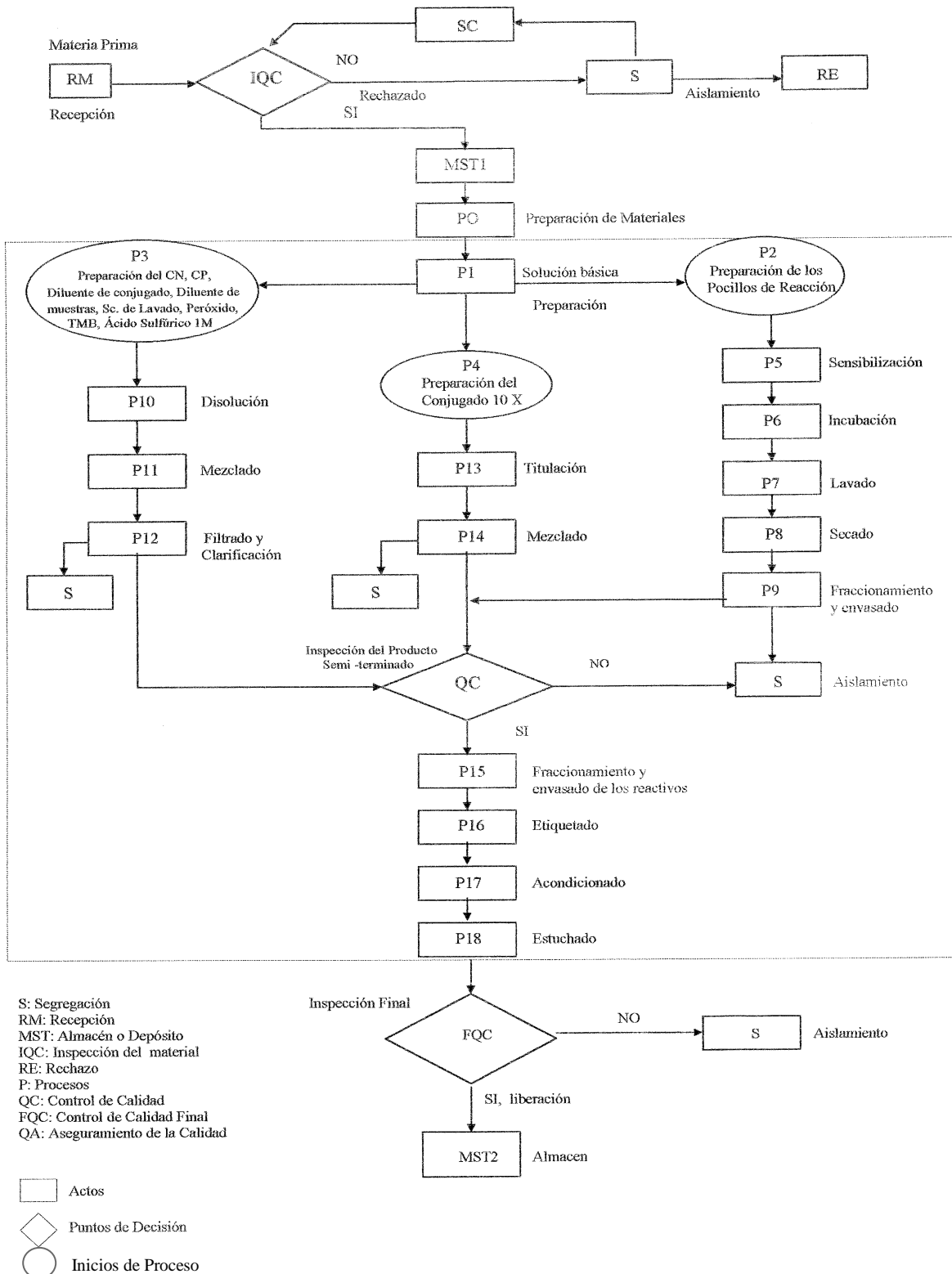
Una dilución apropiada de las muestras se incuban en pocillos de poliestireno, recubiertos con antígenos purificados de T.cruzi. Los anticuerpos contra T.cruzi son específicamente capturados por esos antígenos, quedando unidos a la fase sólida. Luego de varios lavados, a fin de eliminar las inmunoglobulinas no capturadas, el sistema se incuban 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/tetrametilbenzidina 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.

Uso al que está destinado: Es un enzimoimmunoensayo (ELISA) para la detección de anticuerpos IgG específicos 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 del Ácido Sulfúrico, 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 20 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).

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 de decisión.

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

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. El Ácido Sulfúrico 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 de los Controles Negativos (CN) es < 0.250 . Valores anormales se observan si el sistema de lavado es defectuoso o no se observaron las “Instrucciones de Lavado” correspondientes.
2. El valor de DO 450nm del Control Positivo (CP) menos DO 450nm de los Controles Negativos (CN) es ≥ 0.150 . 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 concentrado 10X: Solución proteica color rojo translúcida.

Ácido Sulfúrico: 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 concentrado 25X: Solución salina isotónica incolora translúcida.

Características Químicas

Microplaca con tiras de Pocillos: 12x8 tiras con pocillos rompibles sensibilizados con antígenos purificados 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 (H_2O_2) tamponado. Listo para usar.

Cromógeno: Solución de 3,3', 5,5' tetrametilbencidina (TMB), estabilizada. Listo para usar.

Ácido Sulfúrico: 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.

Ácido Sulfúrico 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 polietileno 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
MICROPLACA CON TIRAS ROMPIBLES CON POCILLOS

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

CHAGATEK ELISA
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
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
BUFFER DE LAVADO CONCENTRADO 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
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
CONJUGADO CONCENTRADO 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
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
PEROXIDO DE HIDROGENO
(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
TETRAMETILBENCIDINA
(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
ACIDO SULFURICO
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
MICROPLACA CON TIRAS ROMPIBLES CON POCILLOS
96 Pocillos
Conservar entre 2 y 8 °C
Uso "In Vitro". Industria Argentina
LABORATORIO LEMOS S.R.L.
Lote: Vencimiento:

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

CHAGATEK ELISA
CONTROL POSITIVO
0,8 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
CONTROL NEGATIVO
0,8 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
BUFFER DE LAVADO CONCENTRADO 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

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

CONJUGADO CONCENTRADO 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

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

PEROXIDO DE HIDRÓGENO

(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

TETRAMETILBENCIDINA

(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
ACIDO SULFURICO
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

Enzimoimmunoensayo para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero o plasma humano.

Solamente para uso profesional "in vitro"

Contenido del Equipo: (según presentación)	96 determinaciones	192 determinaciones
Microplaca con tiras rompibles con pocillos sensibilizados con antígenos de <i>Trypanosoma cruzi</i>.	1x96	2x96
Control Positivo	0.6 ml	0.8 ml
Control Negativo	0.6 ml	0.8 ml
Diluyente de Muestras	25 ml	50 ml
Buffer de Lavado Concentrado	50 ml	100 ml
Anti IgG Conjugado con peroxidasa Concentrado	2.5 ml	3.5 ml
Diluyente de Conjugado	15 ml	30 ml
Peróxido de Hidrógeno	9 ml	15 ml
Tetrametibencidina (TMB)	9 ml	15 ml
Ácido Sulfúrico	15 ml	30 ml
Inserto	1	1

 Conservar entre 2 y 8 °C.

Ver instrucciones de uso leyendo el inserto.

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.

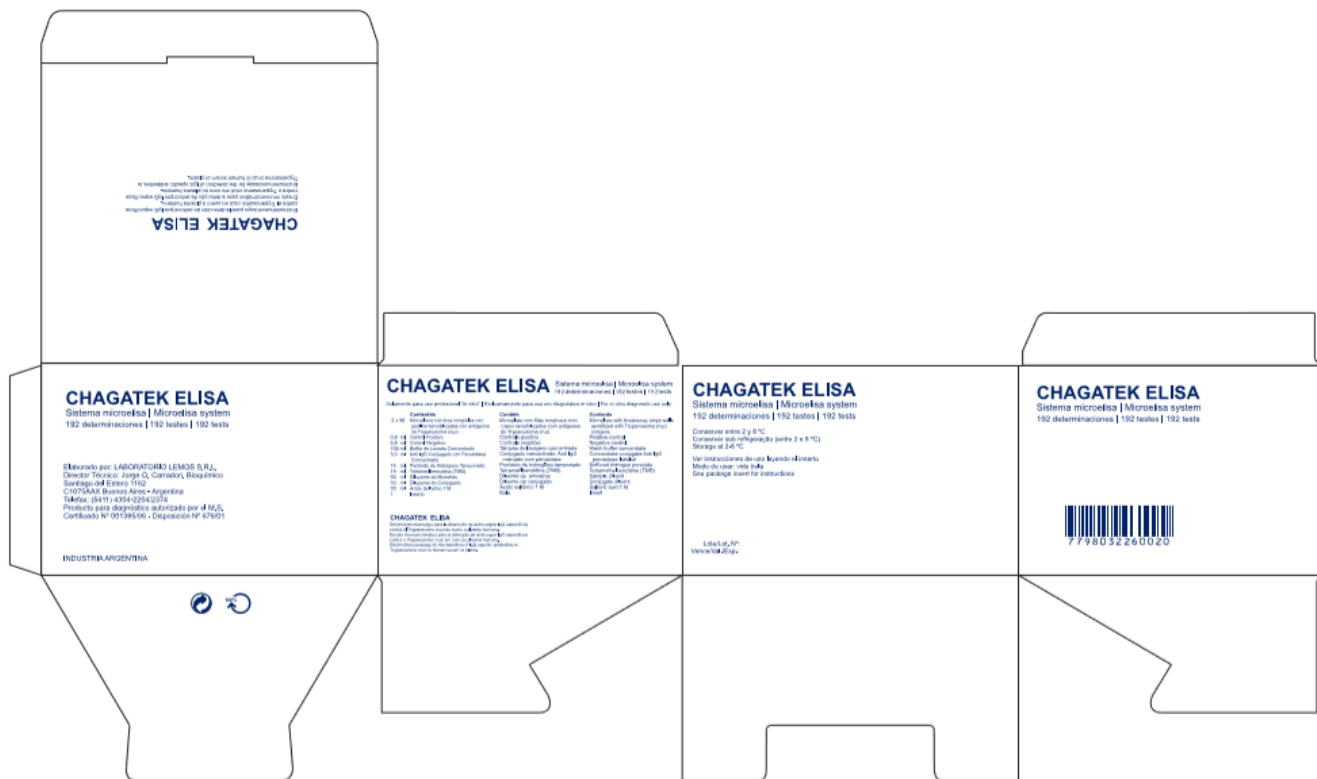
E-mail: info@lab-lemos.com.ar

Producto para Diagnóstico autorizado por el M.S. Certificado N°: 001385 / 96 Disposición N° 676/01.

Industria Argentina

IMÁGENES

Rotulo externo Chagatek Elisa x 192 determinaciones;



Rotulo interno Chagatek Elisa x 192 determinaciones;

<p>CHAGATEK ELISA Microplaca con tiras rompibles con pocillos sensibilizados con antígenos de <i>Trypanosoma cruzi</i> Microplaca com fitas rompíveis com copos sensibilizados com antígenos do <i>Trypanosoma cruzi</i> Microplate with breakaway strips wells sensitized with <i>Trypanosoma cruzi</i> antigens</p> <p>96 pocillos 96 copos 96 wells</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" - For in vitro diagnostic use</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 13265 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>	<p>CHAGATEK ELISA Microplaca con tiras rompibles con pocillos sensibilizados con antígenos de <i>Trypanosoma cruzi</i> Microplaca com fitas rompíveis com copos sensibilizados com antígenos do <i>Trypanosoma cruzi</i> Microplate with breakaway strips wells sensitized with <i>Trypanosoma cruzi</i> antigens</p> <p>96 pocillos 96 copos 96 wells</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" - For in vitro diagnostic use</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 13265 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>
<p>CHAGATEK ELISA Buffer de lavado concentrado 25 x Tampão de lavagem concentrado 25 x Wash buffer concentrate 25 x</p> <p>Diluir 1:25 con agua destilada Diluir 1:25 com agua destilada Dilute 1:25 with destilated water</p> <p>100 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" / For in vitro diagnostic use</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 70093 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>	<p>CHAGATEK ELISA Diluyente de conjugado Diluyente de conjugado Conjugate diluent Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use</p> <p>30 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" / For in vitro diagnostic use</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 83030 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>
<p>CHAGATEK ELISA Ácido sulfúrico Sulfuric acid</p> <p>Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use</p> <p>30 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" / For in vitro diagnostic use Corrosivo / Corrosivo / Corrosive</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 60077 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>	<p>CHAGATEK ELISA Peróxido de hidrógeno / Peróxido de hidrógeno Hydrogen peroxide Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use</p> <p>15 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" / For in vitro diagnostic use</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 60087 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>
<p>CHAGATEK ELISA Diluyente de muestras Diluyente de amostras Sample diluent</p> <p>Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use</p> <p>50 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" For in vitro diagnostic use</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 89080 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>	<p>CHAGATEK ELISA Tetrametilbenzidina (TMB) / Tetrametilbenzidina (TMB) Tetramethylbenzidine (TMB) Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use</p> <p>15 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" / For in vitro diagnostic use</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 60138 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>
	<p>CHAGATEK ELISA Control positivo / Control positivo / Positive control Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use</p> <p>0,5 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" / For in vitro diagnostic use Material precalentado alérgico / precalentado alérgico / Allergenic</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 312 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>
	<p>CHAGATEK ELISA Control negativo / Control negativo / Negative control Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use</p> <p>0,5 ml</p> <p>Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C / Storage at 2-8 °C Uso diagnóstico "In vitro" / For in vitro diagnostic use Material precalentado alérgico / precalentado alérgico / Allergenic</p> <p>Laboratorio Lemos S.R.L. Industria Argentina Lote/Lot: 413 Vencimiento/Exp.: Enero 2018</p>

LOTE 170301 VTO. ENERO 2018 450 PL.

Rótulos externos e internos Chagatek Elisa x 96 presentaciones;

Lote 190401 Vto. Enero 2020 x 350

CHAGATEK ELISA
Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos. Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos. Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos.

Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C
Ecología a 2-8 °C
Uso diagnóstico "in vitro" / For in vitro diagnostic use

Laboratorio Lemos S.R.L.
Bosques Argentina
Calle 14 de Mayo 1144
Bosques 1612, C.P. 1714
Bosques, Córdoba, Argentina

Lote/Lot: 13300
Versión/Ver. Exp.: Enero 2020

CHAGATEK ELISA
Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos. Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos. Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos.

Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C
Ecología a 2-8 °C
Uso diagnóstico "in vitro" / For in vitro diagnostic use

Laboratorio Lemos S.R.L.
Bosques Argentina
Calle 14 de Mayo 1144
Bosques 1612, C.P. 1714
Bosques, Córdoba, Argentina

Lote/Lot: 7098A
Versión/Ver. Exp.: Enero 2020

CHAGATEK ELISA
Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos. Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos. Microplaca con 96 pocillos con pedestal. Sistema de lectura automática con placa lectora con 96 pocillos.

Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C
Ecología a 2-8 °C
Uso diagnóstico "in vitro" / For in vitro diagnostic use

Laboratorio Lemos S.R.L.
Bosques Argentina
Calle 14 de Mayo 1144
Bosques 1612, C.P. 1714
Bosques, Córdoba, Argentina

Lote/Lot: 8305A
Versión/Ver. Exp.: Enero 2020

CHAGATEK ELISA
Sistema Microplaca a Microplaca System

Este sistema está diseñado para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero y plasma humano. El sistema está diseñado para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero y plasma humano. El sistema está diseñado para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el *Trypanosoma cruzi* en suero y plasma humano.

Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C
Ecología a 2-8 °C
Uso diagnóstico "in vitro" / For in vitro diagnostic use

Laboratorio Lemos S.R.L.
Bosques Argentina
Calle 14 de Mayo 1144
Bosques 1612, C.P. 1714
Bosques, Córdoba, Argentina

CHAGATEK ELISA
Diluyente de conjugado
Conjugado diluido
Listo para usar / Pronto para uso / Ready to use

Conservar entre 2 y 8 °C / 2 e 8 °C
Storage at 2-8 °C
Uso diagnóstico "in vitro" / For in vitro diagnostic use

Laboratorio Lemos S.R.L.
Bosques Argentina
Calle 14 de Mayo 1144
Bosques 1612, C.P. 1714
Bosques, Córdoba, Argentina



5. Inserto

INSERTO

CHAGATEK ELISA

Sistema microelisa

Test de selección

Solamente para uso profesional "in vitro"

Aplicación

CHAGATEK ELISA es un enzimoimmunoensayo (ELISA) para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el Trypanosoma cruzi en suero o plasma humano

Fundamento del método

CHAGATEK ELISA es un sistema de enzimoimmunoensayo (ELISA) basado en el método indirecto para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el Trypanosoma cruzi (T. cruzi) en muestras de suero o plasma humano.

Luego de una dilución apropiada de las muestras, éstas se incuban en los pocillos de poliestireno, recubiertos con antígenos purificados de T.cruzi.

Los anticuerpos anti-T.cruzi son específicamente capturados por los antígenos pegados en los pocillos, quedando unidos a la fase sólida. Luego del proceso de lavado para la eliminación de las inmunoglobulinas no unidas, se incuba con anticuerpos monoclonales anti-IgG humana conjugada con peroxidasa. Este conjugado reacciona específicamente con los anticuerpos anti-T.cruzi inmunocapturados. El conjugado no unido se elimina por proceso de lavado y se revela la presencia de peroxidasa mediante el agregado de una mezcla de peróxido de hidrogeno y tetrametilbencidina (TMB). Esta incubación da por resultado la aparición de un color azul, cuya intensidad depende de la concentración y de la afinidad de los anticuerpos anti-T.cruzi de la muestra. La reacción enzimática se detiene mediante el agregado de ácido sulfúrico, produciendo un virage del color azul al amarillo. El desarrollo de un color leve o nulo, indica la ausencia de niveles detectables de anti-T.cruzi en la muestra.

Componentes

96 determinaciones

1 x 96

1 Frasco
(0,6 ml)

1 Frasco
(0,6 ml)

1 Frasco

192 determinaciones

2 x 96

1 Frasco
(0,8 ml)

1 Frasco
(0,8 ml)

1 Frasco

Microplacas

Microplacas con tiras rompibles con pocillos sensibilizados con antígenos purificados de T.cruzi, envasadas en envase de polietileno metalizado con base de aluminio conteniendo silicagel como desecante.

Control Positivo*

Suero reactivo para anticuerpos anti-T.cruzi, inactivado, estabilizado, de bajo título, con Azida de Sodio 0,2% P/V como conservador. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Control Negativo*

Suero no reactivo para anticuerpos anti-T.cruzi, inactivado, estabilizado, con Azida de Sodio 0,2% P/V como conservador. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Buffer de Lavado Concentrado 25 X

(50 ml)	(100 ml)	Tampón fosfato concentrado con surfactante. Diluir 1:25 con agua destilada para su uso.
1 Frasco (2,5 ml)	1 Frasco (3,5 ml)	Conjugado Concentrado 10 X Anticuerpo monoclonal anti-IG humana marcado con peroxidasa, estabilizado, con Proclin 150 0,2 % V/V como conservador. Diluir 1:10 para su uso con Diluyente de conjugado.
1 Frasco (9 ml)	1 Frasco (15 ml)	Solución Estabilizada de Peróxido de Hidrógeno tamponado Listo para usar.
1 Frasco (9 ml)	1 Frasco (15 ml)	Solución Estabilizada de TMB 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (TMB). Listo para usar.
1 Frasco (25 ml)	1 Frasco (50ml)	Diluyente de Muestras Estabilizado. Solución salina proteica base PBS con Proclin 150 0,2 % V/V como conservador. Listo para usar. Agitar antes de usar.
1 Frasco (15 ml)	1 Frasco (30 ml)	Diluyente de Conjugado Estabilizado. Solución salina proteica base PBS, con Proclin 150 0,2 % V/V como conservador. Listo para usar. Agitar antes de usar.
1 Frasco (15 ml)	1 Frasco (30 ml)	Ácido Sulfúrico Solución 1 mol/l de ácido sulfúrico en agua destilada. Listo para usar.

* Los controles están preparados con suero o plasma humano no reactivo para anticuerpos contra HIV, HCV y HBsAg. Sin embargo los productos de origen humano deben manipularse con precaución.

Estabilidad y conservación

Los reactivos son estables hasta la fecha que figura en la caja y los frascos.

Una vez abierto el sobre que contienen los pocillos, debe sacar los necesarios para los análisis de las muestras y los controles y volver a cerrar el sobre herméticamente con los restantes, conservando el desecante en su interior.

El almacenamiento debe hacerse en heladera a una temperatura entre los 2 y 8° C.

Materiales requeridos no provistos

- Agua destilada ó desionizada.
- Micropipetas de 10 µl., 100 µl y 200 µl.
- Tips descartables para micropipetas.
- Papel absorbente.
- Material volumétrico de vidrio para preparar diluciones.
- Termobloque incubador ó estufa ó baño de agua termostatzado a 37 ± 2 °C.
- Lavador o sistema equivalente para pocillos de ELISA. Como alternativa se puede efectuar el lavado manualmente.
- Lector fotométrico de ELISA lineal equipado con filtro de 450 nm.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.
- Solución de hipoclorito de sodio al 5% u otro desinfectante adecuado.

- Contenedor para residuos biológicamente peligrosos.
- Cinta adhesiva.

Precauciones y advertencias sobre su uso

- Las muestras de suero humano y los controles deben ser consideradas como potenciales portadores de agentes infecciosos, por lo que se recomienda respetar las condiciones de bioseguridad para su manipuleo y procesamiento.
- No fumar, comer o beber en las áreas de trabajo, así como tampoco pipetear con la boca.
- Evitar salpicaduras sobre las áreas de trabajo, de producirse un derramamiento accidental deben desinfectarse las áreas inmediatamente empleando una solución de hipoclorito de sodio al 5%.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No mezclar los reactivos de diferentes lotes.
- No intercambiar las tapas de los distintos frascos.
- Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.
- Para evitar contaminación, no tocar con los dedos ni con los tips la parte superior, inferior o el borde de los pocillos.

Preparación de los Reactivos

1-*Microplacas*: Están listas para su uso y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el equipo, cuando se conservan entre 2 y 8 °C en su envase original, perfectamente cerrado y sin remover el desecante.

2-*Solución de lavado*: Diluir una parte del contenido del frasco de buffer de lavado concentrado 25X en 24 partes de agua destilada. La solución final así preparada es estable 15 días conservada en la heladera entre 2 y 8 °C.

3-*Conjugado*: Diluir una parte del contenido del frasco de conjugado concentrado 10X con 9 partes de diluyente de conjugado provisto (1:10). Homogeneizar suavemente. Preparar inmediatamente antes de su uso. La solución así preparada es estable cuatro Horas a temperatura ambiente.

4-*Diluyente de Muestras*: Listo para usar. Agitar antes de usar

5-*Controles Negativo y Positivo*: Listos para usar.

6-*Diluyente de Conjugado*: Listo para usar. Agitar antes de usar.

7-*Peróxido de Hidrógeno/TMB*: Minutos antes de usar mezclar un volumen de Peróxido de Hidrógeno con un volumen de TMB (1:1) en un recipiente de plástico descartable, en cantidad necesaria de acuerdo a las necesidades. La solución así preparada es estable por un máximo de una Hora a temperatura ambiente en la oscuridad.

Recolección y preparación de la Muestra

- Puede utilizarse suero o plasma preparado con los siguientes anticoagulantes: citrato, heparina, oxalato o EDTA.
- Extraer el suero del coágulo o el plasma de los eritrocitos tan pronto como sea posible, para evitar la hemólisis.
- Los especímenes que contengan azida sódica o partículas pueden dar resultados erróneos.
- Los especímenes con un nivel elevado de bilirrubina, hemoglobina, lípidos o proteínas no suelen afectar el resultado del test.

- Los especímenes no deben tener contaminación microbiana y pueden conservarse entre 2 y 8 °C durante una semana. Los especímenes recién obtenidos pueden conservarse durante un año a -20 °C (o menos). Un ciclo de congelación/descongelación no afecta los resultados del test.

Procedimiento

1. Extraer del envase los pocillos necesarios para la cantidad de determinaciones a realizar, mas dos controles negativos y un control positivo.
2. Agregar a cada pocillo 200 µl de diluyente de muestra.
3. Dispensar en los pocillos correspondientes 10 µl. de controles (2 Negativos y 1 positivo) y 10 µl. de cada muestra. Homogenizar bien por carga y descarga de la micropipeta. Luego aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos.
4. Incubar los pocillos a 37° C durante 20 minutos.
5. Evitar la evaporación durante la incubación de la muestra, cubriendo los pocillos con cinta adhesiva nueva (de uso alternativo). Sacar la cinta antes de lavar.
6. Lavar los pocillos siguiendo el procedimiento de lavado:
 - a) Aspirar el contenido de los pocillos y a continuación llenarlo con solución de lavado diluida (aproximadamente 300 µl) dejar 60 segundos y repetir el proceso 5 veces más hasta completar un total de 6 (seis) lavados.
 - b) Después de la última aspiración colocar los pocillos boca abajo sobre papel absorbente, golpearlos suavemente para asegurarse su total escurrido.
7. Durante la incubación preparar el conjugado siguiendo las indicaciones descriptas en la preparación de reactivos. Luego del lavado, dispensar 100 µl. de la solución de conjugado a cada pocillo. Homogenizar aplicando movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos. Incubar los pocillos a 37 °C durante 20 minutos, cubriéndolos alternativamente con cinta adhesiva nueva.
8. Lavar 6 (seis) veces los pocillos siguiendo el procedimiento descrito en el punto 6.
9. Preparar la solución de Peróxido de Hidrógeno/TMB siguiendo las indicaciones descriptas en la preparación de reactivos. Dispensar 100 µl. de la solución de Peróxido de Hidrógeno/TMB en cada pocillo. Homogenizar durante 10 segundos. Incubar los pocillos a temperatura ambiente (20-25°C) y en la oscuridad durante 10 minutos.
10. Leer inmediatamente los resultados en forma visual, o alternativamente para lectura espectrofotométrica, frenar la reacción enzimática agregando 100 µl. de ácido sulfúrico 1 mol/l a cada pocillo. Proceder a la lectura de los pocillos en un lector vertical a 450 nm. empleando blanco de aire antes de los 20 minutos.

Interpretación de los resultados

a) Visual:

El Control Negativo debe ser incoloro o celeste tenue. El Control Positivo debe presentar un color celeste claramente diferenciable respecto de los controles negativos.

Las muestra incoloras o con coloración similar a las de los controles negativos, se consideran no reactivas. Las muestras que presenten una coloración mas intensa claramente diferenciables, se consideran reactivas.

b) Espectrofotométrica:

Proceder a la lectura de los pocillos, siguiendo las instrucciones del lector. Luego de la lectura espectrofotométrica de los resultados se procederá al cálculo del valor de Cut-off a partir de las densidades ópticas (OD) de los controles negativos.

Cut-off=OD promedio de los controles negativos + 0,100

Una muestra es considerada NO REACTIVA si su OD es inferior al valor del Cut-off.

Una muestra es considerada REACTIVA si su OD es igual o superior al valor del Cut-off.

Validación de los Resultados

Una prueba se considerará válida si:

La OD promedio de los controles negativos es menor a 0,250

La OD del control positivo menos la OD promedio de los controles negativos es igual o mayor a 0,150.

Eliminar cualquier control negativo con OD mayor a 0,250. Si se ha eliminado algún control negativo, volver a calcular el promedio de los controles negativos. Una corrida es válida si quedan más de la mitad de los controles negativos.

Si no se cumplen las condiciones de validación mencionadas deberá repetirse el test.

Ejemplo del cálculo:

Densidad óptica:

CN= 0,190; 0,200 CN_x= 0,195

CP= 0.450

Validación de los resultados:

CN ≤ 0,250 Todos válidos

CP-CN_x ≥ 0,150 Válido

Cálculo del Cut-off:

Cut-off=CN_x + 0,100= 0,195 + 0,100= 0,295

Cut-off= 0,295

Sensibilidad y Especificidad

El CHAGATEK ELISA presenta una sensibilidad del 100% asumiendo una prevalencia del 100% en la presencia de anticuerpos IgG específicos detectables por otras técnicas como IFI, HAI y AD y una especificidad superior al 99%.

Bibliografía

1. Apt, W. & Reyes, H.: Algunos aspectos de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica. Parasitol. al día 14:23-40 (1990).
2. Camargo, M.E.; Ferreira, A.W.; Ores, B.A.; Mendonça Previato, I. and Scharfstein, J.: Trypanosoma cruzi antibodies. 368-382 (1986). In H. U. Bermeyer (ed.), Methods of enzymatic analysis, 3rd ed. Vol.11, V. Weinbeoin.
3. Camargo, M.E.; Segura, B.I.; Kagan, I.G.; Souza, I.M.P.; Cavalheira, J.R. and Guimarães, M.C.S.: Three years of collaboration on the standarization of Chagas disease serodiagnosis on the American Continent. An appraisal. Pan. Am. Health Organ. 20:233-244 (1986).



4. Camargo, M.E.: American Trypanosomiasis (Chagas Disease). 744-753 (1986). In Ballows, A.; Hausler, W.J. and Lennette, E.H. (ed) Laboratory diagnosis of infection disease. Vol. I, 3p. V. New York Inc., New York.
5. Cantero, L.; Butler, J. and Osborne, J.: The absorptive characteristics of proteins for polystyrene and their significance in solid phase immuno assays. Analytical biochemistry 105:375-382 (1980).
6. Koberle, F.: Pathogenesis of Chagas Disease in Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special reference to Chagas. CIBA foundation news symposium N° 20:137-158 (1974).
7. Brener, Z.: Biology of Trypanosoma cruzi. Ann. Rev. Microbiol. 26:347 (1973).
8. Hoff, R.; Todd, C.W.; Maguire, J.H.; Piesman, J.; Mott, E.; Sleight, I.A.; Weller, T.H.: Serologic surveillance of Chagas Disease.
9. Ann. Soc. Belge Med. Trop, 65(1):187-196 (1965).
10. Ferreira, A.W.; Camargo, M.E. and Nakahara, O.S.: Trypanosoma cruzi immunoperoxidase antibody test for serologic diagnosis. Exp. Parasit 37:131-137 (1965).
11. Segura, E.L.; Perez, A.C.; Yanovsky, J.F.; Andrade, J. and Wynne de Martin, G.J.: Decrease in the prevalence of infection by Trypanosoma cruzi (Chagas Disease) in young men in Argentina. PAHO Bulletin. 19:253.264 (1965).

Presentación

Equipo por 96 determinaciones.

Equipo por 192 determinaciones.

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.com.ar

www.lab-lemos.com.ar

Producto para diagnóstico autorizado por el M.S. Certificado N° 001385/96, Disposición N° 676/01 y Modif.

Disposición N° 2144/05.

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 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 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 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 borrararse, 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 borrararse, 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., Zárate-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:

100% de concordancia con el Panel Interno Chagas perteneciente al Laboratorio Lemos S.R.L. de muestras con serología confirmadamente reactiva para anticuerpos contra Trypanosoma cruzi por otros ELISA disponibles comercialmente, HAI e IFI aprobados por las Autoridades Sanitarias de Argentina.

En un estudio poblacional realizado por Oelemann et al. (Brasil, 1998) sobre aproximadamente 500 muestras con serología reactiva para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi la sensibilidad resultó ser del 100 %.

Sobre un estudio realizado en un banco de sangre en Argentina (1999) sobre 576 muestras reactivas la sensibilidad resultó del 100%.

Se realizó un estudio sobre un total de 100 muestras de sueros de pacientes del Instituto Nacional de Parasitología (INP) “Dr. Mario Fatała Chabén” (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 ELISA del Laboratorio Lemos S.R.L. se obtuvo una concordancia del 100%.

Se realizó un estudio sobre 137 muestras de sueros de pacientes del Instituto Nacional de Parasitología (INP) “Dr. Mario Fatała Chabén”(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 ELISA del Laboratorio Lemos S.R.L. se obtuvo una concordancia del 100%.

Se realizó un estudio sobre un total de 190 muestras de sueros de pacientes que concurren a la Sección Cardiología del Hospital Alvarez, Buenos Aires, Argentina (2007). Con ELISA del Laboratorio Lemos S.R.L. 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 ELISA de lisado 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 24875 muestras no reactivas tomadas desde el año 1996 hasta la actualidad el ensayo muestra una especificidad > 99%.

Nº de Muestras No Reactivas	Resultado No Reactivo	Resultado Reactivo
24875	24708	167
Nº de Muestras Reactivas	Resultado No Reactivo	Resultado Reactivo
1978	0	1978

		<i>Diagnóstico Verdadero</i>		
		Positiva	Negativa	Totales
<i>CHAGATEK ELISA</i>	Positiva	1978	167	2145
	Negativa	0	24708	24708
Totales		1978	24875	26853

$$\text{Sensibilidad} = \frac{1978}{1978 + 0} \times 100 = 100.0$$

$$\text{Especificidad} = \frac{24875}{24875 + 167} \times 100 = 99.3$$

$$\text{VPP} = \frac{1978}{1978 + 167} \times 100 = 92.2$$

$$\text{VPN} = \frac{24875}{24875 + 0} \times 100 = 100.0$$

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.

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

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

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